

**UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

Stojan S. Jevremović

**UTICAJ ETARSKIH ULJA I ODABRANIH
KOMPONENATA MAJČINE DUŠICE,
RUZMARINA I BOSILJKA NA PASULJEV
ŽIŽAK *Acanthoscelides obtectus* (Say)
(Coleoptera: Chrysomelidae)**

Doktorska disertacija

Beograd, 2019

**UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE**

Stojan S. Jevremović

**THE EFFECT OF ESSENTIAL OILS AND
SELECTED CONSTITUENTS OF THYME,
ROSEMARY AND BASIL ON THE BEAN
WEEVIL *Acanthoscelides obtectus* (Say)
(Coleoptera: Chrysomelidae)**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2019

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET
BEOGRAD - ZEMUN

Mentori:

Dr Anđa Radonjić, docent
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu

Dr Igor Kostić, naučni saradnik
Institut za multidisciplinarna istraživanja, Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije:

Dr Olivera Petrović-Obradović, redovni profesor
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu

Dr Jelica Lazarević, naučni savetnik
Institut za biološka istraživanja „Dr Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu

Dr Slobodan Krnjajić, naučni saradnik
Institut za multidisciplinarna istraživanja, Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane doktorske disertacije:

Najlepše hvala mentoru dr Anđi Radonjić, doc. na dragocenoj pomoći, podršci i korisnim savetima prilikom izrade ove doktorske disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem mentoru dr Igoru Kostiću na nesebičnoj pomoci na realizaciji eksperimenata, prilikom statističke obrade podataka i tokom pisanja ove disertacije.

Iskrenu zahvalnost dugujem i dr Jelici Lazarević, na neprocenjivoj pomoći tokom eksperimentalnog dela, prilikom statističke obrade podataka, tokom pisanja naučnog rada, kao i disertacije. Iako zvanično nije bila mentor, ona je podjednako zaslužna za realizaciju ove disertacije.

Zahvaljujem se dr Darki Šešliji Jovanović na pomoći tokom eksperimentalnog dela i prilikom statističke obrade podataka.

Zahvaljujem se dr Slobodanu Krnjajiću i dr Miroslavu Kostiću na korisnim savetima i pomoći tokom eksperimentalnog dela ove disertacije.

Zahvaljujem se dr Oliveri Petrović Obradović, red. prof., na korisnim sugestijama tokom pisanja ove disertacije.

Zahvaljujem se Mileni Dimitrijević, mast. fiz.-hem., i Jeleni Dumanović, dipl. farm., na pomoći pri određivanju kvalitativnog i kvantitativnog sastava etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka.

Veliko hvala mojim dragim kolegama dr Vladanu Ugrenoviću, Slavici Gojković, dipl. inž., i Milošu Pavloviću, mast. inž. polj., na pomoći i podršci koje su mi mnogo značile.

Zahvalio bih se i rukovodstvu Istraživačko razvojnog centra PSS Institut Tamiš na materijanoj podršci tokom realizacije eksperimentalnog dela ove disertacije.

Najveću zahvalnost dugujem mojoj supruzi Aniki koja me je i podstakla da upišem doktorske studije. Zahvaljujem njoj i mojoj porodici na bezgraničnoj ljubavi, razumevanju i podršci koje mi neprestano pružaju.

Rezime

U radu je ispitano delovanje rastvora etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka i njihovih odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na odrasle jedinke pasuljevog žiška (*Acanthoscelides obtectus* Say). Rezidualno kontaktna toksičnost etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka i njihovih odabranih komponenata u koncentracijama 0,5; 1 i 1,5 % ispitana je u dva odvojena ogleda na pasulju i na staklu, pri standardnom i produženom vremenu isparavanja rastvora ulja i komponenata. Ogledi su trajali 72 h, a mortalitet je očitavan na svaka 24 h. Protektivan uticaj testiranih etarskih ulja i njihovih odabranih komponenata na pasulj ispitano je, takođe, u dva odvojena ogleda, u ogledu sa standardnim i produženim vremenom isparavanja ulja i komponenata. U ogledima su testirana ulja i odabrane komponente primenjeni u 0,5; 1 i 1,5 % koncentracijama, a nakon 7 nedelja očitani su sledeći parametri: brojnost žižaka u F1 generaciji, procenat oštećenih zrna pasulja i masa pasulja. Ispitano je i uticaj 0,5; 1 i 1,5 % koncentracija etarskih ulja i odabranih komponenata na polaganje jaja ženki pasuljevog žiška. Postavljena su dva odvojena ogleda, sa i bez izbora tretiranih i kontrolnih zrna pasulja. Ogledi su trajali 168 časova, s tim da je na svaka 24 časa pregledano koliko su jaja ženke položile.

Za etarsko ulje majčine dušice i njegovu dominantnu komponentu timol, za koje je u prethodnim ogledima utvrđeno da su najefikasniji u smanjenju preživljavanja žižaka, redukciji brojnosti F1 generacije i broja položenih jaja, primenom probit analize određene su subletalne i letalne koncentracije za ženke i mužjake pasuljevog žiška nakon 24 časa izlaganja tretiranom pasulju. U ovom ogledu, pored mortaliteta, određeno je i vreme preživljavanja i dinamika umiranja ženki i mužjaka. Takođe, postavljen je i ogled u kojem je ispitano uticaj etarskog ulja majčine dušice i njegove komponente timola na brojnost i komponente adaptivne vrednosti žižaka F1 generacije, čiji su roditelji bili izloženi delovanju rastvarača (kontrola) i 8 različitih koncentracija ulja, odnosno 7 različitih koncentracija timola.

U ogledima rezidualno kontaktne toksičnosti i ispitivanja protektivnog uticaja ulja i komponenata na F1 generaciju žižaka, kao standard korišćen je preparat Actellic 50 EC (pirimifos-metil 500 g/L). Statistička obrada podataka izvršena je pomoću softverskih paketa Statistica 7.0. (StatSoft, Inc) i SAS (9.3 SAS Institute 2010).

Analizom dobijenih rezultata utvrđeno je da etarsko ulje majčine dušice i njegova komponenta timol poseduju rezidualno kontaktnu toksičnost koja, zavisno od koncentracije i načina primene, može da dovede do 100 % mortaliteta odraslih jedinki pasuljevog žiška. Takođe, utvrđeno je da etarsko ulje majčine dušice i timol poseduju najbolje protektivno delovanje na pasulj, jer su u poređenju sa ostalim ispitanim etarskim uljima i odabranim komponentama najviše smanjili broj žižaka u F1 generaciji, procenat oštećenja zrna i gubitak mase tretiranog pasulja. Sva etarska ulja, korišćena u ovom istaživanju, su značajno smanjila ovipoziciju ženki pasuljevog žiška. Međutim, ovipoziciono deterrentni efekat na ženke potvrđen je samo za etarsko ulje majčine dušice, timol i α -pinen. Takođe je utvrđeno da sa povećanjem koncentracije etarskog ulja majčine dušice i timola dolazi do smanjenja procenta i vremena preživljavanja oba pola pasuljevog žiška, kao i do smanjenja broja žižaka u F1 generaciji i negativnih uticaja na njihove komponente adaptivne vrednosti.

Zbog svog širokog spektra delovanja koji ispoljavaju prema pasuljevom žišku, etarsko ulje majčine dušice i njegova komponenta timol poseduju veliki potencijal za formulaciju bioloških preparata koji bi mogli da se koriste u okviru mera integrisane zaštite uskladištenog pasulja od ove kosmopolitske i ekonomski značajne štetocine.

Ključne reči: pasuljev žižak, etarska ulja, majčina dušica, ruzmarin, bosiljak, komponente etarskih ulja, rezidualno kontaktna toksičnost, protektivni uticaj, antiovipozicioni efekat, subletalne i letalne koncentracije

Naučna oblast: **Biotehničke nauke**

Uža naučna oblast: **Entomologija**

UDK: [665.52:635.71]:595.768(043.3)

Abstract

In this research the effect of solutions of thyme, rosemary and basil essential oils and their selected constituents thymol, α -pinene, 1,8-cineole and linalool was tested against the bean weevil adults (*Acanthoscelides obtectus* Say). Residual contact toxicity of 0.5, 1 and 1.5% concentrations of thyme, rosemary and basil essential oils and their selected constituents was evaluated in two separate experiments on glass and bean grains, at standard and extended evaporation time of solutions of essential oils and selected constituents. The experiments lasted for 72 h and the mortality was recorded every 24 h. Protective effect of tested essential oils and their selected constituents was also evaluated in two separate experiments, at standard and prolonged evaporation time of solutions of essential oils and selected constituents. In these experiments 0.5, 1 and 1.5% concentrations of essential oils and selected constituents were applied, and after 7 weeks the following parameters were recorded: number of weevils in F1 generation, percentage of damaged bean grain and bean mass. The influence of 0.5, 1 and 1.5% concentrations of essential oils and selected constituents on oviposition of bean weevil females was also evaluated. Two separate experiments were set up, with and without choice of treated and control bean grain. The experiments lasted for 168 h, whereas the number of eggs was counted every 24 h.

Sublethal and lethal concentrations of thyme essential oil and its dominant constituent thymol, which had been found to be the most effective in reducing the survival of weevils, reducing the number of weevils in F1 generation and the number of laid eggs in the previous experiments, were determined using probit analysis for females and males of bean weevils after 24 hours of exposure to treated beans. In this experiment, in addition to mortality, the average survival time and the dynamics of dying of females and males were recorded. Also, an experiment was conducted in which the influence of thyme essential oil and its constituent thymol on the abundance and fitness components of F1 generation of weevils, whose parents were exposed to solvent (control) and 8 different concentrations of oil and 7 different concentrations of thymol, was examined.

Commercial insecticide Actellic 50 EC (pirimiphos methyl 500 g/L) was used as a standard in experiments of residual contact toxicity and examining the protective

effect of essential oils and constituents on weevil F1 generation. Statistical data processing was performed using Statistica 7.0. (StatSoft, Inc.) and SAS (9.3 SAS Institute 2010) software packages.

By analyzing the results, it was found that thyme essential oil and its constituent thymol possess residual contact toxicity that, depending on the concentration and mode of application, can lead to 100% mortality of bean weevil adults. Also, it was determined that thyme essential oil and thymol possess the best protective effect on beans, because the number of weevils in F1 generation, the percentage of grain damage and weight loss of treated beans were the most reduced in comparison with other tested essential oils and selected constituents. All essential oils used in this study significantly reduced the oviposition of the bean weevil females. However, oviposition deterrent effect on females was confirmed only for thyme essential oil, thymol and α -pinene. It was also found that with the increase of thyme essential oil and thymol concentration, there is a decrease of the survival percentage and survival time in both bean weevil sexes, as well as a decrease in the number of weevils in the F1 generation and the negative impact on their fitness components.

Due to the broad range of effects that they exhibit towards the bean weevil, thyme essential oil and its constituent thymol possess great potential for the formulation of biological products that could be used as a part of integrated management of this cosmopolitan and economically significant pest in stored beans.

Key words: bean weevil, essential oils, thyme, rosemary, basil, essential oil constituents, residual contact toxicity, protective effect, antioviposition effect, sublethal and lethal concentrations

Scientific field: **Biotechnical sciences**

Scientific subfield: **Entomology**

UDC: [665.52:635.71]:595.768(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. Pasuljev žižak <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say).....	3
2.1.1. Areal rasprostranjenja i ekonomski značaj pasuljevog žiška.....	3
2.1.2. Biologija pasuljevog žiška.....	3
2.1.3. Suzbijanje pasuljevog žiška u skladištu.....	4
2.2. Etarska ulja - sekundarni metaboliti biljaka.....	8
2.2.1. Hemijski sastav etarskih ulja.....	9
2.2.2. Biološka aktivnost etarskih ulja.....	10
2.2.3. Etarska ulja kao bioinsekticidi.....	12
2.2.4. Insekticidna, antiovipoziciona aktivnost i uticaj na F1 generaciju etarskih ulja familije Lamiaceae.....	13
2.2.4.1. Etarsko ulje majčine dušice <i>Thymus vulgaris</i> (L.).....	13
2.2.4.2. Etarsko ulje ruzmarina <i>Rosmarinus officinalis</i> (L.).....	14
2.2.4.2. Etarsko ulje bosiljka <i>Ocimum basilicum</i> (L.).....	15
2.2.5. Insekticidna, antiovipoziciona aktivnost i uticaj na F1 generaciju odabranih dominantnih komponenata.....	16
2.2.5.1. Timol.....	16
2.2.5.2. α -Pinen.....	17
2.2.5.3. 1,8-Cineol.....	18
2.2.5.4. Linalol.....	19
2.3. Naučni cilj istraživanja i osnovne hipoteze.....	20
3. MATERIJAL I METODE RADA.....	22
3.1. Test insekt.....	22
3.2. Hemijska jedinjenja.....	22
3.2.1. Etarska ulja.....	22
3.2.2. Odabrane komponente.....	22
3.2.3. Standard.....	23
3.2.4. Rastvarači.....	23
3.3. Hemijska kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja.....	24
3.4. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a na odrasle jedinke pasuljevog žiška.....	24

3.4.1. Ispitivanje rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a na pasuljevog žiška.....	24
3.4.2. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji.....	25
3.4.3. Statistička analiza podataka za rezidualno kontaktnu toksičnost ispitivanih etarskih ulja, odabranih komponenata i ACTELLIC 50 EC-a na pasuljevog žiška, kao i njihov uticaj na F1 generaciju	26
3.5. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na polaganje jaja ženki pasuljevog žiška	27
3.5.1. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na fekunditet (test bez izbora) ženki pasuljevog žiška.....	27
3.5.2. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na ovipozicionu deterentnost (test dvostrukog izbora) ženki pasuljevog žiška.....	28
3.5.3. Statistička analiza podataka za uticaj ispitivanih etarskih ulja i odabranih komponenata na fekunditet i ovipozicionu deterentnost ženki pasuljevog žiška.....	29
3.6. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na odrasle jedinke pasuljevog žiška	29
3.6.1. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na dužinu života pasuljevog žiška.....	29
3.6.2. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na brojnost i komponente adaptivne vrednosti imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji.....	30
3.6.3. Statistička analiza podataka za uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na dužinu života pasuljevog žiška i adaptivne vrednosti imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji.....	31
4. REZULTATI	34
4.1. Rezultati kvalitativnog i kvantitativnog hemijskog sastava korišćenih etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka	34
4.2. Rezidualno kontaktna toksičnost etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a na mortalitet pasuljevog žiška	37
4.2.1. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog pasulja, na mortalitet pasuljevog žiška	37
4.2.2. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog pasulja, na mortalitet pasuljevog žiška	39

4.2.3. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog stakla, na mortalitet pasuljevog žiška	41
4.2.4. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog stakla, na mortalitet pasuljevog žiška	43
4.3. Rezidualno kontaktna toksičnost odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a na mortalitet pasuljevog žiška	45
4.3.1. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog pasulja, na mortalitet pasuljevog žiška.....	45
4.3.2. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog pasulja, na mortalitet pasuljevog žiška.....	47
4.3.3. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog stakla, na mortalitet pasuljevog žiška.....	49
4.3.4. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog stakla, na mortalitet pasuljevog žiška.....	51
4.4. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, i ACTELLIC 50 EC-a na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji	53
4.4.1. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog pasulja, na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji	53
4.4.2. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog pasulja, na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji	55
4.5. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola, i ACTELLIC 50 EC-a na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji	57
4.5.1. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola, i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog pasulja, na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji.....	57
4.5.2. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola, i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog pasulja, na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji.....	59
4.6. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka na polaganje jaja kod ženki pasuljevog žiška.....	61
4.6.1. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka na fekunditet (test bez izbora) ženki pasuljevog žiška.....	61
4.6.2. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka na ovipozicionu deterentnost (test dvostrukog izbora) ženki pasuljevog žiška.....	63

4.7. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na polaganje jaja kod ženki pasuljevog žiška	65
4.7.1. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na fekunditet (test bez izbora) ženki pasuljevog žiška	65
4.7.2. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na ovipozicionu deterentnost (test dvostrukog izbora) ženki pasuljevog žiška.....	67
4.8. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na odrasle jedinke pasuljevog žiška	69
4.8.1. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice na dužinu života pasuljevog žiška.....	69
4.8.2. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija timola na dužinu života pasuljevog žiška.....	75
4.8.3. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice na brojnost i komponente adaptivne vrednosti imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji	81
4.8.4. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija timola na brojnost i komponente adaptivne vrednosti imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji	89
5. DISKUSIJA	97
5.1. Hemijski sastav korišćenih etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka	97
5.2. Rezidualno kontaktna toksičnost etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola i standarda ACTELLIC 50 EC-a na mortalitet pasuljevog žiška	97
5.3. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola i standarda ACTELLIC 50 EC-a na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji, procenat oštećenja zrna i masu pasulja.....	100
5.4. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka i odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na polaganje jaja kod ženki pasuljevog žiška.....	103
5.5. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na odrasle jedinke pasuljevog žiška	105
6. ZAKLJUČAK.....	110
7. LITERATURA	112
Biografija	133
Izjave.....	134

1. UVOD

Skladišni insekti predstavljaju značajne štetočine uskladištenog biljnog materijala. Štete koje mogu da pričine uskladištenoj robi procenjuju se na oko 9 % u razvijenim i oko 20 % u nerazvijenim zemljama (Phillips and Throne, 2010). Pasuljev žižak, *Acanthoscelides obtectus* (Say), je kosmopolitski rasprostranjena štetočina pasulja i drugih vrsta biljaka iz familije mahunarki (Fabaceae) (Labeyrie 1990; Delgado-Salinas *et al.*, 1999). Ovaj insekt započinje infestaciju na otvorenom polju, ali najveće štete pričinjava kada dospe u skladište (Baier & Webster, 1992). Štete na uskladištenom pasulju iznose 20-40 %, a ukoliko zaštita izostane, kroz nekoliko meseci prinos može potpuno propasti (Pemonge *et al.*, 1997; Schmale *et al.*, 2002; Alvarez *et al.*, 2005; Golebiowski *et al.*, 2008; Paul *et al.*, 2009). Pored direktnih gubitaka u prinosu, štete mogu biti i kvalitativne - oštećen pasulj ima karakterističan neprijatan miris, gubi tržišnu vrednost i neupotrebljiv je u ishrani (Giga *et al.*, 1992; Abate & Ampofo, 1996).

Upotreba sintetičkih insekticida, kao što su fosfin, etil-format, sulfuril-fluorid, karbonil-sulfid, dihlrovos, malation i dr., i dalje je osnovni način suzbijanja pasuljevog žiška (Mohapatra *et al.*, 2015). Hemijska zaštita je efikasna, brza i ekonomična, međutim ima ozbiljnih nedostataka, kao što su evolucija rezistentnosti insekata na insekticide, toksični ostaci insekticida u hrani, i opasnost od toksičnog efekta na ljude, životinje i na životnu sredinu (Römbke & Moltmann, 2000; Talukder, 2009). Ovo su osnovni razlozi koji pokreću razvoj održivijih metoda, između ostalog bioloških preparata za suzbijanje skladišnih insekata (Talukder, 2009; Mossa, 2016).

Etarska ulja predstavljaju kompleksne, prirodne smeše isparljivih jedinjenja specifičnog mirisa, koja se stvaraju u aromatičnim biljkama tokom sekundarnog metabolizma (Regnault-Roger *et al.*, 2012). Mogu se sintetisati u raznim biljnim organima: cvetovima, pupoljcima, plodovima, semenima, listovima, kori, korenu i rizomima (Bakkali *et al.*, 2008). Utvrđeno je da poseduju antifungalna, antibakterijska, antiviralna svojstva, kao i da imaju širok spektar delovanja na insekte: repelentno, atraktantno, antifidno, insekticidno, a mogu smanjiti i njihovu reprodukciju svojim ovicidnim i larvicidnim efektom (Regnault-Roger, 1997; El Asbahani *et al.*, 2015). Niska toksičnost za sisare i korisne artropode, kao i brza biodegradacija su samo neke

od mnogih prednosti koje etarska ulja poseduju i zbog kojih bi se mogla koristiti kao alternativa za suzbijanje štetnih insekata (Regnault-Roger *et al.*, 2012).

Majčina dušica (*Thymus vulgaris* L.), ruzmarin (*Rosmarinus officinalis* L.) i bosiljak (*Ocimum basilicum* L.) pripadaju porodici Lamiaceae. Utvrđeno je da biljke iz ove porodice poseduju antioksidantnu i antimikrobnu aktivnost, i koriste se u kozmetici, prehrambenoj i farmakološkoj industriji (Trivellini *et al.*, 2016). Etarsko ulje majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, kao i njihove dominantne komponente timol, α -pinen, 1,8-cineol i linalol poseduju repelentno i insekticidno dejstvo na mnoge skladišne insekte: *Tribolium castaneum* (Herbst), *T. confusum* (Jacquelin du Val), *Callosobruchus maculatus* (F.), *Sitophilus zeamais* (Motschulsky), *S. oryzae* (L.) i *Rhyzopertha dominica* (F.) (Stamopoulos *et al.*, 2007; Bittner *et al.*, 2008; Erler *et al.*, 2009; Nerio *et al.*, 2009; Sener *et al.*, 2009; Caballero-Gallardo *et al.*, 2011; Ukeh & Umoetok, 2011; Kim & Lee, 2014; Follett *et al.*, 2014; Oliviera *et al.*, 2018). Takođe, utvrđeno je i da pomenuta etarska ulja i komponente deluju fumigantno toksično na jaja, larve i adulte pasuljevog žiška, kao i da poseduju repelentnu aktivnost i inhibiraju njegovu reprodukciju (Regnault-Roger & Hamraoui, 1994, 1995; Papachristos & Stamopoulos, 2002a, b, 2004). Međutim, i dalje nisu poznati insekticidni i anti-ovipozicioni efekti kontaktne primene ovih ulja i njihovih komponenta.

Cilj istraživanja u ovom radu je da se ispita rezidualno kontaktna toksičnost etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, kao i njihovih odabranih komponenta timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na pasuljevog žiška. Takođe, ispitaće se i protektivan efekat ovih ulja i komponenta na pasulj, kao i njihov efekat na polaganje jaja ženki pasuljevog žiška. Na osnovu rezultata ovih ogleda, određiće se najefikasnije etarsko ulje i odabrana komponenta, za koje će se odrediti subletalne i letalne koncentracije i ispitati njihov uticaj na dužinu života pasuljevog žiška, kao i uticaj na brojnost i komponente adaptivne vrednosti imaga u F1 generaciji. Rezultati dobijeni u ovom istraživanju pružiće nova saznanja koja mogu unaprediti mere suzbijanja pasuljevog žiška, kao i očuvanje pasulja u skladišnim uslovima.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Pasuljev žižak *Acanthoscelides obtectus* (Say)

2.1.1. Areal rasprostranjenja i ekonomski značaj pasuljevog žiška

Pasuljev žižak, *Acanthoscelides obtectus* (Say), pripada klasi Insecta, redu Coleoptera, familiji Chrysomelidae, potfamiliji Bruchinae i rodu *Acanthoscelides*. Ova vrsta vodi poreklo iz Centralne Amerike, a danas je kosmopolitska vrsta sa širokim arealom rasprostranjenja (Oliveira *et al.*, 2013). *Acanthoscelides obtectus* predstavlja značajnu štetočinu pasulja (*Phaseolus vulgaris* L.) i drugih mahunarki u raznim delovima sveta: Evropi (Pemonge *et al.*, 1997), Africi (Abate & Ampofo, 1996; Abate *et al.*, 2000; Paul *et al.*, 2009), Evropi (Schmale *et al.*, 2002; Alvarez *et al.*, 2005), Americi (Johnson, 1970; Martin & Edmund, 1991; Kingsolver, 2004), kao i u Australiji (Daglish *et al.*, 1993; Bailey, 2007). Štete na uskladištenom pasulju iznose 20-40 %, a ukoliko zaštita izostane, kroz nekoliko meseci prinos može potpuno propasti (Schmale *et al.*, 2002; Alvarez *et al.*, 2005; Paul *et al.*, 2009). Pored direktnih gubitaka u prinosu, štete mogu biti i kvalitativne - oštećen pasulj ima karakterističan neprijatan miris, neupotrebljiv je u ishrani i gubi tržišnu vrednost (Giga *et al.*, 1992; Abate & Ampofo, 1996).

2.1.2. Biologija pasuljevog žiška

Primarni domaćin pasuljevog žiška je pasulj, međutim može se razvijati i na drugim vrstama biljaka iz familije mahunarki (Fabaceae) (Labeyrie 1990; Delgado-Salinas *et al.*, 1999). *Acanthoscelides obtectus* započinje infestaciju na otvorenom polju, ali najveće štete pričinjava kada pasulj dospe u skladište (Baier & Webster, 1992). Ženke polažu jaja u grupicama ispod ili u blizini semena pasulja. Prvi larveni stupanj se ubušuje u seme pasulja u kome završi celokupno razviće. U jedno zrno se može ubušiti i do 45 larvi, usled čega dolazi do kompeticije (Tucić *et al.*, 1997). Larve su bele boje, zakrivljene, zaobljenog tela i bez nogu (Slika 1). Larva završi celokupno razviće u jednom zrnu pasulja. Poslednji larveni stupanj buši zrno do semenjače i pravi „prozorčić“ kroz koji će imago izaći (Hill, 1990). Stadijum lutke traje 1-2 dana, nakon

čega eklodira imago. Odrasle jedinke pasuljevog žiška ne koriste pasulj kao hranu, niti su im potrebni hrana i voda da bi se razmnožavali (Tucić *et al.*, 1997). Imaga su ovalnog oblika, 2-3 mm dužine, brao-crne boje sa svetlim mrljama na pokrlicima (Hill, 1990). *Acanthoscelides obtectus* je multivoltna vrsta (ima više od 2 generacije godišnje), čiji broj generacija zavisi od raspoložive hrane (Alvarez *et al.*, 2005). Osim hrane, za uspešan razvoj pasuljevog žiška neophodni su i povoljni uslovi temperature i vlage. Optimalna temperatura za razvoj pasuljevog žiška je 30,3 °C, dok donji i gornji temperaturni prag razvića iznose 11,1 i 36,1 °C respektivno (Soares *et al.*, 2015).



Slika 1. Razvojni stadijumi pasuljevog žiška: A - jaja; B - larva; C - lutka; D - „prozorčići”; E - ženka; F - mužjak; G - oštećen pasulj (foto: S. Jevremović)

2.1.3. Suzbijanje pasuljevog žiška u skladištu

Mere suzbijanja pasuljevog žiška u skladištima se mogu podeliti na fizičke, hemijske i biološke.

Fizičke mere podrazumevaju mehaničko uklanjanje ili uništavanje odraslih jedinki i zaraženog pasulja. Prosejavanje je mera koja se može koristiti da se uklone odrasle jedinke. Hlađenjem ili zagrevanjem skladišta se menja temperatura i remete optimalni uslovi za razviće. Zagrevanjem uskladištene robe do 50 °C na nekoliko minuta može potpuno uništiti skladišne insekte. Upotrebom jonizujućeg zračenja, koje

se u nekim zemljama koristi kao mera suzbijanja, a u nekim kao karantinska mera, može se postići 100 % smrtnost skladišnih insekata (Mohapatra *et al.*, 2015). Menjanje uslova sredine u skladištima, povećanjem koncentracije CO₂ ili N₂ može se onemogućiti rast i razviće insekata (Navarro, 2012). Povećanjem koncentracije N₂ na 100 % pri temperaturi vazduha od 25 °C i vlažnosti vazduha od 70 %, postiže se 100 % smrtnost svih stadijuma pasuljevog žiška kroz 1-9 dana (Ofuya & Reichmuth, 1993).

Hemijske mere suzbijanja štetnih skladišnih insekata podrazumevaju upotrebu hemijskih fumiganata i kontaktnih insekticida. Upotreba ovih jedinjenja ima nekoliko negativnih strana kao što su opasnost po zdravlje ljudi, evolucija rezistentnosti insekata i zagađenje životne sredine (Mossa, 2016). Uprkos tome, sintetički insekticidi se i dalje koriste kao najefikasniji metod za suzbijanje štetnih insekata u skladištima. Za suzbijanje pasuljevog žiška u skladištima koriste se sledeći sintetički insekticidi: fosfin, etil-format, sulfuril-fluorid, karbonil-sulfid, malation, dihlorvos, fenitrotion i piretroidi (Mohapatra *et al.*, 2015).

Mnoge negativne posledice upotrebe hemijskih jedinjenja za suzbijanje skladišnih štetočina su uticale na to da počnu da se istražuju prirodna jedinjenja, kao alternativa sintetičkim insekticidima. Prirodna jedinjenja, koja se koriste kao bioinsekticidi, prema poreklu mogu biti: sekundarni metaboliti i insekticidni proteini biljaka i mikroorganizama, korisna entomofauna (predatori i parazitoidi), mikroorganizmi, entomopatogene nematode, inertni prahovi i dr. (Carlini & Grossi-de-Sá, 2002; Stathers *et al.*, 2004; Copping, 2009; Bravo *et al.*, 2011; Mazid *et al.*, 2011; Lazarević *et al.*, 2018).

Istraživanja o uticaju parazitoida na suzbijanje pasuljevog žiška su dala obećavajuće rezultate. Ispitan je uticaj tri parazitoidne vrste (*Dinarmus basalis* Ashmead, *Anisopteromalus calandrae* Howard i *Heterospilus prosopidis* Viereck) iz reda Hymenoptera na pasuljevog žiška u skladišnim uslovima. Najduži reproduktivni period i najveći broj potomaka ostvarila je parazitoidna vrsta *D. basalis*, koja je i pokazala najveći potencijal za suzbijanje *A. obtectus* (Schmale *et al.*, 2001). Daljim ispitivanjem vrste *D. basalis* na malim farmama u Kolumbiji, Schmale *et al.* (2006) su utvrdili da ova vrsta može da redukuje populaciju pasuljevog žiška u visokom procentu (88 - 97 %).

Kosmopolitski rasprostranjena entomopatogena gljiva *Beauveria bassiana* ima sposobnost da inficira, kolonizuje i konačno ubije insekta domaćina (Valero-Jiménez *et al.*, 2016). Crespo *et al.* (2002) su pokazali da 0,01 % vodena suspenzija *B. bassiana* (4×10^6 konidija/ml) izaziva smrtnost 22 do 44 % imaga *A. obtectus*, u zavisnosti od medijuma na kojem se gljiva razvijala. Značajno jači efekat na mortalitet žižaka ostvarila je gljiva kada je gajena na medijumu sa n-heksadekanom u odnosu na medijum sa glukozom. Insekticidna aktivnost ove gljive zavisi i od oblika u kom se primenjuje. Dal Bello *et al.* (2006) su utvrdili da 6×10^7 konidija *B. bassiana*/10 imaga *A. obtectus* u formi praha izaziva preko 70 % smrtnosti, dok ista količina konidija gljive u vodenom rastvoru izaziva oko 10 % manju smrtnost.

Diatomejska zemlja (DZ) je inertni prah koji se uglavnom sastoji od amorfnog hidriranog silicijuma. U kontaktu sa kutikulom insekata, čestice DZ apsorbuju voštani sloj kutikule što uslovljava povećan gubitak vode, desikaciju i smrt (Ebeling, 1971). Primena 0,1 % w/w preparata na bazi DZ izazivalo je visok mortalitet (oko 90 %) imaga pasuljevog žiška na tretiranom pasulju 6 meseci nakon tretmana (Stathers *et al.*, 2004). Lazarević *et al.* (2018) su ispitali uticaj aluminijum oksida ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) različitih površina i veličine čestica na pasuljevog žiška. Utvrdili su da se prah F/O-1,2 pokazao kao najefikasniji kod ženki ($\text{LC}_{50} = 409,6$ ppm) i mužjaka ($\text{LC}_{50} = 330,4$ ppm) *A. obtectus* i da ima potencijala u suzbijanju ove štetočine.

U poslednje vreme, sve više se ispituje uticaj sekundarnih metabolita biljaka na suzbijanje *A. obtectus*. Rezultati mnogih istraživanja su pokazali da etarska ulja (EU) mogu delovati toksično, repelentno, kao i da mogu imati uticaja na fekunditet i kvalitet potomstva pasuljevog žiška (Papachristos & Stamopoulos, 2002a, 2002b, 2004; Jovanović *et al.*, 2007; Rojht *et al.*, 2012; Jumbo *et al.*, 2014; Bett *et al.*, 2016). Utvrđeno je da EU biljaka *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Eucalyptus globulus* Labill., *Juniperus oxycedrus* L., *Lavandula hybrida* L., *Mentha microphylla* L., *Mentha viridis* L., *Origanum vulgare* L., i *Apium graveolens* L., poseduju repelentno dejstvo prema ženkama pasuljevog žiška. Osim repelentnog efekta, EU biljaka *M. microphylla* i *M. viridis* ispoljavaju dobru fumigantnu toksičnost na imaga ovog insekta (Papachristos & Stamopoulos, 2002a). Papachristos & Stamopoulos (2002b, 2004) su konstantovali da EU *R. officinalis*, *L. hybrida* i *E. globulus* ispoljavaju visoku toksičnost na jaja i larve *A. obtectus*. Jovanović *et al.* (2007) su utvrdili da EU biljaka *Urtica*

dioica L., *Taraxacum officinale* L., i *Achillea millefolium* L., poseduju insekticidno i repellentno delovanje na imaga pasuljevog žiška, kao i da smanjuju broj jedinki u F1 generaciji. Takođe, repellentno delovanje na pasuljevog žiška pokazala su i EU biljaka *Lavandula angustifolia* Mill., i *Ruta graveolens* L. (Rojht *et al.*, 2012). Jumbo *et al.* (2014) su utvrdili da EU *Syzygium aromaticum* L., i *Cinnamomum zeylanicum* L., poseduju repellentno i insekticidno dejstvo na *A. obtectus*, dok su Bett *et al.* (2016) pokazali da EU dobijena iz listova biljaka *Cupressus lusitanica* Mill., i *Eucalyptus saligna* Sm., deluju fumigantno toksično na imaga pasuljevog žiška.

2.2. Etarska ulja - sekundarni metaboliti biljaka

Etarska ulja predstavljaju kompleksne, prirodne smeše isparljivih jedinjenja specifičnog mirisa, koja se stvaraju u aromatičnim biljkama tokom sekundarnog metabolizma (Regnault-Roger *et al.*, 2012). Mogu se biosintetisati iz različitih biljnih organa, kao što su: cvetovi (pomoranza, lavanda), cvetni pupoljci (karanfilić), listovi (eukaliptus, žalfija, majčina dušica, nana, čubrica), plodovi (anis, morač), seme (koriander), kora drveta (cimet) i rizom (đumbir) (Dhifi *et al.*, 2016). Etarska ulja se stvaraju, nakupljaju i skladište u specijalizovanim histološkim organima - sekretornim žlezdama, koje se dele na spoljašnje i unutrašnje. Spoljašnje sekretorne žlezde se nalaze na površini biljke i u njih spadaju epidermalne papile i žlezdani trihomi, dok sekretorni kanali, šizogeni džepovi i ćelije sa intracelularnom sekrecijom pripadaju unutrašnjim sekretornim žlezdama (El Asbahani *et al.*, 2015). U svetu postoji oko 17500 vrsta aromatičnih biljaka koje se mogu naći širom sveta. Najznačajnije biljne familije koje stvaraju EU su Apiaceae, Asteraceae, Combretaceae, Geraniaceae, Gramineae i Lamiaceae, a pored njih su takođe značajne i sledeće familije: Myrtaceae, Meliaceae, Piperaceae, Rutaceae, Verbenaceae i Zingiberaceae (Mossa, 2016).

Etarska ulja se dobijaju iz sirovog biljnog materijala putem nekoliko ekstrakcionih metoda koje se mogu podeliti na konvencionalne i inovativne. Konvencionalne metode podrazumevaju upotrebu vodene destilacije zagrevanjem biljnog materijala da bi se ekstrahovala EU. Hidrodestilacija je najjednostavnija i najstarija konvencionalna metoda ekstrakcije. Prednost ove metode je što se voda ne meša sa većinom terpenskih molekula, pa se EU lako mogu razdvojiti od vode. Međutim, dugo vreme ekstrakcije (3-6 h), hemijska izmena terpenskih molekula nakon dugog kontakta sa ključalom vodom i gubitak nekih polarnih molekula u toku ekstrakcije su glavni nedostaci ove metode. Pored ove, u upotrebi su i sledeće konvencionalne metode: ekstrakcija vodenom parom, hidrodestilacija pomoću pritiska, destilacija pritiskom, hidrodifuzija, ekstrakcija organskim rastvaračem i hladno ceđenje. Inovativne metode imaju nekoliko prednosti, kao što su smanjenje vremena i energije koji su potrebni za ekstrakciju, povećanje prinosa ekstrakcije, kao i kvaliteta EU. Međutim, jedna od glavnih mana ovih metoda je to što se u ovim procesima koriste visoke temperature, a mnoge komponente EU su termolabilne. Inovativna metoda ekstrakcije superkritičnih fluida (SCFE) se bazira na principu upotrebe i recikliranja

fluida u fazama kompresije/dekompresije koje se ponavljaju. Intenzivnim zagrevanjem i kompresijom CO₂ dostiže superkrično stanje i kao takav prolazi kroz sirovi biljni materijal, nagomilanu gasovitu materiju i biljne ekstrakte. Nakon toga, ekstrakt se usmerava na jedan ili više separatora gde se CO₂ postepeno dekompresuje da bi se razdvojio dobijeni ekstrakt od fluida. Upotrebom ove metode dobijaju se EU koja su boljeg kvaliteta i biološki aktivnija. Međutim, visoka cena opreme, kao i njene instalacije i održavanja su glavne prepreke u korišćenju ove metode. Inovativne metode koje se takođe koriste su: ekstrakcija superkričnih fluida (SCFE), subkrična ekstrakcija tečnosti, ekstrakcija subkričnim CO₂, ekstrakcija pomoću ultrazvuka, ekstrakcija pomoći mikrotalasa i dr. (El Asbahani *et al.*, 2015).

2.2.1. Hemijski sastav etarskih ulja

Etarska ulja su prirodne smeše koje se sastoje od većeg broja komponenata, najčešće od 20 do 60, koje su u ulju zastupljene u različitim koncentracijama. Uglavnom se dve ili tri komponente nalaze u većim koncentracijama (20-70 %), dok se ostale komponente nalaze u tragovima (Bakkali *et al.*, 2008). Komponente EU se mogu podeliti u dve fitohemijske grupe: terpeni (monoterpeni i seskviterpeni male molekulske težine) i fenilpropanoidi (Bernards, 2010).

Terpeni predstavljaju veliku grupu prirodnih ugljovodonika, čija je osnovna jedinica građe izopren (2-metil-1,3-butadien) (El Asbahani *et al.*, 2015). Prema broju izoprenskih jedinica koje ulaze u njihov sastav dele se na: hemiterpene (1 izoprenska jedinica), monoterpene (2 izoprenske jedinice), seskviterpene (3 izoprenske jedinice), diterpene (4 izoprenske jedinice) i td. Najzastupljeniji tepeni u EU su monoterpeni (C₁₀H₁₆) i seskviterpeni (C₁₅H₂₄), koji se jednim imenom nazivaju terpenoidi (Zuzarte & Salgueiro, 2015). Biosinteza monoterpena se odvija u plastidima, putem metil eritritol fosfata, od koga nastaju prekursori izopentenil pirofosfat i dimetilalil pirofosfat. Kondenzacijom ovih prekursora pomoću geranil pirofosfat sintaze nastaju monoterpeni. S druge strane, seskviterpeni se formiraju u citoplazmi i formiraju se u toku mevalonatnog puta (Bernards, 2010). Monoterpeni su nazastupljenija jedinjenja EU i čine 90 % njihovog sastava. Prema hemijskim grupama koje se nalaze u njihovom sastavu mogu se podeliti na: karbure (mircen, ocimen, kamfen, sabinen itd.), alkohole (linalol, geraniol, mentol, borneol itd.), aldehide (geranial, neral itd.), ketone (karvon,

kamfor, tujon itd.), estre (propionat, mentil itd.), etre (1,8-cineol, mentofuran itd.) i fenole (timol, karvakrol itd.). Slično monoterpenima, u sastavu seskviterpena mogu se naći sledeće funkcionalne grupe: karburi (β -kariofilen, azulen itd.), alkoholi (bisabol, farnesol itd.), ketoni (germakron itd.) i epoksidi (kariofilen oksid, humulen epoksidi itd.) (Bakkali *et al.*, 2008).

Fenilpropanoidi su aromatična jedinjenja koja potiču od aminokiseline fenilalanin. Mnogi fenilpropanoidi, koji ulaze u sastav EU, su fenoli i fenolni estri. Sinteza fenilpropanoida se odvija preko šikiminske kiseline, dok su glavni prekursori cimanična i *p*-hidroksicinamična kiselina (Bernards, 2010; Zuzarte & Salgueiro, 2015). Aromatična jedinjenja su manje zastupljena u sastavu EU u odnosu na terpene i sastoje se od aldehida (cinamaldehyd), alkohola (cinamični alkohol), fenola (kavikol, eugenol), metoksi derivata (anetol, estragol itd.) i metilen dioksi jedinjenja (apiol, miristicin, safrol) (Bakkali *et al.*, 2008).

Metode koje se koriste za analizu EU zavise od njihovog hemijskog profila. Većina analize se zasniva na upotrebi hromatografskih metoda koje omogućavaju razdvajanje i identifikaciju komponenata EU (Zellner *et al.*, 2006). Dve metode koje su najčešće u upotrebi su gasno-tečna hromatografija (GLC) i gasna hromatografija-masena spektometrija (GC-MS). Gasno tečna hromatografija se zasniva na upotrebi raznih detektora za razdvajanje i identifikaciju komponenata, kao što su plameno jonizujući detektor (FID), detektor termalne konduktivnosti (TCD) i dr. GC-MS je metoda za identifikaciju komponenata EU poređenjem nepoznatog dela masenog spektra sa poznatim delom iz maseno spektrometerske biblioteke (Zellner *et al.*, 2010).

2.2.2. Biološka aktivnost etarskih ulja

Uloga EU u biljkama je da učestvuju u odbrambenim mehanizmima i signalnim procesima, i na taj način štite biljke od biljojeda i od štetnih mikroorganizama. Pored ovih funkcija, EU deluju privlačno na polinatore, sprečavaju suvišnu evaporaciju i učestvuju u alelopatskim interakcijama biljaka (Shaaya & Rafaeli, 2007; Zuzarte & Salgueiro, 2015).

Etarska ulja poseduju antibakterijske, antifungalne, antiviralne, antioksidativne, antikancerogene, insekticidne i druge osobine, zbog kojih se koriste u kozmetici, farmakološkoj i prehrambenoj industriji (Trivellini *et al.*, 2016).

Različita EU deluju antibakterijski na mnoge Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije. Etarska ulja *C. zeylanicum* i *S. aromaticum* poseduju visoku antibakterijsku aktivnost prema *Bacillus subtilis* (Gram+), *Staphylococcus aureus* (Gram+), *Escherichia coli* (Gram-) i *Salmonella typhimurium* (Gram-), dok EU *Pimpinella anisum* L., *Mentha haplocalyx* Briq., *Zanthoxylum bungeanum* Maxim., *Cymbopogon nardus* L., i *Cinnamomum camphora* L., prema ovim bakterijama ispoljavaju umereno antibakterijsko dejstvo (Tu *et al.*, 2018).

Etarska ulja *Cinnamomum cassia* Presl, *Litsea cubeba* Lour., *Cymbopogon martini* Roxb., i *Thymus mongolicus* Ronn., poseduju snažnu antifungalnu aktivnost prema toksigenim gljivama *Aspergillus flavus*, *Penicillium viridicatum* i *Aspergillus carbonarius* (Wang *et al.*, 2018). Dok, EU *O. vulgare*, *Cymbopogon citratus* DC., *T. vulgaris*, *Pelargonium graveolens* L'Her., *C. zeylanicum* i *Eugenia caryophyllata* Thunberg poseduju dobru antifungalnu aktivnost prema fitopatogenim gljivama *Trametes hirsuta* i *Laetiporus sulphureus* (Xie *et al.* 2017).

Utvrđeno je da EU *Hertia cheirifolia* L., koja potiču iz korena, listova, stabljike i cvetova ove biljke poseduju dobru antioksidativnu aktivnost (Majouli *et al.*, 2016). Takođe, dobru antioksidativnu aktivnost poseduju i EU *Mentha suaveolens* Ehrh., *Mentha rotundifolia* (L.) Huds, *Eucalyptus globulus* Labill., i *Laportea aestuans* Gaud (Sitzmann *et al.*, 2014; Brahmi *et al.*, 2016; Luis *et al.*, 2016; Oloyede, 2016).

Etarska ulja i njihove dominantne komponente ispoljavaju insekticidno dejstvo na veliki broj različitih vrsta insekata, kao i na različite razvojne stadijume insekata. Dobru rezidualnu kontaktnu toksičnost i repelentno dejstvo prema odraslim jedinkama *Tribolium castaneum* Herbst., *A. obtectus* i *Sitophilus zeamais* Motschulsky poseduju EU *Cupressus lusitanica* Miller i *Eucalyptus saligna* Smith (Bett *et al.*, 2017). EU iz rizoma biljke *Cyperus rotundus* L., deluje kontaktno toksično i repelentno na skladišne štetočine *Callosobruchus maculatus* F., *Oryzaephilus surinamensis* L., i *Trogoderma granarium* Everts (Janaki *et al.*, 2018). Kontaktno i rezidualno kontaktno delovanje na treći larveni stupanj *Trichoplusia ni* Hübner ispoljila su EU *Thymus vulgaris* i *S. aromaticum*, dok su EU *Litsea pungens* Hemsl., i *Ilex purpurea* Hassk., delovala fumigantno toksično (Jiang *et al.*, 2012). Kombinacija EU *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe i *E. globulus* poseduje ovicidno dejstvo na jaja *Pediculus humanus capitis* De Geer (Soonwera *et al.*, 2018). Insekticidno dejstvo na larve komarca *Aedes aegypti* L.,

poseduju EU *S. aromaticum*, *Illicium verum* Hook.f., i *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill (Pandiyana *et al.*, 2019).

2.2.3. Etarska ulja kao bioinsekticidi

Bioinsekticidi na bazi biljaka predstavljaju kompleksne smeše sekundarnih metabolita, dok se sintetički insekticidi obično sastoje od jedne aktivne materije (Miresmailli & Isman, 2014).

Etarska ulja na insekte deluju na različite načine: repelentno, insekticidno (kontaktno, fumigantno, ovoidno, larvicidno), antifidno (utiču na smanjenje ishrane insekata), mogu usporavati razviće insekata i smanjivati njihovu reproduktivnu sposobnost (Mossa, 2016). Mehanizmi delovanja EU i njihovih dominantnih komponenata najčešće se zasnivaju na inhibiciji acetolholinesteraze (Mills *et al.*, 2004; Lopez & Pascual-Villalobos, 2010), inhibiciji citohroma P450 (Belzile *et al.*, 2000), ometanju GABA receptora (Priestley *et al.*, 2003), i delovanju na receptore za oktopamin (Enan, 2001; 2005). Na primer, efekat inhibicije acetilholinesteraze (AChE) ispoljava fenhon dominantna komponenta EU *Foeniculum vulgare*, S-karvon dominantna komponenta EU *Mentha spicata*, kao i linalol dominantna komponenta EU *Citrus* spp (Mills *et al.*, 2004; Lopez & Pascual-Villalobos, 2010). Dominantna komponenta EU *Anethum sowa* Roxb. ex Fleming dilapiol i piperamidi dominantne komponente EU *Piper* spp., inhibiraju citochrome P450 kod insekata, koji su odgovorni za I fazu metabolizma ksenobiotika (Belzile *et al.*, 2000). Timol, dominantna komponenta EU *Thymus vulgaris*, se vezuje za GABA receptore i ometa funkcionisanje GABA sinapse (Priestley *et al.*, 2003), dok eugenol dominantna komponenta EU *S. aromaticum* i α -terpineol dominantna komponenta EU *Pinus silvestris* L., aktiviraju receptore za oktopamin kod ispitanih insekata (Enan, 2001; 2005).

Uopšteno govoreći, toksičnost EU za sisare je niska. Regnault-Roger *et al.* (2012) dele EU u tri grupe toksičnosti prema oralnoj LD₅₀ vrednosti na pacovima. Prvoj grupi pripada najveći broj EU i to su najmanje toksična EU čija oralna LD₅₀ vrednost iznosi između 2500 i 5000 mg EU/kg telesne mase (npr. EU kamilice, eukaliptusa, lavande itd.). Drugu grupu čine mali broj EU čija se oralna LD₅₀ vrednost nalazi u intervalu od 1000 do 2000 mg/kg (npr. EU origana, čajnog drveta itd.), dok u treću grupu spadaju EU čija je oralna LD₅₀ vrednost manja od 1000 mg/kg. Na primer, za

sisare je izuzetno toksično EU *Peumus boldus* Molina čija oralna LD₅₀ vrednost iznosi samo 130 mg/kg.

Bioinsekticidi na bazi etarskih ulja, u poređenju sa sintetičkim insekticidima, poseduju mnoge prednosti od kojih su najznačajnije niska toksičnost prema sisarima, povoljne ekotoksikološke osobine zbog niske perzistentnosti i višestruko delovanje na insekte zbog svog višekomponentnog sastava (Mossa, 2016). Međutim, glavni nedostaci su brza degradacija u poljskim uslovima, nedostatak dovoljne količine sirovina za proizvodnju EU homogenog hemijskog sastava i komplikovana procedura registracije za nove botaničke pesticide (Pavela & Benelli, 2016).

2.2.4. Insekticidna, antiovipoziciona aktivnost i uticaj na F1 generaciju etarskih ulja familije Lamiaceae

2.2.4.1. Etarsko ulje majčine dušice *Thymus vulgaris* (L.)

Majčina dušica (*Thymus vulgaris*) je aromatična višegodišnja biljka iz familije Lamiaceae koja se širom sveta koristi u medicini i kulinarstvu. Kosmopolitski je rasprostranjena, ali izvorno potiče iz zemalja Južne Evrope (Kuefe, 2017). Postoji nekoliko hemotipova EU majčine dušice, koji se razlikuju po svom hemijskom sastavu: geraniol hemotip (dominantne komponente (DK): geranil acetat i geraniol), limonen hemotip (DK: timol, (+)-limonen i karvakrol), linalol hemotip (DK: linalol), tujanol hemotip (DK: (E)-4-tujanol), timol hemotip (DK: timol) i karvakrol hemotip (DK: karvakrol i p-kumen) (Tisserand & Young, 2014).

Veliki insekticidni potencijal EU majčine dušice potvrđuju rezultati brojnih istraživanja. Utvrđeno je EU *T. vulgaris* ispoljilo fumigantno delovanje na mortalitet i ovipoziciju pasuljevog žiška (Regnault-Roger & Hamraoui, 1994). Topikala primena EU *T. vulgaris* na ženke *Musca domestica* značajno je smanjila piljenje larvi F1 generacije iz jaja koje su tretirane ženke položile. Dalje, vitalnost ispiljenih larvi bila je niska, dok je stopa mortaliteta tokom njihovog razvića bila visoka (> 80 %) (Pavela, 2007). Yang *et al.* (2010) su pokazali da EU *T. vulgaris* deluje kontaktno toksično na jaja, nimfe i lutke i repelentno na imaga *Bemisia tabaci* Gennadius biotip B. Takođe, utvrđeno je da EU *T. vulgaris* deluje kontaktno toksično (LD₅₀ = 250 µg/cm²) i repelentno na odrasle jedinke *Meligethes aeneus* Fabricius (Pavela, 2011a). Buentello-

Wong *et al.* (2016) su zaključili da EU *T. vulgaris* deluje digestivno toksično (LC₅₀ = 5347 ppm) na odrasle jedinke meksičke voćne mušice *Anastrepha ludens* Loew. Insekticidno dejstvo EU *T. vulgaris* (LC₅₀ = 45,73 mg/L) na larve komarca *Aedes aegypti* L., zabeležili su Rios *et al.* (2017), dok su Khosravi & Sendi (2013) utvrdili da EU *T. vulgaris* deluje insekticidno i ometa razviće larvi *Xanthogaleruca luteola* Müller.

Akutna toksičnost EU *T. vulgaris* za sisare je niska. Srednja letalna doza za oralnu primenu na pacovima iznosi 2840 mg/kg, a za dermalnu primenu na kunićima iznosi > 5000 mg/kg (Pavela & Benelli, 2016).

2.2.4.2. Etarsko ulje ruzmarina *Rosmarinus officinalis* (L.)

Ruzmarin (*R. officinalis*) je višegodišnja aromatična biljka koja se zbog svojih hranljivih i lekovitih svojstava koristi u tradicionalnoj medicini, prehrambenoj industriji i kozmetici. Biljka vodi poreklo iz mediteranske oblasti, ali je danas rasprostranjena širom sveta (Borges *et al.*, 2019). Postoji više hemotipova EU ruzmarina, koji se razlikuju prema svom sastavu, u zavisnosti od lokaliteta u kojem biljka raste: borneol hemotip (DK: 1,8-cineol, borneol i kamfor), bornil acetat hemotip (DK: α -pinen, bornil acetat, 1,8-cineol i kamfor), kamfor hemotip (DK: kamfor, 1,8-cineol i α -pinen), 1,8-cineol hemotip (DK: 1,8-cineol, kamfor i α -pinen), β -mircen hemotip (DK: β -mircen i α -pinen), α -pinen hemotip (DK: α -pinen, 1,8-cineol i kamfor) i verbenon hemotip (DK: kamfor, verbenon, α -pinen i 1,8-cineol) (Tisserand & Young, 2014).

U protekle dve decenije urađen je veliki broj istraživanja koja ispituju efekat EU ruzmarina na insekte. Utvrđeno je da EU *R. officinalis* poseduje fumigantno delovanje na mortalitet i fekunditet imaga (Papachristos & Stamopoulos, 2002a), kao i na jaja, lutke i larve pasuljevog žiška (Papachristos & Stamopoulos, 2002a; 2004). Takođe, fumigantnom primenom EU *R. officinalis* postignuta je potpuna inhibicija F1 generacije pasuljevog žiška (Regnault-Roger & Hamraoui, 1994). Prajapati *et al.* (2005) su pokazali da EU ruzmarina poseduje ovicidno i repelentno delovanje na tri vrste komaraca *Anopheles stephensi* Liston, *A. aegypti* i *Culex quinquefasciatus* Say. Repelentan efekat EU ruzmarina zabeležen je i na odraslim jedinkama *S. zeamais* (Nerio *et al.*, 2009) i *T. castaneum* (Caballero-Gallardo *et al.*, 2011). Khater *et al.* (2009) su ustanovili da EU ruzmarina deluje kontaktno toksično i repelentno na *Haematopinus tuberculatus* Burmeister. EU ruzmarina deluje digestivno toksično (LC₅₀

= 3664 ppm), topikalno kontaktno ($LD_{50} = 0,047 \mu\text{L}/\text{imagu}$) i fumigantno toksično ($LC_{50} = 16,73 \mu\text{L}$ ulja/L vazduha) na odrasle jedinke mediteranske voćne mušice *Ceratitis capitata* Wiedemann (Benelli *et al.*, 2012).

Etarsko ulje *R. officinalis* je praktično netoksično za sisare, jer vrednost LD_{50} za oranu primenu na pacovima iznosi $> 5000 \text{ mg/kg}$, dok vrednost LD_{50} za dermalnu primenu na kunićima iznosi $> 10.000 \text{ mg/kg}$ (Pavela & Benelli, 2016).

2.2.4.2. Etarsko ulje bosiljka *Ocimum basilicum* (L.)

Bosiljak (*O. basilicum*) je jednogodišnja zeljasta aromatična biljka, koja ima široku upotrebu u kulinarstvu kao začim, a koristi se i u tradicionalnoj medicini zbog svojih antimikrobnih svojstava. Vodi poreklo iz Azije, Afrike i suptropske oblasti, a danas se gaji širom sveta (Onofrei *et al.*, 2018). Hemijski sastav EU bosiljka varira u zavisnosti od dela sveta u kojem se biljka gaji (Padalia *et al.*, 2017). Postoji nekoliko hemotipova EU *O. basilicum*: estragol hemotip (DK: estragol), linalol hemotip (DK: linalol i eugenol) i metil cinamat hemotip (DK: metil cinamat i linalol) (Tisserand & Young, 2014).

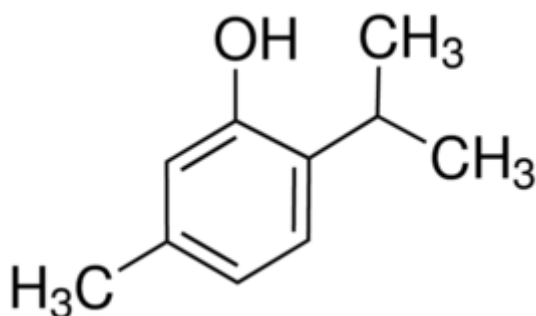
Rezultati mnogih istraživanja ističu toksično delovanje EU *O. basilicum* na razne vrste insekata. EU *O. basilicum* deluje fumigantno toksično na imaga pasuljevog žiška. Takođe, fumigantna primena ulja bosiljka inhibira ovipoziciju i broj žižaka u F1 generaciji pasuljevog žiška (Regnault-Roger & Hamraoui, 1994) i žiška kravljeg graška *C. maculatus* (Keita *et al.*, 2000). Fumigantno toksično delovanje EU *O. basilicum* utvrđeno je i prema odraslim jedinkama *C. maculatus* (Keita *et al.*, 2000), *B. tabaci* (Aslan *et al.*, 2004) i *Sitophilus oryzae* L. (Follett, *et al.*, 2014). Kostić *et al.* (2008) su zaključili da EU *O. basilicum* poseduje rezidualno toksično i antifidno dejstvo na gusenice drugog larvenog stupnja gubara *Lymantria dispar* L. Etarsko ulje *O. basilicum* ima larvicidan efekat na treći stupanj larvi komaraca *Culex tritaeniorhynchus* Giles, *Aedes albopictus* Skuse i *Anopheles subpictus* Grassi (Govindarajan *et al.*, 2013), na treći larveni stupanj skakavca *Schistocerca gregaria* Forskål (Mansour *et al.*, 2015) i na četvrti stupanj larvi komaraca *C. quinquefasciatus* (Benelli *et al.*, 2018). Buentello-Wong *et al.* (2016) su zaključili da EU *O. basilicum* deluje digestivno toksično ($LC_{50} = 8050 \text{ ppm}$) na odrasle jedinke meksičke voćne mušice *Anastrepha ludens* Loew.

Slično EU *R. officinalis*, i EU *O. basilicum* je praktično netoksično za sisare. Letalna doza za oranu primenu na pacovima iznosi > 5000 mg/kg, a za dermalnu primenu na kunićima iznosi > 5000 mg/kg (Pavela & Benelli, 2016).

2.2.5. Insekticidna, antiovipoziciona aktivnost i uticaj na F1 generaciju odabranih dominantnih komponenata

2.2.5.1. Timol

Timol (2-izopropil-5-metilfenol, Slika 2) je monoterpen fenol koji je zastupljen u EU biljaka porodice Lamiaceae, u rodovima *Thymus*, *Ocimum*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* i *Monarda* (Marchese *et al.*, 2016). Zbog svojih antimikrobnih, antioksidantnih i anti-inflamatornih svojstava timol se koristi u medicinske svrhe (Nagoor Meeran *et al.*, 2017).



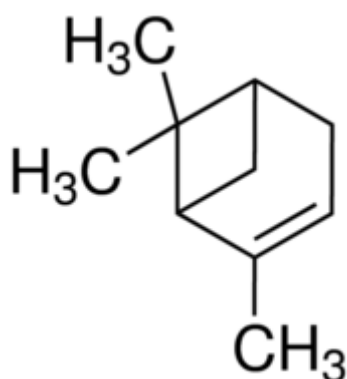
Slika 2. Strukturna formula timola (izvor: Internet)

Insekticidna svojstva timola su dokazana na insektima iz reda Coleoptera, Blattodea, Diptera i Lepidoptera. Regnault-Roger & Hamraoui (1995) su utvrdili da timol poseduje fumigantan toksičan efekat na imaga *A. obtectus* (red Coleoptera), kao i da utiče na smanjenje fekunditeta i broja žižaka u F1 generaciji. Allsopp *et al.* (2014) su zaključili da timol poseduje deterentan uticaj na ovipoziciju tripsa *Frankliniella occidentalis* (red Thysanoptera), dok su Bovornnanthadej *et al.* (2013) utvrdili da timol inhibira ovipoziciju pamukove sovice *Helicoverpa armigera*. Timol ispoljava kontaktno toksično delovanje na imaga azijske voćne mušice *Drosophila suzukii* Matsumura (red Diptera) (Park *et al.*, 2016) i na larve *T. ni* (red Lepidoptera) (Tak *et al.*, 2016a). Prema

rezultatima istraživanja Santos *et al.* (2017), timol poseduje kontaktno, ali i fumigantno toksično delovanje na *Cryptotermes brevis* Walker iz reda Blattodea. Insekticidan efekat timol ispoljava prema larvama komaraca *Culex pipiens molestus* Forskal (Traboulsi *et al.*, 2002) i *C. quinquefasciatus* (Pavela, 2015).

2.2.5.2. α -Pinen

Komponenta α -pinen je biciklični monoterpen (Slika 3) koji poseduje anti-inflamatorne, antioksidantne, antifungalne i antibakterijske osobine (Borges *et al.*, 2019). Ovaj monoterpen je zastupljen u tropskim, mediteranskim i četinarskim biljnim vrstama, u rodovima *Eucaliptus*, *Pinus*, *Quercus*, *Salvia* i mnogim drugim (Singh *et al.*, 2006).



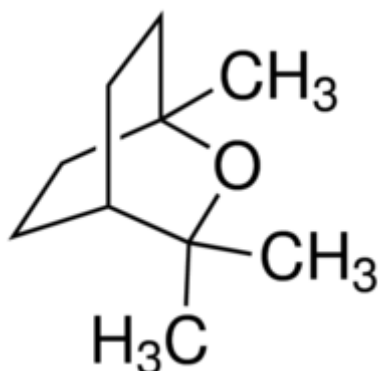
Slika 3. Strukturna formula α -pinena (izvor: Internet)

Insekticidna aktivnost α -pinena testirana je na mnogim skladišnim štetočinama. Utvrđeno je da α -pinen poseduje fumigantno dejstvo na imaga *A. obtectus*, kao i da inhibira ovipoziciju i broj žižaka u F1 generaciji (Regnault-Roger & Hamraoui, 1995). Plata-Rueda *et al.* (2018) su dokazali da α -pinen deluje kontaktno toksično i repelentno na odrasle jedinke *Sitophilus granarius* L. Shahriari *et al.* (2018) su otkrili da α -pinen značajno snižava aktivnost enzima acetilholinesteraze kod larvi *Ephestia kuehniella* Zeller. Alfa-pinen deluje kontaktno, fumigantno toksično i repelentno na imaga *T. castaneum* i *Lasioderma serricorne* F. (Cao *et al.*, 2019). Osim skladišnih štetočina, α -pinen ispoljava fumigantan toksičan efekat na odrasle jedinke pečurkine muve

Lycoriella mali Fitch (Choi *et al.*, 2006), kao i repelentnu aktivnost prema odraslim jedinkama kućne muve *Musca domestica* L. (Haselton *et al.*, 2015).

2.2.5.3. 1,8-Cineol

Komponenta 1,8-cineol je epoksidovani monoterpen (Slika 4) koji se u biljnom metabolizmu formira od α -terpineola. Posедуje anti-inflamatorne, antioksidantne, antidepresivne karakteristike, a deluje i na opuštanje glatkih mišića (Borges *et al.*, 2019). Ovo jedinjenje je zastupljeno u preko 200 različitih EU u koncentraciji manjoj od 10 %, dok se u većoj količini nalazi u EU eukaliptusa (*Eucalyptus plenissima*, *E. polybractea*, *E. globulus*, *E. smithii*, *E. maidenii* i dr.), EU ruzmarina (hemotipovi: α -pinen; kamfor; borneol; cineol), EU žalfije i mnogim drugim (Tisserand & Young, 2014).



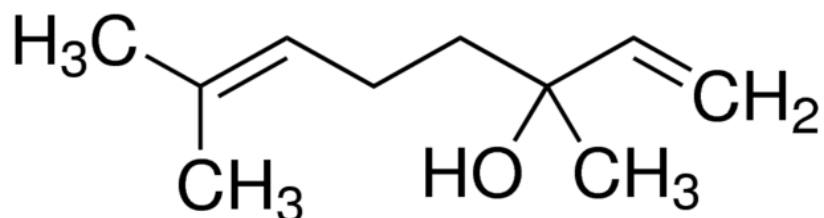
Slika 4. Strukturna formula 1,8-cineola (izvor: Internet)

Jedinjenje 1,8-cineol poseduje fumigantno, repelentno, ovcidno i larvicidno dejstvo na insekte. Lee *et al.* (2004) su utvrdili da 1,8-cineol deluje fumigantno toksično na odrasle jedinke *S. oryzae*, *T. castaneum* i *Rhyzopertha dominica* Fabricius. Osim što deluje fumigantno, 1,8-cineol deluje i repelentno na *T. castaneum* i *R. dominica* (Ukeh & Umoetok, 2011). Stamopoulos *et al.* (2007) su zaključili da 1,8-cineol poseduje fumigantnu toksičnost za jaja, larve, lutke i odrasle jedinke *Tribolium confusum* (du Val). Takođe, zapazili su da izlaganje ženki *T. confusum* isparenjima 1,8-cineola utiče na smanjenje njihovog fekunditeta. Kordali *et al.* (2007) su pokazali da 1,8-cineol deluje toksično na larve i imaga *Leptinotarsa decemlineata* Say. Ovo jedinjenje deluje

ovicidno na jaja, a takođe i kontaktno toksično i antifidantno na larve *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Spodoptera litura* (F.) i *Chilo partellus* Swinhoe (Koul *et al.*, 2013).

2.2.5.4. Linalol

Linalol je aciklični monoterpen (Slika 5) tercijarni alkohol koji se može naći u etarskim uljima velikog broja biljnih vrsta širom sveta, a posebno u familijama Lamiaceae (rod *Lavandula*), Lauraceae (rod *Cinnamomum*) i Apiaceae (rod *Coriandrum*). Koristi se u kozmetici (parfemi, šamponi), sredstvima za čišćenje i u prehrambenoj industriji (Pereira *et al.*, 2018). Linalol poseduje antimikrobna, antioksidantna i anti-imfamatorna svojstva (Sabogal-Guaqueta *et al.*, 2016).



Slika 5. Strukturna formula linalola (izvor: Internet)

Mnogi radovi potvrđuju toksičan efekat linalola na insekte. Regnault-Roger & Hamraoui (1995) su utvrdili da linalol inhibira ovipoziciju i broj novoizašlih jedinki pasuljevog žiška u F1 generaciji, dok su Mbata & Payton (2013) zaključili da 8,33 µL/L linalola potpuno inhibira ovipoziciju *C. maculatus*. Linalol takođe deluje: fumigantno toksično na odrasle jedinke *L. mali* (Choi *et al.*, 2006) i sve razvojne stadijume *T. confusum* (Stamopoulos *et al.*, 2007), repelentno na imaga *T. castaneum* i *R. dominica* (Ukeh & Umoetok, 2011), rezidualno kontaktno i antifidantno na larve *L. dispar* (Kostić *et al.*, 2008), kontaktno toksično i antifidantno na larve *H. armigera*, *S. litura* i *C. partellus* (Koul *et al.*, 2013), kontaktno i fumigantno toksično na imaga *L. serricornis* i *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Yang *et al.*, 2014).

2.3. Naučni cilj istraživanja i osnovne hipoteze

Osnovni cilj ovog istraživanja je utvrđivanje mogućnosti zaštite uskladištenog biljnog materijala od pasuljevog žiška, primenom sekundarnih biljnih metabolita, kako bi se izbegle sve negativne posledice koje sa sobom nose hemijski preparati, a pasulj sačuva od štetočine kakav je pasuljev žižak.

Ciljevi istraživanja su:

- Utvrditi rezidualno kontaktnu toksičnost EU majčine dušice, ruzmarina i bosiljka i njihovih odabranih komponenata (OK) timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na imaga pasuljevog žiška.
- Utvrditi uticaj tretirane podloge (staklo ili pasulj) i vremena isparavanja EU/OK na rezidualnu kontaktnu toksičnost koju primenjena EU/OK ispoljavaju prema pasuljevom žišku.
- Utvrditi uticaj ispitivanih EU i njihovih OK na brojnost imaga u F1 generaciji pasuljevog žiška, masu tretiranog pasulja i broj oštećenih zrna.
- Utvrditi uticaj ispitivanih EU i njihovih OK na ovipozicionu deterentnost i fekunditet ženki pasuljevog žiška
- Za najefikasnije EU i OK utvrditi subletalne i letalne koncentracije u tretmanu na pasulju.
- Za najefikasnije EU i OK utvrditi uticaj subletalnih i letalnih koncentracija na komponente adaptivne vrednosti i brojnost imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji.

Osnovne hipoteze:

- Etarska ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka i njihove OK (timol, α -pinen, 1,8-cineol i linalol) poseduju rezidualno kontaktnu toksičnost na imaga pasuljevog žiška.
- Etarska ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka i njihove OK (timol, α -pinen, 1,8-cineol i linalol) smanjuju broj novoizašlih jedinki pasuljevog žiška u F1 generaciji.
- Etarska ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka i njihove OK (timol, α -pinen, 1,8-cineol i linalol) utiču na ovipozicionu deterentnost i fekunditet ženki pasuljevog žiška.
- Određene doze najefikasnijeg EU i OK se mogu uspešno primeniti u suzbijanju pasuljevog žiška delovanjem na preživljavanje, kao i brojnost jedinki u sledećoj generaciji.
- Kako letalne, tako i subletalne doze EU i OK utiču na kvalitet potomstva pasuljevog žiška menjajući komponente adaptivne vrednosti.

3. MATERIJAL I METODE RADA

3.1. Test insekt

U ogledima su korišćene odrasle jedinice pasuljevog žiška gajene u staklenim teglama zapremine 720 ml na sorti belog pasulja Gradištanac koji nije bio izlagan uticaju insekticida (Slika 6). Tegle su čuvane u klima komori sa konstantnim uslovima temperature od 27 ± 1 °C i vlažnosti vazduha od $65 \pm 5\%$ Poljoprivrednog fakultetu u Zemunu i Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković”.



Slika 6. Klima komora sa teglama za gajenje pasuljevog žiška (foto: S. Jevremović)

3.2. Hemijska jedinjenja

3.2.1. Etarska ulja

Etarska ulja majčine dušice (*T. vulgaris*), ruzmarina (*R. officinalis*) i bosiljka (*O. basilicum*) su nabavljena od firme Sigma-Aldrich (<https://www.sigmaaldrich.com>).

3.2.2. Odabrane komponente

Odabrane komponente timol (EU *T. vulgaris*), α -pinen, 1,8-cineol (EU *R. officinalis*) i linalol (EU *O. basilicum*) su nabavljena od firme Sigma-Aldrich (<https://www.sigmaaldrich.com>).

3.2.3. Standard

Insekticid ACTELLIC 50 EC (pirimifos-metil 500 g/l, Syngenta) je korišćen kao standard za poređenje rezultata sa ispitivanim EU i odabranim komponentama u ogledima rezidualno kontaktne toksičnosti i u ogledima za F1 generaciju.

3.2.4. Rastvarači

U ogledima rezidualno kontaktne toksičnosti, ispitivanja uticaja EU i OK na brojnosti žižaka u F1 generaciji, ispitivanju uticaja EU i OK na fekunditet (test bez izbora), kao i u ogledu za ispitivanje ovipozicione deterentnosti (test dvostrukog izbora), korišćeni su alkoholni rastvori EU majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i alkoholni rastvori OK timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola u sledećim koncentracijama: 0,5; 1,0 i 1,5 %.

Kao rastvarač za pripremanje rastvora EU i OK u navedenim ogledima, korišćen je 96 % etanol, dok je u ogledima za određivanje letalnih i subletalnih koncentracija najefikasnijeg EU i OK, kao i u ogledima za ispitivanje uticaja najefikasnijeg EU i OK na brojnost potomaka i komponente adaptivne vrednosti imaga u F1 generaciji, kao rastvarač korišćen aceton. Za pripremanje rastvora ACTELLIC 50 EC-a korišćena je destilovana voda.

Kao kontrolna eksperimentalna grupa u ogledima rezidualno kontaktne toksičnosti na staklu, korišćen je 96 % etanol koji je primenjen na dno Petri šolje, dok je u ogledima rezidualno kontaktne toksičnosti na pasulju, ispitivanja uticaja EU i OK na brojnosti žižaka u F1 generaciji, ispitivanja uticaja EU i OK na fekunditet, kao i u ogledu za ispitivanje ovipozicione deterentnosti korišćen 96 % etanol koji je primenjen na zrna pasulja. Aceton je, kao kontrolna grupa, korišćen u ogledima za određivanje letalnih i subletalnih koncentracija najefikasnijeg EU i OK, kao i u ogledima za ispitivanje uticaja najefikasnijeg EU i OK na brojnost potomaka i komponente adaptivne vrednosti imaga u F1 generaciji.

3.3. Hemijska kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja

Kvalitativni i kvantitativni sastav EU majčine dušice, ruzmarina i bosiljka određen je gasnrohromatografskom-masenospektometrijskom (GC-MS) analizom u Institutu za multidisciplinarna istraživanja Univerziteta u Beogradu.

3.4. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a na odrasle jedinke pasuljevog žiška

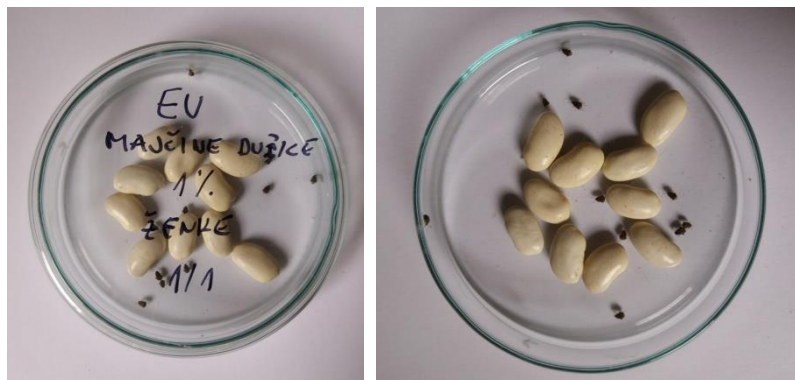
3.4.1. Ispitivanje rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a na pasuljevog žiška

Ispitivanje rezidualno kontaktne toksičnosti navedenih EU i OK vršeno je prema metodi Jovanović *et al.* (2007) sa određenim modifikacijama. U sledećim ogledima je ispitivan uticaj tretirane podloge i vremena isparavanja EU/OK i ACTELLIC 50 EC na preživljavanje pasuljevog žiška:

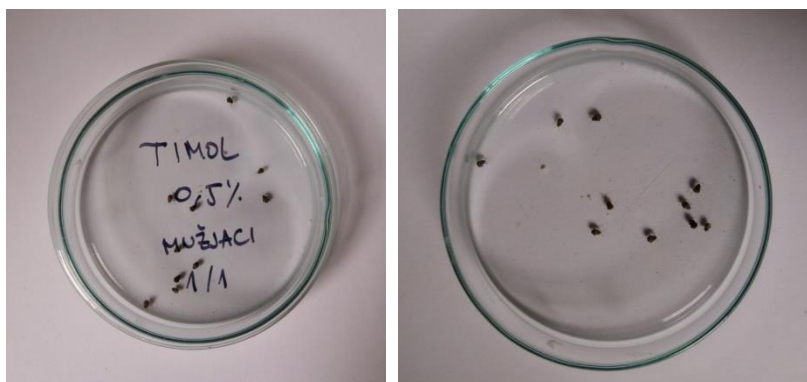
1. Ogled na pasulju - vreme isparavanja 20 minuta
2. Ogled na pasulju - vreme isparavanja 120 minuta
3. Ogled na staklu (staklenom dnu Petri šolje) - vreme isparavanja 20 minuta
4. Ogled na staklu (staklenom dnu Petri šolje) - vreme isparavanja 120 minuta

Postavljena su četiri ogleda rezidualno kontaktne toksičnosti na pasulju i staklu (Slike 7 i 8) u zavisnosti od dužine isparavanja rastvora EU i OK (20 i 120 minuta) sa površine tretiranog pasulja ili staklenog dna Petri šolje. U Petri šolju dimenzija 90 x 14 mm uneto je 10 g tretiranog pasulja ili je dno Petri šolje tretirano sa 300 μ l rastvora EU i OK u 96 % etanolu koncentracija 0,5 % (odgovara količini od 150 μ L EU/OK/kg pasulja, tj. 0,024 μ L EU/OK/cm² stakla), 1,0 % (300 μ L EU/OK/kg pasulja, tj. 0,048 μ L EU/OK/cm² stakla) i 1,5 % (450 μ L EU/OK/kg pasulja, tj. 0,072 μ L EU/OK/cm² stakla). Nakon isteka vremena isparavanja, u Petri šolju je uneto 10 mužjaka ili ženki pasuljevog žiška starosti 1 dan. Za svaku koncentraciju urađeno je 5 ponavljanja (Petri šolja). Kao negativna kontrola, primenjen je 96 % etanol, dok je kao pozitivna kontrola

primenjen ACTELLIC 50 EC u koncentraciji 0,00003 % (8 ml/t pasulja, tj. $1,41 \times 10^{-6}$ μL insekticida/ cm^2 stakla). Uginule jedinke su prebrojane 24, 48 i 72 sata nakon izlaganja tretiranoj staklenoj površini, odnosno tretiranom pasulju.



Slika 7. Ogledi rezidualno kontaktne toksičnosti na pasulju (foto: S. Jevremović)



Slika 8. Ogledi rezidualno kontaktne toksičnosti na staklu (foto: S. Jevremović)

3.4.2. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji

U staklene tegle zapremine 720 ml uneto je 100 g pasulja tretiranog EU ili OK u odgovarajućoj koncentraciji (0,5, 1,0 i 1,5 %), komercijalnim insekticidnom ACTELLIC 50 EC (standard, pozitivna kontrola), odnosno 96 % etanolom (negativna kontrola). Postavljena su dva nezavisna ogleda (Slika 9) u odnosu na dužinu isparavanja (20 ili 120 minuta) primenjenog sredstva (EU, OK, ACTELLIC 50 EC ili 96 % etanola) sa površine tretiranog pasulja. U svaku teglu je uneto 10 parova žižaka starosti 1 dan.

Ogledi su trajali 7 nedelja. Nakon 2 nedelje, žišci roditeljske generacije su uklonjeni prosejavanjem. Nakon 7 nedelja, prebrojani su novoizašli žišci sledeće generacije, oštećena i neoštećena zrna, a takođe je izmerena i masa pasulja. Svaka varijanta se sastojala od 5 ponavljanja.



Slika 9. Ogledi ispitivanja uticaja primenjenih sredstava na F1 generaciju pasuljevog žiška (foto: S. Jevremović)

3.4.3. Statistička analiza podataka za rezidualno kontaktnu toksičnost ispitivanih etarskih ulja, odabranih komponenata i ACTELLIC 50 EC-a na pasuljevog žiška, kao i njihov uticaj na F1 generaciju

Podaci o rezidualno kontaktnoj toksičnosti i razlici u brojnosti potomstva u F1 generaciji, broju oštećenih i neoštećenih zrna i masi pasulja nakon 7 nedelja obrađeni su pomoću softverskog paketa Statistica 7.0. (StatSoft, Inc). Za svaku eksperimentalnu grupu određene su srednje vrednosti (\bar{X}) i vrednosti standardne greške ($\pm SE$) izražene u procentima. Za ocenu uticaja vrste (EU/OK i ACTELLIC 50 EC) i koncentracije primenjenog sredstva na procenat mortaliteta, novoizašlih jedinki u F1 generaciji, broja oštećenih i neoštećenih zrna i mase pasulja nakon 7 nedelja, korišćena je jednofaktorska analiza varijanse na arkus-sinus transformisanim vrednostima procenata mortaliteta, broja oštećenih i neoštećenih zrna i mase pasulja nakon 7 nedelja, kao i log transformisanim vrednostima broja novoizašlih jedinki u F1 generaciji. Nakon jednofaktorske analize varijanse, za specifična poređenja između eksperimentalnih grupa primenjen je Dankanov post hoc test na nivou značajnosti 0,05.

3.5. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na polaganje jaja ženki pasuljevog žiška

3.5.1. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na fekunditet (test bez izbora) ženki pasuljevog žiška

U centar svake Petri šolje dimenzija 90 x 14 mm su postavljena 4 zrna pasulja prethodno tretirana istom koncentracijom (0,5, 1,0 i 1,5 %) EU ili OK, dok su kontrolana zrna tretirana 96 % etanolom (rastvarač) (Slika 10). Zrna pasulja tretirana EU, OK ili rastvaračem su ostavljena da isparavaju 20 minuta, pre unešenja u Petri šolju. U svaku Petri šolju je uneta jedna oplodena ženka pasuljevog žiška. Pre nego što se unesu u Petri šolju, ženke su držane zajedno sa mužjacima 48 časova da bi se osiguralo parenje. Ogljed je trajao 168 časova, s tim da je na svaka 24 časa pregledano koliko je jaja ženka položila. Svaka varijanta se sastojala od 20 ponavljanja.

Indeks ovipozicije je izračunat prema formuli $\% \text{OI} = [(\text{NC} - \text{NT}) / \text{NC}] \times 100$ gde NC i NT predstavljaju broj jaja položen na kontrolnim zrnima pasulja i zrnima tretiranim sa EO/DC (Chiluwal *et al.*, 2017).



Slika 10. Ogljed ispitivanja uticaja primenjenih sredstava na fekunditet ženki pasuljevog žiška (foto: S. Jevremović)

3.5.2. Ispitivanje uticaja etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na ovipozicionu deterentnost (test dvostrukog izbora) ženki pasuljevog žiška

U testu dvostrukog izbora (Slika 11) na suprotne krajeve Petri šolje dimenzija 90 x 14 mm su fiksirana dva štapića koja su imala funkciju prepreke koja sprečava mešanje zrna tretiranih EU ili OK i kontrolnih zrna pasulja tretiranih 96 % etanolom (rastvarač). Pasulj je bio tretiran istim koncentracijama EU ili OK kao i u testu bez izbora. Nakon 20 minuta isparavanja, iza svakog štapića, uz zid Petri šolje postavljena su 4 zrna pasulja tretirana EU/OK i rastvaračem. U centar svake Petri šolje je uneta 1 oplodena ženka pasuljevog žiška. Pre nego što su unete u Petri šolje, ženke su držane zajedno sa mužjacima 48 časova da bi se osiguralo parenje. Ogljed je trajao 168 časova, s tim da je na svaka 24 časa pregledano koliko je jaja ženka položila. Svaka varijanta se sastojala od 20 ponavljanja.

Ovipozicioni indeks deterentnosti je izračunat prema formuli $ODI = (NT - NC) / (NT + NC)$, gde NC i NT predstavljaju broj jaja položen na kontrolnim zrnima pasulja i zrnima tretiranim sa EO/DC. Vrednosti ovipozicionog indeksa deterentnosti se kreću u intervalu od -1.00 do +1.00. Ukoliko su vrednosti $ODI \leq -0,3$, to znači da EU i OK poseduju ovipoziciono deterentni efekat. Vrednosti ODI koje padaju između -0,3 i +0,3 označavaju neutralan efekat, dok vrednosti $\geq +0,3$ znače da ispitivane supstance imaju privlačan (atraktantan) efekat (Chiluwal *et al.*, 2017).



Slika 11. Ogljed ispitivanja uticaja primenjenih sredstava na ovipozicionu deterentnost ženki pasuljevog žiška (foto: S. Jevremović)

3.5.3. Statistička analiza podataka za uticaj ispitivanih etarskih ulja i odabranih komponenata na fekunditet i ovipozicionu deterentnost ženki pasuljevog žiška

Podaci o vrednostima indeksa ovipozicije i ovipozicionog deterentnog indeksa obrađeni su pomoću softverskog paketa Statistica 7.0. (StatSoft, Inc). Za svaku eksperimentalnu grupu određene su srednje vrednosti (\bar{X}) i vrednosti standardne greške ($\pm SE$) izražene u procentima. Za ocenu uticaja vrste (EU i OK) i koncentracije primenjenog sredstva na vrednostima indeksa ovipozicije i ovipozicionog deterentnog indeksa, korišćena je dvofaktorska analiza varijanse na arkus-sinus transformisanim vrednostima indeksa ovipozicije i ovipozicionog deterentnog indeksa. Nakon dvofaktorske analize varijanse, za specifična poređenja između eksperimentalnih grupa primenjen je Dankanov post hoc test na nivou značajnosti 0,05.

3.6. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na odrasle jedinke pasuljevog žiška

3.6.1. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na dužinu života pasuljevog žiška

U svaku teglicu zapremine 90 ml je stavljeno 10 grama pasulja i tretirano sa 300 μ l rastvora EU/OK, odnosno rastvarača. Nakon 2 minuta mućkanja i 20 minuta isparavanja u svaku teglicu je dodano po 10 ženki ili mužjaka starih 1 dan, a teglica je zatvorena platnenom krpom. Ispitivan je efekat različitih koncentracija EU majčine dušice (za ženke: 0,6; 0,7; 0,8; 0,85; 0,9; 0,95; 1 i 1,1 %, koje odgovaraju 180, 210, 240, 255, 285, 300 i 330 μ L ulja/kg pasulja respektivno; za mužjake: 0,4; 0,5; 0,55; 0,6; 0,65 i 0,75 %, koje odgovaraju 120, 150, 165, 180, 195 i 225 μ L ulja/kg pasulja respektivno) i timola (za ženke: 0,2; 0,3; 0,35; 0,4 i 0,5%, koje odgovaraju 60, 90, 105, 120 i 150 mg timola/kg pasulja respektivno; za mužjake: 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3 %, koje odgovaraju 30, 45, 60, 75 i 90 mg timola/kg pasulja respektivno) na mortalitet nakon 24 časa kao i na dužinu života i dinamiku umiranja ženki i mužjaka pasuljevog žiška. Za svaki tretman i kontrolu analizirano je 5 ponavljanja.

3.6.2. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na brojnost i komponente adaptivne vrednosti imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji

U staklene teglice zapremine 200 ml stavljeno je po 20 grama pasulja koji je tretiran sa 600 μ l rastvora EU/OK, odnosno rastvarača (kontrola) (Slika 12). Sadržaj teglice je promućkan i ostavljen da isparava 20 minuta. Za svaku koncentraciju EU/OK i kontrolu je pripremljeno po 5 tegli (ponavljanja) u koje je u cilju reprodukcije i formiranja F1 generacije dodato po 5 parova jedan dan starih ženki i mužjaka. Nakon početka izleganja F1 generacije, svakodnevno do prestanka izleganja je određivan broj izleženih ženki i mužjaka. Po završetku izleganja je izmerena ukupna masa pasulja i zabeležen broj oštećenih zrna radi utvrđivanja procenta oštećenja. Za određivanje komponenti adaptivne vrednosti imaga formiran je slučajni uzorak od 30 parova ženki i mužjaka žižaka za svaki tretman i kontrolu. U staklene Petri šolje prečnika 5 centimetara je stavljen po jedan par i, u cilju stimulisanja polaganja jaja, jedno netretirano zrno pasulja. Za svaku ženu i mužjaka u paru je izmerena masa po izleganju. Svakodnevno se pratio broj uginulih jedinki i broj položenih jaja kako bi se odredili dužina života ženki i mužjaka i parametri fekunditeta ženki.



Slika 12. Ogljed ispitivanja uticaja subletalnih i letalnih koncentracija EU majčine dušice i timola na komponente adaptivne vrednosti imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji (foto: S. Jevremović)

3.6.3. Statistička analiza podataka za uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na dužinu života pasuljevog žiška i adaptivne vrednosti imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji

Uticaj EU majčine dušice i njegove DK timola na preživljavanje *A. obtectus* adulta

Radi utvrđivanja letalnih i subletalnih koncentracija EU majčine dušice i timola kod ženki i mužjaka pasuljevog žiška korišćena je probit analiza (Finney, 1971). Ovom analizom (PROC PROBIT, 9.3 SAS Institute 2010) smo utvrdili koncentracije ulja koje 24h nakon izlaganja u ogledu rezidualne kontaktne toksičnosti dovode do 5%, 50% i 99% mortaliteta (LC5, LC50 i LC99 respektivno). Odstupanje od modela je određivano Pirsonovim hi-kvadrat testom.

Prosečne vrednosti i standardne greške procenta preživljavanja 24h nakon tretmana i vremena preživljavanja jedinki pasuljevog žiška koji su bili tretirani sa EU majčine dušice i timolom su izračunate PROC MEANS procedurom u SAS softverskom paketu (9.3 SAS Institute 2010).

Za procenu uticaja koncentracije EU majčine dušice i DK timola na procenat preživljavanja 24h nakon tretmana i vreme preživljavanja jedinki pasuljevog žiška je korišćena je jednofaktorska analiza varijanse PROC GLM procedurom (9.3 SAS Institute 2010), dok su prosečne vrednosti ovih osobina između eksperimentalnih grupa upoređene post-hoc Duncan-ovim testom multipnih rangova i Dunnettovim testom za poređenje kontrolne eksperimentalne grupe sa tretiranim (PROC GLM, 9.3 SAS Institute 2010). Da bi se zadovoljili uslovi normalnosti raspodele i homogenosti varijanse, vrednosti ovih osobina su prethodno transformisane. Za vrednosti procenta preživljavanja 24h posle tretmana korišćena je transformacija arkus sinus kvadratnog korena, a vrednosti vremena preživljavanja su logaritmovane.

Da bi se utvrdilo šta je uzrok razlika u prosečnom vremenu preživljavanja između eksperimentalnih grupa urađena je analiza parametara mortaliteta u WinModest programu (Pletcher, 1999). Ove razlike mogu biti posledica različitog inicijalnog mortaliteta i/ili različite brzine starenja. Uzrasno-specifični mortalitet se predstavlja Gompercovom funkcijom:

$$u_x = ae^{bx}$$

gde u_x predstavlja uzrasno-specifični mortalitet (stopa mortaliteta u uzrastu x),

a je početni (uzrasno nespecifičan) mortalitet i

b je brzina starenja populacije tj. stepen eksponencijalnog povećanja mortaliteta.

Test logaritamskog indeksa verodostojnosti (engl. *log-likelihood ratio*) je primenjen za procenu značajnost razlika a i b parametara između kontrolne i tretiranih eksperimentalnih grupa.

Uticaj EU majčine dušice i njegove DK timola na jedinke *A. obtectus* F1 generacije

Procena efekta različitih koncentracija EU majčine dušice i DK timola na broj potomaka tretiranih roditelja pasuljevog žiška je urađena jednofaktorskom analizom varijanse i odgovarajućim post-hoc testovima (Duncan i Dunnett, PROC GLM, 9.3 SAS Institute 2010).

Procenat smanjenja broja novoizleglih jedinki je izračunat po sledećoj formuli (Ndomo *et al.*, 2008):

$$\% IR = (C_n - T_n) / C_n \times 100$$

gde % IR predstavlja procenat smanjenja (engl. *inhibition rate*),

C_n je prosečan broj izleženih F1 jedinki u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi i

T_n je prosečan broj izleženih F1 jedinki u tretiranoj eksperimentalnoj grupi.

Prosečne vrednosti i standardne greške adultnih komponenti adaptivne vrednosti ženki i mužjaka pasuljevog žiška F1 generacije čiji su roditelji bili u kontaktu sa zrnima pasulja tretiranim različitim koncentracijama EU majčine dušice i DK timola su izračunate PROC MEANS procedurom u SAS softverskom paketu (9.3 SAS Institute 2010).

Za procenu doprinosa pola, koncentracije EU majčine dušice i DK timola kao i njihove interakcije variranju mase i dužine života F1 potomaka tretiranih roditelja urađena je dvofaktorska analiza varijanse (PROC GLM, 9.3 SAS Institute 2010). Da bi se utvrdilo da li su razlike između eksperimentalnih grupa u dužini života posledica variranja u masi urađena je i dvofaktorska analiza kovarijanse gde je masa uzeta kao kovarijat. Takođe su urađene jednofaktorske analize varijanse za masu i dužinu života mužjaka, i masu, dužinu života i parametre fekunditeta kod ženki. Jednofaktorska analiza kovarijanse je primenjena na dužinu života ženki sa masom i ukupnim

fekunditetom kao kovarijatima i dužinu života mužjaka sa masom kao kovarijatom. Da bi se zadovoljili uslovi normalnosti raspodele i homogenosti varijanse, vrednosti dužine života su prethodno logaritmovane. Ostale osobine nisu transformisane. Prosečne vrednosti adultnih osobina životne istorije potomaka tretiranih roditelja između eksperimentalnih grupa upoređene su post-hoc testovima (Dunnnett i Duncan, PROC GLM, 9.3 SAS Institute 2010).

4. REZULTATI

4.1. Rezultati kvalitativnog i kvantitativnog hemijskog sastava korišćenih etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka

U EU majčine dušice zastupljeno je 15 komponenata (Tabela 1). Najzastupljenije komponente, timol (43,52 %) i p-cimen (31,65 %), čine 75,17 % ulja, dok je u preostalih 24,83 % zastupljeno 13 komponenata.

Tabela 1. Kvalitativni i kvantitativni sastav etarskog ulja majčine dušice (*Thymus vulgaris* L.) proizvođača Sigma-Aldrich

Br.	Rv (min)	Komponente	Sadržaj (%)
1	11.560	α -Pinen	2,69
2	12.326	Kamfene	0,68
3	13.425	β -Pinen	0,09
4	13.917	Mircen	1,60
5	15.092	p-Cimen	31,65
6	15.400	1,8-Cineol	1,29
7	16.588	γ -Terpinen	2,12
8	18.041	Linalol	5,38
9	19.436	Kamfor	1,47
10	20.234	Izoborneol	0,83
11	20.556	Borneol	2,08
12	21.053	Terpinen 4-ol	0,56
13	25.024	Timol	43,52
14	25.334	Karvakrol	5,11
15	35.423	Kariofilen-oksid	0,93
<i>Ukupno identifikovanih jedinjenja</i>			<i>100,0</i>

Rv - retenciono vreme

U EU ružmarina zastupljene su 23 komponente (Tabela 2). Najzastupljenije komponente, α -pinen (13,54 %), β -pinen (13,07 %), 1,8-cineol (22,08 %) i kamfor (13,85 %), sačinjavaju 62,54 % ulja, dok je u preostalim 37,46 % zastupljeno 19 komponenata.

Tabela 2. Kvalitativni i kvantitativni sastav etarskog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L.) proizvođača Sigma-Aldrich

Br.	Rv (min)	Komponente	Sadržaj (%)
1	11.338	Triciklen	0,25
2	11.560	α-Pinen	13,54
3	12.326	Kamfen	5,52
4	13.234	Sabinen	0,87
5	13.425	β-Pinen	13,07
6	13.917	Mircen	1,98
7	14.796	3-Karen	0,17
8	14.814	α -Tujen	0,68
9	15.092	p-Cimen	7,97
10	15.400	1,8-Cineol	22,08
11	16.748	4-Tujanol	0,15
12	17.800	Terpinolen	0,05
13	18.041	Linalol	1,38
14	19.436	Kamfor	13,85
15	20.556	Borneol	8,65
16	21.053	Terpinen 4-ol	1,53
17	21.462	α -Terpineol	2,55
18	21.777	Verbenon	0,24
19	25.148	Bornil-acetat	2,07
20	25.791	Izopinokarveol	0,13
21	29.013	α -Kopaen	0,19
22	30.468	β -Kariofilen	2,69
23	35.423	Kariofilen-oksid	0,31
<i>Ukupno identifikovanih jedinjenja</i>			<i>99,92</i>

Rv - retenciono vreme

U EU bosiljka zastupljeno je 26 komponenti (Tabela 3). Najzastupljenije komponente, linalol (20,58 %) i estragol (69,20 %), sačinjavaju 89,78 % ulja, dok je u preostalim 10,22 % zastupljeno 24 komponente.

Tabela 3. Kvalitativni i kvantitativni sastav etarskog ulja bosiljka (*Ocimum basilicum* L.) proizvođača Sigma-Aldrich

Br.	Rv (min)	Komponente	Sadržaj (%)
1	11.560	α -Pinen	0,23
2	13.115	5-hepten 2 on 6 metil	0,32
3	13.425	β -Pinen	0,09
4	13.917	Mircen	0,18
5	14.814	α -Tujen	0,03
6	15.092	p-Cimen	0,20
7	15.485	Limonen	0,43
8	16.152	Ocimen	0,08
9	16.775	Oktanol	0,09
10	17.368	Fenhon	0,03
11	18.041	Linalol	20,58
12	20.898	Mentol	0,26
13	21.682	Estragol	69,20
14	22.907	Nerol	0,07
15	23.096	Neral	0,52
16	23.800	Geraniol	0,11
17	24.131	Geranial	1,40
18	29.013	α -Kopaen	0,09
19	30.468	β -Kariofilen	0,29
20	30.919	Bergamoten	0,91
21	31.343	Farnezen	0,37
22	31.563	α -Humulen	0,34
23	33.154	β -Bisabolen	0,17
24	33.689	p-Metoksicinamaldehyd	0,62
25	34.152	α -Bisabolen	2,85
26	35.423	Kariofilen-oksidi	0,13
<i>Ukupno identifikovanih jedinjenja</i>			<i>99,59</i>

Rv - retenciono vreme

Timol je dominantna komponenta EU majčine dušice i nije prisutna u ostalim uljima. Komponente α -pinen i 1,8-cineol su dominantne za EU ruzmarina. Komponenta α -pinen je zastupljena i u EU majčine dušice i bosiljka, dok je komponenta 1,8-cineol zastupljena još samo u EU majčine dušice. Linalol je dominantna komponenta EU bosiljka, a nalazi se i u druga dva ulja. Komponente β -pinen, mircen, p-cimen i kariofilen-oksidi su zajedničke za sva tri ulja.

4.2. Rezidualno kontaktna toksičnost etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a na mortalitet pasuljevog žiška

4.2.1. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog pasulja, na mortalitet pasuljevog žiška

Etarsko ulje majčine dušice je jedino ulje koje je imalo uticaj na mortalitet oba pola pasuljevog žiška u ogledu SVI na pasulju (Tabela 4). Etarsko ulje ruzmarina i bosiljka nisu delovala na ženke, dok su na mužjake ispoljila minimalan efekat (< 5 %).

Najniža koncentracija (0,5 %) EU majčine dušice je izazvala nisku toksičnost kako na ženke tako i na mužjake pasuljevog žiška. Srednja koncentracija (1 %) je slabo delovala na ženke (4 % smrtnosti), dok je kod mužjaka izazvala 34 % mortaliteta na kraju ogleda. Najveći efekat na mortalitet oba pola imala je najviša koncentracija (1,5 %) EU majčine dušice, koja je kod ženki izazvala nizak mortalitet tokom celog ogleda (< 20 %), dok su mužjaci bili skoro 5 puta osetljiviji. Naime, nakon 24 h od izlaganja tretiranom pasulju, najviša koncentracija je izazvala 66 % mortaliteta mužjaka, koji se vremenom povećavao i na kraju ogleda iznosio 86 %. Najviša koncentracija ovog ulja se kod oba pola statistički značajno razlikovala od niže dve koncentracije (Dankanov test, $P < 0,05$).

Standardni preparat Actellic 50 EC je izazvao 100 % smrtnost oba pola pasuljevog žiška već nakon 24 h od izlaganja tretiranom pasulju.

Tabela 4. Procenat mortaliteta ženki i mužjaka *A. obtectus* 24, 48 i 72 h nakon izlaganja **pasulju** tretiranom etarskim uljima majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 20 minuta (SVI)

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet ženki u % nakon						Mortalitet mužjaka u % nakon					
		24 h		48 h		72 h		24 h		48 h		72 h	
		\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE
Majčina dušica	0,50	2,0	\pm 2,00b	2,0	\pm 2,00b	2,0	\pm 2,00b	0	\pm 0	4,0	\pm 2,45c	6,0	\pm 4,00c
	1,00	2,0	\pm 2,00b	4,0	\pm 4,00b	4,0	\pm 4,00b	8,0	\pm 2,00b	22,0	\pm 2,00b	34,0	\pm 2,45b
	1,50	16,0	\pm 2,45a	18,0	\pm 2,00a	18,0	\pm 2,00a	66,0	\pm 10,30a	74,0	\pm 7,48a	86,0	\pm 5,10a
Ruzmarin	0,50	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0
	1,00	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0
	1,50	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	2,0	\pm 2,00c	4,0	\pm 4,00c
Bosiljak	0,50	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0
	1,00	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0
	1,50	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	2,0	\pm 2,00c
ACTELLIC 50 EC	0,00003	100,0	\pm 0	100,0	\pm 0	100,0	\pm 0	100,0	\pm 0	100,0	\pm 0	100,0	\pm 0
Kontrola	0,00	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0	0	\pm 0
		$F_{2, 12} = 12,36$		$F_{2, 12} = 9,44$		$F_{2, 12} = 9,44$		$F_{1, 8} = 20,13$		$F_{3, 16} = 32,48$		$F_{4, 20} = 38,49$	
		P = 0,0012		P = 0,0034		P = 0,0034		P = 0,002		P < 0,0001		P < 0,0001	

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Dankanov test, P < 0,05)

4.2.2. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog pasulja, na mortalitet pasuljevog žiška

U poređenju sa prethodnim ogledom, produženo vremena isparavanja je uticalo na smanjenje procenta mortaliteta kod jedinki pasuljevog žiška oba pola. Od svih primenjenih EU, jedino je EU majčine dušice u najvišoj koncentraciji (1,5 %) ostvarilo minimala efekat na mortalitet imaga ženki i mužjaka (< 5 %) (Tabela 5).

Nakon 72 h od početka ogleda, EU majčine dušice je u 1,5 % koncentraciji dovelo je do 2 % smrtnosti ženki *A. obtectus*. Efekat najviše koncentracije EU majčine dušice na mužjake, zabeležen je već nakon 48 sati i izazvalo je 2 % smrtnosti, dok je na kraju ogleda ista koncentracija uzrokovala 4 % smrtnosti.

Efekat standardnog preparata Actellic 50 EC-a se nije menjao sa produženim vremenom isparavanja i već nakon 24 h je izazvao totalnu smrtnost jedinki oba pola pasuljevog žiška.

Tabela 5. Procenat mortaliteta ženki i mužjaka *A. obtectus* 24, 48 i 72 h nakon izlaganja **pasulju** tretiranom etarskim uljima majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 120 minuta (**PVI**)

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet ženki u % nakon						Mortalitet mužjaka u % nakon					
		24 h		48 h		72 h		24 h		48 h		72 h	
		\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE
Majčina dušica	0,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,50	0 ± 0		0 ± 0		2,0 ± 2,00		0 ± 0		2,0 ± 2,00		4,0 ± 2,45	
Ruzmarin	0,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
Bosiljak	0,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
ACTELLIC 50 EC	0,00003	100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0	
Kontrola	0,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Duncanov test, P < 0,05)

4.2.3. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog stakla, na mortalitet pasuljevog žiška

Efekat etarskih ulja primenjenih na staklu, na mortalitet žižaka, bio je veći u odnosu na ogled na tretiranom pasulju pri standardnom vremenu isparavanja.

Najizraženiji toksični efekat na oba pola pasuljevog žiška ispoljilo je EU majčine dušice, dok su EU ruzmarina i bosiljka ispoljila jako nisko dejstvo na prosečni mortalitet (< 4 %). Najniža koncentracija (0,5 %) EU majčine dušice nije ostvarila efekat na mortalitet kako ženki tako ni mužjaka (Tabela 6). Međutim, srednja primenjena koncentracija (1 %) je, već nakon 24 h, izazvala 86 i 94 % mortaliteta ženki i mužjaka respektivno. Mortalitet se tokom vremena povećavao i već nakon 48 h su svi mužjaci uginuli, dok su ženke bile nešto otpornije i na kraju ogleda ih je ostalo 2 % živih. Najviša koncentracija (1,5 %) EU majčine dušice i standard Actellic 50 EC izazvali su totalnu smrtnost oba pola pasuljevog žiška već 24 h od početka ogleda.

Tabela 6. Procenat mortaliteta ženki i mužjaka *A. obtectus* 24, 48 i 72 h nakon izlaganja **staklu** tretiranom etarskim uljima majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 20 minuta (SVI)

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet ženki u % nakon						Mortalitet mužjaka u % nakon					
		24 h		48 h		72 h		24 h		48 h		72 h	
		\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE
Majčina dušica	0,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,00	86,0 ± 9,27		92,0 ± 5,83		98,0 ± 2,00a		94,0 ± 6,00a		100,0 ± 0		100,0 ± 0	
	1,50	100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0	
Ruzmarin	0,50	0 ± 0		0 ± 0		2,0 ± 2,00b		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		2,0 ± 2,00b		2,0 ± 2,00a		2,0 ± 2,00a	
	1,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		2,0 ± 2,00b		2,0 ± 2,00a		4,0 ± 2,45a	
Bosiljak	0,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		2,0 ± 2,00a		2,0 ± 2,00a	
	1,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		2,0 ± 2,00a	
	1,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		2,0 ± 2,00a	
ACTELLIC 50 EC	0,00003	100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0	
Kontrola	0,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
						F _{1, 8} = 251,11		F _{2, 12} = 89,02		F _{2, 12} = 0		F _{4, 20} = 0,18	
						P < 0,0001		P < 0,0001		P = 1		P = 0,9451	

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Dankanov test, P < 0,05)

4.2.4. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog stakla, na mortalitet pasuljevog žiška

U ovom ogledu, kao i u ogledu PVI na pasulju, zapaža se smanjenje efikasnosti etarskih ulja na mortalitet jedinki oba pola *A. obtectus* u poređenju sa ogledima sa standardnim vremenom isparavanja.

Od svih testiranih ulja, efekat na mortalitet imaga pasuljevog žiška imalo je jedino EU majčine dušice (Tabela 7). Najniža primenjena koncentracija (0,5 %) nije imala efekta na mortalitet žižaka, dok je srednja koncentracija (1 %) izazvala minimalnu smrtnost (2 %) samo kod mužjaka. Najviša koncentracija (1,5 %) EU majčine dušice je jako slabo (2 % mortaliteta) delovala na ženke pasuljevog žiška, dok je kod mužjaka izazvala 28 % smrtnosti nakon 72 h. Između ove dve eksperimentalne grupe zabeležena je statistički značajna razlika (Dankanov test, $P < 0,05$). Za razliku od etarskih ulja, standard Actellic 50 EC je već nakon 24 h izazvao potpunu smrtnost jedinki oba pola pasuljevog žiška.

Tabela 7. Procenat mortaliteta ženki i mužjaka *A. obtectus* 24, 48 i 72 h nakon izlaganja **staklu** tretiranom etarskim uljima majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 120 minuta (**PVI**)

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet ženki u % nakon						Mortalitet mužjaka u % nakon					
		24 h		48 h		72 h		24 h		48 h		72 h	
		\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE
Majčina dušica	0,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		2,0 ± 2,00		2,0 ± 2,00b	
	1,50	0 ± 0		2,0 ± 2,00		2,0 ± 2,00		0 ± 0		0 ± 0		28,0 ± 9,16a	
Ruzmarin	0,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
Bosiljak	0,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
	1,50	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	
ACTELLIC 50 EC	0,00003	100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0		100,0 ± 0	
Kontrola	0,00	0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0		0 ± 0	

F_{1,8} = 14,60

P = 0,0051

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Duncanov test, P < 0,05)

4.3. Rezidualno kontaktna toksičnost odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a na mortalitet pasuljevog žiška

4.3.1. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog pasulja, na mortalitet pasuljevog žiška

Odabrana komponenta timol je ispoljila najveći uticaj na mortalitet jedinki oba pola pasuljevog žiška u ogledu SVI na tretiranom pasulju, dok su ostale OK izazvale jako mali efekat, u proseku do 4 % mortaliteta (Tabela 8).

Najniža primenjena koncentracija (0,5 %) timola je imala minimalan efekat na ženke, dok je kod mužjaka izazvala mortalitet od 12 % na kraju ogleda. Srednja koncentracija (1 %) je izazvala 8 i 38 % smrtnosti ženki i mužjaka respektivno, nakon 24 h od izlaganja tretiranom pasulju. U toku vremena, mortalitet je rastao i na kraju ogleda je iznosio 30 i 66 % za ženke i mužjake respektivno, tj. mužjaci su bili duplo osetljiviji od ženki. Rezultati Dankanovog post hoc testa su pokazali da je u odnosu na najnižu koncentraciju srednja koncentracija timola, nakon 72 h, izazvala značajno veći mortalitet kako ženki tako i mužjaka. Najviša koncentracija (1,5 %) timola, kao i standard Actellic 50 EC, izazvali su 100 % smrtnost oba pola pasuljevog žiška već nakon 24 h od izlaganja tretiranom pasulju.

Tabela 8. Procenat mortaliteta ženki i mužjaka *A. obtectus* 24, 48 i 72 h nakon izlaganja **pasulju** tretiranom odabranim komponentama timolom, α -pinenom, 1,8-cineolom, linalolom i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 20 minuta (**SVI**)

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet ženki u % nakon						Mortalitet mužjaka u % nakon					
		24 h		48 h		72 h		24 h		48 h		72 h	
		\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE
Timol	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b	2,0 \pm 2,00b	4,0 \pm 2,45b	12,0 \pm 4,90b						
	1,00	8,0 \pm 2,00	18,0 \pm 3,74	30,0 \pm 5,48a	38,0 \pm 3,74a	46,0 \pm 5,10a	66,0 \pm 9,80a						
	1,50	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0						
α -Pinen	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b	2,0 \pm 2,00b						
	1,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b						
1,8-Cineol	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b						
	1,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b	4,0 \pm 2,45b	4,0 \pm 2,45b						
Linalol	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,00	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b						
	1,50	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
ACTELLIC 50 EC	0,00003	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0						
Kontrola	0,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						

$F_{3,16} = 16,38$ $F_{2,12} = 36,65$ $F_{3,16} = 21,25$ $F_{6,28} = 17,98$
P < 0,0001 **P < 0,0001** **P < 0,0001** **P < 0,0001**

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Dankanov test, P < 0,05)

4.3.2. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog pasulja, na mortalitet pasuljevog žiška

U ogledu rezidualno kontaktne toksičnosti na pasulju, slično kao i u ogledu sa etarskim uljima na tretiranom pasulju, produženo vreme isparavanja smanjilo je toksične efekte OK na jedinke oba pola pasuljevog žiška.

Osim timola, nijedna druga OK nije delovala na mortalitet imaga pasuljevog žiška (Tabela 9). Najniža koncentracija (0,5 %) timola nije delovala na ženke, dok je kod mužjaka izazvala minimalnu smrtnost. Nizak mortalitet ženki (2 %) i mužjaka (18 %) dobijen je nakon 72 h izlaganja srednjoj koncentraciji (1 %) timola. Najviša koncentracija (1,5 %) je ostvarila i najveći efekat, ali se zapaža ogromna razlika u osetljivosti između ženki i mužjaka. Nakon 24 h od izlaganja tretiranom pasulju, najviša koncentracija timola je izazvala 10 i 88 % smrtnosti ženki i mužjaka respektivno, dok je na kraju ogleda uginulo skoro 4 puta više mužjaka nego ženki. Efekti najviše koncentracije su se statistički značajno razlikovali od efekata koncentracija 0,5 i 1 % (Dankanov test, $P < 0,05$).

Za razliku od OK, efekat standardnog preparata Actellic 50 EC-a se nije menjao sa produženim vremenom isparavanja, tj. izazvao je 100 % mortaliteta oba pola pasuljevog žiška.

Tabela 9. Procenat mortaliteta ženki i mužjaka *A. obtectus* 24, 48 i 72 h nakon izlaganja **pasulju** tretiranom odabranim komponentama timolom, α -pinenom, 1,8-cineolom, linalolom i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 120 minuta (**PVI**)

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet ženki u % nakon						Mortalitet mužjaka u % nakon					
		24 h		48 h		72 h		24 h		48 h		72 h	
		\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE
Timol	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b	8,0 \pm 3,74b						
	1,00	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00b	2,0 \pm 2,00b	6,0 \pm 2,45b	10,0 \pm 3,16b	18,0 \pm 7,35b						
	1,50	10,0 \pm 3,16	14,0 \pm 4,00a	26,0 \pm 2,45a	88,0 \pm 3,74a	94,0 \pm 4,00a	96,0 \pm 2,45a						
α -Pinen	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
1,8-Cineol	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
Linalol	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
ACTELLIC 50 EC	0,00003	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0						
Kontrola	0,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
		F _{1,8} = 6,33		F _{1,8} = 44,43		F _{1,8} = 84,50		F _{2,12} = 79,52		F _{2,12} = 45,14			
		P = 0,0361		P = 0,0002		P < 0,0001		P < 0,0001		P < 0,0001			

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Dankanov test, P < 0,05)

4.3.3. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog stakla, na mortalitet pasuljevog žiška

Odabrane komponente, primenjene na staklu, ispoljile su mnogo jači efekat na mortalitet imaga pasuljevog žiška u poređenju sa ogledom SVI na pasulju.

Komponente timol i linalol su ispoljile jaku toksičnost na jedinke oba pola pasuljevog žiška, dok su α -pinen i 1,8-cineol ostvarili nizak efekat na mortalitet, do 6 % (Tabela 10). Sve tri koncentracije timola su izazvale 100 % mortalitet ženki i mužjaka već 24 h od izlaganja tretiranom staklu. Linalol, odabrana komponenta EU bosiljka, nije imala efekta pri najnižoj koncentraciji (0,5 %). Međutim, srednja koncentracija (1 %) linalola je izazvala 46 i 74 % smrtnosti ženki i mužjaka respektivno, nakon 24 h od početka ogleda. Mortalitet je rastao u funkciji vremena i na kraju ogleda je iznosio 68 i 92 % za ženke i mužjake respektivno. Najviša koncentracija (1,5 %) linalola je, nakon 24 h od izlaganja, izazvala 74 i 94 % mortaliteta ženki i mužjaka pasuljevog žiška respektivno, dok je na kraju ogleda ≥ 90 % žižaka uginulo.

Standardni preparat Actellic 50 EC ostvario je 100 % smrtnosti već nakon 24 h od početka ogleda.

Tabela 10. Procenat mortaliteta ženki i mužjaka *A. obtectus* 24, 48 i 72 h nakon izlaganja **staklu** tretiranom odabranim komponentama timolom, α -pinenom, 1,8-cineolom, linalolom i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 20 minuta (SVI)

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet ženki u % nakon						Mortalitet mužjaka u % nakon					
		24 h		48 h		72 h		24 h		48 h		72 h	
		\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE
Timol	0,50	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0
	1,00	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0
	1,50	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0
α -Pinen	0,50	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0
	1,00	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	2,0	$\pm 2,00b$
	1,50	0	± 0	0	± 0	2,0	$\pm 2,00b$	0	± 0	2,0	$\pm 2,00c$	4,0	$\pm 2,45b$
1,8-Cineol	0,50	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0
	1,00	0	± 0	0	± 0	0	± 0	2,0	$\pm 2,00c$	2,0	$\pm 2,00c$	2,0	$\pm 2,00b$
	1,50	0	± 0	0	± 0	0	± 0	4,0	$\pm 2,45c$	4,0	$\pm 2,45c$	6,0	$\pm 4,00b$
Linalol	0,50	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0
	1,00	46,0	$\pm 9,27a$	64,0	$\pm 12,08a$	68,0	$\pm 9,69a$	74,0	$\pm 4,00b$	80,0	$\pm 3,16b$	92,0	$\pm 3,74a$
	1,50	76,0	$\pm 12,08a$	86,0	$\pm 9,27a$	90,0	$\pm 10,00a$	94,0	$\pm 4,00a$	96,0	$\pm 2,45a$	98,0	$\pm 2,00a$
ACTELLIC 50 EC	0,00003	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0	100,0	± 0
Kontrola	0,00	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0	0	± 0
		$F_{1,8} = 4,16$		$F_{1,8} = 1,81$		$F_{2,12} = 28,54$		$F_{3,16} = 81,45$		$F_{4,20} = 98,34$		$F_{5,24} = 75,97$	
		$P = 0,0758$		$P = 0,2151$		$P < 0,0001$		$P < 0,0001$		$P < 0,0001$		$P < 0,0001$	

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Dankanov test, $P < 0,05$)

4.3.4. Uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog stakla, na mortalitet pasuljevog žiška

Produženo vreme isparavanja primenjenih OK na staklu uticalo je na smanjenje njihove efikasnosti. Timol je jedina komponenta koja je ostvarila efekat na jedinke oba pola pasuljevog žiška, dok su ostale komponente bile neefikasne na ženke, a kod mužjaka je samo linalol izazvao minimalan efekat odnosno prosečni mortalitet je bio manji od 8 % (Tabela 11).

Najniža primenjena koncentracija (0,5 %) timola nije delovala na ženke, dok je kod mužjaka izazvala minimalnu toksičnost. Srednja koncentracija (1 %) je izazvala nisku smrtnost kako kod ženki (2 %) tako i kod mužjaka (12 %) pasuljevog žiška. Međutim, efekat najviše (1,5 %) koncentracije timola i standarda Actellic 50 EC-a se nije menjao, odnosno obe eksperimentalne grupe su izazvale potpuni mortalitet jedinki oba pola pasuljevog žiška.

Tabela 11. Procenat mortaliteta ženki i mužjaka *A. obtectus* 24, 48 i 72 h nakon izlaganja **staklu** tretiranom odabranim komponentama timolom, α -pinenom, 1,8-cineolom, linalolom i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 120 minuta (**PVI**)

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet ženki u % nakon						Mortalitet mužjaka u % nakon					
		24 h		48 h		72 h		24 h		48 h		72 h	
		\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE	\bar{X}	\pm SE
Timol	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00a	2,0 \pm 2,00a	2,0 \pm 2,00b						
	1,00	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00	2,0 \pm 2,00	2,0 \pm 2,00a	6,0 \pm 4,00a	12,0 \pm 3,74a						
	1,50	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0						
α -Pinen	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
1,8-Cineol	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
Linalol	0,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
	1,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	2,0 \pm 2,00a	2,0 \pm 2,00b						
	1,50	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	4,0 \pm 2,45a	8,0 \pm 2,00ab						
ACTELLIC 50 EC	0,00003	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0	100,0 \pm 0						
Kontrola	0,00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0						
						$F_{1,8} = 0$	$F_{3,16} = 0,36$	$F_{3,16} = 3,45$					
						$P = 1$	$P = 0,7818$	$P = 0,0419$					

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Dankanov test, $P < 0,05$)

4.4. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, i ACTELLIC 50 EC-a na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji

4.4.1. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog pasulja, na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji

Od svih primenjenih ulja, EU majčine dušice i bosiljka su delovala najefikasnije na smanjenje broja novoizašlih jedinki pasuljevog žiška, jer je najniža primenjena koncentracija (0,5 %) ovih ulja smanjila broj novoizašlih jedinki za više od 90 % u poređenju sa kontrolom, dok se u pasulju tretiranom srednjom (1 %) i najvišom (1,5 %) koncentracijom ovih ulja nije razvila nova generacija žižaka (Tabela 12). U pasulju tretiranom najnižom i srednjom koncentracijom EU ruzmarina, razvilo se 2 i 4 puta manje žižaka respektivno, u poređenju sa kontrolom. Međutim, izlaganje najvišoj koncentraciji (1,5 %) EU ruzmarina potpuno je onemogućilo izleganje jedinki F1 generacije. Isti efekat je imalo izlaganje žižaka pasulju tretiranom standardom Actellic 50 EC.

Najmanje oštećenih zrna pasulja utvrđeno je u pasulju tretiranom EU majčine dušice i bosiljka (Tabela 12). Minimalna oštećenja pasulja tretiranog ovim uljima zabeležena su samo pri najnižoj koncentraciji (0,5 %). Takođe, samo u pasulju tretiranom najnižom (0,5) i srednjom koncentracijom (1 %) EU ruzmarina zabeleženo je 15,8 i 9,5 % oštećenih zrna respektivno, a to je i dalje značajno manje u poređenju sa kontrolom (73 % oštećenih zrna). U pasulju tretiranom standardom Actellic 50 EC-om nije bilo oštećenja.

Nakon 7 nedelja, u pasulju tretiranom najnižom koncentracijom EU bosiljka i najnižom i srednjom koncentracijom EU ruzmarina došlo je do značajno manjeg gubitka u masi pasulja u poređenju sa kontrolom (Tabela 12). U ostalim eksperimentalnim grupama nije bilo promene u odnosu na početnu masu pasulja (100 g).

Tabela 12. Broj imaga *A. obtectus* F1 generacije, procenat oštećenog pasulja i masa pasulja 7 nedelja nakon izlaganja pasulju tretiranom **etarskim uljima** majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 20 minuta (SVI)

Primenjeno sredstvo (PS)	Koncentracija (%)	Broj žižaka F1 generacije nakon 7 nedelja		Oštećen pasulj u % nakon 7 nedelja		Masa pasulja u % nakon 7 nedelja	
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$		
Majčina dušica	0,50	0,2 ± 0,20b	0,1 ± 0,11b	100,0 ± 0			
	1,00	0 ± 0	0 ± 0	100,0 ± 0			
	1,50	0 ± 0	0 ± 0	100,0 ± 0			
Ruzmarin	0,50	83,6 ± 6,11cd	15,8 ± 0,80a	97,8 ± 0,42c			
	1,00	46,2 ± 2,62d	9,5 ± 0,66a	99,1 ± 0,12c			
	1,50	0 ± 0	0 ± 0	100,0 ± 0			
Bosiljak	0,50	9,0 ± 4,00a	2,7 ± 1,16c	100,0 ± 0,01a			
	1,00	0 ± 0	0 ± 0	100,0 ± 0			
	1,50	0 ± 0	0 ± 0	100,0 ± 0			
ACTELLIC 50 EC	0,00003	0 ± 0	0 ± 0	100,0 ± 0			
Kontrola	0,00	160,2 ± 26,25c	73,0 ± 3,83d	93,0 ± 1,66b			
		$F_{4,20} = 40,23$	$F_{4,20} = 41,93$	$F_{3,16} = 31,27$			
		P < 0,0001	P < 0,0001	P < 0,0001			

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Dankanov test, P < 0,05)

4.4.2. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog pasulja, na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji

Produženo vreme isparavanja je uticalo na smanjenje protektivnih sposobnosti etarskih ulja.

Broj novoizašlih žižaka u sve tri koncentracije EU ruzmarina je bio značajno manji u poređenju sa kontrolom (Dankanov test, $P < 0,05$). Najniža i srednja koncentracija EU ruzmarina su smanjile broj žižaka F1 generacije za oko 40 % u odnosu na kontrolu, dok je tretiran najvišom koncentracijom doveo do oko 70 % smanjenog broja izleženih žižaka u poređenju sa kontrolom (Tabela 13). Tretman uljima majčine dušice i bosiljka je takođe smanjio brojnost F1 generacije u poređenju sa kontrolom, ali statistički značajna razlika nije ostvarena. U pasulju tretiranom standardom Actellic 50 EC-om potpuno je inhibirano izleganje jedinki.

U pasulju tretiranom EU ruzmarina, u sve tri koncentracije, zabeležen je značajno manji procenat oštećenih zrna u poređenju sa kontrolom (Dankanov test, $P < 0,05$). Najmanje oštećenih zrna, 60 % manje u odnosu na kontrolu, utvrđeno je kod pasulja tretiranom najvišom koncentracijom EU ruzmarina (Tabela 13). Pasulj tretiran EU majčine dušice i bosiljka je u proseku bio manje oštećen u poređenju sa kontrolom, ali se procenat oštećenih zrna statistički nije značajno razlikovao od kontrole. Nikakva oštećenja se nisu mogla zabeležiti u pasulju tretiranom Actellic 50 EC-om.

Pasulj tretiran EU ruzmarina je najmanje izgubio na masi nakon 7 nedelja, ali su statistički značajne razlike utvrđene samo za srednju i najvišu koncentraciju ovog ulja (Dankanov test, $P < 0,05$). S druge strane, EU majčine dušice i bosiljka nisu ostvarila značajno bolji efekat od kontrole (Tabela 13). Nikakva promena u masi pasulja nije zabeležena u pasulju tretiranom standardom.

Tabela 13. Broj imaga *A. obtectus* F1 generacije, procenat oštećenog pasulja i masa pasulja 7 nedelja nakon izlaganja pasulju tretiranom **etarskim uljima** majčine dušice, ruzmarina, bosiljka i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 120 minuta (**PVI**)

Primenjeno sredstvo (PS)	Koncentracija (%)	Broj žižaka F1 generacije nakon 7 nedelja		Oštećen pasulj u % nakon 7 nedelja		Masa pasulja u % nakon 7 nedelja	
		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$	
Majčina dušica	0,50	224,2 ± 14,61cd		52,9 ± 1,74d		89,8 ± 0,46cd	
	1,00	231,8 ± 14,16cd		53,9 ± 2,45d		85,4 ± 0,37b	
	1,50	246,2 ± 9,91d		56,3 ± 2,76d		85,6 ± 0,42b	
Ruzmarin	0,50	170,4 ± 51,34b		36,0 ± 7,18c		90,7 ± 1,13c	
	1,00	170,2 ± 43,52bc		41,0 ± 6,14c		94,0 ± 0,51a	
	1,50	81,0 ± 8,01a		25,2 ± 1,77a		95,1 ± 0,42a	
Bosiljak	0,50	261,6 ± 20,09d		54,6 ± 2,38d		85,9 ± 0,99b	
	1,00	231,2 ± 12,07cd		69,6 ± 1,96b		88,5 ± 0,54d	
	1,50	204,0 ± 12,13bcd		56,1 ± 1,94d		90,4 ± 0,52cd	
ACTELLIC 50 EC	0,00003	0 ± 0		0 ± 0		100,0 ± 0	
Kontrola	0,00	293,2 ± 8,22d		63,4 ± 1,14bd		89,7 ± 0,48cd	
		$F_{9, 40} = 7,94$		$F_{9, 40} = 14,18$		$F_{9, 40} = 29,70$	
		P < 0,0001		P < 0,0001		P < 0,0001	

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Dankanov test, P < 0,05)

4.5. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola, i ACTELLIC 50 EC-a na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji

4.5.1. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola, i ACTELLIC 50 EC-a, nakon standardnog vremena isparavanja (SVI) sa tretiranog pasulja, na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji

Iz pasulja tretiranog najnižom koncentracijom timola i linalola izleglo se 97 % manje žižaka F1 generacije u poređenju sa kontrolom, dok se iz pasulja tretiranog srednjom i najvišom koncentracijom ovih komponenata nije izlegao nijedan žižak (Tabela 14). Oko 85 % manje žižaka naredne generacije, izleglo se iz pasulja tretiranog najnižom koncentracijom α -pinena i 1,8-cineola, dok se iz pasulja tretiranog srednjom koncentracijom ovih komponenata izleglo oko 98 % manje žižaka. Tretiranje pasulja najvišom koncentracijom ovih komponenata potpuno je inhibiralo izleganje žižaka F1 generacije. Statistički značajno smanjenje broja žižaka, u odnosu na kontrolu, utvrđeno je za sve eksperimentalne grupe (Dankanov test, $P < 0,05$). Potpuna inhibicija izleganja žižaka F1 generacije zabeležena je iz pasulja tretiranog standardom Actellic 50 EC-om.

Minimalan procenat oštećenja (< 1 %) zabeležen je kod pasulja koji je tretiran timolom i linalolom i to samo pri najnižoj koncentraciji (Tabela 14). S druge strane, pasulj tretiran najnižom koncentracijom α -pinena i 1,8-cineola bio je oko 70 % manje oštećen u odnosu na kontrolu, dok je pasulj tretiran srednjom koncentracijom imao preko 95 % manje oštećenih zrna. Najviše koncentracije α -pinena i 1,8-cineola potpuno su zaštitile pasulj od oštećenja. Prema rezultatima Dankanovog post hoc testa, sve eksperimentalne grupe sa tretiranim pasuljem su značajno smanjile procenat oštećenja u odnosu na kontrolu. Bez oštećenja bio je i pasulj tretiran Actellic 50 EC-om.

Nakon 7 nedelja, minimalna promena mase pasulja utvrđena je za pasulj tretiranom najnižom koncentracijom α -pinena i 1,8-cineola, dok je u ostalim eksperimentalnim grupama masa pasulja ostala nepromenjena (Tabela 14).

Tabela 14. Broj imaga *A. obtectus* F1 generacije, procenat oštećenog pasulja i masa pasulja 7 nedelja nakon izlaganja pasulju tretiranom odabranim komponentama timolom, α -pinenom, 1,8-cineolom, linalolom i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 20 minuta (SVI)

Primenjeno sredstvo (PS)	Koncentracija (%)	Broj žižaka F1 generacije nakon 7 nedelja		Oštećen pasulj u % nakon 7 nedelja		Masa pasulja u % nakon 7 nedelja	
		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$	
Timol	0,50	4,4 \pm 3,04a		1,1 \pm 0,64 a		100,0 \pm 0	a
	1,00	0 \pm 0		0 \pm 0		100,0 \pm 0	
	1,50	0 \pm 0		0 \pm 0		100,0 \pm 0	
α -Pinen	0,50	21,6 \pm 5,59b		6,4 \pm 1,51 b		99,5 \pm 0,16 b	
	1,00	1,2 \pm 1,20a		0,3 \pm 0,34 a		100,0 \pm 0	a
	1,50	0 \pm 0		0 \pm 0		100,0 \pm 0	
1,8-Cineol	0,50	21,8 \pm 3,35b		7,9 \pm 1,68 b		99,7 \pm 0,05 b	
	1,00	2,8 \pm 1,53a		1,1 \pm 0,60 a		100,0 \pm 0	a
	1,50	0 \pm 0		0 \pm 0		100,0 \pm 0	
Linalol	0,50	3,0 \pm 3,00a		0,9 \pm 0,90 a		100,0 \pm 0	a
	1,00	0 \pm 0		0 \pm 0		100,0 \pm 0	
	1,50	0 \pm 0		0 \pm 0		100,0 \pm 0	
ACTELLIC 50 EC	0,00003	0 \pm 0		0 \pm 0		100,0 \pm 0	
Kontrola	0,00	160,2 \pm 26,25c		27,0 \pm 3,83 c		93,0 \pm 1,66 c	
		$F_{6, 28} = 17,56$		$F_{6, 28} = 25,45$		$F_{6, 28} = 40,71$	
		P < 0,0001		P < 0,0001		P < 0,0001	

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Duncanov test, P < 0,05)

4.5.2. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola, linalola, i ACTELLIC 50 EC-a, nakon produženog vremena isparavanja (PVI) sa tretiranog pasulja, na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji

Produženo vreme isparavanja odabranih komponenata sa tretiranog pasulja, dovelo je do povećanja broja žižaka u F1 generaciji, povećanja procenta oštećenja pasulja, kao i smanjenja mase pasulja u poređenju sa ogledom sa standardnim vremenom isparavanja.

Statistički značajno smanjenje broja žižaka u poređenju sa kontrolom je zabeleženo kod pasulja tretiranog najvišom koncentracijom timola, srednjom i najvišom koncentracijom α -pinena, najnižom i srednjom koncentraciji 1,8-cineola, kao i srednjom koncentraciji linalola, dok se ostale eksperimentalne grupe nisu značajno razlikovale u odnosu na kontrolu (Tabela 15). U pasulju tretiranom standardom Actellic 50 EC-om nije se razvio ni jedan žižak F1 generacije.

U pasulju tretiranom α -pinenom i 1,8-cineolom došlo je do statistički značajnog smanjenja procenta oštećenja pasulja u poređenju sa kontrolom, dok je stepen oštećenja pasulja tretiranog timolom i linalolom bio sličan kao u kontrolnoj grupi (Tabela 15). U pasulju tretiranom standardom nije bilo oštećenja.

Nakon 7 nedelja, pasulj tretiran α -pinenom i 1,8-cineolom je značajno manje izgubio na masi u odnosu na kontrolu. Međutim, pasulj tretiran timolom i linalolom nije ostvario značajno bolji efekat od kontrole (Tabela 15). Pasulj tretiran Actellic 50 EC-om zadržao je prvobitnu masu (100 g).

Tabela 15. Broj imaga *A. obtectus* F1 generacije, procenat oštećenog pasulja i masa pasulja 7 nedelja nakon izlaganja pasulju tretiranom **odabranim komponentama** timolom, α -pinenom, 1,8-cineolom, linalolom i ACTELLIC 50 EC ostavljenom da isparava 120 minuta (**PVI**)

Primenjeno sredstvo (PS)	Koncentracija (%)	Broj žižaka F1 generacije nakon 7 nedelja		Oštećen pasulj u % nakon 7 nedelja		Masa pasulja u % nakon 7 nedelja	
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$		
Timol	0,50	282,8 ± 18,11bcd	80,4 ± 3,77e	89,8 ± 0,57bc			
	1,00	279,6 ± 11,30bcd	77,2 ± 1,78de	89,8 ± 0,31bc			
	1,50	193,8 ± 8,55a	70,8 ± 1,51cd	90,1 ± 0,25bcd			
α -Pinen	0,50	204,6 ± 22,75a	47,8 ± 2,13b	92,7 ± 0,51e			
	1,00	323,2 ± 22,35d	53,1 ± 0,58b	90,2 ± 0,48bcd			
	1,50	204,0 ± 17,82a	44,4 ± 3,49ab	92,2 ± 0,47e			
1,8-Cineol	0,50	227,4 ± 19,65ab	37,8 ± 5,92a	91,6 ± 0,74de			
	1,00	224,8 ± 30,45ab	46,2 ± 4,76ab	91,8 ± 0,92de			
	1,50	244,4 ± 14,12abc	46,8 ± 2,41ab	91,1 ± 0,52cde			
Linalol	0,50	276,0 ± 18,57bcd	75,6 ± 2,09de	87,8 ± 0,57a			
	1,00	224,2 ± 18,58ab	64,8 ± 2,40c	90,1 ± 0,60bcd			
	1,50	271,6 ± 16,82bcd	71,4 ± 2,44cd	89,2 ± 0,65ab			
ACTELLIC 50 EC	0,00003	0 ± 0	0 ± 0	100,0 ± 0			
Kontrola	0,00	293,2 ± 8,22cd	63,4 ± 1,14c	89,7 ± 0,48bc			
		$F_{12, 52} = 4,36$	$F_{12, 52} = 21,56$	$F_{12, 52} = 5,70$			
		P < 0,0001	P < 0,0001	P < 0,0001			

* Experimentalne grupe su poređene jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Dankanov test, $P < 0,05$)

4.6. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka na polaganje jaja kod ženki pasuljevog žiška

4.6.1. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka na fekunditet (test bez izbora) ženki pasuljevog žiška

Sva tri EU su uticala na smanjenje fekunditeta ženki pasuljevog žiška. Pri najnižoj koncentraciji (0,5 %) zabeležen je i najmanji efekat, posebno kod EU majčine dušice čiji je uticaj bio zanemarljiv. Najefikasnije ulje pri 0,5 % koncentraciji je bilo EU bosiljka koje je polaganje jaja kod ženki pasuljevog žiška inhibiralo za 19 % (Tabela 16). Etarsko ulje ruzmarina je najviše uticalo na smanjenje fekunditeta (42 %) pri srednjoj koncentraciji, dok je EU bosiljka najbolje delovalo pri najvišoj koncentraciji smanjivši fekunditet za 50,3 %. Rezultati dvofaktorske ANOVA-e su pokazali da se EU majčine dušice, ruzmarina i bosiljka značajno razlikuju u efektu na inhibiciju ovipozicije (značajan PS efekat, Tabela 16). Dankanov post hoc test je pokazao da su EU ruzmarina i bosiljka u proseku ostvarila značajno veću inhibiciju ovipozicije nego EU majčine dušice. U proseku, sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih EU dolazi do povećanja inhibicije ovipozicije (značajan K efekat, Tabela 16). Koncentracija 0,5 % je ostvarila značajno manji uticaj na fekunditet u odnosu na koncentracije 1 i 1,5 %, dok su efekti koncentracija 1 i 1,5 % međusobno slični. Ispitivana EU se međusobno razlikuju u relativnom porastu inhibicije ovipozicije sa porastom koncentracije (značajan efekat PS × K interakcije u Tabeli 16). Etarsko ulje majčine dušice, pri koncentraciji 0,5 %, ostvarilo je značajno manji uticaj na fekunditet u poređenju sa ostalim eksperimentalnim grupama, između kojih nije bilo razlike (Dankanov test, $P < 0,05$).

Tabela 16. Procenat **inhibicije ovipozicije** (IO; test bez izbora) pod uticajem **etarskih ulja** kod ženki *A. obtectus*

Primenjeno sredstvo (PS)	Koncentracija (%)	Inhibicija ovipozicije (%)		
		\bar{X}	\pm	SE
Majčina dušica	0,50	3,1	\pm 7,23b	
	1,00	38,6	\pm 9,37a	
	1,50	36,1	\pm 8,84a	
Ruzmarin	0,50	18,1	\pm 9,86a	
	1,00	42,0	\pm 7,14a	
	1,50	32,2	\pm 8,19a	
Bosiljak	0,50	19,0	\pm 12,56a	
	1,00	33,3	\pm 8,66a	
	1,50	50,3	\pm 5,05a	
PS		$F_{2, 144} = 11,77; \mathbf{P} < 0,0001$		
Koncentracija (K)		$F_{2, 144} = 4,05; \mathbf{P} = 0,0194$		
PS \times K		$F_{4, 144} = 2,83; \mathbf{P} = 0,0270$		

*Experimentalne grupe su poređene dvofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Duncanov test, $P < 0,05$)

4.6.2. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka na ovipozicionu deterentnost (test dvostrukog izbora) ženki pasuljevog žiška

Prema rezultatima dvofaktorske ANOVA-e, EU se u proseku značajno razlikuju u efektu deterentnosti, dok uticaj koncentracije, kao i interakcije ulja i koncentracija, nije bio značajan (Tabela 17). Dankanov post hoc test je pokazao da su ulja majčine dušice i bosiljka bila deterentnija od EU ruzmarina. Vrednosti ovipoziciono deterentnog indeksa za srednju i najvišu koncentraciju EU majčine dušice su niže od -0,3 , što znači da ulje majčine dušice pri ovim koncentracije ispoljava deterentni efekat na ženke pasuljevog žiška. Rezultati Dankanovog post hoc testa su pokazali da statistički značajne razlike postoje između srednje koncentracije EU majčine dušice i najviše koncentracije EU ruzmarina ($P = 0,0183$), između najviše koncentracije EU majčine dušice i najniže ($P = 0,0077$) i najviše koncentracije EU ruzmarina ($P = 0,0020$), kao i između najviše koncentracije EU ruzmarina i najniže ($P = 0,0390$) i srednje ($P = 0,0407$) koncentracije EU bosiljka.

Tabela 17. **Ovipozicioni deterentni indeks** (ODI; test sa dvostrukim izborom) prema **etarskim uljima** kod ženki *A. obtectus*. Vrednosti ODI $\leq -0,3$ označavaju da etarska ulja poseduju ovipozicioni deterentni efekat

Primenjeno sredstvo (PS)	Koncentracija (%)	Ovipozicioni deterentni indeks		
		\bar{X}	\pm	SE
Majčina dušica	0,50	-0,17	\pm	0,17abc
	1,00	-0,34	\pm	0,16ab
	1,50	-0,53	\pm	0,13a
Ruzmarin	0,50	0,17	\pm	0,18bc
	1,00	-0,22	\pm	0,16abc
	1,50	0,30	\pm	0,20c
Bosiljak	0,50	-0,28	\pm	0,19ab
	1,00	-0,27	\pm	0,18ab
	1,50	0,02	\pm	0,24abc
PS		$F_{2, 139} = 5,28; \mathbf{P} = \mathbf{0,0062}$		
Koncentracija (K)		$F_{2, 139} = 1,41; P = 0,2483$		
PS \times K		$F_{4, 139} = 1,46; P = 0,2181$		

*Experimentalne grupe su poređene dvofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Duncanov test, $P < 0,05$)

4.7. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na polaganje jaja kod ženki pasuljevog žiška

4.7.1. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na fekunditet (test bez izbora) ženki pasuljevog žiška

Sve OK su smanjile fekunditet ženki pasuljevog žiška. Međutim, prema rezultatima analize varijanse između samih OK nije bilo statistički značajnih razlika u uticaju na fekunditet (neznačajni efekat PS, Tabela 18). Značajne razlike nisu zabeležene ni između primenjenih koncentracija, kao ni za efekat interakcije odabranih komponenata i njihovih koncentracija (neznačajni efekti K i PS \times K, Tabela 18). Najveći efekat pri najnižoj koncentraciji ostvario je timol, koji je smanjio fekunditet ženki pasuljevog žiška za četvrtinu. Komponenta α -pinen je ispoljila najbolji efekat pri srednjoj koncentraciji, smanjivši fekunditet za polovinu, dok je 1,8-cineol izazvao sličan efekat pri najvišoj koncentraciji. Rezultati Dankanovog post hoc testa su pokazali da najniža koncentracija timola statistički značajno manje inhibira polaganje jaja od srednje koncentracije alfa-pinena ($P = 0,0186$). Između ostalih eksperimentalnih grupa nije bilo statistički značajnih razlika.

Tabela 18. Procenat **inhibicije ovipozicije** (IO; test bez izbora) pod uticajem **odabranih komponenata** kod ženki *A. obtectus*

Primenjeno sredstvo (PS)	Koncentracija (%)	Inhibicija ovipozicije (%)		
		\bar{X}	\pm	SE
Timol	0,50	26,4	\pm 9,13a	
	1,00	45,8	\pm 6,62ab	
	1,50	38,3	\pm 7,00ab	
α -Pinen	0,50	23,8	\pm 9,16ab	
	1,00	50,9	\pm 7,17b	
	1,50	38,5	\pm 5,81ab	
1,8-Cineol	0,50	17,5	\pm 14,92ab	
	1,00	40,7	\pm 5,70ab	
	1,50	45,9	\pm 6,82ab	
Linalol	0,50	9,7	\pm 13,42ab	
	1,00	40,7	\pm 7,32ab	
	1,50	43,0	\pm 6,60ab	
PS		F _{3, 172} = 0,42; P = 0,7380		
Koncentracija (K)		F _{2, 172} = 1,59; P = 0,2074		
PS \times K		F _{6, 172} = 0,83; P = 0,5460		

*Experimentalne grupe su poređene dvofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Duncanov test, P < 0,05)

4.7.2. Uticaj odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na ovipozicionu deterentnost (test dvostrukog izbora) ženki pasuljevog žiška

Deterentni efekat na ženke pasuljevog žiška ispoljile su najniže koncentracije timola i α -pinena, od kojih je α -pinen imao nešto izraženije dejstvo, ali statistički neznačajno (Tabela 19). Dvofaktorska ANOVA je pokazala da odabrane komponente, primenjene koncentracije, kao ni interakcija pomenuta dva faktora, nije značajno uticala na ovipozicionu deterentnost. Prema rezultatima Dankanovog post hoc testa pozitivni indeks deterentnosti linalola pri koncentraciji 0,5 % se statistički značajno razlikuje od negativnih indeksa određenih za timol ($P = 0,0325$) i alfa-pinen ($P = 0,0141$). Takođe, pozitivan indeks deterentnosti dobijen i za najvišu koncentraciju 1,8-cineola se značajno razlikuje od negativnog indeksa na najnižoj koncentraciji alfa-pinena ($P = 0,0401$). Između ostalih eksperimentalnih grupa nije bilo statistički značajnih razlika.

Tabela 19. **Ovipozicioni deterentni indeks** (ODI; test sa dvostrukim izborom) prema **odabranim komponentama** kod ženki *A. obtectus*. Vrednosti ODI $\leq -0,3$ označavaju da odabrane komponente poseduju ovipozicioni deterentni efekat

Primenjeno sredstvo (PS)	Koncentracija (%)	Oviposition deterrent index		
		\bar{X}	\pm	SE
Timol	0,50	-0,30	\pm	0,15ab
	1,00	0,04	\pm	0,18abc
	1,50	-0,24	\pm	0,18abc
α -Pinen	0,50	-0,40	\pm	0,15a
	1,00	-0,27	\pm	0,19abc
	1,50	-0,09	\pm	0,20abc
1,8-Cineol	0,50	-0,24	\pm	0,18abc
	1,00	-0,17	\pm	0,19abc
	1,50	0,17	\pm	0,22bc
Linalol	0,50	0,28	\pm	0,17c
	1,00	-0,09	\pm	0,14abc
	1,50	-0,07	\pm	0,27abc
PS		$F_{3, 178} = 1,44; P = 0,2322$		
Koncentracija (K)		$F_{2, 178} = 0,43; P = 0,6491$		
PS \times K		$F_{6, 178} = 1,74; P = 0,1149$		

*Experimentalne grupe su poredene dvofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti). Eksperimentalne grupe označene različitim slovom u koloni statistički su značajno različite (Duncanov test, $P < 0,05$)

4.8. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na odrasle jedinke pasuljevog žiška

4.8.1. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice na dužinu života pasuljevog žiška

Nakon 24 h izlaganja zrnima pasulja tretiranim EU majčine dušice utvrđeno je da LC₅; LC₅₀ i LC₉₉ vrednosti za ženke iznose 185,99; 255,05 i 398,63 µL ulja/kg pasulja respektivno, dok za mužjake te vrednosti iznose 129,87; 172,07 i 256,18 µL ulja/kg pasulja respektivno (Tabela 20). Razlike u vrednostima letalnih koncentracija ukazuju na razlike u osetljivosti ženki i mužjaka pasuljevog žiška prema EU majčine dušice. Ženke su manje osetljive na toksično dejstvo EU majčine dušice u poređenju sa mužjacima, odnosno potrebna je veća koncentracija EU da bi se izazvali toksični efekti.

Izlaganje pasulju tretiranom različitim koncentracijama EU majčine dušice je značajno uticalo na procenat preživljavanja ženki i mužjaka pasuljevog žiška (Tabele 21 i 22). Procenat preživljavanja se smanjivao sa porastom koncentracije. Najmanji efekat na procenat preživljavanja kod ženki je ostvarila koncentracija od 0,6 %, dok je kod mužjaka najmanji efekat ostvarila koncentracija od 0,4 %. Najmanji procenat preživelih ženki pasuljevog žiška zabeležen je pri 1,1 % koncentraciji EU majčine dušice, dok je kod mužjaka preživelo manje od 5 % jedinki na koncentraciji EU 0,75 %. Rezultati jednofaktorske ANOVA-e pokazuju da različite koncentracije EU majčine dušice veoma značajno utiču na procenat preživljavanja ženki ($F_{6, 28} = 13,63$; $P < 0,0001$) i mužjaka ($F_{5, 24} = 26,91$; $P < 0,0001$) pasuljevog žiška.

Izlaganje ženki i mužjaka pasuljevog žiška pasulju tretiranom različitim koncentracijama EU majčine dušice je imalo značajan efekat i na vreme preživljavanja jedinki (Tabele 21 i 22). Vreme preživljavanja se smanjivalo sa porastom koncentracije EU. Najniža primenjena koncentracija (0,6 %) kod ženki je u proseku produžila život za 1 dan, ali razlika u odnosu na kontrolu nije bila statistički značajna. Najniža primenjena koncentracija (0,4 %) EU majčine dušice kod mužjaka nije izazvala statistički značajno smanjenje vremena preživljavanja. Međutim, već sledeća primenjena koncentracija je značajno uticala na smanjenje vremena preživljavanja oba pola pasuljevog žiška. Nakon izlaganja najvišoj koncentraciji, ženke i mužjaci pasuljevog žiška su u proseku živeli

samo 1 dan. Prema rezultatima jednofaktorske ANOVA-e, različite koncentracije EU majčine dušice su veoma značajno uticale na vreme preživljavanja i ženki ($F_{7, 389} = 62,69$; $P < 0,0001$) i mužjaka ($F_{6, 338} = 43,08$; $P < 0,0001$) pasuljevog žiška.

Da bi se utvrdilo šta je uzrok razlika u prosečnom vremenu preživljavanja između eksperimentalnih grupa, podaci mortaliteta, nakon stresa, raščlanjeni su na inicijalni mortalitet (a) i brzinu starenja (b), tj. stepen eksponencijalnog povećanja mortaliteta. Krive preživljavanja za svaki pol i eksperimentalnu grupu su predstavljene na grafiku 1, a procena parametara mortaliteta za ove grupe je data u tabeli 23. S obzirom na to da je na većim koncentracijama EU uginuo veliki broj jedinki Gompercova analiza nije bila moguća. Za ženke pasuljevog žiška prikazani su rezultati za tri najniže primenjene koncentracije (0,6; 0,7 i 0,8 %). Sa porastom koncentracije EU došlo je do značajnog povećanja inicijalnog mortaliteta, odnosno ženke su sve ranije počinjale da umiru u odnosu na kontrolnu grupu. Ovaj porast inicijalnog mortaliteta je bio praćen značajnim usporavanjem starenja (smanjenje parametra b) u odnosu na kontrolne ženke (Grafik 1 A, Tabela 23). Statistički značajan efekat na parametre a i b ostvaren je za sve tri koncentracije. Najniža koncentracija EU majčine dušice nije uticala na vreme preživljavanja ženki što se može objasniti činjenicom da je efekat značajno većeg inicijalnog mortaliteta poništen značajnim usporavanjem umiranja. Međutim, iako je brzina umiranja ženki izloženih EU koncentracijama 0,7 i 0,8 % smanjena u odnosu na kontrolnu grupu, ove koncentracije dovode do velikog porasta inicijalnog mortaliteta koji je osnovni uzrok značajnog smanjenja vremena preživljavanja (Tabele 21 i 23).

Kod mužjaka pasuljevog žiška najniža primenjena koncentracija EU majčine dušice (0,4 %) nije značajno promenila kako parametre mortaliteta tako ni vreme preživljavanja. Nasuprot tome, vreme preživljavanja je značajno smanjeno na EU koncentracijama 0,5 i 0,55 % što je posledica značajnog porasta inicijalnog mortaliteta (Tabele 21 i 22). Na Grafiku 1B se takođe može uočiti da mužjaci počinju ranije da umiru i da je blaži nagib promene procenta preživljavanja tokom vremena.

Tabela 20. Rezultati probit analize kod **ženki** i **mužjaka** *Acanthoscelides obtectus* koji prikazuju koncentracije etarskog ulja **majčine dušice** (%) koje nakon 24h izlaganja u ogledu rezidualne kontaktne toksičnosti dovode do 5 %, 50 % i 99 % mortaliteta (LC₅, LC₅₀ i LC₉₉ respektivno). LC₅, LC₅₀ i LC₉₉ koncentracije su prikazane sa intervalom poverenja (CI, *engl.* confidence interval). Zavisnost mortaliteta od koncentracije esencijalnog ulja ne odstupaju značajno od probit distribucije (Pirsonov test: χ^2 , P)

	LC ₅	CI	LC ₅₀	CI	LC ₉₉	CI	χ^2	P
Ženke	0,62	0,57; 0,66	0,85	0,83; 0,88	1,33	1,23; 1,48	2,67	0,7505
Mužjaci	0,43	0,40; 0,46	0,57	0,56; 0,59	0,85	0,79; 0,95	0,82	0,9361

Tabela 21. Srednje vrednosti (\bar{X}) i standardne greške (SE) procenta preživljavanja nakon 24 h tretmana (P24) i vremena preživljavanja (VP) **ženki** pasuljevog žiška nakon tretmana etarskim uljem **majčine dušice**

Eksperimentalna grupa	P24 (%)		VP (dani)	
	$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$	
Kontrola	100,0 ± 0,00		9,36 ± 0,25	a
0,60 %	94,0 ± 0,04	a	10,34 ± 0,72	a
0,70 %	84,0 ± 0,06	a	7,42 ± 0,65	b, *
0,80 %	74,0 ± 0,07	ab	7,26 ± 0,79	b, *
0,85 %	50,0 ± 0,14	bc	4,36 ± 0,69	c, *
0,95 %	28,0 ± 0,11	cd	1,74 ± 0,24	d, *
1,0 %	20,0 ± 0,07	cd	1,86 ± 0,35	d, *
1,1 %	6,0 ± 0,04	d	1,06 ± 0,03	d, *

* Eksperimentalne grupe označene različitim slovima (a, b, c, d) se međusobno značajno razlikuju (Dankanov test, $P < 0,05$). Značajne razlike od kontrolne grupe su testirane Danetovim testom i prikazane zvezdicom ($P < 0,05$)

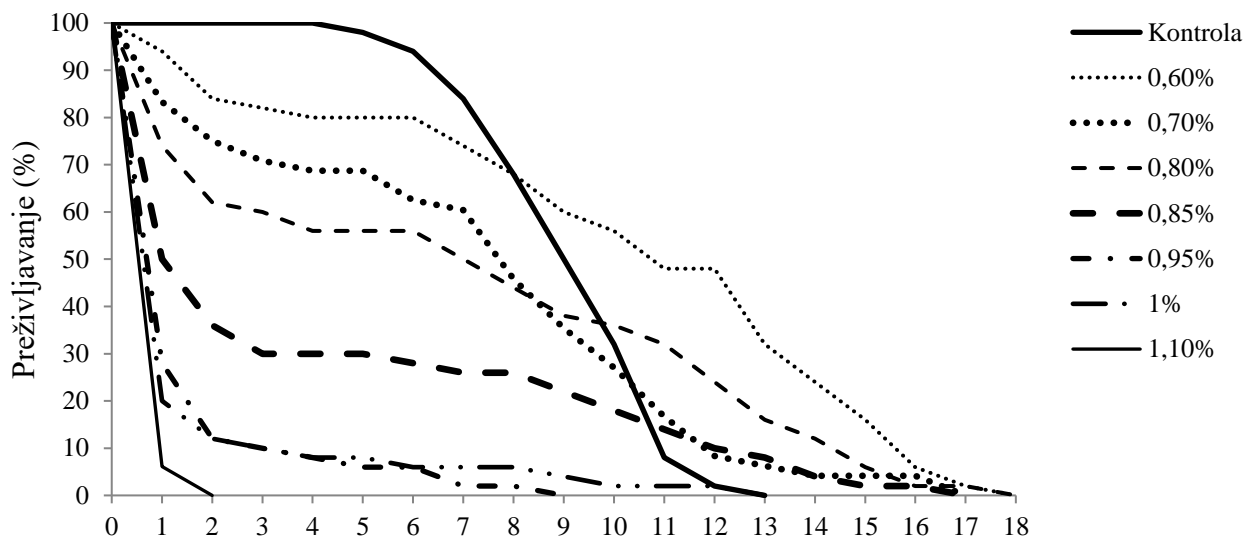
Tabela 22. Srednje vrednosti (\bar{X}) i standardne greške (SE) procenta preživljavanja nakon 24 h tretmana (P24) i vremena preživljavanja (VP) **mužjaka** pasuljevog žiška nakon tretmana etarskim uljem **majčine dušice**

Eksperimentalna grupa	P24 (%)		VP (dani)	
	$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$	
Kontrola	100,0 ± 0,00		7,30 ± 0,22	a
0,40 %	98,0 ± 0,02	a	6,78 ± 0,33	a
0,50 %	78,0 ± 0,09	b	5,33 ± 0,48	b, *
0,55 %	62,0 ± 0,04	bc	4,66 ± 0,53	b, *
0,60 %	38,0 ± 0,11	cd	3,24 ± 0,51	c, *
0,65 %	28,0 ± 0,08	d	2,84 ± 0,48	c, *
0,75 %	4,0 ± 0,04	e	1,16 ± 0,14	d, *

* Eksperimentalne grupe označene različitim slovima (a, b, c, d) se međusobno značajno razlikuju (Dankanov test, $P < 0,05$). Značajne razlike od kontrolne grupe su testirane Danetovim testom i prikazane zvezdicom ($P < 0,05$)

Grafik 1. Krive preživljavanja **ženki** (A) i **mužjaka** (B) pasuljevog žiška *A. obtectus* koji su bili tretirani različitim koncentracijama etarskog ulja **majčine dušice**

(A) Ženke



(B) Mužjaci

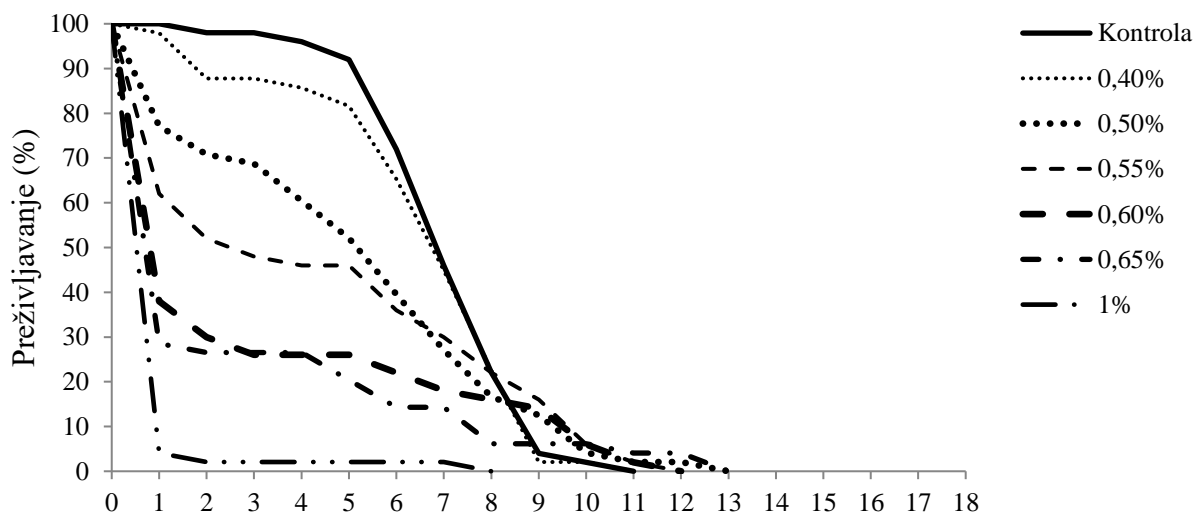


Tabela 23. Efekat različitih koncentracija etarskog ulja **majčine dušice** na Gompercove parametre mortaliteta (*a* - inicijalni mortalitet; *b* – brzina starenja) **ženki i mužjaka** pasuljevog žiška *A. obtectus*

Eksperimentalna grupa	Parametri mortaliteta			
	<i>a</i> ($\times 10^{-3}$)	(LCI; UCI)	<i>b</i>	(LCI; UCI)
<u>ŽENKE</u>				
Kontrola	0,95	(0,25; 3,62)	0,64	(0,51; 0,79)
0,60 %	16,15*	(7,48; 34,86)	0,21*	(0,15; 0,30)
0,70 %	50,41*	(27,72; 91,67)	0,16*	(0,10; 0,25)
0,80 %	79,22*	(45,65; 137,47)	0,09*	(0,04; 0,18)
<u>MUŽJACI</u>				
Kontrola	2,75	(0,91; 8,29)	0,69	(0,56; 0,85)
0,40 %	7,53	(2,83; 20,06)	0,56	(0,43; 0,71)
0,50 %	75,69*	(42,18; 135,83)	0,20*	(0,13; 0,33)
0,55 %	142,49*	(84,30; 240,83)	0,10*	(0,04; 0,26)

* Parametri su upoređeni između kontrolne grupe i grupa tretiranih etarskim uljem majčine dušice „log-likelihood ratio” testom, a značajne razlike su prikazane zvezdicom ($P < 0,05$). LCI – donji interval poverenja (*engl.* lower confidence interval); UCI – gornji interval poverenja (*engl.* upper confidence interval); $df = 1$

4.8.2. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija timola na dužinu života pasuljevog žiška

Rezultati ogleda sa timolom pokazuju da su dobijene vrednosti subletalnih i letalnih koncentracija za timol bile znatno niže u poređenju sa EU majčine dušice. Nakon 24 h izlaganja pasulju tretiranom timolom, dobijene vrednosti za LC₅, LC₅₀ i LC₉₉ za ženke iznosile su 63,75; 98,39 i 181,79 mg timola/kg pasulja respektivno, dok su te vrednosti za mužjake iznosile 33,01; 65,88 i 108,89 mg timola/kg pasulja respektivno (Tabela 24). Kao i u ogledu sa EU majčine dušice, i ovde su ženke pokazale manju osetljivost na toksično dejstvo timola u poređenju sa mužjacima.

Sve koncentracije timola su ostvarile značajan efekat na procenat preživljavanja ženki pasuljevog žiška. Međutim, kod mužjaka se najniža koncentracija (0,1 %), za razliku od ostalih, nije značajno razlikovala od kontrole (Tabele 25 i 26). Najveći efekat na procenat preživljavanja oba pola su ostvarile najveće primenjene koncentracije timola. Rezultati jednofaktorske ANOVA-e pokazuju da koncentracije timola veoma značajno utiču na procenat preživljavanja ženki ($F_{4, 35} = 24,81$; $P < 0,0001$) i mužjaka ($F_{5, 42} = 43,17$; $P < 0,0001$) pasuljevog žiška.

Najniža koncentracija timola, u poređenju sa kontrolom, nije značajno uticala na vreme preživljavanja ženki i mužjaka pasuljevog žiška (Tabele 25 i 26). Značajno smanjenje vremena preživljavanja zabeleženo je za koncentracije timola $\geq 0,3$ % za ženke i $\geq 0,15$ % za mužjake. Različite koncentracije timola su, prema rezultatima jednofaktorske ANOVA-e, veoma značajno uticale na vreme preživljavanja i ženki ($F_{5, 473} = 202,36$; $P < 0,0001$) i mužjaka ($F_{5, 473} = 45,67$; $P < 0,0001$) pasuljevog žiška.

Krive preživljavanja za svaki pol i eksperimentalnu grupu su predstavljene na grafiku 2, a procena parametara mortaliteta za ove grupe je data u tabeli 27. Kod ženki pasuljevog žiška najniža koncentracija timola (0,2 %) nije uticala na početak umiranja (parametar *a*). Iako je umiranje ženki bilo značajno sporije (smanjenje parametra *b*) to nije uticalo na prosečno vreme preživljavanja (Grafik 2A, Tabele 25 i 27). Značajno povećanje inicijalnog mortaliteta izazvale su više koncentracije 0,3 i 0,4 %, što je ujedno bilo praćeno smanjenjem brzine starenja. Kao i u eksperimentu sa EU majčine dušice smanjenje brzine umiranja nije bilo dovoljno da nadjača uticaj povećanog

inicijalnog mortaliteta tako da je vreme preživljavanja na koncentracijama 0,3 i 0,4 % bilo značajno smanjeno (Grafik 2A, Tabele 25 i 27).

Kod mužjaka su sve tri koncentracije timola (0,1; 0,15 i 0,2 %) značajno povećale inicijalni mortalitet i značajno smanjile brzinu umiranja (Grafik 2B, Tabela 27). Međutim, najniža koncentracija 0,1 % nije značajno uticala na vreme preživljavanja što je posledica suprotnog smera promena parametara a i b , odnosno efekat povećanja inicijalnog mortaliteta je anuliran sporijim umiranjem jedinki. S druge strane, uprkos usporenom umiranju mužjaka na koncentracijama 0,15 i 0,2 %, vreme preživljavanja je značajno smanjeno zahvaljujući povećanom inicijalnom mortalitetu (Grafik 2B, Tabela 27).

Tabela 24. Rezultati probit analize kod **ženki i mužjaka** *Acanthoscelides obtectus* koji prikazuju koncentracije **timola** (%) koje nakon 24 h izlaganja u ogledu rezidualne kontaktne toksičnosti dovode do 5 %, 50 % i 99 % mortaliteta (LC₅, LC₅₀ i LC₉₉ respektivno). LC₅, LC₅₀ i LC₉₉ koncentracije su prikazane sa intervalom poverenja (CI, *engl.* confidence interval). Zavisnost mortaliteta od koncentracije esencijalnog ulja ne odstupaju značajno od probit distribucije (Pirsonov test: χ^2 , P)

	LC ₅	CI	LC ₅₀	CI	LC ₉₉	CI	χ^2	P
Ženke	0,21	0,19; 0,23	0,33	0,31; 0,34	0,61	0,55; 0,69	3,84	0,2787
Mužjaci	0,11	0,09; 0,13	0,22	0,21; 0,23	0,36	0,34; 0,40	1,02	0,7952

Tabela 25. Srednje vrednosti (\bar{X}) i standardne greške (SE) procenta preživljavanja nakon 24 h tretmana (P24) i vremena preživljavanja (VP) **ženki** pasuljevog žiška nakon tretmana **timolom**

Eksperimentalna grupa	P24 (%)		VP (dani)	
	$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$	
Kontrola	100,0 ± 0,00		8,16 ± 0,21	a
0,20 %	98,0 ± 0,01	a	8,96 ± 0,35	a
0,30 %	68,0 ± 0,11	b	5,25 ± 0,41	b, *
0,35 %	33,0 ± 0,11	c	2,36 ± 0,28	c, *
0,40 %	16,0 ± 0,08	cd	1,31 ± 0,10	d, *
0,50 %	5,0 ± 0,04	d	1,11 ± 0,07	d, *

* Eksperimentalne grupe označene različitim slovima (a, b, c, d) se međusobno značajno razlikuju (Dankanov test, $P < 0,05$). Značajne razlike od kontrolne grupe su testirane Danetovim testom i prikazane zvezdicom ($P < 0,05$)

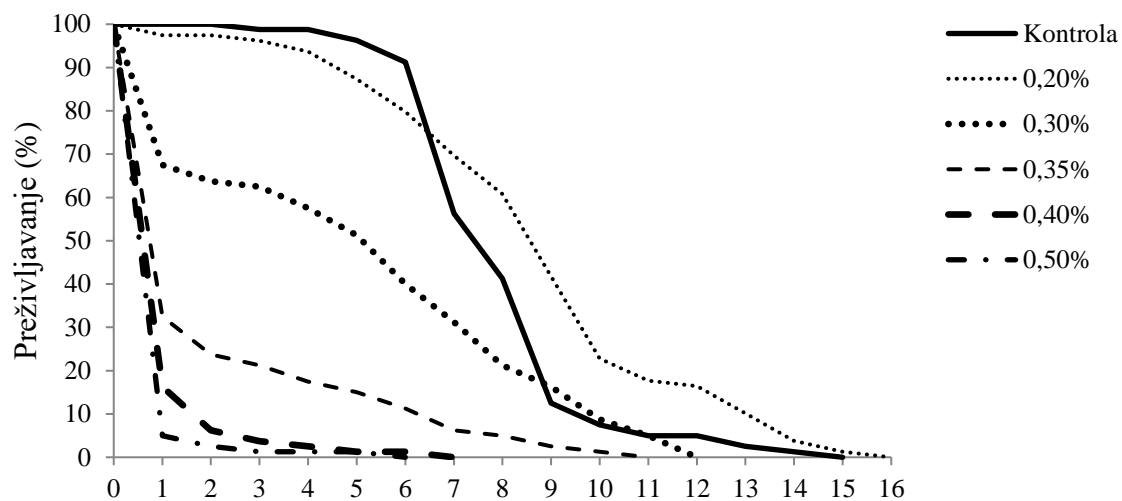
Tabela 26. Srednje vrednosti (\bar{X}) i standardne greške (SE) procenta preživljavanja nakon 24 h tretmana (P24) i vremena preživljavanja (VP) **mužjaka** pasuljevog žiška nakon tretmana **timolom**

Eksperimentalna grupa	P24 (%)		VP (dani)	
	$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$	
Kontrola	99,0 ± 0,01	a	5,80 ± 0,18	a
0,10 %	96,0 ± 0,02	ab	5,94 ± 0,26	a
0,15 %	85,0 ± 0,05	b	4,82 ± 0,27	b, *
0,20 %	65,0 ± 0,07	c	3,79 ± 0,32	c, *
0,25 %	31,0 ± 0,07	d	2,43 ± 0,28	d, *
0,30 %	10,0 ± 0,03	e	2,73 ± 0,35	d, *

* Eksperimentalne grupe označene različitim slovima (a, b, c, d) se međusobno značajno razlikuju (Dankanov test, $P < 0,05$). Značajne razlike od kontrolne grupe su testirane Danetovim testom i prikazane zvezdicom ($P < 0,05$)

Grafik 2. Krive preživljavanja **ženki** (A) i **mužjaka** (B) pasuljevog žiška *A. obtectus* koji su bili tretirani različitim koncentracijama **timola**

(A) Ženke



(B) Mužjaci

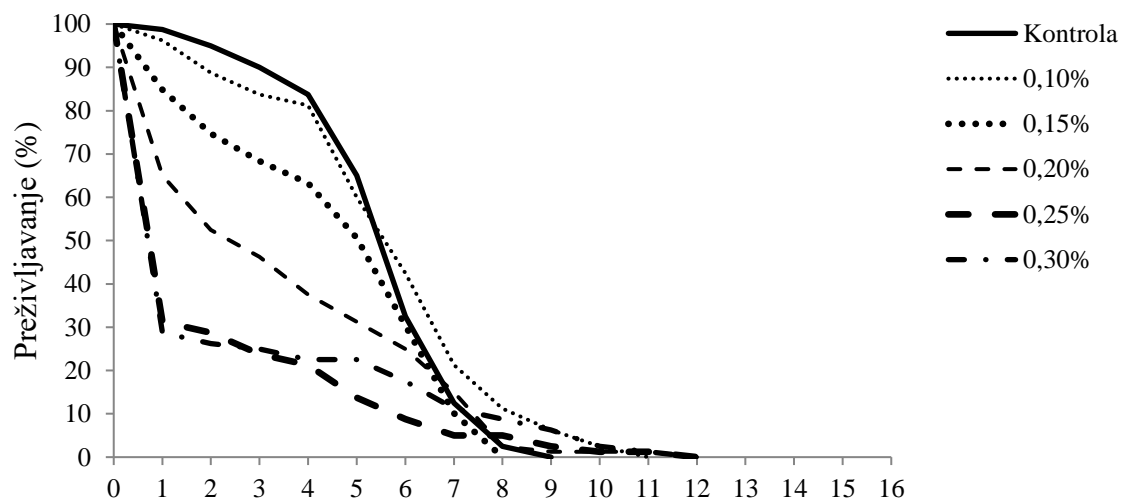


Tabela 27. Efekat različitih koncentracija **timola** na Gompercove parametre mortaliteta (*a* - inicijalni mortalitet; *b* – brzina starenja) **ženki** i **mužjaka** pasuljevog žiška *A. obtectus*

Eksperimentalna grupa	Parametri mortaliteta			
	<i>a</i> ($\times 10^{-2}$)	(LCI; UCI)	<i>b</i>	(LCI; UCI)
<u>ŽENKE</u>				
Kontrola	1,09	(0,61; 1,95)	0,40	(0,34; 0,47)
0,20 %	1,35	(0,74; 2,46)	0,30*	(0,25; 0,37)
0,30 %	9,48*	(6,08; 14,77)	0,15*	(0,10; 0,25)
0,40 %	61,63*	(46,24; 82,14)	0,19*	(0,09; 0,41)
<u>MUŽJACI</u>				
Kontrola	0,72	(0,33; 1,57)	0,70	(0,58; 0,84)
0,10 %	2,49*	(1,41; 4,40)	0,41*	(0,33; 0,51)
0,15 %	3,60*	(1,96; 6,61)	0,45*	(0,34; 0,58)
0,20 %	16,47*	(11,01; 24,66)	0,14*	(0,08; 0,26)

* Parametri su upoređeni između kontrolne grupe i grupa tretiranih timolom „log-likelihood ratio” testom, a značajne razlike su prikazane zvezdicom ($P < 0,05$). LCI – donji interval poverenja (*engl.* lower confidence interval); UCI – gornji interval poverenja (*engl.* upper confidence interval); $df = 1$

4.8.3. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice na brojnost i komponente adaptivne vrednosti imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji

Etarsko ulje majčine dušice je značajno uticalo na brojnost jedinki F1 generacije pasuljevog žiška (Tabela 28). U pasulju tretiranom najnižom koncentracijom (0,1 %) razvilo se u proseku 13,73 % jedinki više nego u kontroli, odnosno etarsko ulje je na najnižoj primenjenoj koncentraciji imalo pozitivan efekat na brojnost žižaka F1 generacije. Smanjenje broja žižaka F1 generacije i povećanje procenta inhibicije izleganja zabeleženo je pri EU koncentracijama $\geq 0,2$ %. Dve najviše koncentracije EU majčine dušice (0,7 i 0,8 %) su potpuno inhibirale izleganje jedinki F1 generacije.

Na Grafiku 3 se vidi da je početak izleganja žižaka na najnižoj koncentraciji u proseku odložen za 1 dan, dok je na koncentraciji EU 0,5 % odložen za 2 dana u odnosu na kontrolu. Maksimum izleglih žižaka u grupi čiji su roditelj tretirani sa 0,1 % EU se uočava dva dana pre žižaka kontrolne grupe, dok je na višim koncentracijama maksimum pomeren za jedan dan ranije. Na koncentracijama EU $\geq 0,2$ % maksimalan prosečan broj žižaka se smanjivao i na koncentraciji 0,5 % je bio manji od jedne jedinice dnevno. Poslednji dan izleganja žižaka je na 0,2 i 0,5 % koncentracijama završen 1 i 3 dana ranije u odnosu na kontrolu respektivno.

Za masu jedinki dvofaktorska ANOVA je pokazala značajan uticaj kako tretmana tako i pola (Tabela 31). Potomci tretiranih jedinki su u proseku imali manju masu od potomaka kontrolne grupe i veća prosečna masa je izmerena kod ženki nego kod mužjaka F1 generacije (Tabele 29 i 30). Prema rezultatima kako dvofaktorske ANOVA-e tako i ANCOVA-e, koncentracija EU majčine dušice nije imala uticaja na dužinu života izleglih jedinki, ali se dužina života značajno razlikovala u odnosu na pol pasuljevog žiška (Tabela 31). Ženke su u proseku živele oko jedan dan duže od mužjaka (Tabele 29 i 30). S obzirom na to da se značajan efekat faktora Pol gubi u analizi kovarijanse može se zaključiti da je seksualni dimorfizam u dugovečnosti posledica razlika u masi između ženki i mužjaka (Tabela 31). Osetljivost mase i dužine života na promenu koncentracije EU majčine dušice je bila slična kod jedinki oba pola (beznačajna Tretman \times Pol interakcija, Tabela 31).

Jednofaktorska ANOVA kojom je ispitivana značajnost efekta tretmana na komponente adaptivne vrednosti jedinki F1 generacije u okviru svakog pola je pokazala

da tretman značajno utiče na masu oba pola (Tabela 32). Značajan efekat na dužinu života je zabeležen samo kod ženki dok izlaganje parentalne generacije pasuljevog žiška različitim koncentracijama EU majčine dušice nije imalo uticaja na dužinu života mužjaka u F1 generaciji (Tabela 32).

Najniža koncentracija je imala stimulativan uticaj na masu mužjaka F1 generacije, odnosno značajno krupniji mužjaci u odnosu na kontrolnu grupu su se izlegli ako su roditelji tretirani sa 0,1 % EU (Danetov test, Tabela 30). Iako je koncentracija EU majčine dušice značajno uticala na masu izleglih ženki F1 generacije (Tabela 32), značajna razlika u odnosu na kontrolu je dobijena samo na koncentraciji 0,2 %, gde je zabeležena najmanja prosečna masa (Danetov test, Tabela 29).

Značajno smanjenje prosečne dužine života ženki u odnosu na kontrolu je uočeno samo na koncentraciji 0,5 % (Danetov test, Tabela 29). Analiza varijanse je pokazala značajan doprinos koncentracije EU variranju dužine života ženki F1 generacije (Tabela 32). Međutim, u analizi kovarijanse sa masom kao kovarijatom pokazano je da je uticaj koncentracije EU majčine dušice na dugovečnost ženki u značajnoj meri posledica razlika u masi. Naime, značajan efekat tretmana na dugovečnost dobijen u analizi varijanse nije dobijen u analizi kovarijanse kako sa masom, tako i sa masom i fekunditetom kao kovarijatima (Tabela 32). Etarsko ulje majčine dušice nije značajno uticalo ni na jedan od parametara fekunditeta ženki F1 generacije (Tabela 29), što potvrđuju i rezultati jednofaktorske ANOVA-e (Tabela 33).

Tabela 28. Efekat različitih koncentracija etarskog ulja **majčine dušice** na broj potomaka tretiranih roditelja pasuljevog žiška

Eksperimentalna grupa	Prosečan broj izležanih F1 jedinki		Procenat inhibicije izleganja imaga
Kontrola	35,50 ± 3,87	a	0
0,1 %	40,38 ± 6,60	a,*	-13,73
0,2 %	18,38 ± 5,32	b,*	48,24
0,3 %	12,00 ± 3,46	bc,*	66,20
0,4 %	5,25 ± 3,17	c,*	85,21
0,5 %	2,75 ± 2,75	c,*	92,25
0,6 %	1,71 ± 1,71	c,*	95,17
0,7 %	0		100
0,8 %	0		100
ANOVA		$F_{6,48} = 14,08; P < 0,0001$	

* Jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti) je procenjena značajnost uticaja tretmana uljem majčine dušice na broj izležanih jedinki. Eksperimentalne grupe označene različitim slovima (a, b, c) se međusobno značajno razlikuju (Duncanov test, $P < 0,05$). Značajne razlike od kontrolne grupe su testirane Danetovim testom i prikazane sa zvezdicom ($P < 0,05$)

Grafik 3. Prosečan broj dnevno izležanih adultnih jedinki pasuljevog žiška čiji su roditelji bili izloženi različitim koncentracijama etarskog ulja **majčine dušice**. Broj dana je vreme proteklo od tretiranja roditelja do izleganja potomaka.

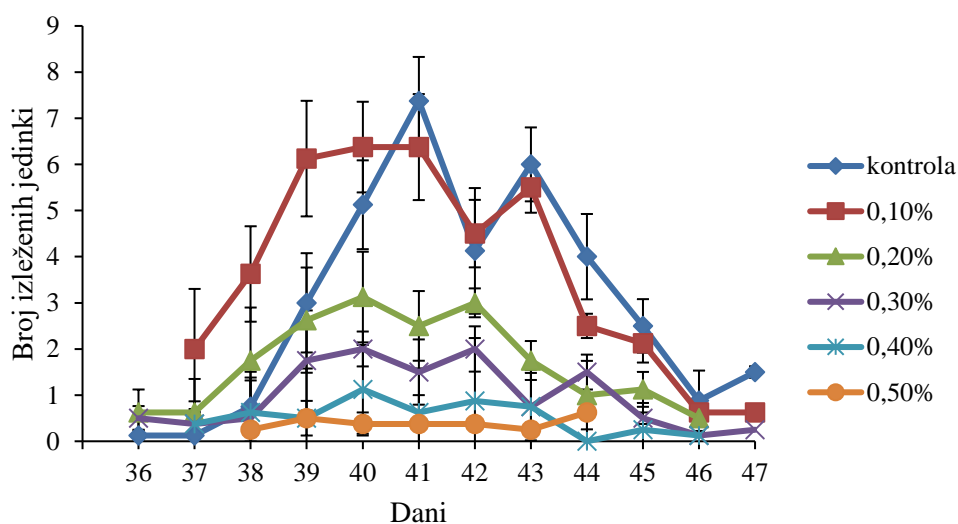


Table 29. Prosečne vrednosti i standardne greške ($\bar{X} \pm SE$) komponenti adaptivne vrednosti **ženki** pasuljevog žiška F1 generacije čiji su roditelji bili u kontaktu sa zrnima pasulja tretiranim različitim koncentracijama etarskog ulja **majčine dušice**

Eksp. grupa	Dužina života (dani)		Masa (mg)		Fekunditet							
					Početak (dan)		Rani		Kraj (dan)		Ukupni	
	$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$	
Kontrola	11,93 ± 0,31	a	5,54 ± 0,09	ab	1,60 ± 0,12	ab	14,57 ± 1,33	a	6,90 ± 0,59	ab	34,73 ± 9,25	a
0,1 %	11,00 ± 0,36	ab	5,56 ± 0,10	a	1,60 ± 0,09	ab	14,27 ± 1,03	a	5,46 ± 0,39	a	36,33 ± 8,07	a
0,2 %	10,80 ± 0,30	b	5,13 ± 0,10	c, *	1,87 ± 0,12	a	12,80 ± 1,27	a	5,73 ± 0,46	ab	32,77 ± 8,21	a
0,3 %	11,23 ± 0,29	ab	5,43 ± 0,10	abc	1,50 ± 0,09	b	13,83 ± 0,98	a	6,33 ± 0,47	b	35,50 ± 1,87	a
0,4 %	10,90 ± 0,21	ab	5,38 ± 0,08	abc	1,57 ± 0,11	ab	14,27 ± 1,29	a	7,03 ± 0,50	b	35,33 ± 2,00	a
0,5 %	10,57 ± 0,35	b, *	5,24 ± 0,14	bc	1,57 ± 0,10	ab	13,07 ± 1,23	a	5,77 ± 0,42	ab	31,90 ± 2,20	a

* Vrednosti označene različitim slovima a, b, c se statistički značajno razlikuju (Dankanov test, $P < 0,05$). Značajne razlike od kontrolne grupe su označene zvezdicom (Danetov test, $P < 0,05$)

Tabela 30. Prosečne vrednosti i standardne greške ($\bar{X} \pm SE$) komponenti adaptivne vrednosti **mužjaka** pasuljevog žiška F1 generacije čiji su roditelji bili u kontaktu sa zrnima pasulja tretiranim različitim koncentracijama etarskog ulja **majčine dušice**

Eksperimentalna grupa	Dužina života (dani)	Masa (mg)
	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Kontrola	9,79 ± 0,25 a	4,26 ± 0,10 bc
0,1 %	9,83 ± 0,24 a	4,56 ± 0,07 a
0,2 %	9,63 ± 0,29 a	4,15 ± 0,11 c
0,3 %	10,17 ± 0,27 a	4,48 ± 0,09 ab
0,4 %	9,73 ± 0,27 a	4,24 ± 0,09 bc
0,5 %	9,63 ± 0,29 a	3,99 ± 0,14 c

* Vrednosti označene različitim slovima a, b, c se statistički značajno razlikuju (Dankanov test, $P < 0,05$). Danetov test je pokazao da nema značajnih razlika između kontrolne i tretiranih grupa ($P > 0,05$)

Tabela 31. Dvofaktorska analiza varijanse za procenu doprinosa pola, koncentracije ulja **majčine dušice** i njihove interakcije variranju mase i dužine života F1 potomaka tretiranih roditelja pasuljevog žiška. Dužina života je analizirana i analizom kovarijanse gde je masa uzeta kao kovarijat. df – broj stepena slobode, MS – prosečna vrednost kvadrata odstupanja od srednje vrednosti svojstva u populaciji, F – vrednost F testa, P – nivo statističke značajnosti. Statistički značajne vrednosti su prikazane podebljanim brojevima

Izvor variranja	Masa (ANOVA)				Dužina života (ANOVA)				Dužina života (ANCOVA)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Kovarijat									1	1,02	42,92	<0,0001
Tretman	5	1,89	5,99	<0,0001	5	0,05	1,90	0,0933	5	0,03	1,09	0,3667
Pol	1	108,79	345,40	<0,0001	1	1,34	50,26	<0,0001	1	0,01	0,50	0,4808
Tretman × Pol	5	0,30	0,95	0,4457	5	0,02	0,86	0,5104	5	0,02	0,76	0,5775
Greška	348	0,31			347	0,03			346	0,02		

Tabela 32. Jednofaktorska analiza varijanse za procenu doprinosa koncentracije ulja **majčine dušice** variranju mase i dužine života F1 potomaka (**ženki i mužjaka**) tretiranih roditelja pasuljevog žiska. Dužina života je analizirana i analizom kovarijanse gde je kao kovarijat uzeta masa (a) ili i masa i fekunditet (a, b). df – broj stepena slobode, MS – prosečna vrednost kvadrata odstupanja od srednje vrednosti svojstva u populaciji, F – vrednost F testa, P – nivo statističke značajnosti. Statistički značajne vrednosti su prikazane podebljanim brojevima

Izvor variranja	Masa (ANOVA)				Dužina života (ANOVA)				Dužina života ^a (ANCOVA)				Dužina života ^{a,b} (ANCOVA)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
<u>ŽENKE</u>																
Kovarijat ^a									1	0,37	15,88	<0,0001	1	0,35	14,86	0,0002
Kovarijat ^b													1	0,01	0,51	0,4765
Tretman	5	0,85	2,66	0,0239	5	0,06	2,35	0,0433	5	0,04	1,72	0,1330	5	0,04	1,71	0,1356
Greška	174	0,32			174	0,03			173	0,02			172	0,02		
<u>MUŽJACI</u>																
Kovarijat ^a									1	0,67	27,93	<0,0001				
Tretman	5	1,33	4,31	0,0010	5	0,01	0,52	0,7637	5	0,01	0,27	0,9278				
Greška	174	0,31			173	0,03			172	0,02						

Tabela 33. Jednofaktorska analiza varijanse za procenu doprinosa koncentracije ulja **majčine dušice** variranju parametara fekunditeta F1 **ženki**, potomaka tretiranih roditelja pasuljevog žiska. df – broj stepena slobode, MS – prosečna vrednost kvadrata odstupanja od srednje vrednosti svojstva u populaciji, F – vrednost F testa, P – nivo statističke značajnosti

Izvor variranja	Početak				Rani				Kraj				Ukupni			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Tretman	5	0,49	1,40	0,2252	5	15,37	0,36	0,8770	5	2,63	1,63	0,1551	5	89,06	0,91	0,4780
Greška	172	0,35			174	43,02			172	1,61			174	98,21		

4.8.4. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija timola na brojnost i komponente adaptivne vrednosti imaga pasuljevog žiška u F1 generaciji

Tretman roditeljske generacije različitim koncentracijama timola je imao značajan uticaj na brojnost potomaka pasuljevog žiška (Tabela 34). Na koncentraciji timola 0,1 % je uočen trend povećanja broja izleglih potomaka za 12,33 %, ali se on nije značajno razlikovalo od kontrole. Pri koncentracijama od 0,15 do 0,35 % broj žižaka F1 generacije je značajno smanjen, odnosno povećan je procenat inhibicije izleganja. Potpuna inhibicija izleganja žižaka F1 generacije postignuta je nakon tretiranja žižaka roditeljske generacije koncentracijom timola 0,4 %.

Izleganje žižaka iz pasulja nakon tretmana roditeljske generacije sa 0,1; 0,15 i 0,3 % koncentracijama timola, počelo je 1 dan ranije u odnosu na kontrolu (Grafik 4). Pojava maksimalnog broja izleženih jedinki, zabeležena je 1 dan ranije za 0,1 i 0,15 % koncentracije, dok je za 0,2; 0,25 i 0,3 % koncentracije zabeleženo 2 dana ranije u poređenju sa kontrolom. Najveći broj žižaka izleženih u jednom danu (28) zabeležen je pri 0,1 % koncentraciji. Za koncentracije timola $\geq 0,15$ % maksimalan broj izleglih žižaka u jednom danu se postepeno smanjuje i na koncentraciji 0,30 % iznosi 4 jedinke. Poslednji dan izleganja završen je 1 dan ranije pri 0,3 % koncentraciji timola, odnosno 2 dana ranije pri 0,15 i 0,2 % koncentracijama.

Značajan efekat na variranje mase jedinki ostvario je jedino faktor Pol (ženke su u proseku krupnije od mužjaka), dok uticaj koncentracije timola, kao i interakcije Tretman \times Pol nije bio značajan (dvofaktorska ANOVA, Tabela 37). Masa žižaka F1 generacije se nije značajno razlikovala od one u kontrolnoj grupi kako za ženke (Tabela 35) tako i za mužjake (Tabela 36).

Na variranje dužine života, s druge strane, prema rezultatima dvofaktorske ANOVA-e i ANCOVA-e, značajan uticaj ostvarili su koncentracija timola i interakcija Pol \times Tretman (Tabela 37), dok je faktor Pol ostvario značajan uticaj samo u okviru dvofaktorske ANOVA-e. Ženke su u proseku živele oko jedan dan duže od mužjaka (Tabele 35 i 36). Kada se masa uzme kao kovarijat izostaje značajan efekat pola, pa se može zaključiti da razlika u dužini života ženki i mužjaka proizlazi iz razlika u njihovoj masi (Tabela 37). Značajni efekti tretmana roditeljske generacije različitim koncentracijama timola kao i značajne razlike u osetljivosti ženki i mužjaka F1

generacije na tretman roditeljske generacije timolom dobijeni kako u ANOVA-i tako i u ANCOVA-i ukazuju da su i procesi koji nisu korelisani sa masom jedinko važni za objašnjenje variranja dugovečnosti.

Značajan efekat tretmana parentalne generacije timolom na masu ženki i mužjaka F1 generacije izostao je i u jednofaktorskoj ANOVA-i (Tabela 38). Iz tabela 35 i 36 se vidi da timol nije značajno uticao na promenu mase potomaka ženki i mužjaka pasuljevog žiška, čiji su roditelji bili izlagani pasulju tretiranom različitim koncentracijama timola.

Međutim, timol je ostvario značajan efekat na dužinu života ženki, dok to nije bio slučaj kod mužjaka pasuljevog žiška (Tabela 38) što objašnjava značajnu interakciju Pol \times Tretman dobijenu za dužinu života u dvofaktorskoj ANOVA-i (Tabela 37). Koncentracije timola 0,1 % i 0,3 % su, u poređenju sa kontrolom, značajno smanjile dužinu života ženki F1 generacije (Danetov test, Tabela 35). Značajan uticaj timola, ali i kovarijata mase, kao i mase i fekunditeta, potvrđen je i analizom kovarijanse (Tabela 38).

Odabrana komponenta timol nije ostvarila značajan efekat ni na jedan od parametara fekunditeta ženki F1 generacije (Tabela 35), što potvrđuju i rezultati jednofaktorske ANOVA-e (Tabela 39).

Tabela 34. Efekat različitih koncentracija **timola** na broj potomaka tretiranih roditelja pasuljevog žiška

Eksperimentalna grupa	Prosečan broj izleženih F1 jedinki		Procenat inhibicije izleganja imaga
Kontrola	92,25 ± 12,52	ab	0
0,10%	103,63 ± 9,25	a	-12,33
0,15%	69,00 ± 6,67	bc,*	25,20
0,20%	46,00 ± 10,96	c,*	50,14
0,25%	18,93 ± 6,30	d,*	79,48
0,30%	13,67 ± 5,18	d,*	85,19
0,35%	2,38 ± 2,38	d,*	97,43
0,40%	0		100
ANOVA	$F_{6,69} = 21,79; P < 0,0001$		

* Jednofaktorskom analizom varijanse (F i P vrednosti) je procenjena značajnost uticaja tretmana timolom na broj izleženih jedinki. Eksperimentalne grupe označene različitim slovima (a, b, c, d) se međusobno značajno razlikuju (Duncanov test, $P < 0,05$). Značajne razlike od kontrolne grupe su testirane Danetovim testom i prikazane sa zvezdicom ($P < 0,05$)

Grafik 4. Prosečan broj dnevno izleženih adultnih jedinki pasuljevog žiška čiji su roditelji bili izloženi različitim koncentracijama **timola**. Broj dana je vreme proteklo od tretiranja roditelja do izleganja potomaka.

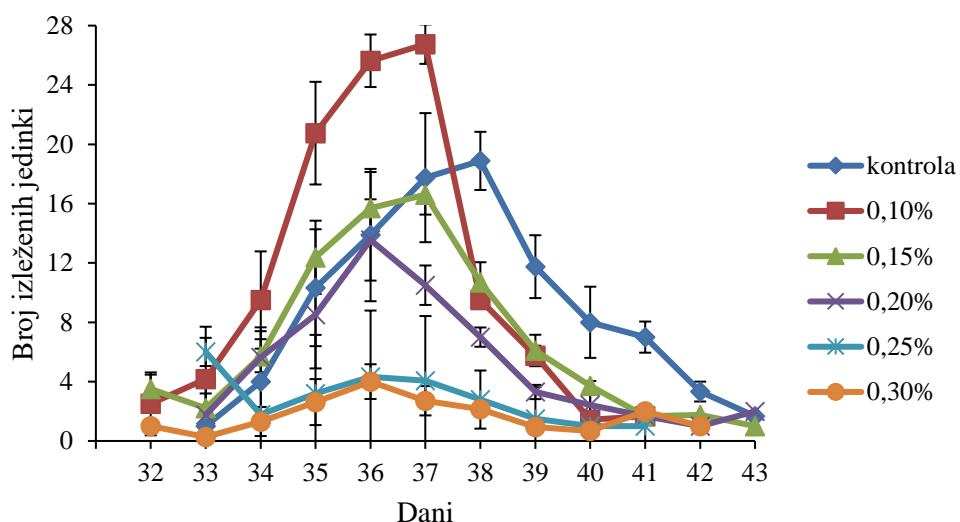


Tabela 35. Prosečne vrednosti i standardne greške ($\bar{X} \pm SE$) komponenti adaptivne vrednosti **ženki** pasuljevog žiška F1 generacije čiji su roditelji bili u kontaktu sa zrnima pasulja tretiranim različitim koncentracijama **timola**

Eksp. grupa	Dužina života (dani)	Masa (mg)	Fekunditet			
			Početak (dan)	Rani	Kraj (dan)	Ukupni
	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Kontrola	13,27±0,42 a	6,44±0,11 a	1,67±0,10 a	14,27±1,36 a	4,80±0,26 ab	39,23±2,20 a
0,10 %	10,50±0,36 c, *	6,24±0,09 a	1,54±0,10 a	15,90±1,32 a	5,37±0,25 b	38,63±3,07 a
0,15 %	11,97±0,47 ab	6,50±0,10 a	2,00±0,37 a	14,00±1,33 a	5,00±0,19 ab	40,03±2,64 a
0,20 %	12,50±0,35 a	6,41±0,10 a	1,90±0,30 a	14,30±1,37 a	4,53±0,23 ab	42,87±2,68 a
0,25 %	13,07±0,45 a	6,45±0,07 a	1,62±0,15 a	13,33±1,84 a	4,63±0,21 a	39,83±2,59 a
0,30 %	11,37±0,55 bc, *	6,38±0,10 a	2,17±0,50 a	16,10±1,25 a	4,86±0,25 ab	43,33±2,48 a

* Vrednosti označene različitim slovima a, b, c se statistički značajno razlikuju (Dankanov test, $P < 0,05$). Značajne razlike od kontrolne grupe su označene zvezdicom (Danetov test, $P < 0,05$)

Tabela 36. Prosečne vrednosti i standardne greške ($\bar{X} \pm SE$) komponenti adaptivne vrednosti **mužjaka** pasuljevog žiška F1 generacije čiji su roditelji bili u kontaktu sa zrnima pasulja tretiranim različitim koncentracijama **timola**

Eksperimentalna grupa	Dužina života (dani)	Masa (mg)
	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Kontrola	11,10 ± 0,37	5,05 ± 0,08
0,10 %	11,20 ± 0,21	5,00 ± 0,10
0,15 %	10,93 ± 0,26	5,14 ± 0,10
0,20 %	11,34 ± 0,37	5,04 ± 0,09
0,25 %	10,97 ± 0,29	5,03 ± 0,09
0,30 %	10,93 ± 0,27	4,87 ± 0,08

* Dankanov i Danetov test nisu pokazali značajne razlike između eksperimentalnih grupa ($P > 0,05$)

Tabela 37. Dvofaktorska analiza varijanse za procenu doprinosa pola, koncentracije **timola** i njihove interakcije variranju mase i dužine života F1 potomaka tretiranih roditelja pasuljevog žiška. Dužina života je analizirana i analizom kovarijanse gde je masa uzeta kao kovarijat. df – broj stepena slobode, MS – prosečna vrednost kvadrata odstupanja od srednje vrednosti svojstva u populaciji, F – vrednost F testa, P – nivo statističke značajnosti. Statistički značajne vrednosti su prikazane podebljanim brojevima

Izvor variranja	Masa (ANOVA)				Dužina života (ANOVA)				Dužina života (ANCOVA)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Kovarijat									1	0,82	25,19	<0,0001
Tretman	5	0,35	1,26	0,2790	5	0,11	3,27	0,0067	5	0,09	2,80	0,0170
Pol	1	172,52	632,60	<0,0001	1	0,57	16,29	<0,0001	1	0,08	2,34	0,1267
Tretman × Pol	5	0,12	0,42	0,8328	5	0,15	4,28	0,0009	5	0,14	4,30	0,0008
Greška	350	0,27			347	0,03			346	0,03		

Tabela 38. Jednofaktorska analiza varijanse za procenu doprinosa koncentracije **timola** variranju mase i dužine života F1 potomaka (**ženki i mužjaka**) tretiranih roditelja pasuljevog žiška. Dužina života je analizirana i analizom kovarijanse gde je kao kovarijat uzeta masa (a) ili i masa i fekunditet (a, b). df – broj stepena slobode, MS – prosečna vrednost kvadrata odstupanja od srednje vrednosti svojstva u populaciji, F – vrednost F testa, P – nivo statističke značajnosti. Statistički značajne vrednosti su prikazane podebljanim brojevima

Izvor variranja	Masa (ANOVA)				Dužina života (ANOVA)				Dužina života ^a (ANCOVA)				Dužina života ^{a,b} (ANCOVA)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
<u>ŽENKE</u>																
Kovarijat ^a									1	0,35	9,45	0,0025	1	0,49	15,14	0,0001
Kovarijat ^b													1	0,90	27,65	<0,0001
Tretman	5	0,23	0,80	0,5503	5	0,26	6,52	<0,0001	5	0,22	5,98	<0,0001	5	0,22	6,77	<0,0001
Greška	175	0,29			174	0,04			173	0,04			172	0,03		
<u>MUŽJACI</u>																
Kovarijat ^a									1	0,48	17,16	<0,0001				
Tretman	5	0,23	0,89	0,4880	5	0,01	0,23	0,9485	5	0,01	0,31	0,9067				
Greška	175	0,25			173	0,03			172	0,03						

Tabela 39. Jednofaktorska analiza varijanse za procenu doprinosa koncentracije **timola** variranju parametara fekunditeta F1 **ženki**, potomaka tretiranih roditelja pasuljevog žiska. df – broj stepena slobode, MS – prosečna vrednost kvadrata odstupanja od srednje vrednosti svojstva u populaciji, F – vrednost F testa, P – nivo statističke značajnosti

Izvor variranja	Početak				Rani				Kraj				Ukupni			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Tretman	5	1,78	0,67	0,6437	5	36,63	0,60	0,7007	5	12,5	1,86	0,1047	5	115,41	0,56	0,7315
Greška	172	2,65			175	61,14			171	6,76			174	206,56		

5. DISKUSIJA

5.1. Hemijski sastav korišćenih etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka

Delovanje EU zavisi od njihovog hemijskog sastava na koji utiču sledeći faktori: biljna vrsta i hemotip, vreme žetve i klimatski uslovi mesta u kojem se biljka gaji (Regnault-Roger *et al.*, 2012). Prema rezultatima GC-MS analize, dominantne komponente EU majčine dušice su timol i p-cimen. Većinski sastav EU ruzmarina sačinjavaju 1,8-cineol, kamfor, α -pinen i β -pinen, dok su u EU bosiljka u najvećem procentu zastupljeni estragol i linalol. Iz predložene analize se može zaključiti da EU majčine dušice i bosiljka pripadaju timolnom (Thompson *et al.*, 2003) i estragolnom (Telci *et al.*, 2006) hemotipu respektivno, dok se prema istraživanju Napoli *et al.* (2010) EU ruzmarina ne može svrstati ni u jedan od već definisanih hemotipova.

5.2. Rezidualno kontaktna toksičnost etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola i standarda ACTELLIC 50 EC-a na mortalitet pasuljevog žiška

U oglecima rezidualno kontaktne toksičnosti, EU majčine dušice i njegova odabrana komponenta timol ispoljili su najjači efekat na mortalitet pasuljevog žiška. Uticaj ostalih ulja i OK nije bio zadovoljavajuć. Najviša koncentracija (1,5 %) timola je uzrokovala 100 % mortaliteta oba pola žižaka pri standardnom vremenu isparavanja u oglecima na pasulju i na staklu. Nakon produženog vremena isparavanja, timol je zadržao istu insekticidnu efikasnost prema mužjacima u ogledu na pasulju i prema oba pola u ogledu na staklu. S druge strane, EU majčine dušice je samo pri standardnom vremenu isparavanja i najvišoj koncentraciji (1,5 %) u ogledu na staklu izazvalo 100 % smrtnosti oba pola žižaka. U poređenju sa timolom, ulje majčine dušice je bilo manje perzistentno i nakon 120 minuta isparavanja njegov efekat je bio minimalan. Niža efikasnost ulja majčine dušice mogla bi se objasniti time što u poređenju sa čistim timolom, ono sadrži samo 43,52 % timola. Kontaktna toksičnost ulja majčine dušice i timola ispitana je i na drugim vrstama insekata. Dobru rezidualno kontaktnu toksičnost EU majčine dušice ostvarilo je na imaga repičinog sjajnika *Meligethes aeneus* Fabricius

(Pavela, 2011a), na larve i imaga *Nezara viridula* L. (Werdin González *et al.*, 2011), kao i na gusenice *Trichoplusia ni* Hübner (Jiang *et al.*, 2012). Takođe, u ogledu kontaktne toksičnosti, timol je pokazao visoku efikasnost na gusenice *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Pavela, 2011b). Dobra kontaktna toksičnosti timola je posledica njegovog mehanizma delovanja. Timol deluje na nervni sistem insekata, tako što se vezuje za GABA receptore i ometa funkcionisanje GABA sinapse (Priestley *et al.*, 2003).

Novija istraživanja su ispitala uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti etarskih ulja drugih biljaka na pasuljevog žiška. Visoku efikasnost, već nakon 24 h od izlaganja tretiranom pasulju, pokazala su EU *Syzygium aromaticum* L., i *Cinnamomum zeylanicum* L. (Jumbo *et al.*, 2014), kao i EU *Cupressus lusitanica* Mill. i *Eucalyptus saligna* Sm. (Bett *et al.*, 2016). Međutim, u ovim istraživanjima uticaj EU ispitan je na nasumično izabranim jedinkama, tako da nije utvrđen njihov efekat na svaki pol posebno.

Efekat rezidualno kontaktne toksičnosti testiranih EU i OK zavisio je i od vrste podloge na kojoj su primenjena, tj. direktno na pasulj ili na staklo. Generalno, EU i OK su ostvarile bolju efikasnost kada su primenjena na staklu nego na pasulju. Linalol je jedina komponenta koja je ispoljila jak efekat rezidualno kontaktne toksičnosti na staklu i istovremeno ostvarila minimalan efekat u ogledima na pasulju. Takođe, i EU majčine dušice i timol su bili efikasniji kada su primenjeni na staklu u poređenju sa pasuljem. Ovo se može objasniti time da je ukupna površina 10 g pasulju veća od površine Petri šolje od 9 cm, pa je ukupna količina ulja ili komponenta po jedinici površine manja u ogledima na pasulju nego na staklu. Takođe, moguće je da EU i OK isparavaju brže kada se primene na pasulju i da su podložniji oksidativnoj degradaciji (Turek & Stintzing, 2013), kao i da pasulj apsorbuje deo rastvora EU i OK (Ketoh *et al.*, 2005) i na taj način ga učini manje dostupnim za žiške.

U ranijim radovima je utvrđeno da EU majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, kao i OK timol, α -pinen, 1,8-cineol i linalol poseduju fumigantno toksično delovanje na pasuljevog žiška (Regnault-Roger & Hamraoui, 1994, 1995; Papachristos & Stamopoulos, 2002a; Papachristos *et al.*, 2004; Syombua 2015). Neka EU efikasnije deluju kada se primene kontaktno nego fumigantno i obrnuto. Jiang *et al.* (2012) navode da je uzrok tome to što različita ulja imaju različite mehanizme delovanja. Pretpostavka

je da EU sa višim naponom pare deluju bolje kao fumiganti, dok ona koja imaju izražene lipofilne osobine bolje penetriraju u organizam insekta i deluju kontaktno. Na primer, nakon 24 h izlaganja fumigantnom delovanju 2 $\mu\text{L/L}$ vazduha EU ruzmarina, uginulo je 4 puta više imaga pasuljevog žiška u poređenju sa istom koncentracijom EU majčine dušice (Bittner *et al.*, 2008; Sertkaya, 2013). S druge strane, u ogledima SVI rezidualno kontaktne toksičnosti svi žišci su preživeli tretman sa EU ruzmarina, dok je EU majčine dušice izazvalo visok mortalitet. U prilog ovim rezultatima ide i činjenica da EU majčine dušice poseduje dobre lipofilne osobine (Pauli, 2008) i niži napon pare (90 Pa na 20 °C) u poređenju sa EU ruzmarina (283 Pa na 20 °C).

Još jedan rezultat, zabeležen u ogledima, je da su ženke pasuljevog žiška, u poređenju sa mužjacima, bile manje osetljive prema toksičnom delovanju EU i OK koji su izazvali mortalitet žižaka. Slični rezultati su zabeleženi u ogledima fumigantne toksičnosti sa EU majčine dušice, ruzmarina i bosiljka i OK timolom, α -pinenom, 1,8-cineolo i linalolom (Regnault-Roger & Hamraoui, 1994, 1995; Papachristos & Stamopoulos, 2002a; Papachristos *et al.*, 2004). Niža osetljivost ženki prema EU, verovatno je posledica njihove veličine i građe. Ženke su veće, žive duže i manje su osetljive na stres u poređenju sa mužjacima (Šešlija-Jovanović *et al.*, 2014), s obzirom da poseduju veću prosečnu količinu lipida po imagu, pa samim tim i više energije koja se može preusmeriti na procese detoksikacije (Sonmez & Gulel, 2008). Osim toga, ženke su mnogo manje aktivne od mužjaka i samim tim troše manje energije. Na taj način, one su mnogo manje izložene toksičnom delovanju EU i OK na podlozi. Dodatno, razlike u strukturi kutikule među polovima (Savković *et al.*, 2012) mogu uticati na efikasnost penetracije EU i OK i samim tim na njihovu kontaktnu toksičnost.

Standard Actellic 50 EC je izazvao totalni mortalitet oba pola pasuljevog žiška u svim ogledima. Na njegovu efikasnost nije uticala podloga (pasulj/staklo), dužina vremena isparavanja (SVI/PVI), kao ni pol žižaka. Sa efikasnošću standarda može se uporediti najviša koncentracija timola koja samo u ogledu PVI na pasulju nije izazvala potpuni mortalitet oba pola pasuljevog žiška. Visoka efikasnost pirimifos-metil, aktivne materije preparata Actellic 50 EC, nije neočekivana s obzirom da se ovaj organofosforni insekticid široko koristi u zaštiti uskladištene robe i da poseduje izraženo perzistentnu insekatsku aktivnost (Fleurat-Lessard *et al.*, 2007). Međutim, njegova upotreba povlači sa sobom ozbiljne probleme, kao što je prekoračenje maksimalno dozvoljenih

koncentracija (MDK) toksičnih ostataka u hrani (Uygun *et al.*, 2008). Takođe, mnoga istraživanja svedoče o evoluciji rezistentnosti skladišnih insekata (*S. oryzae*, *R. dominica*, *T. castaneum*) prema pirimifos-metilu i drugim organofosfatima (Baker & Weaver, 1993; Guedes *et al.*, 1996; Julio *et al.*, 2017). Prednost EU, s druge strane, je što se sastoje od velikog broja jedinjenja, najčešće 20-60, koja poseduju različite mehanizme delovanja i često deluju sinergistički, pa na taj način mogu usporiti evoluciju rezistentnosti kod insekata (Bakkali *et al.*, 2008; Pavela, 2014, 2015; Tak *et al.*, 2016b). Takođe, najveći broj EU i njihovih komponenata odlikuje niska toksičnost prema sisarima i povoljne ekotoksikološke karakteristike, kao što je brza degradacija (Regnault-Roger, *et al.*, 2012). Sve ove karakteristike EU i njihovih komponenata opravdavaju mogućnost njihove upotrebe kao alternative sintetičkim insekticidima u cilju suzbijanja pasuljevog žiška.

5.3. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola i standarda ACTELLIC 50 EC-a na brojnost potomaka u narednoj (F1) generaciji, procenat oštećenja zrna i masu pasulja

Sva ispitana etarska ulja i odabrane komponente su, u poređenju sa kontrolom, značajno smanjili broj žižaka u F1 generaciji u ogledu SVI na pasulju. Potpuna inhibicija žižaka F1 generacije zabeležena je u pasulju tretiranom višim koncentracijama (1 i 1,5 %, tj. 300 i 450 μ L EU/OK/kg pasulja) EU majčine dušice i bosiljka, kao i OK timolom i linalolom. Ni jedan žižak F1 generacije se nije izlegao ni u pasulju tretiranom najvišom koncentracijom (1,5 %) EU ruzmarina i njegovim OK α -pinenom i 1,8-cineolom. U radovima Regnault-Roger & Hamraoui (1994, 1995) je utvrđeno da EU majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, kao i OK timol, α -pinen i linalol izazivaju značajno smanjenje broja jedinki pasuljevog žiška u F1 generaciji i kada se primene fumigantno. Etarsko ulje majčine dušice i njegova OK timol su ispoljili uticaj na smanjenje broja jedinki F1 generacije i kod drugih vrsta insekata. Izlaganjem larvi četvrtog stupnja *Culex quinquefasciatus* vodenom rastvoru EU majčine dušice (timolni hemotip) značajno je smanjen broj odraslih komaraca (Pavela *et al.*, 2009), dok je ishrana larvi trećeg stupnja *Xanthogaleruca luteola* lišćem bresta tretiranim 0,125; 0,25

i 0,5 % koncentracijama EU majčine dušice značajno smanjila broj imaga ove štetočine (Khosravi & Sendi, 2013). S druge strane, doza timola od 2 g/kg kravljeg graška potpuno je inhibirala F1 generaciju žižaka *C. maculatus* (Wahba *et al.*, 2018). Mnoga istraživanja su ispitala upotrebu supstanci prirodnog porekla kao što su etarska, biljna ulja i dominantne komponente istih, na potomstvo pasuljevog žiška. Jumbo *et al.* (2014) su utvrdili da kontaktna primena EU *S. aromaticum* i *C. zeylanicum* u dozi od 70,5 i 69,3 $\mu\text{L/kg}$ pasulja respektivno, izaziva značajnu redukciju broja žižaka u F1 generaciji. Takođe, značajno smanjenje potomstva pasuljevog žiška postignuto je primenom 3 mL/kg pasulja ulja *Ricinus communis* i *Gossypium hirsutum* (Nana *et al.*, 2014), dok se primenom 66 $\mu\text{L/kg}$ pasulja anisaldehyda, kao i 266 $\mu\text{L/kg}$ pasulja EU *Callistemon viminalis* izaziva potpunu inhibiciju F1 generacije pasuljevog žiška (Ndomo *et al.*, 2010a,b).

Značajno smanjenje procenta oštećenog pasulja i promene mase pasulja, u odnosu na kontrolu, utvrđeno je za sva EU i OK pri standardnom vremenu isparavanja. Najmanje oštećenja zrna i promene mase zabeleženo je na pasulju tretiranom EU majčine dušice i bosiljka, kao i OK timolom i linalolom. Primenom viših koncentracija (1 i 1,5 %) pomenutih EU i OK, kao i najviše koncentracije (1,5 %) EU ruzmarina i njegovih OK α -pinena i 1,8-cineola, pasulj je potpuno sačuvan od oštećenja i gubitka mase. Promena mase pasulja direktno zavisi od broja larvi pasuljevog žiška koje infestiraju zrna i od stupnja razvića u kom one uginu, dok je procenat oštećenja zrna povezan sa eklozijom odraslih jedinki. S obzirom da pri višim koncentracijama testiranih EU i OK, tokom standardnog vremena isparavanja, nije došlo do izleganja novih žižaka F1 generacije, niti je pasulj pretrpeo oštećenja i promenu početne mase, pretpostavka je da je protektivni efekat primenjenih EU i OK proizvod njihovog antiovipozicionog, kao i toksičnog delovanja na imaga i larve pasuljevog žiška. Do sličnog zaključka su došli i Regnault-Roger & Hamraoui (1994, 1995) u svojim istraživanjima. U prilog ovome idu i rezultati oglada sa i bez izbora, obavljenih u okviru ovog istraživanja, koji su potvrdili da primenjene EU i OK inhibiraju ovipoziciju, kao i da EU majčine dušice i OK timol i α -pinen ispoljavaju deterrentni efekat na ženke pasuljevog žiška. Takođe, u ogledu rezidualno kontaktne toksičnosti na pasulju pri standardnom vremenu isparavanja, obavljenog u okviru ovog istraživanja, zabeležena je visoka toksičnost EU majčine dušice i njegove OK timola na imaga pasuljevog žiška u

toku 72 h izlaganja tretiranom pasulju. Visoka smrtnost imaga u prva 3 dana infestacije značajno bi smanjila broj položenih jaja. Iako uticaj rezidualno kontaktne toksičnosti testiranih EU i OK na različite larvene stupnjeve nije poznat, Regnault-Roger & Hamraoui (1994) su utvrdili da je fumigantna primena EU majčine dušice, ruzmarina i bosiljka veoma toksična prema prvom larvenom stupnju pasuljevog žiška. Takođe, Papachristos & Stamopoulos (2002b) su zaključili da je fumigantna primena EU ruzmarina toksična prema svim larvenim stupnjevima pasuljevog žiška, uključujući i one koji se razvijaju unutar zrna pasulja. Na osnovu ovih podataka moglo bi se zaključiti da su testirana EU i OK ispoljila toksično delovanje na različite larvene stupnjeve žiška. Na smanjenje procenta oštećenih zrna i gubitka mase pasulja usled njegove infestacije pasuljevim žiškom, uticala su i EU drugih biljaka, kao i primena mlevenog biljnog materijala i aluminijum oksida. Jumbo *et al.* (2014) su postigli značajno smanjenje gubitka mase pasulja kontaktnom primenom EU *S. aromaticum* i *C. zeylanicum* u dozi od 13,5 i 69,3 $\mu\text{L}/\text{kg}$ pasulja respektivno, dok su Paul *et al.* (2009) značajno smanjili procent oštećenih zrna pasulja primenom praha samlevenih listova *Chenopodium ambrosioides* i semena *Azadirachta indica*, a Lazarević *et al.* (2018) primenom praha aluminijum oksida ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$).

Sa produženjem vremena isparavanja zabeležen je pad efikasnosti EU i OK na redukciju broja novoizašlih jedinki u F1 generaciji. Međutim, EU ruzmarina i njegove OK α -pinen i 1,8-cineol su značajno smanjile izleganje žižaka naredne generacije, smanjile procenat oštećenja i gubitak mase pasulja, dok ostala EU i OK u proseku nisu ostvarila bolji efekat od kontrole. U oglecima ispitivanja fumigantne toksičnosti EU ruzmarina je pokazalo zadovoljavajuće toksične efekte na jaja i larve pasuljevog žiška (Papachristos & Stampoulous, 2002b; 2004), kao i inhibiciju polaganja jaja (Regnault-Roger & Hamraoui, 1994; Papachristos & Stampoulous, 2002a), koje je potvrđeno i u ovom istraživanju u ogledu bez izbora na pasulju tretiranom sa EU ruzmarina. Takođe, Tak & Isman (2015) su utvrdili da se kontaktnom primenom 1,8-cineola i kamfora, komponenata EU ruzmarina, izaziva jača kutikularna penetracija i veća toksičnost prema larvama *T. ni*. Prema tome, moguće je da pomenute komponente EU ruzmarina ispoljavaju sinergistički efekat i prema larvama pasuljevog žiška. Pad efikasnosti EU u funkciji vremena je jedna od njihovih glavnih mana. Efikasnost opada zbog degradacije EU na koju utiču razni faktori, kao što su svetlost, temperatura, kiseonik (izaziva

oksidaciju), kontaminacija metalima (izazivaju autooksidaciju), kao i hemijski sastav i struktura komponenata EU (Turek & Stintzing, 2013). Problem perzistentnosti EU se može rešiti upotrebom minerala gline ili nanotehnologije. Ndomo *et al.* (2010b) su ispitali uticaj čistog EU i mešavine EU *C. viminalis* i montmorilonita (minerala gline) na pasuljevog žiška. Utvrđeno je da je mešavina EU *C. viminalis* i montmorilonita bila perzistentnija i izazvala veći mortalitet žižaka u odnosu na čisto ulje. Takođe, Yang *et al.* (2009) su upotreбили nanočestice polietilen glikola kao nosač za EU *Allium sativum* i ispitali njegovu insekticidnu aktivnost prema *T. castaneum*. Nakon 5 meseci, formulacija je ostvarila 80 % efikasnosti u poređenju sa 11 % koliko je imalo čisto EU *A. sativum*. Takođe, Hosseini *et al.* (2013) su izvršili enkapsulaciju EU origana sa nanočesticama hitosana i postigli sporije otpuštanje EU.

Standard Actellic 50 EC je potpuno inhibirao izleganje žižaka F1 generacije i sačuvaو pasulj od oštećenja i promene mase. Vreme isparavanja nije uticalo na njegov efekat. Najviše koncentracije svih EU i OK, pri standardnom vremenu isparavanja, ostvarile su identičan efekat kao i standard.

5.4. Uticaj etarskih ulja majčine dušice, ruzmarina i bosiljka i odabranih komponenata timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na polaganje jaja kod ženki pasuljevog žiška

Insekti poseduju složen olfaktorni sistem pomoću kojeg pronalaze potencijalne izvore hrane, partnera za parenje i mesto gde bi položili jaja. Pomoću gustatornih neurona ispituju kvalitet hrane, dok im olfaktorni neuroni ukazuju na mesto gde se ona nalazi. Biljni mirisi imaju značajnu ulogu u procesu pronalaženja biljke domaćina (Bruce *et al.*, 2005; Schroder & Hilker, 2008; de Bruyne & Baker, 2008). Pre nego što položi jaja, ženka pasuljevog žiška pomoću senzornih receptora za miris i ukus, koji se nalaze na antenama, mandibulama i labialnim palpima, ispita pasulj (Pouzat, 1981). Sekundarni biljni metaboliti mogu maskirati privlačan miris biljke domaćina, ili delovati repelentno i na taj način uticati na ovipoziciju štetnih insekata (Regnault-Roger, 1997; Schroder & Hilker, 2008).

U ogledima sa i bez izbora ispitan je uticaj EU majčine dušice, ruzmarina i bosiljka, kao i njihovih OK timola, α -pinena, 1,8-cineola i linalola na ovipoziciju ženki

pasuljevog žiška. Sva EU i OK su inhibirali ovipoziciju ženki u testu bez izbora, ali je statistički značajan efekat inhibicije zabeležen samo za EU. Više koncentracije (1 i 1,5 %) EU su ostvarile jači efekat inhibicije u poređenju sa najnižom (0,5 %). S druge strane, ovipoziciono deterrentna aktivnost prema ženkama pasuljevog žiška utvrđena je samo za EU majčine dušice i OK timol i α -pinen. Ovi rezultati se slažu sa rezultatima drugih istraživača, mada su u njima testirana EU i OK primenjeni fumigantno. Regnault-Roger & Hamraoui (1994) su utvrdili da je fumigantno delovanje 0,05 $\mu\text{L}/\text{cm}^3$ EU ruzmarina i bosiljka potpuno zaustavilo ovipoziciju ženki pasuljevog žiška, dok je EU majčine dušice smanjilo broj položenih jaja za 5-7 puta. Papachristos & Stampoulous (2002a) su takođe utvrdili značajnu antiovipozitonu aktivnost fumigantne aplikacije EU ruzmarina. Fumigantna primena timola i linalola u količini od 6 μM izazvala je skoro potpunu (98 %) inhibiciju ovipozicije ženki, dok je α -pinen u istoj dozi izazvao smanjenje ovipozicije za preko 60 % (Regnault-Roger and Hamraoui, 1995). Testirana EU i OK poseduju antiovipozicionu aktivnost i prema drugim vrstama insekata. Keita *et al.* (2000) navode da je 0,5 grama kaolina aromatizovanog sa 75 μL EU bosiljka skoro potpuno inhibiralo polaganje jaja *C. maculatus*. Yang *et al.* (2010) su ispitivali anti-ovipozicionu aktivnost raznih EU prema *Bemisia tabaci* i zaključili da je EU majčine dušice najefikasnije, dok su Laborda *et al.* (2013) utvrdili da se značajna inhibicija ovipozicije postiže izlaganjem imaga grinje *Tetranychus urticae* lisnom disku ($R = 2 \text{ cm}$) tretiranom sa 100 μL EU ruzmarina. Timol je ispoljio značajan ovipoziciono deterrentni efekat i na ženke komaraca *Aedes aegypti* (Waliwitiya *et al.*, 2009), *Anopheles stephensi* (Pandey *et al.*, 2009), kao i na tripse *Frankliniella occidentalis* i *Thrips tabaci* (Sedy & Koschier, 2003).

Deterentni, tj. odbojni, efekat je možda i najznačajniji efekat EU i OK, zato što insekti izbegavaju da dođu u kontakt sa izvorom odbojnosti, a to direktno utiče na smanjenje brojnosti populacije štetnih insekata. Ovo je od posebnog značaja za štetočinu kao što je pasuljev žizak koji štete ne pričinjava kao imago, već kao larva, pa bi se ometanjem ovipozicije ujedno smanjila i oštećenja pasulja. Takođe, smanjuje se mogućnost evolucije rezistentnosti, jer dugotrajno izlaganje insekata toksičnom dejstvu EU, slično kao i kod sintetičkih insekticida, može selektovati rezistentnost (Papachristos & Stampoulous, 2003). Osim toga, odbojne supstance utiču na smanjenje rizika od evolucije rezistentnosti i time što menjaju ponašanje insekata, tako što povećavaju

potrošnju energije u potrazi za adekvatnim domaćinom i povećavaju rizik od predatora (Deletre *et al.*, 2016). Takođe, sekundarni metaboliti biljaka ispoljavaju odbojni efekat i na insekte koji su rezistentni prema sintetičkim insekticidima. Utvrđeno je da kuminaldehid, dominantna komponenta EU *Cuminum cyminum*, i cinamaldehyd, dominantna komponenta EU *C. zeylanicum*, izazivaju jači odbojni efekat na ženke komarca *Anopheles gambiae* koje su rezistentne prema insekticidima iz grupe piretroida u poređenju sa normalno osetljivim ženkama (Deletre *et al.*, 2019). Poznato je i da združeno delovanje pojedinačnih komponenta EU, kao i različitih EU može da ispolji sinergistički efekat i pojača dejstvo odbojnosti, dok bi upotreba raznih vrsta formulacija produžila vreme odbojnog efekta (Nerio *et al.*, 2010).

5.5. Uticaj subletalnih i letalnih koncentracija etarskog ulja majčine dušice i timola na odrasle jedinke pasuljevog žiška

Insekticidi, bilo sintetički, bilo prirodnog porekla, mogu ispoljiti svoj efekat na insekte direktno, dovodeći do na mortaliteta, kao i indirektno, menjajući njihovo ponašanje i/ili fiziološke funkcije pod uticajem subletalnih koncentracija (Desneux *et al.*, 2007; de Araujo *et al.*, 2017; Campolo *et al.*, 2018). Etarska ulja mogu izazvati subletelane efekte na insekte, koji se ogledaju u smanjenju fekunditeta, fertiliteta, vremena preživljavanja nakon izlaganja, broja jedinki u narednoj generaciji, a mogu i uticati na ponašanje i trajanje razvića različitih insekatskih stadijuma (Pavela, 2007; Izakmehri *et al.*, 2013; Haddi *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2015; Borzoui *et al.*, 2016; Jesser *et al.*, 2017; Figueiredo *et al.*, 2017). Dokazano je da subletalne koncentracije sintetičkih insekticida kod insekata mogu izazvati i hormetički efekat, tj. stimulatorno delovanje nekog jedinjenja pri niskim koncentracijama, koje bi pri visokim koncentracijama bilo toksično. Na ovaj način može doći do smanjenja efikasnosti insekticida i evolucije rezistentnosti kod insekata (Desneux *et al.*, 2007; Cutler, 2013; Guedes & Cutler, 2014). Takođe, hormetički efekat na insekte je utvrđen i primenom subletalnih koncentracija EU. Haddi *et al.* (2015) su zaključili da subletalne koncentracije EU *Syzygium aromaticum* i *Cinnamomum zeylanicum* poseduju stimulatorno delovanje na vreme preživljavanja *S. zeamays*. Poznavanje uticaja subletalnih i letalnih koncentracija na ciljanog insekta je od izuzetnog značaja za

primenu novih insekticidnih jedinjenja. Zbog toga je, da bi se odredile subletalne i letalne doze, u okviru ovog istraživanja ispitan uticaj većeg broja koncentracija najefikasnijeg EU i OK, odnosno EU majčine dušice i njegove OK timola, na imaga pasuljevog žiška.

Ženke i mužjaci pasuljevog žiška se razlikuju u osetljivosti na toksičan efekat EU majčine dušice i timola, pa je zbog toga primenjen poseban opseg koncentracija kako za ženke tako i za mužjake, da bi se utvrdile letalne i subletalne koncentracije. Ženke pasuljevog žiška su manje osetljive prema toksičnom delovanju EU majčine dušice i timola u poređenju sa mužjacima, odnosno imaju veću vrednost LD₅₀. Do sličnog zaključka o polno specifičnim odgovorima došao je i Pavela (2007) u svom istraživanju. On je ispitao efekat različitih koncentracija EU majčine dušice prema odraslim jedinkama kućne muve *Musca domestica* i zaključio da su ženke manje osetljive u odnosu na mužjake.

Izlaganje ženki i mužjaka pasuljevog žiška subletalnim i letalnim koncentracijama EU majčine dušice i timola značajno je uticalo na smanjenje procenta i vremena preživljavanja oba pola. Sa porastom koncentracija EU majčine dušice i timola, značajnije se smanjivao procenat i vreme preživljavanja ženki i mužjaka. Ovi rezultatu se slažu sa rezultatima prethodnih istraživanja. Doza EU majčice dušice koja izaziva 30 % mortaliteta (LD₃₀), značajno je uticala na smanjenje dužine života oba pola odraslih jedinki *Musca domestica* (Pavela, 2007), dok je primena nešto niže letalne koncentracije (LC₂₀) EU *Eucalyptus camaldulensis* i *Heracleum persicum*, uticala na smanjenje dugovečnosti ženki žiška kravljeg graška *Callosobruchus maculatus* (Izakmehri *et al.*, 2013). Takođe, značajno smanjenje dužine života ženki bakrenastog plamenca *Plodia interpunctella*, postignuto je fumigantnom primenom LC₃₀ koncentracije EU *Artemisia khorassanica* i *Vitex pseudo-negundo* (Borzoui *et al.*, 2016). Međutim, izlaganjem imaga kukurznog žiška *Sitophilus zeamais* niskim koncentracijama EU *Syzygium aromaticum* i *Cinnamomum verum* izazvalo je stimulatoran (hormetički) efekat na vreme preživljavanja ove štetočine (Haddi *et al.*, 2015).

Da bi se objasnile razlike u prosečnom vremenu preživljavanja analizirana je dinamika umiranja jedinki primenom Gompertzovog modela, tako što je kriva uzrasno-specifične promene mortaliteta definisana parametrima *a* (inicijalni mortalitet) i *b*

(brzina starenja, odnosno umiranja). EU majčine dušice i njegova OK timol su značajno povećali inicijalni mortalitet i usporili brzinu starenja kod oba pola pasuljevog žiška u odnosu na kontrolnu grupu. Pri analizi mortaliteta Gompercovim modelom korišćene su tri najniže koncentracije ulja majčine dušice i timola, jer su ostale izazvale veliki mortalitet jedinki, te analiza nije bila moguća. Značajno smanjenje vremena preživljavanja ženki i mužjaka postignuto je primenom koncentracija 0,7; 0,8 % i 0,5; 0,55 % ulja majčine dušice respektivno, kao i koncentracijama 0,3; 0,35 % i 0,15; 0,2 % timola respektivno. Iako su te koncentracije značano redukovale brzinu starenja (*b*) žižaka, utvrđeno je da je značajno smanjenje vremena preživljavanja bila posledica velikog porasta inicijalnog mortaliteta (*a*). Do sličnih rezultata su došli i Lazarević *et al.* (2013) u svom istraživanju. Oni su utvrdili da subletalna doza parakvata od 5 g/L značajno utiče na povećanje inicijalnog mortaliteta i smanjenje brzine starenja oba pola pasuljevog žiška, kao i to da je smanjenje vremena preživljavanja posledica velikog porasta inicijalnog mortaliteta.

Izlaganjem parentalne generacije žižaka subletalnim i letalnim koncentracijama EU majčine dušice i timola postignut je značajan uticaj na broj žižaka F1 generacije. Najniža primenjena subletalna koncentracija (0,1 %) ulja i komponente je imala pozitivan uticaj na brojnost potomaka. Međutim, statistički značajan uticaj, a ujedno i hormetički efekat, na povećanje broja jedinku u F1 generaciji zabeležen je samo za potomstvo čiji su roditelji tretirani sa EU majčine dušice pri koncentraciji 0,1 %. Nasuprot tome, više koncentracije kako ulja tako i komponente su značajno smanjile broj novoizašlih jedinki. Pored uticaja na pasuljevog žiška, EU majčine dušice je ostvarilo efekat i na narednu generaciju *M. domestica* (Pavela, 2007). Naime, značajno manji procenat larvi ove štetočine, ispilio se iz jaja koja su položile ženke izložene LC₃₀ koncentraciji EU majčine dušice. Osim EU majčine dušice, značajan uticaj na smanjenje broja jedinki F1 generacije postignut je i izlaganjem parentalne generacije *S. zeamais*, LC₂₅ i LC₄₀ koncentracijama EU *S. aromaticum* i *C. verum* (Silva *et al.*, 2017). Takođe, izlaganje roditeljske generacije *Drosophila melanogaster* fumigantnom delovanju EU *Chamaecyparis obtusa*, značajno je smanjilo procenat larvi F1 generacije koje su prešle u stadijum lutke (Lee *et al.*, 2015). Činjenica da je hormetički efekat, na broj žižaka u F1 generaciji, postignut primenom 0,1 % koncentracije EU majčine dušice, a ne i primenom njegove najzastupljenije komponente timola, ukazuje na to da

biološka aktivnost EU ne zavisi samo od procentualno najzastupljenijih komponenata u EU, već i od međusobno sinergističkog delovanja komponenata, i na to da različite komponente EU imaju različite mehanizme delovanja (Bakkali *et al.*, 2008; Pavela, 2014; El Asbahani *et al.*, 2015; Tak & Isman, 2015; Tak *et al.*, 2016b).

Osim što su uticali na broj izleženih jedinki pasuljevog žiška, EU majčine dušice i timol su ostvarili efekat i na početak izleganja žižaka F1 generacije. Naime, dok su 0,1 i 0,5 % koncentracije ulja odložile izleganje, 0,1; 0,15 i 0,3 % koncentracije timola su ubrzale izleganje F1 generacije. Značajno je napomenuti i da je maksimalni broj izleženih jedinki pasuljevog žiška zabeležen ranije u odnosu na kontrolu kod 0,1; 0,2; 0,3 i 0,4 % koncentracija EU majčine dušice i svih koncentracija timola. Slično 0,1 % koncentraciji timola u mom eksperimentu, izlaganjem parentalne generacije *S. zeamais* LC₁₀ i LC₄₀ dozi EU *S. aromaticum* i *C. verum* respektivno, ubrzalo je izleganje F1 generacije, dok je maksimalan broj izleženih jedinki *S. zeamais* u F1 generaciji postignut ranije u poređenju sa kontrolom kod svih doza EU *C. verum* i LC₁₀ i LC₂₅ EU *S. aromaticum* (Silva *et al.*, 2017). Uticaj na promenu vremena trajanja razvića insekata u F1 generaciji ostvaren je i izlaganjem roditeljske generacije LC₂₅ koncentraciji sintetičkih insekticida (Guo *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2019). Slično kao i kod sintetičkih insekticida, izlaganje subletalnim koncentracijama EU bi moglo da doprinese povećanju populacija štetnih insekata.

Izlaganjem roditeljske generacije pasuljevog žiška različitim koncentracijama EU majčine dušice i timola ostvaren je značajan efekat na dužinu života ženki pasuljevog žiška u F1 generaciji, dok takav efekat kod mužjaka nije zabeležen. Koncentracija 0,5 % EU majčine dušice, kao i koncentracije timola 0,1 % i 0,3 %, značajno su smanjile dužinu života ženki F1 generacije. Takođe, značajno smanjenje mase ženki F1 generacije pasuljevog žiška postignuto je izlaganjem parentalne generacije jedino 0,2 % koncentraciji EU majčine dušice, dok nijedna koncentracija ulja, kao ni komponente nije delovala na variranje mase mužjaka F1 generacije. Međutim, izlaganje parentalne generacije subletalnim koncentracijama EU majčine dušice i timola nije značajno uticalo na fekunditet ženki pasuljevog žiška u F1 generaciji. EU majčine dušice ostvarilo je transgeneracijske efekte i na potomstvo *M. domestica* (Pavela, 2007). Larve i lutke F1 generacije *M. domestica*, čiji su roditelji bili izloženi LC₃₀ koncentraciji EU majčine dušice, bile su manje vitalne, dok su lutke bile

značajno manje u poređenju sa kontrolnom grupom. Borzoui *et al.* (2016) su ispitali transgeneracijske efekte primene EU A. *khorrassanica* i V. *pseudo-negundo* na larve *P. interpunctella*. Izlaganjem roditelja LC₃₀ koncentraciji pomenutih EU, rezultiralo je značajno nižim sadržajem belančevina, masti i glikogena kod larvi F1 generacije *P. interpunctella*.

Poznato je da izlaganje roditeljske generacije subletalnim koncentracijama sintetičkih insekticida može da izazove transgeneracijske efekte na potomstvo insekata (Calabrese & Blain, 2011; Guo *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2016; Rix *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2019). Takođe je utvrđeno da subletalne koncentracije sintetičkih insekticida mogu da ostvare hormetički efekat na izložene insekte, i da na taj način podstaknu povećanje brojnosti populacija štetnih, kao i neciljanih insekata (Desneux *et al.*, 2007; Cutler, 2013; Guedes & Cutler, 2014). Iako mehanizmi koji utiču na hemijski indukovanu hormezu kod insekata još uvek nisu dovoljno proučeni (Gressel, 2011; Glastad *et al.*, 2011), pretpostavlja se da insekticidni stres izaziva promene u endokrinom, antioksidativnom i detoksifikacionom sistemu insekata koje su u osnovi produženja života (Flatt & Kawecki 2007; Rattan, 2008; Yu *et al.*, 2010). Hormetički efekti zabeleženi u ovom, kao i u prethodnim istraživanjima (Haddi *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2017), predstavljaju značajne informacije o biološkim efektima supstanci biljnog porekla, koje mogu biti korisne za suzbijanje štetnih insekata u skladištima.

6. ZAKLJUČAK

Rezidualno kontaktna toksičnost na pasulju, koja dovodi do 100 % smrtnosti oba pola pasuljevog žiška, utvrđena je jedino za odabranu komponentu timol i to pri najvišoj koncentraciji (1,5 %) njene primene, pri standardnom vremenu isparavanja. Sa produženjem vremena isparavanja, opao je efekat i odabrane komponente timol. S druge strane, etarska ulja i odabrane komponente ostvarili su jači efekat kontaktne toksičnosti kada su primenjeni na staklenoj podlozi. Ipak, samo su etarsko ulje majčine dušice pri najvišoj koncentraciji (1,5 %), kao i sve koncentracije njegove komponente timola ostvarile 100 % smrtnost oba pola pasuljevog žiška, pri standardnom vremenu isparavanja. Sa produženjem vremena isparavanja, jedino je odabrana komponenta timol pri 1,5 % koncentraciji zadržala 100 % efikasnosti. Ženke pasuljevog žiška su mnogo manje osetljive na toksično delovanje EU majčine dušice i timola u odnosu na mužjake.

Sva etarska ulja i odabrane komponente su značajno smanjili broj žižaka u F1 generaciji, procenat oštećenog pasulja i gubitak mase pasulja, pri standardnom vremenu isparavanja. Međutim, protektivne karakteristike etarskih ulja i odabranih komponenata su opale sa produženjem vremena isparavanja. Najbolji protektivan efekat na pasulj, ispoljili su etarsko ulje majčine dušice i njegova odabrana komponenta timol.

Sva etarska ulja su značajno inhibirala ovipoziciju ženki pasuljevog žiška, posebno u višim koncentracijama (1 i 1,5 %). Međutim, ovipoziciono deterentni efekat potvrđen je samo za etarsko ulje majčine dušice pri višim koncentracijama (1 i 1,5 %), i odabrane komponente timol i α -pinen pri najnižoj koncentraciji (0,5 %).

Subletalne i letalne koncentracije etarskog ulja majčine dušice i timola značajno su smanjile procenat i vreme preživljavanja ženki i mužjaka, s tim da je izraženiji efekat na smanjenje procenta i vremena preživljavanja zabeležen pri višim koncentracijama pomenutog ulja i komponente. Takođe, značajno povećanje inicijalnog mortalitet (a) i smanjenje brzine starenja (b) utvrđeno je za 0,6 - 0,8 % koncentracije ulja za ženke i 0,5 i 0,55 % koncentracije ulja majčine dušice za mužjake, dok je timol uzrokovao značajno povećanje parametra a i smanjenje parametra b pri 0,3 i 0,4 % koncentracijama za ženke i 0,1 - 0,2 % koncentracijama za mužjake.

Značajno smanjenje broja žižaka F1 generacije zabeleženo je izlaganjem parentalne generacije pasulju tretiranom subletalnim i letalnim koncentracijama etarskog ulja majčine dušice i timola, s tim da je sa povećanjem koncentracija ulja i komponente postignut jači efekat na smanjenje broja žižaka. Etarsko ulje majčine dušice je pri LC₅ izazvalo hormetički efekat na broj žižaka F1 generacije, dok je pri koncentracijama 0,5 i 0,2 % značajno smanjilo dužinu života i masu ženki respektivno. Timol je, s druge strane, pri koncentracijama 0,1 i 0,3 % uzrokovao samo smanjenje dužine života ženki F1 generacije. Međutim, na dužinu života i masu mužjaka, kao i na fekunditet ženki nisu uticali ni ulje majčine dušice, ni timol.

Etarska ulje majčine dušice i njegova odabrana komponenta timol poseduju rezidualno kontaktnu toksičnost prema odraslim jedinkama pasuljevog žiška. Dalje, etarsko ulje majčine dušice i timol deluju protektivno na pasulj, tako što inhibiraju broj žižaka u F1 generaciji, smanjuju procenat oštećenja i gubitak mase tretiranog pasulja. Sva etarska ulja i odabrane komponente, košiččene u ovom istaživanju, inhibiraju ovipoziciju ženki, dok etarsko ulje majčine dušice, timol i alfa-pinen deluju deterrentno na ovipoziciju ženki. Osim toga, subletalne i letalne koncentracije etarskog ulja majčine dušice i timola utiču na smanjenje procenta i vremena preživljavanja oba pola pasuljevog žiška, kao i na smanjenje broja žižaka u F1 generaciji i na njihove adaptivne komponente. Zbog svog širokog spektra delovanja koji ispoljavaju prema pasuljevom žišku, etarsko ulje majčine dušice i njegova komponenta timol poseduju veliki potencijal za formulaciju bioloških preparata koji bi, zajedno sa drugim sredstvima biološke kontrole (npr. diatomejska zemlja), mogli da se koriste u okviru mera integrisane zaštite bilja, za zaštitu uskladištenog pasulja od ove ekonomski značajne štetočine.

7. LITERATURA

- Abate, T., & Ampofo, J. K. O. (1996): Insect Pests Of Beans In Africa: Their Ecology and Management. *Annual Review of Entomology*, 41, 45-73.
- Abate, T., Van Huis, A., & Ampofo, J. K. O. (2000): Pest management strategies in traditional agriculture: An African perspective. *Annu. Rev. Ent.*, 45, 631-659.
- Allsopp, E., Dewhurst, S. Y., Prinsloo, G. J., & Smart, L. E. (2014): Methyl salicylate, thymol and carvacrol as oviposition deterrents for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) on plum blossoms. *Arthropod-Plant Interactions*, 8, 421-427.
- Alvarez, N., Mckey, D., Hossaert-Mckey, M., Born, C., Mercier, L., & Benrey, B. (2005): Ancient and recent evolutionary history of the bruchid beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say, a cosmopolitan pest of beans. *Molecular Ecology*, 14, 1015-1024.
- Aslan, I., Özbek, H., Çalmasur, O., & Sahin, F. (2004): Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products*, 19, 167-173.
- Baier, A. H., & Webster, B. D. (1992): Control of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) in *Phaseolus vulgaris* L. seed stored on small farms-I. Evaluation of damage. *J. Stored Prod. Res.*, 28, 289-293.
- Bailey, P. (2007): Pests of field crops and pastures: Identification and control. CSIRO Publishing, 150 Oxford Street (P O Box 1139), Collingwood, VIC 3066, Australia, pp. 456.
- Baker, J. E., & Weaver, D. C. (1993): Resistance in Field Strains of the Parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) and Its Host, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae), to Malathion, Chlorpyrifos-methyl, and Pirimiphos-methyl. *Biological Control*, 3, 233-242.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008): Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.
- Belzile, A. S., Majerus, S. L., Podeszinski, C., Guillet, G., Durst, T., & Arnason, J. T. (2000): Dillapiol derivatives as synergists: structure–activity relationship analysis. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 66, 33-40.

- Benelli, G., Flamini, G., Canale, A., Cioni, P. L., & Conti, B. (2012): Toxicity of some essential oil formulations against the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera Tephritidae). *Crop Protection*, 42, 223-229.
- Benelli, G., Pavela, R., Giordani, C., Casettari, L., Curzi, G., Cappellacci, L., Petrelli, R., & Maggi, F. (2018): Acute and sub-lethal toxicity of eight essential oils of commercial interest against the filariasis mosquito *Culex quinquefasciatus* and the housefly *Musca domestica*. *Industrial Crops & Products*, 112, 668-680.
- Bernards, M. A. (2010): Plant natural products: a primer. *Can. J. Zool.*, 88, 601-614.
- Bett, K. P., Deng, L. A., Ogendo, O. J., Kariuki, T. S., Kamatenesi-Mugisha, M., Mihale, M. J., & Torto, B. (2016): Chemical composition of *Cupressus lusitanica* and *Eucalyptus saligna* leaf essential oils and bioactivity against major insect pests of stored food grains. *Industrial Crops and Products*, 82, 51-62.
- Bett, P. K., Deng, A. L., Ogendo, J. O., Kariukia, S. T., Kamatenesi-Mugishad, M., Mihalee, J. M., & Tortof, B. (2017): Residual contact toxicity and repellence of *Cupressus lusitanica* Miller and *Eucalyptus saligna* Smith essential oils against major stored product insect pests. *Ind. Crop. Prod.*, 110, 65-74.
- Bittner, M. L., Casanueva, M. E., Arbert, C. C., Aguilera, M. A., Hernandez, V. J., & Becerra, J. V. (2008): Effects of essential oils from five plant species against the granary weevils *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera). *Journal of the Chilean Chemical Society*, 53, 1455-9.
- Borges, R. S., Ortiz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., & Carvalho, J. C. T. (2019): Rosmarinus officinalis essential oil: A review of its phytochemistry, antiinflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*, 229, 29-45.
- Borzoui, E., Naseri, B., Abedi, Z., & Karimi-Pormehr, M. S. (2016): Lethal and sublethal effects of essential oils from *Artemisia khorassanica* and *Vitex pseudo-negundo* against *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*, 45, 1220-1226.
- Bovornnanthadej, T., Boonsoong, B., Taylor, D., Kainoh, Y., Koul, O., & Bullangpoti, V. (2013): Effect of Thymol on Reproductive Biology of *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Comm. Appl. Biol. Sci.*, 78, 311-316.

- Brahmi, F., Abdenour, A., Bruno, M., Silvia, P., Alessandra, P., Danilo, F., Drifa, Y.-G., Fahmi, E. M., Khodir, M., & Mohamed, C. (2016): Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 88, 96-105.
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S. S., & Soberón, M. (2011): *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. *Insect biochemistry and molecular biology*, 41, 423-431.
- Bruce, T. J. A., Wadhams, L. J., and Woodcock, C. M. (2005): Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*, 10, 269-274.
- Buentello-Wong, S., Galán-Wong, L., Arévalo-Nino, K., Almaguer-Cantú, V., & Rojas-Verde, G. (2016): Toxicity of some essential oil formulations against the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae). *Industrial Crops and Products* 85, 58-62.
- Caballero-Gallardo, K., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. E. (2011): Repellent Activity of Essential Oils and Some of Their Individual Constituents against *Tribolium castaneum* Herbst. *J. Agric. Food Chem.*, 59, 1690-1696.
- Calabrese, E. J., & Blain, R. B. (2011): The hormesis database: The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 61, 73-81.
- Campolo, O., Giunti, G., Russo, A., Palmeri, V., & Zappala, L. (2018): Essential Oils in Stored Product Insect Pest Control. *Journal of Food Quality*, Article ID 6906105, 18 pages.
- Cao, J.-q., Pang, X., Shan-shan Guo, S.-s., Wang, Y., Geng, Z.-f., Sang, Y.-l., Guo, P.-j., & Du, S.-s. (2019): Pinene-rich essential oils from *Haplophyllum dauricum* (L.) G. Don display anti-insect activity on two stored-product insects. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 140, 1-8.
- Carlini, C. R. & Grossi-de-Sá, M. F. (2002). Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. *Toxicon*, 40, 1515-1539.
- Chen, X., Ma, K., Li, F., Liang, P., Liu, Y., Guo, T., Song, D., Desneux, N., & Gao, X. (2016): Sublethal and transgenerational effects of sulfoxaflor on the biological

- traits of the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Ecotoxicology*, 25, 1841-1848.
- Chiluwal, K., Kim, J., Bae, S. D., & Park, C. G. (2017): Essential oils from selected wooden species and their major components as repellents and oviposition deterrents of *Callosobruchus chinensis* (L.). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20, 1447-1453.
- Choi, W.-S., Park, B.-S., Lee, Y.-H., Jang, D. Y., Yoon, H. Y., & Lee, S.-E. (2006): Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. *Crop Protection*, 25, 398-401.
- Copping, L. G. (2009): *The Manual of Biocontrol Agents*. BCPC Publications, Hampshire.
- Crespo, R., Juárez, M. P., Dal Bello, G. M., Padín, S., Calderón Fernández, G., & Pedrini, N. (2002): Increased mortality of *Acanthoscelides obtectus* by alkane-grown *Beauveria bassiana*. *BioControl*, 47, 685-696.
- Cutler, G. C. (2013): Insects, insecticides and hormesis: evidence and considerations for study. *Dose-Response*, 11, 154-177.
- Daglish, G. J., Hall, E. A., Zorzetto, M. J., Lambkin, T. M., & Erbacher, J. M. (1993): Evolution of the protectants for control of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) in navy beans *Phaseolus vulgaris* (L.). *J. Stored Prod. Res.*, 29, 215-219.
- Dal Bello, G., Padin, S., Juarez, P., Pedrini, N., & De Giusto, M. (2006): Biocontrol of *Acanthoscelides obtectus* and *Sitophilus oryzae* with diatomaceous earth and *Beauveria bassiana* on stored grains. *Biocontrol Science and Technology*, 16, 215-220.
- de Araujo, A. M. N., Faroni, L. R. D., de Oliveira, J. V., Navarro, D. M. do A. F., Barbosa, D. R. e S., Breda, M. O., & de Franca, S. M. (2017): Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. *Journal of Pest Science*, 90, 589-600.
- de Bruyne, M., & Baker, T. C. (2008): Odor Detection in Insects: Volatile Codes. *J. Chem. Ecol.*, 34, 882-897.

- Deletre, E., Martin, T., Dumenil, C., & Chandre, F. (2019): Insecticide resistance modifies mosquito response to DEET and natural repellents. *Parasit. Vectors.*, 2019, 12, 89. Doi: 10.1186/s13071-019-3343-9
- Deletre, E., Schatz, B., Bourguet, D., Chandre, F., Williams, L., Ratnadass, A., & Martin, T. (2016): Prospects for repellent in pest control: current developments and future challenges. *Chemoecology*, 26, 127-142.
- Delgado-Salinas, A., Turley, T., Richman, A., & Lavin, M. (1999): Phylogenetic analysis of the cultivated and wild species of *Phaseolus* (Fabaceae). *Systematic Botany*, 24, 438-460.
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J.-M. (2007): The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 52, 81-106.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016): Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*, 3, 25.
- Ebeling, W. (1971): Sorptive dusts for pest control. *Annual Review of Entomology*, 16, 123-158.
- El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Aït Addi, E. H., Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F. N. R., & Elaissari, A. (2015): Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483, 220-243.
- Enan, E. E. (2001): Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comp. Biochem. Physiol.*, 130, 325-337.
- Enan, E. E. (2005): Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 35, 309-321.
- Erler, F., Erdemir, T., Ceylan, F. O., & Ter, C. (2009): Fumigant toxicity of three essential oils and their binary and tertiary mixtures against the pulse beetle, *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, 18, 975-981.
- Figueiredo, M. B., Gomes, G. A., Santangelo, J. M., Pontes, E. G., Azambuja, P., Garcia, E. S., & de Carvalho, M. G. (2017): Lethal and sublethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae) and monoterpenes on Chagas'

- disease vector *Rhodnius prolixus*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 112, 63-69.
- Finney, D. J. (1971): *Probit Analysis*, 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, 333.
- Flatt, T., & Kawecki, T. J. (2007): Juvenile hormone as a regulator of the trade-off between reproduction and life span in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 61, 1980-1991.
- Fleurat-Lessard, F., Chaurand, M., Marchegay, G., & Abecassis, J. (2007): Effects of processing on the distribution of pirimiphos-methyl residues in milling fractions of durum wheat. *J. Stored Prod. Res.*, 43, 384-395.
- Follett, P. A., Rivera-Leong, K., & Myers, R. (2014): Rice weevil response to basil oil fumigation. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17, 119-121.
- Giga, D. P., Ampofo, J. K. O., Nahdy, S., Negasi, F., Nahimana, M., & Msolla, S. N., (1992): On-Farm Storage Losses due to Bean Bruchids and Farmers' Control Strategies. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.
- Glastad, K. M., Hunt, B. G., Yi, S. V., & Goodisman, M. A. D. (2011): DNA methylation in insects: on the brink of the epigenomic era. *Insect Mol. Biol.*, 20, 553-565.
- Golebiowski, M., Malinski, E., Nawrot, J., & Stepnowski, P. (2008): Identification and characterization of surface lipid components of the dried-bean beetle *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.*, 44, 386-388.
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswary, M., & Yogalakshmi, K. (2013): Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental Parasitology*, 134, 7-11.
- Gressel, J. (2011): Low pesticide rates may hasten the evolution of resistance by increasing mutation frequencies. *Pest Manag. Sci.*, 67, 253-257.
- Guedes, R. N. C., & Cutler, C. (2014): Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. *Pest Management Science*, 70, 690-697.

- Guedes, R. N. C., Dover, B. A., & Kambhampati, S. (1996): Resistance to Chlorpyrifos-Methyl, Pirimiphos-Methyl, and Malathion in Brazilian and U.S. Populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Economic Entomology*, 89, 27-32.
- Guo, L., Desneux, N., Sonoda, S., Liang, P., Han, P., & Gao, X.-W. (2013): Sublethal and transgenerational effects of chlorantraniliprole on biological traits of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Crop Protection*, 48, 29-34.
- Haddi, K., Oliveira, E. E., Faroni, L. R. A., Guedes, D. C., & Miranda, N. N. S. (2015): Sublethal Exposure to Clove and Cinnamon Essential Oils Induces Hormetic-Like Responses and Disturbs Behavioral and Respiratory Responses in *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 108, 815-822.
- Haselton, A. T., Acevedo, A., Kuruvilla, J., Werner, E., Kiernan, J., & Dhar, P. (2015): Repellency of a-pinene against the house fly, *Musca domestica*. *Phytochemistry* 117, 469-475.
- Hill, D. S. (1990): Pests of stored products and their control. London, Great Britain: Belhaven Press.
- Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., & Farahmandghavi, F. (2013): Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydr. Polym.*, 95, 50-56.
- Izakmehri, K., Saber, M., Mehrvar, A., Hassanpouraghdam, M. B., & Vojoudi, S. (2013): Lethal and sublethal effects of essential oils from *Eucalyptus camaldulensis* and *Heracleum persicum* against the adults of *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Insect Science*, 13:152.
- Janaki, S., Zandi-Sohani, N., Ramezani, L., & Szumny, A. (2018): Chemical composition and insecticidal efficacy of *Cyperus rotundus* essential oil against three stored product pests. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 133, 93-98.
- Jesser, E. N., Werdin-Gonzalez, J. O., Murray, A. P., & Ferrero, A. A. (2017): Efficacy of essential oils to control the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20, 1122-1129.

- Jiang, Z. L., Akhtar, Y., Zhang, X., Bradbury, R., & Isman, M. B. (2012): Insecticidal and feeding deterrent activities of essential oils in the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Appl. Entomol.*, 136, 191-202.
- Johnson, C. D. (1970): Biosystematics of the Arizona, California and Oregon species of the seed beetles genus *Acanthoscelides* Schilsky (Coleoptera: Bruchidae). *Univ. Calif. Publ. Ent.*, 59, 1-116.
- Jovanović, Z., Kostić, M., & Popović, Z. (2007): Grain-protective properties of herbal extracts against the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say. *Industrial Crops and Products*, 26, 100-104.
- Julio, A. H. F., Gigliolli, A. A. S., Cardoso, K. A. K., Drosdoski, S. D., Kulza, R. A., Seixas, F. A. V., Ruvolo-Takasusuki, M. C. C., de Souza, C. G. M., & Lapenta, A. S. (2017): Multiple resistance to pirimiphos-methyl and bifenthrin in *Tribolium castaneum* involves the activity of lipases, esterases, and laccase2. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 195, 27-43.
- Jumbo, L. O. V., Faroni, R. A. L., Oliveira, E. E., Pimentel, A. M., & Silva, N. G. (2014): Potential use of clove and cinnamon essential oils to control the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* Say, in small storage units. *Industrial Crops and Products*, 56, 27-34.
- Keita, S. M., Vincent, C., Schmit, J.-P., Ramaswamy, S., & Belanger, A. (2000): Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 36, 355-364.
- Ketoh, G. K., Koumaglo, H. K., Glitho, I. A., Auger, J., & Huignard, J. (2005): Essential oils residual effects on *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) survival and female reproduction and cowpea seed germination. *International Journal of Tropical Insect Science*, 25, 129-133.
- Khater, H. F., Ramadan, M. Y., & El-Madawy, R. S. (2009): Lousicidal, ovicidal and repellent efficacy of some essential oils against lice and flies infesting water buffaloes in Egypt. *Veterinary Parasitology*, 164, 257-266.
- Khosravi, R., & Sendi, J. J. (2013): Toxicity, development and physiological effect of *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia* essential oils on *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of King Saud University – Science*, 25, 349-355.

- Kim, S. I., & Lee, D. W. (2014): Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17, 13-17.
- Kingsolver, J. M. (2004): Handbook of the Bruchidae of the United States and Canada (Insecta, Coleoptera). U.S. Department of Agriculture, Technical Bulletin 1912, Vols. 1&2, pp. 524.
- Kordali, S., Kesdek, M., & Cakir, A. (2007): Toxicity of monoterpenes against larvae and adults of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *Industrial Crops and Products* 26, 278-297.
- Kostić, M., Popović, Z., Brkić, D., Milanović, S., Sivčev, I., & Stanković, S. (2008): Larvicidal and antifeedant activity of some plant-derived compounds to *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Limantriidae). *Bioresource Technology*, 99, 7897-7901.
- Koul, O., Singh, R., Kaur, B., & Kanda, D. (2013): Comparative study on the behavioral response and acute toxicity of some essential oil compounds and their binary mixtures to larvae of *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera litura* and *Chilo partellus*. *Industrial Crops and Products*, 49, 428-436.
- Kuete, V. (2017): Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases. Elsevier, Inc., pp. 599-600. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00028-5>
- Labeyrie, V. (1990): The bean beetle (*Acanthoscelides obtectus*) and its host, the French bean (*Phaseolus vulgaris*): a two-way colonization story. In: *Biological invasions in Europe and the Mediterranean basin*. F. di Castri, A. J. Hansen, & M. Debussche, (Eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 14, 229-243.
- Laborda, R., Manzano, I., Gamón, M., Gavidia, I., Pérez-Bermúdez, P., & Boluda, R. (2013): Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, 48, 106-110.
- Lazarević, J., Radojković, A., Kostić, I., Krnjajić, S., Mitrović, J., Kostić, M. B., Novaković, T., Branković, Z., & Branković, G. (2018): Insecticidal impact of

- alumina powders against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, 77, 45-54.
- Lazarević, J., Stojković, B., Đorđević, M., & Tucić, N. (2013): Resistance to prooxidant agent paraquat in the short- and long-lived lines of the seed beetle (*Acanthoscelides obtectus*). *Biogerontology*, 14, 141-152.
- Lee, B.-H., Annis, P. C., Tumaalii, F., & Choi, W.-S. (2004): Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 40, 553-564.
- Lee, S.-H., Do, H.-S., & Min, K.-J. (2015): Effects of Essential Oil from Hinoki Cypress, *Chamaecyparis obtusa*, on Physiology and Behavior of Flies. *PLoS ONE* 10(12): e0143450. doi:10.1371/journal.pone.0143450
- Lopez, M. D., & Pascual-Villalobos, M. J. (2010): Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Ind. Crops Prod.*, 31, 284-288.
- Luís, A., Duarte, A., Gominho, J., Domingues, F., & Duarte, A. P. (2016): Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 79, 274-282.
- Majouli, K., Hlila, M. B., Hamdi, A., Flamini, G., Jannet, H. B., & Kenani, A. (2016): Antioxidant activity and -glucosidase inhibition by essential oils from *Hertia cheirifolia* (L.). *Industrial Crops and Products*, 82, 23-28.
- Mansour, S. A., El-Sharkawy, A. Z., & Abdel-Hamidb, N. A. (2015): Toxicity of essential plant oils, in comparison with conventional insecticides, against the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål). *Industrial Crops and Products* 63, 92-99.
- Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., Gortzi, O., Izadi, M., & Nabavi, S. M. (2016): Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chemistry*, 210, 402-414.
- Martin, C. L., & Edmund, W. S. (1991): Seed predation by the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* on *Phaseolus* species: consequences for the seed size, early growth and reproduction. *Oikos*, 60, 205-214.

- Mazid, S., Jogen Ch. Kalita, C. J., & Rajkhowa, C. R. (2011): A review on the use of biopesticides in insect pest management. *International Journal of Science and Advanced Technology*, 1, 169-178.
- Mbata, G. N., & Payton, M. E. (2013): Effect of monoterpenoids on oviposition and mortality of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) under hermetic conditions. *Journal of Stored Products Research*, 53, 43-47.
- Mills, C., Cleary, B. J., Glimer, J. F., & Walsh, J. J. (2004): Inhibition of acetylcholinesterase by tea tree oil. *J. Pharm. Pharmacol.*, 56, 375-379.
- Miresmailli, S., & Isman, M. B. (2014): Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science*, 19, 29-35.
- Mohapatra, D., Kar, A., & Giri, S. K. (2015): Insect Pest Management in Stored Pulses: an Overview. *Food Bioprocess Tech*, 8, 239-265.
- Mossa, A. T. H. (2016): Green Pesticides: Essential Oils as Biopesticides in Insect-pest Management. *Environ Sci Technol*, 9, 354-378.
- Nagoor Meeran, M. F., Javed, H., Al Tae, H., Azimullah, S., & Ojha, S. K. (2017): Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. *Front. Pharmacol.*, 8, 380.
- Nana, P., Nchu, F., Bikomo, R.M., & Kutima, H. L. (2014): Efficacy Of Vegetable Oils Against Dry Bean Beetles *Acanthoscelides obtectus*. *African Crop Science Journal*, 22, 175-180.
- Napoli, E. M., Curcuruto, G., & Ruberto, G. (2010): Screening of the essential oil composition of wild Sicilian rosemary. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 659-670.
- Navarro, S. (2012): The use of modified and controlled atmospheres for the disinfestation of stored products. *Journal of Pest Science*, 85, 301-322.
- Ndomo, A. F., Ngamo, L. T., Tapondjou, A. L., Tchouanguép, F. M., & Hance, T. (2008): Insecticidal effects of the powdery formulation based on clay and essential oil from the leaves of *Clausena anisata* (Willd.) J.D. Hook ex. Benth. (Rutaceae) against *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Pest. Sci.*, 81, 227-234.

- Ndomo, A. F., Tapondjou, L. A., & Tchouanguép, F. M. (2010a): Insecticidal effect of anisaldehyde against *Acanthoscelides obtectus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Julius-Kühn-Archiv*, 425, 735-740.
- Ndomo, A. F., Tapondjou, L. A., Ngamo, L. T., & Hance, T. (2010b): Insecticidal activities of essential oil of *Callistemon viminalis* applied as fumigant and powder against two bruchids. *J. Appl. Entomol.*, 134, 333-341.
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. (2010): Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101, 372-378.
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. E. (2009): Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 45, 212-214.
- Ofuya, T. I., & Reichmuth, C. (1993): Control of two bruchid pests of stored grain legumes in a nitrogen atmosphere. *Crop Protection*, 12, 394-396.
- Oliveira, A. P., Santos, A. A., Santana, A. S., Lima, A. P. S., Melo, C. R., Santana, E. D. R., Sampaio, T. S., Blank, A. F., Araújo, A. P. A., Cristaldo, P. F., & Baccia, L. (2018): Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Crop Protection*, 112, 33-38.
- Oliveira, M. R. C., Correa, A. S., Souza, G. A. de, Guedes, R. N. C., & Oliveira, L. O. de (2013): Mesoamerican Origin and Pre- and Post-Columbian Expansions of the Ranges of *Acanthoscelides obtectus* Say, a Cosmopolitan Insect Pest of the Common Bean. *PLoS ONE* 8(7): e70039. doi:10.1371/journal.pone.0070039.
- Oloyede, G. K. (2016): Toxicity, antimicrobial and antioxidant activities of methyl salicylate dominated essential oils of *Laportea aestuans* (Gaud). *Arabian Journal of Chemistry*, 9, S840-S845.
- Onofrei, V., Benchennouf, A., Jancheva, M., Loupassaki, S., Ouaret, W., Burducea, M., Lobiuc, A., Telibana, G.-C., & Robu, T. (2018): Ecological foliar fertilization effects on essential oil composition of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivated in a field system. *Scientia Horticulturae*, 239, 104-113.
- Padalia, R. C., Verma, R. S., Upadhyay, R. K., Chauhan, A., & Singh, V. R. (2017): Productivity and essential oil quality assessment of promising accessions of

- Ocimum basilicum* L. from north India. *Industrial Crops and Products*, 97, 79-86.
- Pandey, S. K., Upadhyay, S., & Tripathi, A. K. (2009): Insecticidal and repellent activities of thymol from the essential oil of *Trachyspermum ammi* (Linn) Sprague seeds against *Anopheles stephensi*. *Parasitology Research*, 105, 507-512.
- Pandiyan, G. N., Mathew, N., & Munusamy, S. (2019): Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, 549-556.
- Papachristos, D. P., & Stamopoulos, D. C. (2002a): Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38, 117-128.
- Papachristos, D. P., & Stamopoulos, D.C. (2002b): Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38, 365-373.
- Papachristos, D. P., & Stamopoulos, D.C. (2003): Selection of *Acanthoscelides obtectus* (Say) for resistance to lavender essential oil vapour. *Journal of Stored Products Research*, 39, 433-441.
- Papachristos, D. P., & Stamopoulos, D.C. (2004): Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 40, 517-525.
- Papachristos, D. P., Karamanoli, K. I., Stamopoulos, D. C., & Menkissoglu-Spiroudi, U. (2004): The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Pest Management Science*, 60, 514-520.
- Park, C. G., Jang, M., Yoon, K. A., & Junheon Kim, J. (2016): Insecticidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of Lamiaceae plant essential oils and their major components against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Industrial Crops and Products*, 89, 507-513.
- Paul, V. U., Lossini, S. J., Edwards, J. P., & Hilbeck, A. (2009): Effectiveness of products from four locally grown plants for the management of *Acanthoscelides obtectus* (Say) and *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (both Coleoptera:

- Bruchidae) in stored beans under laboratory and farm conditions in Northern Tanzania. *Journal of Stored Products Research*, 45, 97-107.
- Pauli, A. (2008): Relationship between lipophilicity and toxicity of essential oils. *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, 2, 60-68.
- Pavela, R. (2007): Lethal and Sublethal Effects of Thyme Oil (*Thymus vulgaris* L.) on the House Fly (*Musca domestica* Lin.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10, 346-356.
- Pavela, R. (2011a): Insecticidal and repellent activity of selected essential oils against of the pollen beetle, *Meligethes aeneus* (Fabricius) adults. *Industrial Crops and Products*, 34, 888-892.
- Pavela, R. (2011b): Antifeedant and larvicidal effects of some phenolic components of essential oils lasp lines of introduction against *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14, 266-273.
- Pavela, R. (2014): Acute, synergistic and antagonistic effects of some aromatic compounds on the *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lep., Noctuidae) larvae. *Industrial Crops and Products*, 60, 247-258.
- Pavela, R. (2015): Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say larvae. *Parasitol Res.*, 114, 3835-3853.
- Pavela, R., & Benelli, G. (2016): Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends Plant. Sci.*, 21, 1000-1007.
- Pavela, R., Vrchotová, N., & Tríska, J. (2009): Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.*, 105, 1365-1370.
- Pemonge, J., Pascual-Villalobos, M. J., & Regnault-Roger, C. (1997): Effects of Material and Extracts of *Trigonella foenum-graecum* L. Against the Stored Product Pests *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. stored Prod. Res.*, 33, 209-217.
- Pereira, I., Severino, P., Santos, A. C., Silva, A. M., & Souto, E. B. (2018): Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171, 566-578.

- Phillips, T. W., & Throne, J. E. (2010): Biorational Approaches to Managing Stored-Product Insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 55, 375-397.
- Plata-Rueda, A., Campos, J. M., da Silva Rolim, G., Martínez, L. C., Dos Santos, M. H., Fernandes, F. L., Serrão, J. E., & Zanuncio, J. C. (2018): Terpenoid constituents of cinnamon and clove essential oils cause toxic effects and behavior repellency response on granary weevil, *Sitophilus granarius*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 263-270.
- Pletcher, S. D. (1999): Model fitting and hypothesis testing for agespecific mortality data. *J. Evol. Biol.*, 12, 430-440.
- Pouzat, J. (1981): The role of sense organs in the relations between bruchids and their host plants. In: V. Labeyrie (ed.), *The ecology of bruchids attacking legumes (pulses)*, Junk Publ., Dordrecht, pp. 61-72.
- Prajapati, V., Tripathi, A. K., Aggarwal, K. K., & Khanuja, S. P. S. (2005): Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology*, 96, 1749-1757.
- Priestley, C. M., Williamson, E. M., Wafford, K. A., & Sattelle, D. B. (2003): Thymol, a constituent of thyme essential oils, is a positive modulator of human GABA and a homooligosteric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *Br. J. Pharmacol.*, 140, 1363-1372.
- Rattan, S. I. (2008): Hormesis in aging. *Ageing Research Reviews*, 7, 63-78.
- Regnault-Roger, C. (1997): The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews*, 2, 25-34.
- Regnault-Roger, C., & Hamraoui, A. (1994): Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection*, 13, 624-628.
- Regnault-Roger, C., & Hamraoui, A. (1995): Fumigant Toxic Activity and Reproductive Inhibition Induced By Monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a Bruchid of Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Stored. Prod. Res.*, 31, 291-299.

- Regnault-Roger, C., Vincent, C., & Arnason, J. T. (2012): Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57, 405-424.
- Ribeiro, R. C., Zanuncio, T. V., de Sousa Ramalho, F., da Silva, C. A. D., Serrão, J. E., & Zanuncio, J. C. (2015): Feeding and oviposition of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) with sublethal concentrations of ten condiments essential oils. *Industrial Crops and Products*, 74, 139-143.
- Ríos, N., Stashenko, E. E., & Duque, J. E. (2017): Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 61, 307-311.
- Rix, R. R., Ayyanath, M. M., & Cutler, G. C. (2016): Sublethal concentrations of imidacloprid increase reproduction, alter expression of detoxification genes, and prime *Myzus persicae* for subsequent stress. *J. Pest Sci.*, 89, 1-9.
- Rojht, H., Košir, J. I., & Trdan, S. (2012): Chemical analysis of three herbal extracts and observation of their activity against adults of *Acanthoscelides obtectus* and *Leptinotarsa decemlineata* using a video tracking system. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 119, 59-67.
- Römbke, J., & Moltmann, J. F. (2000): *Applied Ecotoxicology*, Ed. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), Lewis Publishers, pp. 282.
- Sabogal-Guaqueta, A. M., Osorio, E., & Cardona-Gomez, G. P. (2016): Linalool reverses neuropathological and behavioral impairments in old triple transgenic Alzheimer's mice. *Neuropharmacology*, 102, 111-120.
- Santos, A. A., de Oliveira, B. M. S., Melo, C. R., Lima, A. P. S., Santana, E. D. R., Blank, A. F., Picanço, M. C., Araújo, A. P. A., Cristaldo, P. F., & Bacci, L. (2017): Sub-lethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* on drywood termite *Cryptotermes brevis* (Blattodea: Termitoidea). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 145, 436-441.
- Savković, U., Vučković, I., & Stojković, B. (2012): The growth on different stored legume species affects the profiles of cuticular hydrocarbon (CHC) in *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, 50, 66-72.
- Schmale, I., Wackers, F. L., Cardona, C., & Dorn, S. (2001): Control Potential of Three Hymenopteran Parasitoid Species against the Bean Weevil in Stored Beans: The

- Effect of Adult Parasitoid Nutrition on Longevity and Progeny Production. *Biological Control*, 21, 134-139.
- Schmale, I., Wäckers, F. L., Cardona, C., & Dorn, S. (2002): Field infestation of *Phaseolus vulgaris* by *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae), parasitoid abundance, and consequences for storage pest control. *Environmental Entomology*, 31, 859-863.
- Schmale, I., Wackers, F. L., Cardona, C., & Dorn, S. (2006): Biological control of the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col.: Bruchidae), by the native parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hym.: Pteromalidae) on small-scale farms in Colombia. *Journal of Stored Products Research*, 42, 31-41.
- Schroder, R., & Hilker, M. (2008): The Relevance of Background Odor in Resource Location by Insects: A Behavioral Approach. *BioScience*, 58, 308-316.
- Sedy, K. A., & Koschier, E. H. (2003): Bioactivity of carvacrol and thymol against *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci*. *J. Appl. Ent.*, 127, 313-316.
- Sener, O., Arslan, M., Demirel, N., & Uremis, I. (2009): Insecticidal effects of some essential oils against the confused flour beetle (*Tribolium confusum* du Val) (Col.: Tenebrionoidea) in stored wheat. *Asian Journal of Chemistry*, 21, 3995-4000.
- Sertkaya, E. (2013): Fumigant Toxicity of the Essential Oils from Medicinal Plants Against Bean Weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Asian Journal of Chemistry*, 25, 553-555.
- Šešljija-Jovanović, D., Djordjević, M., Savković, U., & Lazarević, J. (2014): The effect of mitochondrial complex I inhibitor on longevity of short-lived and long-lived seed beetles and its mitonuclear hybrids. *Biogerontology*, 15, 487-501.
- Shaaya, E., & Rafaeli, A. (2007): Essential oils as biorational insecticides-potency and mode of action. In *Insecticides design using advanced technologies*, pp. 249-261. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Shahriari, M., Zibae, A., Sahebzadeh, N., & Shamakhi, L. (2018): Effects of α -pinene, trans-anethole, and thymol as the essential oil constituents on antioxidant system and acetylcholine esterase of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 150, 40-47.

- Silva, S. M., Haddi, K., Jumbo, L. O. V., & Oliveira, E. E. (2017): Progeny of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, is affected by parental exposure to clove and cinnamon essential oils. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 163, 220-228.
- Singh, H. P., Batish, D. R., Kaur, S., Arora, K., & Kohli, R. K. (2006): α -Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Ann. Bot.*, 98, 1261-1269.
- Sitzmann, J., Habegger, R., Schnitzler, W. H., & Grassmann, J. (2014): Comparative analysis of antioxidant activities of fourteen *Mentha* essential oils and their components. *Chem. Biodivers.*, 11, 1978-1989.
- Soares, M. A., Quintela, E. D., Mascarin, G. M., & Arthurs, S. P. (2015): Effect of temperature on the development and feeding behavior of *Acanthoscelides obtectus* (Chrysomelidae: Bruchinae) on dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Stored Products Research*, 61, 90-96.
- Sönmez, E., & Gülel, A. (2008): Effects of different temperatures on the total carbohydrate, lipid and protein amounts of the bean beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *Pakistan Journal of Biological Science*, 11, 1803-8.
- Soonwera, M., Wongnet, O., & Sittichok, S. (2018): Ovicidal effect of essential oils from Zingiberaceae plants and *Eucalyptus globulus* on eggs of head lice, *Pediculus humanus capitis* De Geer. *Phytomedicine*, 47, 93-104.
- Stamopoulos, D. C., Damos, P., & Karagianidou, G. (2007): Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 43, 571-577.
- Stathers, T. E., Denniff, M., & Golob, P. (2004): The efficacy and persistence of diatomaceous earths admixed with commodity against four tropical stored product beetle pests. *Journal of Stored Products Research*, 40, 113-123.
- Syombua, M. E. (2015): Effects of essential oils of *Lantana camara* and two ocimum species on bean weevil (*Acanthoscelides obtectus*) and their chemical compositions (Doctoral dissertation, School of Pure and Applied Sciences, Kenyatta University).

- Tak, J.-H., Jovel, E., & Isman, M. B. (2016a): Contact, fumigant, and cytotoxic activities of thyme and lemongrass essential oils against larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *J. Pest Sci.*, 89, 183-193.
- Tak, J.-H., & Isman, M. B. (2015): Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia ni*. *Scientific RepoRts*, 5:12690. DOI: 10.1038/srep12690
- Tak, J.-H., Jovel, E., & Isman, M. B. (2016b): Comparative and synergistic activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil constituents against the larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag. Sci.*, 72, 474-480.
- Talukder, F. (2009): Pesticide Resistance in Stored-Product Insects and Alternative Biorational Management: A Brief Review. *Agricultural and Marine Sciences*, 14, 9-15.
- Tang, Q., Ma, K., Chi, H., Hou, Y., & Gao, X. (2019): Transgenerational hormetic effects of sublethal dose of flupyradifurone on the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *PLoS ONE* 14(1): e0208058.
- Telci, I., Bayram, E., Yilmaz, G., & Avci, B. (2006): Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 489-497.
- Thompson, J. D., Chalchat, J. C., Michet, A., Linhart, Y. B., & Ehlers, B. (2003): Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 859-880.
- Tisserand, R., & Young, R. (2014): *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. Churchill Livingstone, Elsevier.
- Traboulsi, A. F., Taoubi, K., el-Haj, S., Bessiere, J. M., & Rammal, S. (2002): Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag. Sci.*, 58, 491-495.
- Trivellini, A., Lucchesinib, M., Magginib, R., Mosadegha, H., Villamarinb, S. S. T., Vernierib, P., Mensuali-Sodia, A., & Pardossib, A. (2016): Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of "positive-stress". *Ind. Crop. Prod.*, 83, 241-254.

- Tu, X.-F., Hu, F., Thakur, K., Li, X.-L., Zhang, Y.-S., & Wei, Z.-J. (2018): Comparison of antibacterial effects and fumigant toxicity of essential oils extracted from different plants. *Industrial Crops & Products*, 124, 192-200.
- Tucić, N., Stojković, O., Gliksman, I., Milanović, D., & Šešlija, D. (1997): Laboratory Evolution Of Life-History Traits In The Bean Weevil (*Acanthoscelides Obtectus*): The Effects Of Density-Dependent And Age-Specific Selection. *Evolution*, 51, 1896-1909.
- Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013): Stability of essential oils: a review. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, 12, 40-49.
- Ukeh, D. A., & Umoetok, S. B. A. (2011): Repellent effects of five monoterpenoid odours against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.) in Calabar, Nigeria. *Crop Protection*, 30, 1351-1355.
- Uygun, U., Senoz, B., & Koxsel, H. (2008): Dissipation of organophosphorus pesticides in wheat during pasta processing. *Food Chem.*, 109, 355-360.
- Valero-Jiménez, C. A., Wieggers, H., Zwaan, B. J., Koenraadt, C. J. M., & van Kan, J. A. L. (2016): Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 133, 41-49.
- Wahba, T. F., Mackled, M. I., Selim, S., & El-Zemity, S. R. (2018): Toxicity and reproduction inhibitory effects of some monoterpenes against the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Middle East Journal of Applied Sciences*, 8, 1061-1070.
- Waliwitiya, R., Kennedy, C. J., & Lowenberger, C. A. (2009): Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, *trans*-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Pest. Manag. Sci.*, 65, 241-248.
- Wang, H., Yang, Z., Ying, G., Yang, M., Nian, Y., Wei, F., & Kong, W. (2018): Antifungal evaluation of plant essential oils and their major components against toxigenic fungi. *Industrial Crops & Products*, 120, 180-186.
- Werdin González, J. O., Gutiérrez, M. M., Murray, A. P., & Ferrero, A. A. (2011): Composition and biological activity of essential oils from Labiatae against *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) soybean pest. *Pest Management Science*, 67, 948-955.

- Xie, Y., Wang, Z., Huang, Q., & Zhang, D. (2017): Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. *Industrial Crops & Products*, 108, 278-285.
- Yang, F-L., Li, X-G., Zhu, F., & Lei, C-L. (2009): Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Agric. Food Chem.*, 57, 10156-62.
- Yang, K., Wang, C. F., You, C. X., Geng, Z. F., Sun, R. Q., Guo, S. S., Du, S. S., Liu, Z. L., & Deng, Z. W. (2014): Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product insects. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17, 459-466.
- Yang, N.-W., Li, A.-L., Wan, F.-H., Liu, W.-X., & Johnson, D. (2010): Effects of plant essential oils on immature and adult sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. *Crop Protection*, 29, 1200-1207.
- Yu, Y., Shen, G., Zhu, H., & Lu, Y. (2010): Imidacloprid-induced hormesis on the fecundity and juvenile hormone levels of the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98, 238-242.
- Zellner, B. D., Presti, M. L., Barata, L. E. S., Dugo, P., Dugo, G., & Mondello, L. (2006): Evaluation of Leaf-Derived Extracts as an Environmentally Sustainable Source of Essential Oils by Using Gas Chromatography–Mass Spectrometry and Enantioselective Gas Chromatography–Olfactometry. *Anal. Chem.*, 78, 883-890.
- Zellner, D. A., Dugo, P., Dugo, G., & Mondello, L. (2010): Analysis of Essential Oils. In: Baser, K. H. C., Buchbauer, G. (Eds.), *Handbook of Essential Oils. Science, Technology and Applications*, CRC Press, Boca Raton, pp. 151-184.
- Zuzarte, M., & Salgueiro, L. (2015): Essential oil chemistry in bioactive essential oil and cancer. de Sausa (Ed.), Springer International Publishing, Switzerland.

Biografija

Stojan Jevremović je rođen 06. aprila 1988. u Beogradu. Osnovnu školu, kao i Petu beogradsku gimnaziju, završio je u Beogradu. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je 2007. godine. Studije na studijskom programu biljna proizvodnja, modul fitomedicina, završio je 2012. godine odbranom diplomskog rada na temu: „Efikasnost kombinacije fluopiram + fosetil Al u suzbijanju *Venturia inaequalis*“ sa ocenom 10 i prosečnom ocenom 8,12 tokom studija. Po završenim osnovnim studijama, iste godine, na istom fakultetu, upisao je master akademske studije, studijski program fitomedicina i završio ih 2013. godine, odbranivši master rad pod nazivom „Osetljivost izolata *Alternaria solani* na konvencionalne i biofungicide *in vitro*“, sa ocenom 10 i prosečnom ocenom 10 tokom master studija.

Doktorske studije upisao je 2013. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na studijskom programu: poljoprivredne nauke, modul: fitomedicina. Radnu karijeru započeo je kao volonter 2012. godine u Institutu za pesticide i zaštitu životne sredine u Beogradu, a od aprila 2014. godine zaposlen je u PSS Institut Tamiš kao saradnik za zaštitu bilja.

Pohadao je kurs pod nazivom: “PhD course Plant communication and trophic interactions: from plant behaviour to sustainable cropping“, održan od 18-23. novembra 2018. godine u Ekenäs Manor, (Švedska). U dosadašnjem radu objavio je nekoliko naučnih i stručnih radova u oblasti zaštite bilja. Govori, čita i piše engleski jezik.

Izjave

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Stojan Jevremović

Broj indeksa: FM 13/41

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom UTICAJ ETARSKIH ULJA I ODABRANIH KOMPONENATA MAJČINE DUŠICE, RUZMARINA I BOSILJKA NA PASULJEV ŽIŽAK *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu,

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Stojan Jevremović

Broj indeksa: FM 13/41

Studijski program: Poljoprivredne nauke, modul fitomedicina

Naslov rada: Uticaj etarskih ulja i odabranih komponenata majčine dušice, ruzmarina i bosiljka na pasuljev žižak *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)

Mentori: dr Anđa Radonjić, docent; dr Igor Kostić, naučni saradnik

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

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

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

Potpis doktoranda

U Beogradu,

Izjava o korišćenju

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

Uticaj etarskih ulja i odabranih komponenata majčine dušice, ruzmarina i bosiljka na pasuljev žižak *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlucio.

1. Autorstvo (CC BY)

2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

Potpis doktoranda

U Beogradu,

1. Autorstvo – Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. Autorstvo – bez prerada. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.