



UNIVERZITET U NOVOM SADU

PRIRODNO MATEMATIČKI  
FAKULTET

DEPARTMAN ZA HEMIJU,  
BIOHEMIJU I ZAŠTITU  
ŽIVOTNE SREDINE



**Jovana Šućur**

## **Biopesticidna aktivnost ekstrakata odabranih biljnih vrsta familije Lamiaceae**

- doktorska disertacija-

**Novi Sad, 2015.**

*Želela bih ovom prilikom da se zahvalim svima koji su dali doprinos u izradi ove doktorske disertacije.*

*Temu doktorske disertacije predložio je prof. dr Milan Popović, koji me je uputio u naučno istraživanje i omogućio da ostvarujem svoje naučne poduhvate, na čemu mu se najiskrenije zahvaljujem.*

*Veliku zahvalnost dugujem svom mentoru dr Dejanu Prvuloviću na nesebičnoj pomoći prilikom eksperimentalnog rada, obradi eksperimentalnih rezultata, diskusiji samih rezultata i mnogim rešenim nedoumicama.*

*Zahvaljujem se svom mentoru dr Dejanu Orčiću na stručnim savetima, smernicama i diskusiji u toku rada, kao i za pomoć pri GC-MS analizi.*

*Prof. dr Dordu Malenčiću dugujem zahvalnost na nesebičnoj pomoći oko sakupljanja biljnog materijala i korisnim savetima u toku pisanja rada.*

*Iskreno se zahvaljujem prof. dr Goranu Anačkovu na izvršenoj determinaciji biljnog materijala kao i na pokazanom interesovanju i savetima u vezi botaničkog dela ove disertacije.*

*Posebno se zahvaljujem dr Aleksandri Popović na divnoj saradnji od samog početka mog naučno-istraživačkog rada, kao i na angažovanju u realizaciji testova za ispitivanje insekticidne aktivnosti biljnih ekstrakata.*

*Dr Vojislavi Bursić se zahvaljujem za pomoć pri HPLC analizi.*

*Veliku zahvalnost dugujem dr Simonidi Đurić na prihvaćenoj i lepoj saradnji da mi pomogne pri mikrobiološkoj analizi.*

*Koleginici mr Sonji Gvozdenac hvala za pomoć oko testova insekticidne aktivnosti.*

*Mojim dragim kolegama dr Biljani Kiprovski, msc Ružici Ždero-Pavlović i msc Milošu Petroviću se zahvaljujem na pomoći u eksperimentalnom radu, obradi eksperimentalnih rezultata, pozitivnoj energiji i podršci tokom rada.*

*Veliko hvala laborantima Ani Kuzmanović, Jeleni Savić i Gabrijeli Kšan na tehničkoj pomoći i pozitivnoj atmosferi tokom rada u laboratoriji.*

*Svojoj porodici dugujem neizmernu zahvalnost na razumevanju, strpljenju, pruženoj ljubavi i podršci.*

## **Sadržaj**

<b>1. Uvod .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Cilj istraživanja.....</b>	<b>4</b>
<b>3. Opšti deo .....</b>	<b>6</b>
3.1. Sekundarni biomolekuli biljaka .....	7
3.1.1. Biljni fenoli .....	8
3.1.2. Fenolne kiseline .....	9
3.1.3. Flavonoidi .....	12
3.1.4. Terpeni .....	14
3.1.5. Etarska ulja .....	17
3.2. Sekundarni biomolekuli kao prirodni antioksidanti .....	19
3.2.1. Oksidativni stres u biljkama .....	19
3.2.1.1. Slobodni radikali .....	19
3.2.1.2. Lipidna peroksidacija .....	22
3.2.2. Antioksidativni sistemi zaštite .....	24
3.2.2.1. Enzimski antioksidanti .....	25
3.2.2.2. Neenzimski antioksidanti .....	26
3.2.2.3. Fenolna jedinjenja kao prirodni antioksidanti .....	27
3.3. Alelopatija .....	31
3.3.1. Interakcija biljka-biljka .....	31
3.3.2. Uloga etarskih ulja u interakciji biljka-insekt .....	38
3.3.3. Alelopatske biljke .....	40
3.3.3.1. Familija Lamiaceae (Labiatae) .....	40
3.3.3.2. <i>Salvia sclarea</i> L. ....	41
3.3.3.3. <i>Satureja montana</i> L.....	43

3.3.3.4. <i>Clinopodium menthifolium</i> Host .....	45
<b>4. Eksperimentalni deo .....</b>	<b>46</b>
4.1. Biljni materijal i priprema ekstrakata.....	47
4.1.1. Priprema ekstrakata maceracijom.....	48
4.1.2. Izolacija etarskog ulja metodom hidrodestilacije (HD).....	48
4.2. Ispitivanje hemijskog sastava i antioksidativne aktivnosti biljnih ekstrakata.....	48
4.2.1. Određivanje ukupnih reduktanata u ekstraktima .....	49
4.2.2. Određivanje ukupnih flavonoida u ekstraktima.....	49
4.2.3. Određivanje ukupnih tanina u ekstraktima .....	50
4.2.4. Određivanje neutralizacije DPPH <sup>-</sup> radikala .....	51
4.2.5. Ispitivanje sposobnosti neutralizacije ABTS <sup>+</sup> radikala .....	52
4.2.6. Određivanje redupcionog kapaciteta FRAP metodom (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay).....	52
4.2.7. HPLC analiza vodenih ekstrakata.....	53
4.2.8. Analiza etarskog ulja gasnom hromatografijom sa masenospektrometrijskom detekcijom (GC-MS analiza).....	54
4.3. Ispitivanje alelopatskog potencijala vodenih ekstrakata .....	55
4.3.1. Priprema sadnica.....	55
4.3.2. Priprema ekstrakata za određivanje biohemijskih parametara .....	55
4.3.3. Određivanje ukupnih proteina .....	55
4.3.4. Određivanje intenziteta lipidne peroksidacije .....	56
4.3.5. Određivanje aktivnosti superoksid-dizmutaze.....	57
4.3.6. Određivanje aktivnosti gvajakol-peroksidaze .....	57
4.3.7. Određivanje aktivnosti pirogalol-peroksidaze .....	58
4.3.8. Određivanje aktivnosti katalaze.....	58
4.4. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata i etarskih ulja .....	59

4.4.1. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata <i>S. montana</i> , <i>C. menthifolium</i> i <i>S. sclarea</i> na žitnog kukuljičara.....	59
4.4.2. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata <i>S. montana</i> , <i>C. menthifolium</i> i <i>S. sclarea</i> na belu leptirastu vaš.....	59
4.4.3. Ispitivanje insekticidnog dejstva etarskog ulja <i>S. montana</i> , <i>C. menthifolium</i> i <i>S. sclarea</i> na kestenjastog brašnara i pirinčanog žiška .....	60
4.5. Ispitivanje uticaja vodenih ekstrakata <i>S. montana</i> , <i>C. menthifolium</i> i <i>S. sclarea</i> na rast korisnih mikroorganizama.....	60
4.6. Statistička obrada podataka .....	62
<b>5. Rezultati i diskusija.....</b>	<b>63</b>
5.1. Hemijski sastav i antioksidativna aktivnost biljnih ekstrakata.....	64
5.1.1. Sadržaj ukupnih reduktanata .....	64
5.1.2. Sadržaj ukupnih flavonoida .....	65
5.1.3. Sadržaj ukupnih tanina .....	67
5.1.4. Neutralizacija DPPH <sup>·</sup> radikala biljnim ekstraktima.....	68
5.1.5. Neutralizacija ABTS <sup>·+</sup> radikala biljnim ekstraktima.....	69
5.1.6. Redukcioni kapacitet biljnih ekstrakata-FRAP metoda (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay).....	70
5.1.7. HPLC analiza fenolnih komponenti vodenih ekstrakata .....	73
5.1.8. Analiza sastava etarskog ulja gasnom hromatografijom sa masenospektrometrijskom detekcijom (GC-MS analiza).....	76
5.2. Alelopatski efekat vodenih ekstrakata.....	81
5.2.1. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test-biljaka tretiranih vodenim ekstraktom <i>Satureja montana</i> L. ....	81
5.2.2. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test-biljaka tretiranih vodenim ekstraktom <i>Salvia sclarea</i> L. ....	91

5.2.3. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test-biljaka tretiranih vodenim ekstraktom <i>Clinopodium menthifolium</i> Host.....	100
5.3. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata i etarskih ulja odabralih biljnih vrsta familije Lamiaceae .....	114
5.3.1. Insekticidno dejstvo vodenih ekstrakata <i>S. montana</i> , <i>S. sclarea</i> i <i>C. menthifolium</i> na žitnog kukuljičara .....	114
5.3.2. Insekticidno dejstvo vodenih ekstrakata <i>S. montana</i> , <i>S. sclarea</i> i <i>C. menthifolium</i> na belu leptirastu vaš .....	117
5.3.3. Insekticidno dejstvo etarskih ulja <i>S. montana</i> , <i>S. sclarea</i> i <i>C. menthifolium</i> na kestenjastog brašnara i pirinčanog žiška .....	119
5.4. Uticaj vodenih ekstrakata <i>S. montana</i> , <i>C. menthifolium</i> i <i>S. sclarea</i> na rast mikroorganizama.....	122
<b>6. Zaključak</b> .....	128
<b>7. Literatura</b> .....	132
<b>8. Prilog</b> .....	154
8.1. Ispitivanje hemijskog sastava i antioksidativne aktivnosti biljnih ekstrakata.....	155
8.1.1. Određivanje ukupnih reduktanata .....	155
8.1.2. Određivanje ukupnih flavonoida.....	156
8.1.3. Određivanje neutralizacije DPPH <sup>·</sup> radikala .....	157
8.1.4. Ispitivanje sposobnosti neutralizacije ABTS <sup>+</sup> radikala.....	158
8.1.5. Određivanje redupcionog kapaciteta FRAP metodom .....	159
8.2. Alelopatski efekat vodenih ekstrakata.....	160
8.2.1. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test biljaka tretiranih vodenim ekstraktom <i>Satureja montana</i> L. ....	160
8.2.2. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test biljaka tretiranih vodenim ekstraktom <i>Salvia sclarea</i> L. ....	165

8.2.3. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test biljaka tretiranih vodenim ekstraktom <i>Clinopodium menthifolium</i> Host.....	170
8.3. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata i etarskih ulja odabralih biljnih vrsta familije Lamiaceae .....	175
8.3.1. Insekticidno dejstvo vodenih ekstrakata <i>S. montana</i> , <i>S. sclarea</i> i <i>C. menthifolium</i> na žitnog kukuljičara .....	175
8.3.2. Insekticidno dejstvo vodenih ekstrakata <i>S. montana</i> , <i>S. sclarea</i> i <i>C. menthifolium</i> na belu leptirastu vaš .....	177
8.3.3. Insekticidno dejstvo etarskih ulja <i>S. montana</i> , <i>S. sclarea</i> i <i>C. menthifolium</i> na kestenjastog brašnara i pirinčanog žiška .....	178

## ***1. Uvod***

Pojam „agrohemikalije” obuhvata širok spektar hemijskih proizvoda koji poseduju različitu biološku aktivnost, a koje se upotrebljavaju za zaštitu biljaka od raznih štetnih organizama, kao i da podstaknu rast i razvoj gajenih biljnih kultura. Agrohemikalije se klasifikuju prema biološkim osobinama i prema vrsti organizama na koji deluju, a poznate su kao herbicidi, insekticidi, fungicidi, akaricidi, baktericidi, nematocidi, repellenti (odbijaju insekte), feromoni (remete normalno ponašanje insekata i dr.). Za sve ove klase agrohemikalija koristi se zajednički naziv pesticidi i imaju ogromnu primenu širom sveta. Intenzivna, često i prekomerna, primena pesticida dovela je do ozbiljnih poremećaja u životnoj sredini te se danas nastoji da se pronađu alternativni putevi za zaštitu biljnih kultura koje su manje opasne za ekosisteme (Čeković, 2006).

Sekundarni biomolekuli biljaka su osnovni agensi biohemiske interakcije biljaka sa spoljašnjom sredinom. U tom smislu moguće je razlikovati ulogu sekundarnih biomolekula u alelopatskim odnosima (biljka-biljka), u odnosu biljka-insekt, biljka-mikrob, biljka-biljojed i dr. (Zeman i sar., 2011; Kostić i sar., 2012). U poljoprivrednim sistemima interakcije između biljaka mogu da budu deo interferencije između različitih gajenih kultura, kao i između useva i korova. Ovakve interakcije mogu značajno da utiču na produktivnost poljoprivrednih kultura, iz čega je proizašla ideja o alelopatiji kao perspektivnoj prirodnoj strategiji za kontrolu korova (Dmitrović, 2012; Sharma i Satsangi, 2013). Tokom dve hiljade godina alelopatija je označavana kao biljna interferencija ili sukob interesa biljaka. Najranija zapažanja o alelopatskim odnosima korova i useva zabeležena su još u trećem veku pre nove ere, od strane Teofrasta koji se smatra „ocem botanike”, koji u svom delu *Peri phyton historia* primećuje da leblebija (*Cicer arietinum* L.) iscrpljuje zemljište i negativno deluje na razvoj nekih korova (Li i sar., 2010; Džidić-Uzelac, 2014). U ukupnoj strategiji borbe protiv korova alelopatija može biti jedna od važnih komponenti što bi predstavljalo značajan korak u razvoju održivih sistema zemljoradnje sa smanjenom upotrebom sintetičkih herbicida. Iskorišćavanje alelopatskih pojava sve više dobija na značaju u organskoj poljoprivredi. Primenom metoda organske proizvodnje štiti se i čuva nivo plodnosti poljoprivrednog zemljišta, kao i mikrobiološka aktivnost zemljišta.

Biosinteza etarskih ulja predstavlja jedan od brojnih mehanizama odbrane biljaka od insekata. Novija istraživanja ukazuju da etarska ulja mogu biti korištena kao alternative konvencionalnim insekticidima. Imaju širok spektar delovanja protiv insekata, na neke vrste deluju kontaktno, dok na druge deluju repelentno (Betancur i sar., 2010). Manje su toksični od

sintetičkih insekticida. Poznato je da pojedini sekundarni biomolekuli mogu da ispoljavaju baktericidno i fungicidno dejstvo na mikroorganizme prisutne u životnoj sredini (Weiβhuhn i Prati, 2009).

Aromatične biljke familije Lamiaceae upotrebljavaju se kao lekovite, začinske i ukrasne biljke. U tradicionalnoj medicini imaju široku primenu zbog visokog sadržaja etarskog ulja koje ispoljava antimikrobnu, antiviralnu i antikancerogenu aktivnost (Bozin i sar., 2006). Etarska ulja su pronašla široku primenu u različitim granama industrije (Čančarević i sar., 2013).

Prirodni proizvodi predstavljaju ekološki prihvatljiviji način za suzbijanje štetočina od sintetičkih preparata, jer su biorazgradivi i manje toksični (Fakoorziba i sar., 2014). Zbog toga je za predmet istraživanja ove doktorske disertacije odabранo ispitivanje biopesticidne aktivnosti ekstrakata odabranih samoniklih biljaka familije Lamiaceae.

## **2. *Cilj istraživanja***

Ciljevi istraživanja obuhvaćeni doktorskom disertacijom su:

- Identifikacija i kvantifikacija sekundarnih biomolekula u vodenim i acetonskim ekstraktima i etarskom ulju biljaka *Satureja montana* L., *Salvia sclarea* L., *Clinopodium menthifolium* Host.
- Određivanje antioksidativnog potencijala biljnih ekstrakata pomoću različitih testova.
- Ispitivanje alelopatskog delovanja vodenih ekstrakata na korovske i ratarsko-povrtarske biljke određivanjem aktivnosti antioksidativnih enzima (katalaza, superoksid-dizmutaza i peroksidaza) u listu i korenju tretiranih biljaka.
- Ispitivanje insekticidnog delovanja vodenih ekstrakata i etarskog ulja.
- Ispitivanje delovanja vodenih ekstrakata na korisne mikroorganizme.

### ***3. Opšti deo***

### **3.1. Sekundarni biomolekuli biljaka**

Sekundarni biomolekuli biljaka su prirodni proizvodi koji nemaju direktnu ulogu u primarnim metaboličkim procesima neophodnim za održavanje života. Značajni su za biljke jer ih pored ostalog štite od napada bakterija, virusa i gljiva. Utvrđeno je da mnoge klase sekundarnih biomolekula ispoljavaju biološku aktivnost u samom metabolizmu biljaka (fiziološka aktivnost) kao i u komunikaciji biljke sa okolinom koja je okružuje (ekološka aktivnost) (Popović i sar., 1997).

Poznato je da je lekovito bilje najstariji lek i da je fitoterapija stara koliko i samo čovečanstvo. Gotovo da i ne postoje područja gde lekovite i aromatične biljke nemaju primenu (Kišgeci, 2005). Ekstrahovane aktivne supstance (sekundarni biomolekuli) samoniklih ili gajenih biljaka se frakcionišu, izoluju, identifikuju i proučavaju radi utvrđivanja njihovih fiziološko-biohemijskih karakteristika. Procenjuje se da je do danas identifikovano od 100.000 do 200.000 sekundarnih biomolekula (Pereira i sar., 2009).

Najznačajniji biosintetski putevi sekundarnih biomolekula obuhvataju:

1. Šikimat-arogenatni put – vodi od fenilalanina do glavnih biljnih fenola, fenilpropanoidea ( $C_6-C_3$ ).
2. Acetat-malonatni put (poliketidni put) – vodi do nekih biljnih hinona i do bočno produženog lanca fenilpropanoidea, kao npr. velike grupe flavonoida ( $C_6-C_3-C_6$ ).
3. Acetat-mevalonatni put – vodi do nastajanja nekih terpenoida (npr. monoterpena).

### 3.1.1. Biljni fenoli

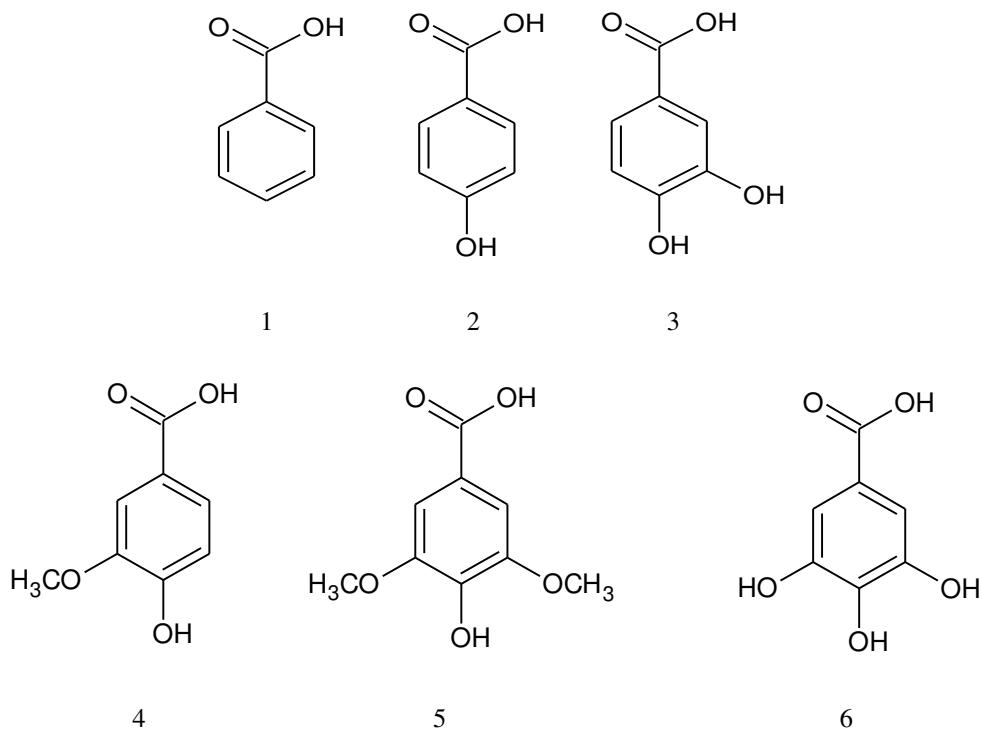
Biljni fenoli su jedna od najbrojnijih klasa sekundarnih biomolekula, koje karakteriše prisustvo bar jednog aromatičnog prstena, supstituisanog sa bar jednom slobodnom ili modifikovanom (etarski, estarski ili glikozidno) hidroksilnom grupom. Biljna fenolna jedinjenja su klasifikovana prema strukturnoj kompleksnosti i biosintetičkom poreklu (**Tabela 1.**). Od svih polifenola fenolne kiseline i flavonoidi su najčešće predmet naučnih istraživanja.

**Tabela 1.** Klasifikacija fenolnih jedinjenja (modifikovano prema Strack, 1997).

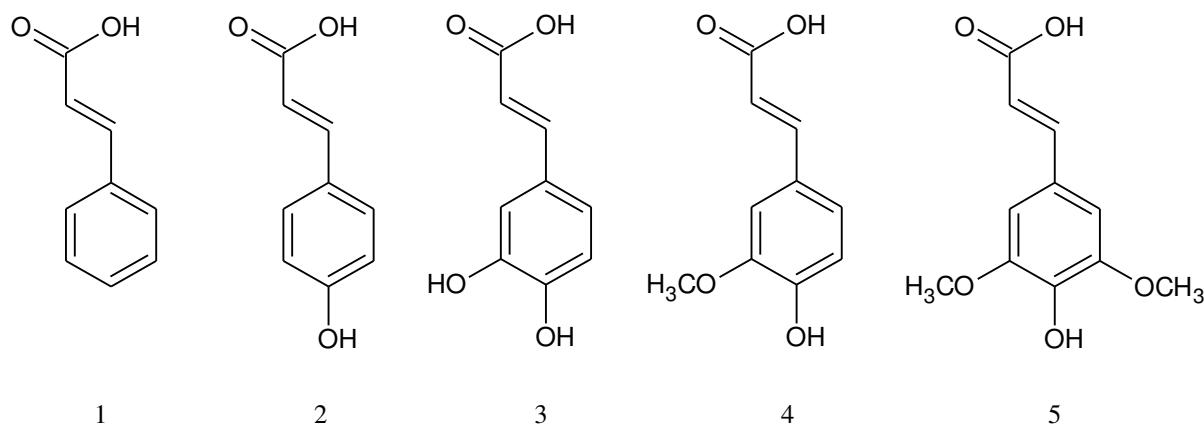
	Klasa	Primeri
C <sub>6</sub>	Prosti fenoli	Katehol, hidrohinon
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Hidroksibenzoeve kiseline	<i>p</i> -hidroksibenzoeva kiselina, salicilna kiselina
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Fenilsirćetne kiseline	<i>p</i> -hidroksifenilsirćetna kiselina
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Cimetne kiseline	Kafena kiselina
	Fenilpropeni	Eugenol
	Kumarini	Eskuletin
	Hromoni	Eugenin
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naftohinoni	Juglon
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Ksantoni	Mangiferin
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbeni	Rezveratrol
	Antrahinoni	Emodin
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoidi	Kvercetin, rutin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignani	Pinorezinol
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoidi	Amentoflavon
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> )n	Lignini	Gvajacil lignin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> )n	Kondenzovani tanini	Polimeri katehina

### 3.1.2. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline koje su zastupljene u biljnom svetu su hidroksi-derivati benzoeve i cimetne kiseline. Sastoje se od fenolnog jezgra i bočnog niza koji sadrži jedan (derivati benzoeve kiseline) ili tri (derivati cimetne kiseline) ugljenikova atoma. Derivati benzoeve kiseline, hidroksibenzoeve kiseline, koje se često zovu fenolne kiseline, imaju C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> strukturu (**Slika 1.**), derivati cimetne kiseline, hidroksicimetne ili fenilpropenske kiseline, imaju C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> strukturu (**Slika 2.**) (Orčić, 2010; Castellano, 2012).



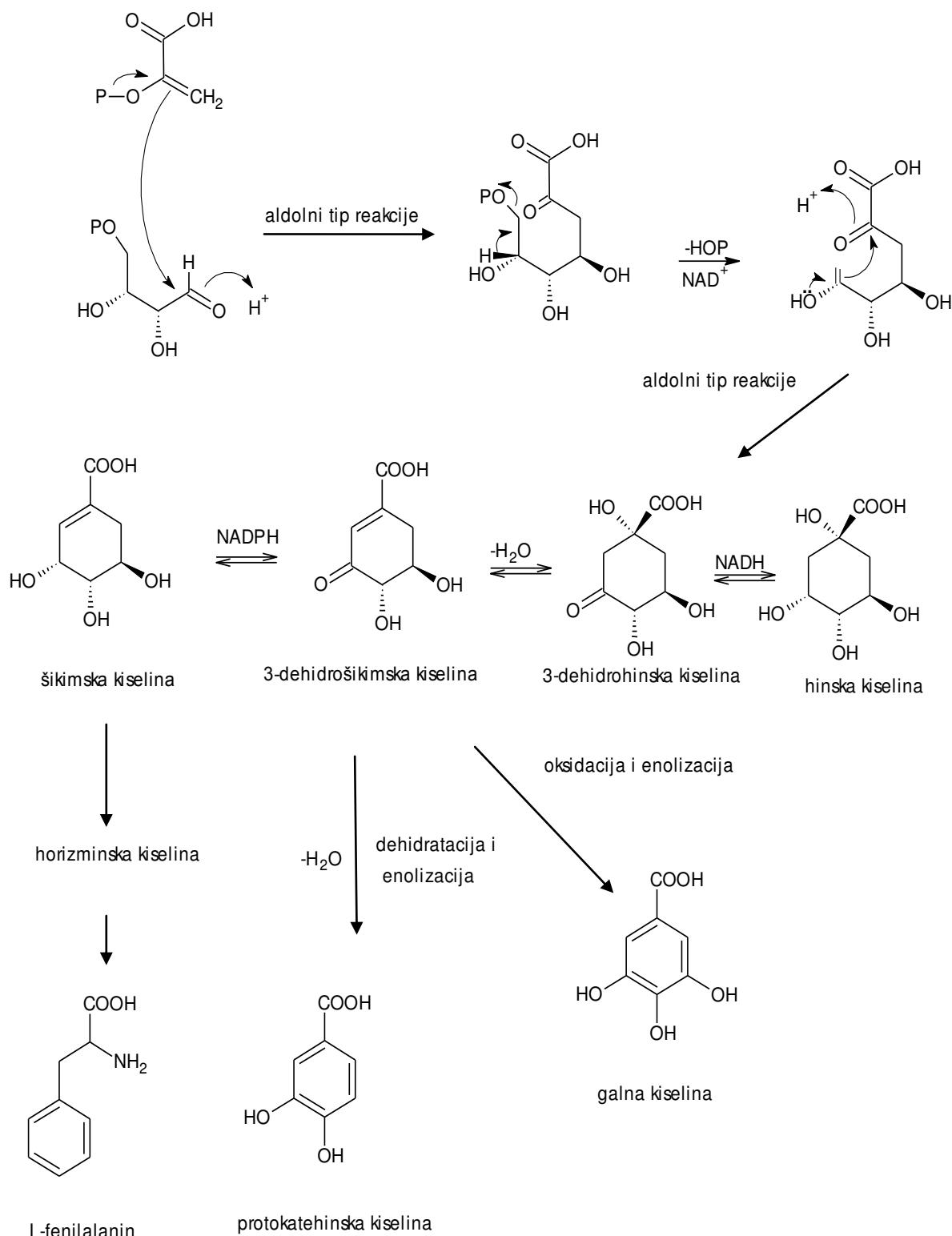
**Slika 1.** Strukture derivata benzoeve kiseline: (1) benzoeva kiselina, (2) *p*-hidroksibenzoeva kiselina, (3) protokatehinska kiselina, (4) vanilinska kiselina, (5) siringinska kiselina, (6) galna kiselina.



**Slika 2.** Strukture derivata cimetne kiseline: (1) cimetna kiselina, (2) *p*-kumarinska kiselina, (3) kafena kiselina, (4) ferulna kiselina, (5) sinapinska kiselina.

Moguća su dva puta biosinteze derivata benzoeve kiseline, direktno iz šikimi kiseline ili degradacijom bočnog niza odgovarajućih cimetnih kiselina (Bell i Charlwood, 1980). Varijacije u strukturi nastaju hidroksilacijom ili metilacijom aromatičnog prstena. U biljnom svetu se najčešće javljaju *p*-hidroksibenzoeva, protokatehinska, vanilinska i siringinska kiselina (Bruneton, 1999).

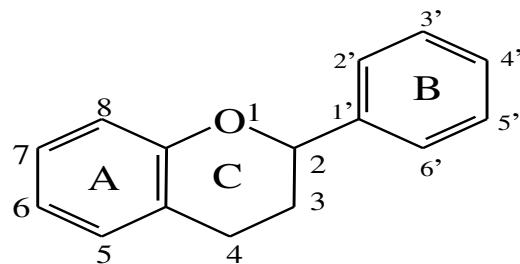
Derivati cimetne kiseline se prirodno javljaju u različitim konjugovanim oblicima, najčešće kao estri. Nastaju u šikimat-rogenatnom putu, koji počinje kuplovanjem fosfoenolpiruvata (PEP) i D-eritroza-4-fosfata (E4P) pri čemu nastaje 3-dezoksi-D-arabino-heptulozonska kiselina-7-fosfat (DAHP) (**Slika 3.**). Nizom veoma složenih biohemičkih reakcija nastaje šikimska kiselina. Kondenzacijom šikimske kiseline sa PEP nastaje horizminska kiselina. Dalje pericikličnim premeštanjem tipa Klajzenove kondenzacije nastaje prefenat. Reakcijama dekarboksilacije, aromatizacije i transaminacije nastaje aminokiselina L-fenilalanin koja je prekursor većine polifenolnih jedinjenja u biljkama. Deaminacijom L-fenilalanina nastaje cimetna kiselina koja se dalje transformiše do kumarinske (*p*-hidroksicimetna kiselina), kafene (2,3-dihidroksicimetna kiselina), ferulne (2-metoksi-3-hidroksicimetna kiselina) i sinapinske kiseline (2,4-dimetoksi-3-hidroksicimetna kiselina) (Bruneton, 1999).



**Slika 3.** Biosinteza fenolnih jedinjenja ciklusom šikimske kiseline.

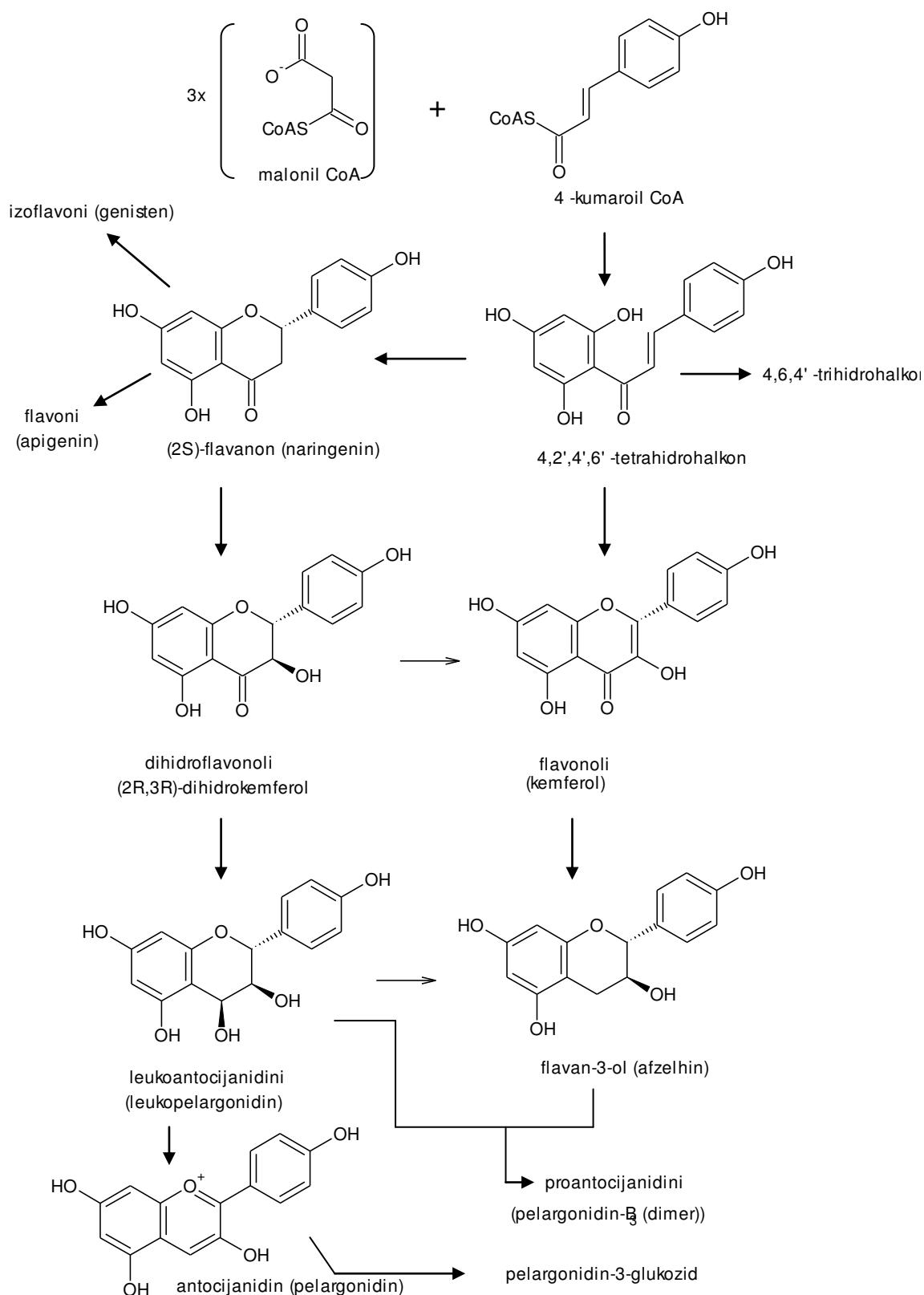
### 3.1.3. Flavonoidi

Flavonoidi predstavljaju C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> grupu fenolnih jedinjenja 2-fenil-benzopiranske strukture (**Slika 4.**) (Ghasemzadeh i Ghasemzadeh, 2011; Sandhar i sar., 2011). Obuhvataju raznovrsnu grupu od preko 6000 izolovanih i identifikovanih jedinjenja (Ghasemzadeh i Ghasemzadeh, 2011). Klasifikacija flavonoida je izvršena u zavisnosti od stepena oksidacije centralnog piranovog prstena (prstena C) kao i pozicije B prstena (Beecher, 2003). Po navedenom kriterijumu mogu se podeliti na flavone, flavonole, flavanone, dihidroflavonole (flavanonole), flavan-3,4-diole (leukoantocijanidine), flavan-3-ole (katehine), flavan-4-ole i antocijanidine, kao i jedinjenja bez C prstena – halkoni, dihidrohalkoni i retrohalkoni. Pored toga, postoje i auroni, izoflavonoidi i oligo- i polimeri flavanola (proantocijanidini)... (Orčić, 2010).



**Slika 4.** Struktura i numeracija 2-fenilbenzopirana.

Flavonoidi nastaju mešovitim biosintetskim putem (acetogeninskim putem i putem šikimske kiseline). Biosinteza flavonoida počinje kondenzacijom tri molekula malonil-CoA sa molekulom 4-kumaroil-CoA. Na ovaj način formira se halkon, 4,2',4',6'-tetrahidrohalkon čijom ciklizacijom nastaje piranski prsten i formira se molekul naringenin (flavanon). Daljim transformacijama nastaju svi ostali tipovi flavonoidnih molekula: flavoni, flavonoli, flavanoni, dihidroflavonoli, flavan-3,4-dioli, flavan-3-oli, flavan-4-oli, antocijanidini, auroni, halkoni, izoflavonoidi, proantocijanidini (**Slika 5.**) (Bruneton, 1999).



Slika 5. Šema biosinteze flavonoida.

Raznovrsnost i veliki broj flavonoida posledica su brojnih modifikacija njihove osnovne strukture kao što su hodroksilacije, O-metilacije hidroksilnih grupa, dimerizacije i glikozilacije (Popović i Malenčić, 2006). U biljkama su najčešće prisutni u konjugovanoj formi vezani uglavnom u obliku O-glikozida. Pored O-glikozida postoje i C-glikozidi, gde je šećerna komponenta vezana direktno za C-atom osnovnog skeleta flavonoida (Sandhar i sar., 2011). Najbrojnije klase flavonoida čine flavoni i flavonoli. Od flavona u biljkama su najzastupljeniji apigenin i luteolin, a od flavonola kvercetin, kemferol i miricetin (Malenčić, 2001).

### **3.1.4. Terpeni**

Terpeni predstavljaju veliku grupu sekundarnih biomolekula od oko 30.000 jedinjenja (Degenhardt i sar., 2009), izgrađenih iz više izoprenskih jedinica (ugljovodonik od 5 C-atoma) međusobno povezanih po sistemu „glava-rep” (Zhang i sar., 2011). Osnovne klase izoprenoida prisutnih u biljkama date su u **Tabeli 2.**

**Tabela 2.** Osnovne klase izoprenoida (Malenčić i Popović, 2011).

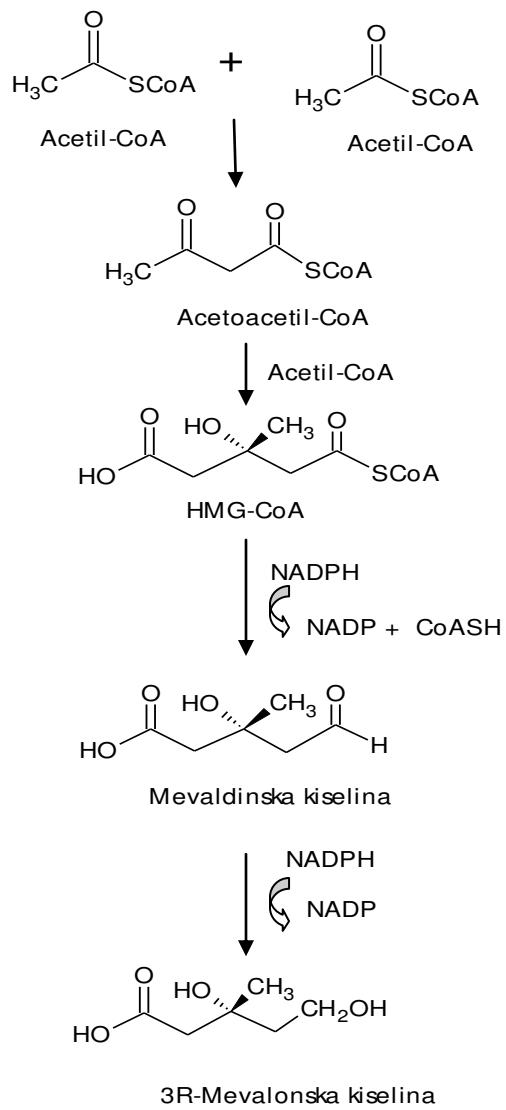
Broj izoprenskih jedinica	Naziv	Prekursor
2	Monoterpeni	GPP
3	Seskviterpeni	FPP
4	Diterpeni	GGPP
5	Sesterpeni	GFPP
6	Triterpeni	Skvalen
8	Tetraterpeni	Fitoen
n	Poliprenoli, gume	GGPP+(C <sub>5</sub> )n

GPP – geranil-pirofosfat; FPP – farnezil-pirofosfat; GGPP – geranilgeranil-pirofosfat; GFPP – geranilfarnezil-pirofosfat

Najznačajnije otkriće u rasvetljavanju puteva biosinteze terpenoida poznato je kao „biogenetsko izoprensko pravilo” koje je postavio Ružička, koje sugerise da se izoprenoidi sintetizuju iz prostih acikličnih supstanci izoprenske strukture (Croteau, 1998).

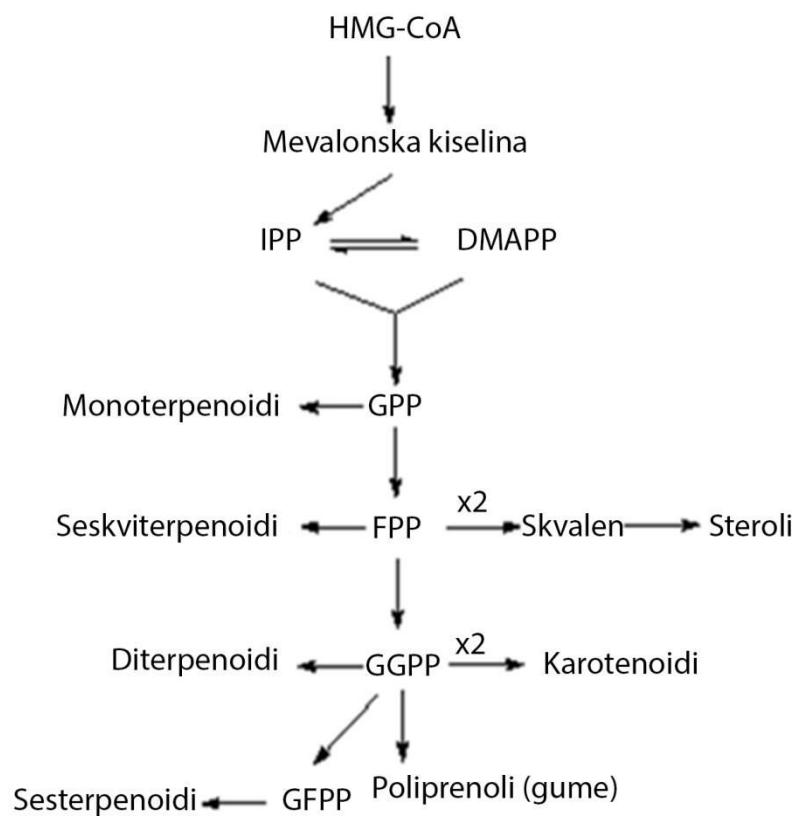
Proste aciklične supstance iz kojih nastaju terpeni su izopentenil-pirofosfat (IPP) i dimetilalil-pirofosfat (DMAPP) formirani u mevalonatnom putu iz molekula acetil-CoA (Nagegowda, 2010).

Biosinteza mevalonske kiseline započinje kondenzacijom dva molekula acetil-CoA u acetoacetil-CoA, za koji se vezuje još jedan molekul acetil-CoA uz nastajanje hidroksimetilglutaril-CoA (HMG-CoA). Iz njega postepenom redukcijom jedne od karbonilnih grupa nastaje mevalonska kiselina. Reakcija je katalizovana enzimom hidroksimetilglutaril-CoA-reduktazom (HMGR; EC 1.1.1.34) (**Slika 6.**).



**Slika 6.** Biosinteza mevalonske kiseline.

Mevalonska kiselina se postepeno fosforiliše, nastali pirofosfat mevalonske kiseline dekarboksilacijom i otcepljenjem fosfatnog ostatka prelazi u izopentenil-pirofosfat (IPP), koji dejstvom izomeraze prelazi u dimetilalil-pirofosfat (DMAPP). Dimetilalil-pirofosfat se kondenuje sa sledećim molekulom IPP i daje geranil-pirofosfat (GPP), ključni intermedijer u biosintezi mono- i seskviterpena. Geranil-pirofosfat se kondenuje sa sledećim molekulom IPP, formirajući farnezil-pirofosfat (FPP), koji je prekursor u biosintezi seskviterpena. Daljom polimerizacijom nastaje geranilgeranil-pirofosfat (GGPP) iz koga nastaju diterpeni. Dimerizacijom C<sub>20</sub>-GPP nastaju intermedijeri tipa C<sub>40</sub> (**Slika 7.**) (Jančić i sar., 1995).

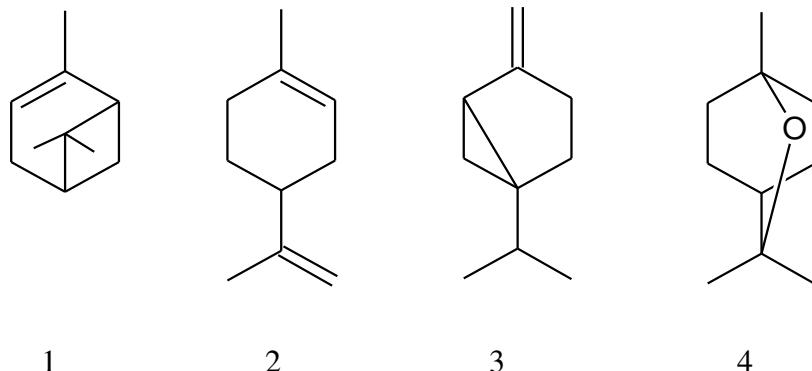


**Slika 7.** Osnovni putevi u biosintezi izoprenoida (Malenčić, 2001).

### 3.1.5. Etarska ulja

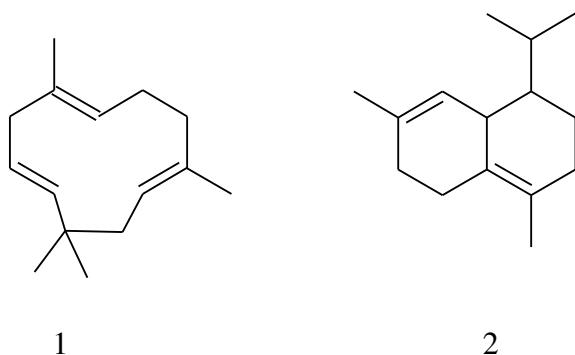
Eatarska ulja su lako isparljive uljaste tečnosti dobijene iz aromatičnih biljaka različitim fizičkim postupcima. To su smeše različitih hemijskih jedinjenja među kojima preovladavaju terpeni (monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni i njihovi oksidovani produkti (terpenoidi)) ređe isparljivi fenoli, neterpenska alifatična jedinjenja... (Tongnuanchan i Benjakul, 2014).

Monoterpeni su klasa terpena izgrađena iz 10 ugljenikovih atoma tj. dve izoprenske jedinice (**Slika 8.**). To su biološki aktivna jedinjenja prijatnog mirisa, zbog čega su našla široku primenu u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (Zhang i sar., 2011).



**Slika 8.** Strukture monoterpena: (1)  $\alpha$ -pinen, (2) limonen, (3) sabinen, (4) 1,8-cineol.

Seskviterpeni su izgrađeni iz 15 ugljenikovih atoma tj. tri izoprenske jedinice (**Slika 9.**). Raznovrsnost u strukturi je posledica biohemijskih modifikacija kao što su oksidacije, ciklizacije i glikozilacije. Smatra se da se u nekim biljkama seskviterpeni sintetišu kao odgovor na stres (Chadwick i sar., 2013). Pokazuju svojstva insekt-antifidnih supstanci, insekt-hormona i feromona, fitoaleksina, antibiotika i regulatora rastenja biljaka (Stanković i sar., 2006).



**Slika 9.** Strukture seskviterpena: (1) humulen, (2)  $\delta$ -kadinen.

Diterpeni su izgrađeni iz 20 ugljenikovih atoma, tj. četiri izoprenske jedinice. Većinom su biljnog i fungalnog porekla. Javljuju se kao smeše vrlo sličnih, retko acikličnih, uglavnom di-, tri- i tetracicličnih jedinjenja. U etarskom ulju su prisutni u veoma niskim koncentracijama (Tongnuanchan i Benjakul, 2014).

Monoterpeni i seskviterpeni se razlikuju po isparljivosti. Monoterpeni ključaju na 140–180 °C, a seskviterpeni na temperaturi višoj od 200 °C. Iz tog razloga su u isparljivijim frakcijama zastupljeni monoterpeni i jednostavnii seskviterpeni, dok su u neisparljivim frakcijama i smolama zastupljeni polioksidovani seskviterpeni i diterpeni (Kostić i sar., 2012).

Pored terpena, etarsko ulje biljaka sačinjavaju i alifatična jedinjenja tipa dodekana, tridekana, tetradekana, dekanola i dr., zatim aromatična jedinjenja kao npr. derivati benzoeve kiseline, fenil-propanoidi, kumarini, eugenol, apiol, miristicin i dr., azotna jedinjenja neprijatnog mirisa, najčešće derivati indola ili alifatičnih amina kao i sumporna jedinjenja, izosulfocijanati i organski disulfidi, ljutog i neprijatnog mirisa (Malenčić, 2001).

## **3.2. Sekundarni biomolekuli kao prirodni antioksidanti**

### ***3.2.1. Oksidativni stres u biljkama***

#### ***3.2.1.1. Slobodni radikali***

Slobodni radikali su veoma nestabilni i reaktivni oblici koji nastaju uklanjanjem jednog elektrona iz elektronskog para ili primanjem elektrona koji je odgovoran za njihovu nestabilnost. Prisustvo jednog ili više nesparenih elektrona omogućava slobodnim radikalima da brzo reaguju sa molekulima sa kojima dolaze u kontakt i da izazovu oštećenja. Jednom produkovan slobodni radikal može da izazove niz lančanih reakcija sa drugim manje reaktivnim molekulima. Na primer, proces hvatanja elektrona uključuje reakciju sa molekulom donorom, koji gubi elektron i pri tom se oksiduje. Oksidovani molekul donor ima kapacitet da oksiduje druge molekule usled čega dolazi do lančane reakcije (Vulić, 2012).

Radikali koji potiču od kiseonika predstavljaju najznačajniju klasu slobodnih radikalnih vrsta u živim sistemima. Kiseonik, iako neophodan za život svih aerobnih organizama, može biti izuzetno toksičan (Halliwell i Gutteridge, 1985). Toksično dejstvo kiseonika pripisuje se prooksidativnom delovanju reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS – Reactive Oxygen Species). Prooksidanti su različite hemijske vrste koje u biološkim i hemijskim sistemima uzrokuju ili ubrzavaju reakcije oksidacije (Stajčić, 2012).

Izvori nastanka reaktivnih kiseoničnih vrsta mogu biti endogenog (proces respiracije, aktivnost fagocita, autoooksidacija biomolekula) i egzogenog porekla (ekološki faktori, kao npr. vodni režim, visoke i niske temperature, herbicidi, zračenje, prisustvo teških metala i lekova, ksenobiotici i ionizujuće zračenje) (Malenčić i sar., 2010; Veličković, 2013; Rahal i sar., 2014). Nekontrolisanu produkciju i akumulaciju reaktivnih kiseoničnih vrsta mogu izazvati i alelohemikalije u biljci na koju deluju (Inzé i Van Montagu, 1995; Weir i sar., 2004; Gniazdowska i Bogatek, 2005).

Najvažnije reaktivne kiseonične čestice su (Halliwell i Whiteman, 2004):

1. Slobodni radikali: superoksid-radikal,  $O_2^-$ ; hidroksil-radikal,  $\cdot OH$ ; hidroperoksil-radikal  $HO_2^\cdot$ ; peroksil-radikal  $RO_2^\cdot$ ; alkoksil-radikal,  $RO^\cdot$ ; karbonatni radikal,  $CO_3^-$ ; ugljendioksidni radikal,  $CO_2^-$ .
2. Neradikalni oblici: vodonik-peroksid,  $H_2O_2$ ; hipobromna kiselina,  $HOBr$ ; hipohlorna kiselina,  $HOCl$ ; ozon,  $O_3$ ; singlet kiseonik,  $^1\Delta gO_2$ ; organski peroksiidi,  $ROOH$ ; peroksinitrit,  $ONOO^-$ ; peroksinitritna kiselina,  $ONOOH$ .

*Superoksid-radikal ( $O_2^-$ )* nastaje jednoelektronskom redukcijom molekula kiseonika ili jednoelektronskom oksidacijom vodonik-peroksida. Značajne količine se produkuju u reakcijama katalizovanim oksidazama (u biljnim tkivima to su ksantin-oksidaza i galaktoz-oksidaza) ili autooksidacijom nekih redukovanih jedinjenja kao što su redukovani flavini, pteridini, difenoli i feredoksin. Najvažniji izvor superoksid-radikala u većini ćelija aerobnih organizama je elektron-transportni lanac mitohondrija, u kome je glavni izvor elektrona redukovana forma koenzima Q (Shaw i Jayatilleke, 1990; Popović i Štajner, 2008). Iz superoksidnog anjona nastaju ostali kiseonični intermedijeri, vodonik-peroksid i hidroksil-radikal.

*Vodonik-peroksid* se svrstava u reaktivne vrste kiseoničnih čestica, ali nije radikal. Dvoelektronskom redukcijom molekula kiseonika nastaje peroksidni jon ( $O_2^{2-}$ ) koji u prisustvu protona daje vodonik-peroksid ( $H_2O_2$ ). Iako je vodonik-peroksid, u poređenju sa ostalim reaktivnim kiseoničnim vrstama, najmanje reaktivan molekul, veoma je štetan jer lako stupa u reakciju sa metalima, npr.  $Fe^{2+}$ , pri čemu nastaju hidroksil-radikali *Fenton*-ovom reakcijom (Mandal i sar., 2013).

Toksičnost superoksid-radikala i vodonik-peroksida objašnjava se njihovim prevođenjem u mnogo reaktivniji hidroksil-radikal, iako na neke molekule mogu da deluju direktno (Halliwell, 2012).

*Hidroksil-radikal ( $OH$ )* je izuzetno hemijski reaktivan, predstavlja najreaktivniju kiseoničnu česticu, zbog čega reaguje u blizini mesta nastajanja i najčešće oštećuje molekul uz koga je nastao. Može da nastane dejstvom ionizujućeg zračenja, raskidanjem O-O veze u molekulu  $H_2O_2$  delovanjem povišene temperature, *Fenton*-ovom reakcijom ili reakcijom

vodonik-peroksida i superoksid-radikala u *Haber-Weiss*-ovoj reakciji (Chen i Schopfer, 1999; Barrera, 2012).

Formirani hidroksil-radikal je jedan od najpotentnijih poznatih oksidanata. Može da napada različite primarne biomolekule inicirajući proces peroksidacije lipida, oštećenje DNK lanca ili da oksiduje bilo koji biomolekul u neposrednoj okolini (Inzé i Van Montagu, 1995; McCord, 2000). Ćelijska membrana ne predstavlja barijeru za difuziju  $H_2O_2$  i  $ONOO^-$  u ćeliju, tako da mogu da indukuju oksidativni stres u bilo kojem delu ćelije (Groves, 1999).

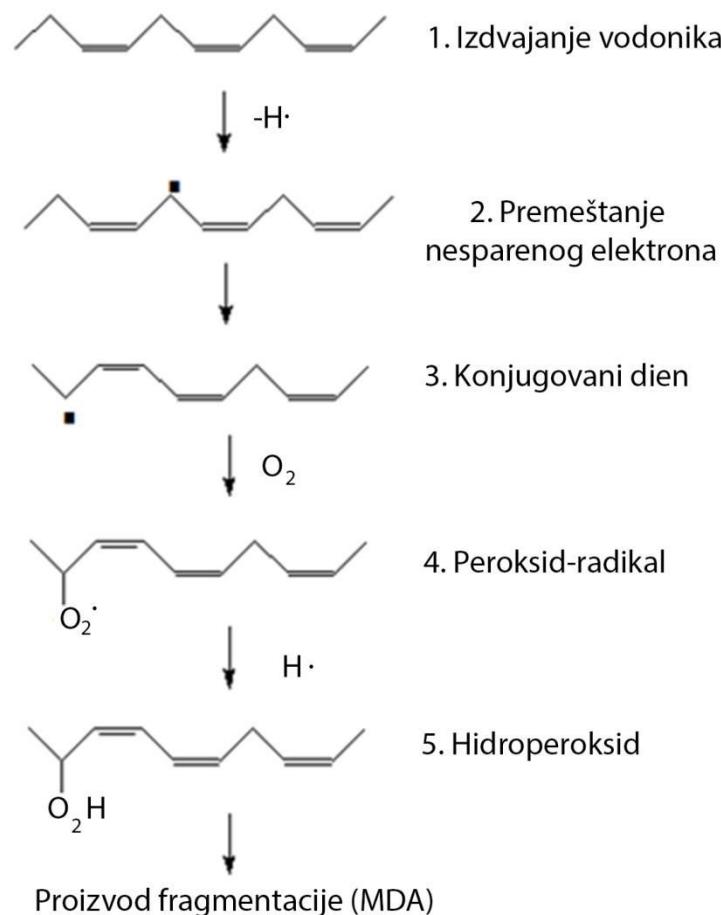
Pri normalnim fiziološkim uslovima produkcija prooksidativnih vrsta je u ravnoteži sa antioksidativnom zaštitom organizma. Međutim, pod uticajem različitih endogenih ili egzogenih faktora ravnoteža može da se naruši, odnosno može da dođe do povećane produkcije prooksidanata ili smanjenja antioksidativne zaštite organizma (Apel i Hirt, 2004; Đilas i sar., 2010). Stanje u kome je došlo do poremećaja između produkcije reaktivnih kiseoničnih vrsta i sistema zaštite definiše se pojmom oksidativni stres (Dotan i sar., 2004; Mimica-Dukić i sar., 2010; Rahal i sar., 2014).

Tokom oksidativnog stresa povećana je produkcija različitih reaktivnih oblika kiseonika. Svi oni mogu da reaguju sa primarnim biomolekulima uzrokujući peroksidaciju esencijalnih membranskih lipida u intracelularnim organelama, oksidativnu modifikaciju proteina i inhibiciju enzima, kao i modifikaciju DNK usled čega ćelija polako gubi integritet i podleže nekrozi (Apel i Hirt, 2004; Elavarthi i Martin, 2010). Intracelularna membranska oštećenja utiču na respiratornu aktivnost u mitohondrijama, što ima za posledicu razgradnju fotosintetičkih pigmenata i gubitak sposobnosti fiksacije ugljenika u hloroplastima (Miladinović i Ilić, 2010).

### **3.2.1.2. Lipidna peroksidacija**

Lipidna peroksidacija je lančani slobodnoradikalски процес у којем радикали оксидују већи број молекула полизасићених масних киселина (Abuja i Albertini, 2001). Интензивна lipidна peroksidација доводи до нарушавања структуре и промене permeabilности и fluidnosti биолошких мембрана, опадања вредности мембрanskог потенцијала, повећања permeabilности према  $H^+$  и другим јонима, чиме се нарушава интегритет ћелије и долази до отпуштања нjenог садрžaja (Yoshida i sar., 2003; Štefan i sar., 2007; Barrera, 2012). Peroksidi nastali у току овог процеса и njihovi degradacioni proizvodi mogu да реагују са proteinima и молекулама DNK delujući као mutageni агensi (Marnett, 1999).

Peroksidација липида се одвија у три фазе: иницијација, propagација и terminacija. Током фазе иницијације долази до eliminacije водониковог атома метиленске групе молекула незасићене масне кисeline (LH) под утицајем снажног оксиданта, нпр. hidroksil-radikala, peroksil-radikала и dr. Настали алкил-radikal ( $L^\cdot$ ) у фази propagације intramolekulskim premeštanjem dvostrukе везе прелази у конјуговани диен који са кисеоником gradi peroksil-radikal ( $LOO^\cdot$ ). Peroxil-radikal omogућава nastavak lančane reakције одузimanjem водониковог атома суседног молекула незасићене масне кисeline, при чему се формира нови алкил-radikal, dok се peroksil-radikal стабилизује gradeći hidroperoksid ( $LOOH$ ). На овај начин се фаза propagације понавља више пута. Hidroperokсиди подлеžу daljim reakcijama pri čemu se stvaraju novi slobodni radikali, ili se razlažu do aldehida, najčešće malondialdehida (MDA), i isparljivih ugljovodonika. Treća фаза lipidne peroksidације, terminација, обухвата reakције које се odigravaju између slobodnih radikala (два алкил-radикала, два peroksil-radикала или комбинација ова два) при чему nastaju tercijarni производи oksidacije, стабилни и нереактивни димери и полимери (**Slika 10.**) (Girotti, 1985; Abuja i Albertini, 2001; Niki i sar., 2005).



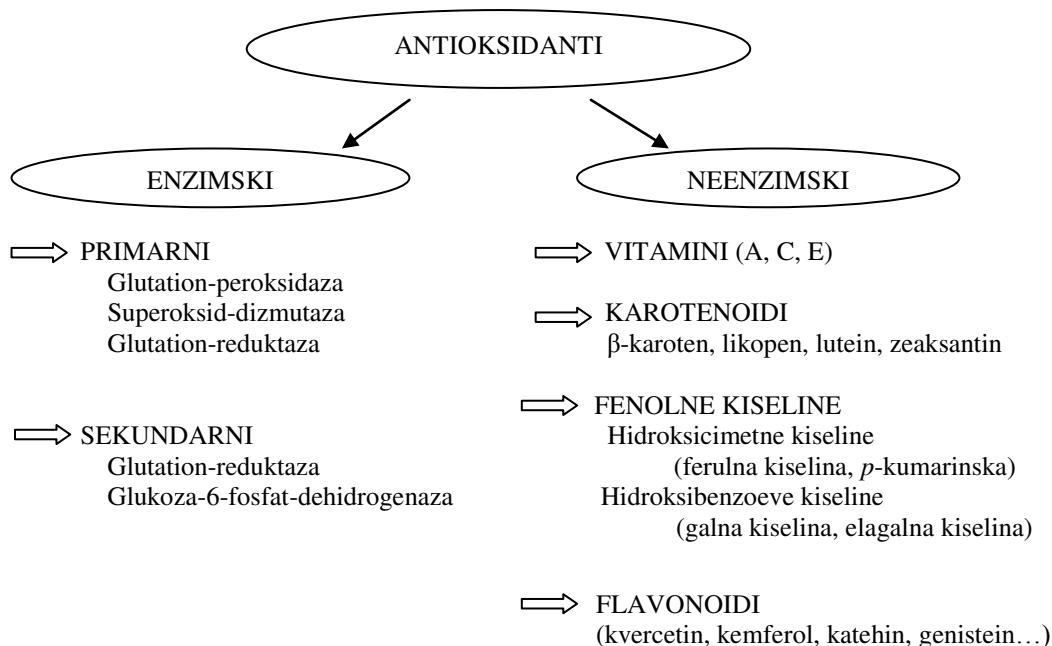
**Slika 10.** Mehanizam peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina membranskih lipida (Malenčić, 2001).

### 3.2.2. Antioksidativni sistemi zaštite

Da bi se zaštitile od oksidativnih oštećenja izazvanih reaktivnim kiseoničnim česticama, biljke su tokom evolucije razvile enzimske i neenzimske sisteme zaštite koji mogu da spreče ili smanje intenzitet oksidativnih procesa u njihovim tkivima i organima (antioksidante). Antioksidanti su supstance koje, prisutne u manjoj koncentraciji u odnosu na supstrat koji se oksiduje, mogu da spreče njegovu oksidaciju (Niki, 2010; Ghasemzadeh i Ghasemzadeh, 2011; Lopez-Alarcona i Denicolab, 2013).

Sa funkcionalnog aspekta antioksidanti se mogu podeliti u dve kategorije: preventivne antioksidante koji deaktiviraju aktivne kiseonične vrste sprečavajući ih da formiraju nove radikale, i antioksidante koji prekidaju lančane reakcije oksidacije, koji deluju kao „hvatači“ kiseoničnih radikala, transformišući ih u stabilne, neradikalne proizvode (Niki, 1987).

Prema načinu delovanja antioksidanti se dele na enzimske (prva linija odbrane) i neenzimske (sekundarna linija odbrane) (**Slika 11.**) (Meda i sar., 2005; Kelly da Silva i sar., 2013).

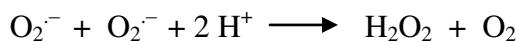


**Slika 11.** Podela antioksidanata (modifikovano prema Moharram i Youssef, 2014).

### **3.2.2.1. Enzimski antioksidanti**

Od enzima koji učestvuju u antioksidativnoj zaštiti najviše su proučeni superoksid-dizmutaze (SOD; EC 1.15.1.1), katalaza (CAT; EC 1.11.1.6), peroksidaze (Px; EC 1.11.1.7), askorbat-peroksidaza (APx; EC 1.11.1.11), glutation-reduktaza (GR; EC 1.6.4.2) i dr. Navedeni enzimi imaju važnu ulogu u zaštiti ćelije (Kuthan i sar., 1986).

*Superoksid-dizmutaza* (SOD; EC 1.15.1.1), je zajednički naziv za grupu metaloenzima koji uklanjaju superoksid-radikal, katalizujući reakciju dizmutacije superoksidnih radikala ( $O_2^-$ ) do vodonik-peroksida i  $O_2$ .



Svi SOD enzimi su metaloproteini koji u aktivnom centru sadrže metalne jone. U zavisnosti od prisutnog metalnog jona dele se na:

- bakar, cink-zavisnu SOD (Cu/Zn SOD), lokalizovanu u citosolu i hloroplastima,
- mangan-zavisnu SOD (MnSOD), lokalizovanu u mitohondrijama, i
- gvožđe-zavisnu SOD (FeSOD), lokalizovanu u hloroplastima.

*Katalaza* (CAT; EC 1.11.1.6), je tetramerni hemoproteinski enzim koji uklanja vodonik-peroksid katalizujući reakciju njegove razgradnje do vode i molekula kiseonika:



Kod biljaka je pretežno lokalizovana u peroksizomima.

*Peroksidaze* (Px; EC 1.11.1.7), su enzimi koji uklanjaju vodonik-peroksid, katalizujući oksidaciju širokog spektra supstrata u prisustvu vodonik-peroksida:



Supstrati peroksidaza mogu biti prirodne supstance (fenolna jedinjenja) ili veštački sintetisane (poput gvajakola). Bitne su komponente sistema ranog odgovora biljke na napad patogena (Mandal i sar., 2008).

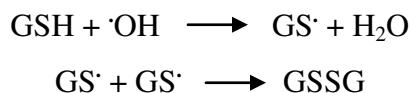
Aktivnost navedenih enzima je u bliskoj vezi sa uslovima sredine u kojima se biljka nalazi i predstavlja odgovor biljke na stres (Sunmonu i Van Staden, 2014). Iz tih razloga promena aktivnosti ovih enzima se koristi za detektovanje oksidativnog stresa u biljci (Cao i sar., 2011).

### **3.2.2.2. Neenzimski antioksidanti**

Detoksifikacija enzimima je moguća ukoliko je konstanta brzine reakcije kiseonične vrste veoma niska. Hidroksil-radikal je veoma reaktiv i reakcije u kojima učestvuju su prebrze da bi se on blagovremeno uklonio enzimima. Za uklanjanje hidroksil-radikala služe biomolekuli koji deluju kao „hvatači“ slobodnih radikala ili sprečavaju njegovo formiranje uklanjanjem superoksid-radikala i vodonik-peroksida iz bioloških sistema (Inzé i Van Montagu, 1995; Štajner i sar., 1998).

U neenzimske antioksidante se ubrajaju: sulfhidrilna jedinjenja poput glutationa (GSH), vitamini C i E, karotenoidi, flavonoidi i drugi sekundarni biomolekuli (Krishnaiah i sar., 2011; Davey i sar., 2000).

*Glutation* je tripeptid ( $\gamma$ -L-glutamil-L-cisteinil-glicin) široko zastupljen kod većine biljnih vrsta. Može da kompleksira toksične jone teških metala i da ih skladišti u vakuoli ili da uklanja reaktivne vrste kiseonika pri čemu se prevodi u oksidovanu formu, glutation-disulfid GSSG. Reaguje brzo sa hidroksil-radikalima dajući manje reaktivne GS<sup>·</sup> radikale (Popović i Štajner, 2008; Carocho i Ferreira, 2013):



*Vitamin C* je najvažniji hidrofilni antioksidant biljaka. Sa kiseoničnim radikalima reaguje brzo pri čemu nastaje semidehidroaskorbat-radikal koji je slabo reaktiv. Krajnji proizvod oksidacije vitamina C je dehidroaskorbinska kiselina. Iako u normalnim uslovima preovladava njegovo antioksidativno delovanje, u prisustvu jona prelaznih metala može da deluje i prooksidativno (Popović i Štajner, 2008).

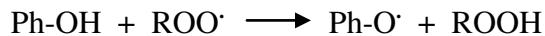
*Vitamin E* je lipofilni antioksidant, prisutan u ćelijskim membranama. Od svih izomera vitamina E,  $\alpha$ -tokoferol je biološki najaktivniji. Antioksidativno delovanje ostvaruje redukcijom peroksil-radikala prekidajući lančanu reakciju u procesu lipidne peroksidacije (Marnett, 1999).

*Karotenoidi* predstavljaju grupu pigmenata koje sintetišu biljke i mikroorganizmi. Po hemijskoj strukturi podeljeni su u dve grupe: karotene (polinezasićeni ugljovodonici: likopen i  $\beta$ -karoten) i ksantofile (kiseonični derivati: lutein i zeaksantin). Deluju kao hvatači singlet-kiseonika i slobodnih radikala sposobnih da iniciraju lipidnu peroksidaciju (Carocho i Ferreira, 2013).

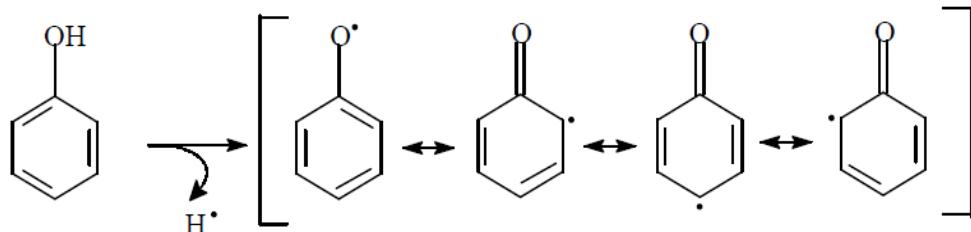
### 3.2.2.3. Fenolna jedinjenja kao prirodni antioksidanti

Biljke, čija su lekovita svojstva poznata od najranijih vremena ljudske civilizacije, poslednjih decenija su doatile posebno mesto u istraživanjima antioksidativnih supstanci sa visokim antiradikalnim potencijalom (Veličković, 2013). Utvrđeno je da veliki broj fitohemikalija pokazuje antioksidativno delovanje, ali fenolna jedinjenja privlače najveću pažnju.

Flavonoidi i fenolne komponente mogu da deluju kao snažni antioksidanti (Sakihama i sar., 2002; Janićijević-Hudomal i sar., 2008). Antioksidativna aktivnost fenola rezultat je njihove sposobnosti da budu donori vodonikovog atoma, nakon čega nastaju manje reaktivni fenoksil-radikali (Huda-Faujan i sar., 2009):



Relativno velika stabilnost fenoksil-radikala objašnjava se delokalizacijom elektrona odnosno postojanjem više rezonantnih formi (**Slika 12.**).



**Slika 12.** Rezonantna stabilizacija fenoksil-radikala.

Smatra se da su flavonoidi mnogo efikasniji antioksidanti od vitamina C i E (Michalak, 2006). Flavonoidi u biljkama deluju kao hvatači slobodnih radikala i pretvaraju ih u manje reaktivne vrste (Agrawal, 2011; Ghasemzadeh i Ghasemzadeh, 2011) ili vezuju jone metala sprečavajući produkciju slobodnih radikala (Kumar i Pandey, 2013). Uklanjajući superoksid-radikal i hidroksil-radikal, sprečavaju inicijaciju lipidne peroksidacije (Sandhar i sar., 2011).

Prisustvo hidroksilovanog prstena u molekulima flavonoida omogućava im da „hvataju“ slobodne hidroksil- i peroksil-radikale ( $3',4'$ -hidroksilne grupe u prstenu B, deluju kao donori vodonikovog atoma pri uklanjanju slobodnih radikala, 2,3-dvostruka veza koja je u konjugaciji sa C-4 karbonilnom funkcijom potpomaže delokalizaciju elektrona prstena B (Sandhar i sar., 2011)). Predavanjem vodonikovog atoma reaktivnim kiseoničnim radikalima postiže se njihova stabilizacija, pri čemu flavonoidi formiraju manje reaktivne radikale (Nijveldt i sar., 2001).

Antioksidantni potencijal flavonoida je povezan sa prisustvom i rasporedom funkcionalnih grupa u molekulu (Kumar i Pandey, 2013). Odsustvo  $3'$ -hidroksilne grupe smanjuje antioksidativnu moć flavonoida (Sandhar i sar., 2011), kao i glikozilacija iste (Pietta, 2000). Tako, flavonoidi koji za B prsten imaju vazane dve hidroksilne grupe pokazuju antioksidativnu aktivnost (Kumar i Pandey, 2013). Među flavonoidima najveću aktivnost ispoljavaju flavoni i katehini (Nijveldt i sar., 2001).

Studije su pokazale da derivati kvercetina deluju kao snažni antioksidanti. Dokazano je da su rutin i apigenin veoma efikasni u sprečavajnju lipidne peroksidacije i oksidacije  $\beta$ -karotena. Lipidnu peroksidaciju sprečavaju i vodeni ekstrakti listova pasiflore, koji sadrže kao aktivne komponente apigenin, luteolin i derivate luteolina (Braca i sar., 2002; Sharififar i sar., 2009; Kelly da Silva i sar., 2013).

Fenolne kiseline – hidroksicinamati i hidroksibenzoati – deluju kao hvatači hidroksil-radikala, peroksil-radikala, superoksid-radikala, i peroksinitrita (Carocho i Ferreira, 2013). Polifenoli su efikasniji antioksidanti od monofenola. Tako je galna kiselina sa tri hidroksilne grupe efikasniji antioksidant od protokatehinske i kafene kiseline, koje su jači antioksidanti od monofenolnih kiselina *p*-hidroksibenzoeve i *p*-kumarinske kiseline. Prisustvo metoksi grupe u *ortho* položaju povećava antioksidativnu aktivnost monofenola, tako da je sinapinska kiselina aktivnija od ferulne, a ferulna je aktivnija od *p*-kumarinske. Generalno su derivati

hidroksicimetne kiseline bolji antioksidanti od derivata hidroksibenzoeve kiseline zbog prisustva dvostrukе veze koja učestvuje u stabilizaciji nastalog aroksi-radikala (Veličković, 2013).

Veliki broj kumarina sposoban je za hvatanje reaktivnih kiseoničnih vrsta, što uključuje niz različitih molekularnih mehanizama delovanja i verovatno je povezano s njihovom strukturnom sličnošću s flavonoidima (Molnar i Čačić, 2011).

Među biljnim vrstama iz familije Lamiaceae, ruzmarin je najviše proučavan kao izvor prirodnih antioksidanata (Babović i Petrović, 2011). Ruzmarinska kiselina je estar kafene i 3,4-dihidroksifenilmlečne kiseline. Pokazuje antiinflamatornu, antioksidativnu, antimutagenu i antibakterijsku aktivnost. Zahvaljujući antioksidativnoj aktivnosti ruzmarinske kiseline, ruzmarin i njegovi ekstrakti nalaze primenu u fitofarmaciji kao sastavni delovi preparata za lečenje bolesti nastalih pod uticajem slobodnih radikala, kao i u prehrambenoj industriji za sprečavanje oksidativne razgradnje masti i ulja biljnog i životinjskog porekla (Stoiljković i sar., 2004).

Neutrališući slobodne radikale u ćelijama, fenolna jedinjenja kao snažni antioksidanti sprečavaju oksidativna oštećenja DNK. Antikancerogenom, antiviralom i antitoksičnom ulogom utiču na imuni i inflamatorni odgovor čoveka. Iz tih razloga biljke, koje sadrže različita fenolna jedinjenja, se koriste kao pomoćna lekovita sretstva u medicini (Popović i Malenčić, 2006).

Pored toga što deluju kao snažni antioksidanti, fenoli su jedinjenja od velike važnosti za biljku. Značajni su kao ćelijski potporni materijal poput lignina i suberina koji čine mehaničku potporu i barijeru invaziji mikroba (Häkkinen, 2000; Popović, 2001). Zatim, kao ko-pigmenti, u čemu su najznačajniji antocijani, koji se obično nalaze u obliku glikozida ili estara sa taninima (Popović, 2001; Popović i Malenčić, 2006). Najrasprostranjeniji su pigmenti u biljnom svetu posle hlorofila. Menaju boju od crvene do plave. Doprinose boji cveća, voća i listova, što je veoma važno u privlačenju insekata (Häkkinen, 2000). Na boju antocijana utiču mnogi činioci kao što su pH sredine i prisustvo drugih fenola (fenolnih kiselina, flavonoida, tanina...) (Stanković i sar., 2006).

Flavonoidi, koji se nalaze na površini listova, imaju ulogu u fiziološkom preživljavanju biljaka štiteći ih od gljivičnih infekcija i UV zračenja (Sandhar i sar., 2011). Najvažnija uloga fenolnih jedinjenja je u zaštiti biljke od napada patogena i predatora. Jednostavne fenolne kiseline, kao i kompleksi tanina i fenolnih smola na površini biljke uspešno odbijaju ptice. Kondenzovani tanini daju gorak ukus biljnim tkivima delujući odbijajuće na herbivore.

Stresni uslovi, kao što su UV zračenje, povreda i infekcija biljke, indukuju biosintezu i akumulaciju fenolnih komponenti (Sakihama i sar., 2002; Asami i sar., 2003). Tako spoljašnji faktori mogu imati značajan uticaj na sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u biljkama (Häkkinen, 2000; Michalak, 2006).

Niskomolekularna jedinjenja (uključujući fenole) koja se mogu akumulirati kao posledica napada mikroorganizama nazivaju se fitoaleksini. Fitoaleksini su post-infektivna jedinjenja, tj. mogu biti prisutni u biljci u niskim koncentracijama i bez infekcije, međutim nakon infekcije rapidno se nakupljaju kao indukovana jedinjenja (Stanković i sar., 2006), štiteći biljku od širenja infekcije i novih napada (Mandal i sar., 2010). Od fenolnih fitoaleksina i toksina, hidroksikumarini i hidroksicinamati su od najveće važnosti (Popović i Malenčić, 2006).

Mnogi sekundarni metaboliti funkcionišu kao alelojedinjenja i služe kao zaštitne hemijske komponente protiv biljojeda i mikroorganizama (Stanković i sar., 2006). Pored isparljivih terpena, i toksični, u vodi rastvorljivi fenoli kao što su jednostavni fenoli, derivati hidroksibenzoeve i derivati hidroksicimetne kiseline modu da deluju kao alelopatske supstance i da imaju uticaj u kompeticiji među biljkama (fenomen nazvan alelopatija) (Häkkinen, 2000).

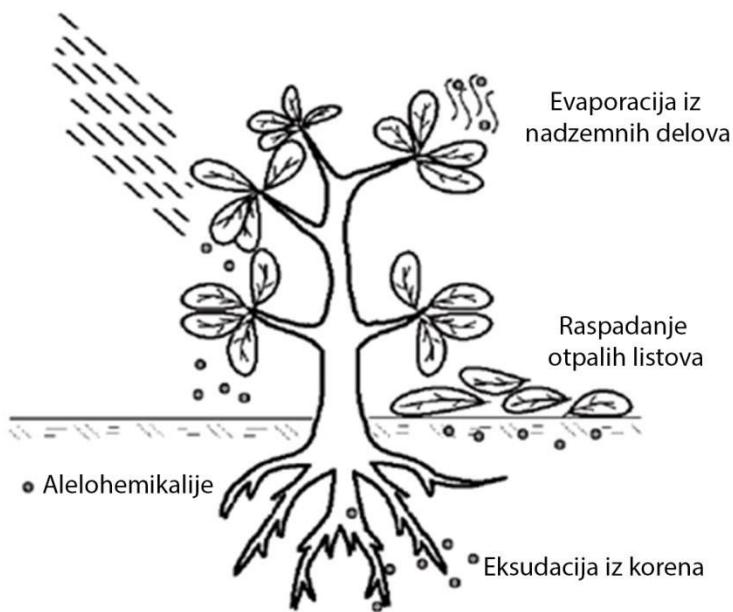
### **3.3. Alelopatija**

Termin alelopatija (izведен od dve grčke reči „*allelon*” – jedni na druge i „*pathos*” – patiti odnosno senzitivnost) prvi je upotrebio austrijski botaničar Hans Molisch (1937) za označavanje uticaja jedne biljke na rast i razvoj druge (An i sar., 2003; Bhadaria, 2011). Rice 1984. godine definiše alelopatiju kao direktni ili indirektni, pozitivan ili negativan uticaj jedne biljke na drugu putem hemijskih izlučevina (Bogatek i sar., 2006; Blanco, 2007; Safari i sar., 2010). Iako se termin alelopatija najčešće upotrebljava za opisivanje hemijskih interakcija između dve biljke (alelopatija u užem smislu), može da se upotrebi i za opisivanje hemijske komunikacije između biljaka i mikroba, biljaka i insekata, biljaka i herbivora (alelopatija u širem smislu) (Weir i sar., 2004).

#### **3.3.1. Interakcija biljka-biljka**

Biljke sintetišu veliki broj sekundarnih biomolekula koji su prisutni u gotovo svim organizma (listu, cvetu, plodu, stabljiki, korenju, semenu) (Putnam, 1988). Sintetisane biomolekule biljke emituju u spoljašnju sredinu preko eksudata iz korena, evaporacijom iz nadzemnih delova ili raspadanjem otpalih, izumrlih delova, i preko njih deluju na klijanje, rast i razvoj biljaka u okruženju, tako što utiču na njihovu fotosintezu, respiraciju, balans vode i hormona, aktivnost enzima kao i na strukturu i permeabilnost ćelijske membrane (**Slika 13.**) (Wu i sar., 2000; An i sar., 2003; Gatti i sar., 2010). Najčešće vidljive promene koje se javljaju kao posledica alelopatskih interakcija su inhibicija ili retardacija klijanja semena, inhibicija rasta korenovog sistema, pucanje korenčića, nedostatak korenskih dlačica, izduživanje koleoptila i dr. (Bhadaria, 2011; Gella i sar., 2013).

Supstance preko kojih se ostvaruju alelopatske interakcije zovu se alelohemikalije (Bhadaria, 2011). To su sekundarni ili, ređe, primarni proizvodi metabolizma biljaka (Chou, 2006; Liu i sar., 2013), sintetisani u acetogeninskom, šikimatnom ili izoprenoidnom putu, koji nemaju veliku ulogu u primarnom metabolizmu važnom za preživljavanje samih vrsta (Kovačević i Momićević, 2000). Predstavljaju važnu ulogu u hemijskim interakcijama između biljaka i patogena (Wójcicka, 2010).



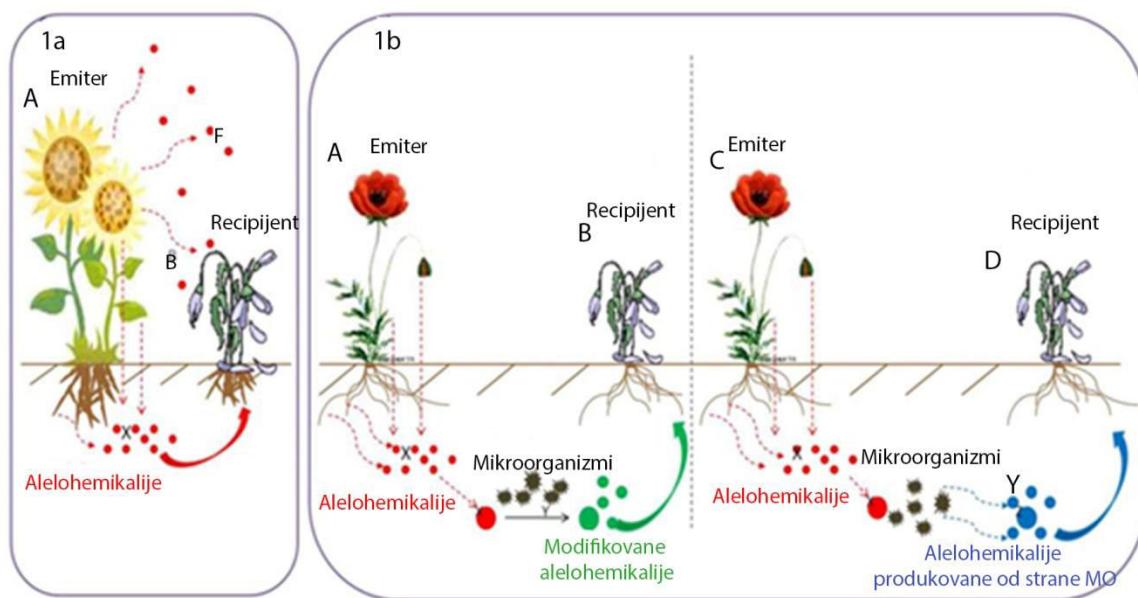
**Slika 13.** Mogući načini oslobođanja alelohemikalija u spoljašnju sredinu (De Albuquerque i sar., 2011).

Alelohemikalije se mogu svrstati u 10 kategorija što je prikazano u **Tabeli 3.** (Li i sar., 2010; Soltys i sar., 2013).

**Tabela 3.** Kategorije alelohemikalija (Li i sar., 2010; Soltys i sar., 2013).

1. Organske kiseline rastvorljive u vodi, nerazgranati alkoholi, alifatični aldehidi i ketoni
2. Prosti laktoni
3. Masne kiseline dugog niza i poliacetileni
4. Benzohinoni, antrahinoni i kompleksni hinoni
5. Fenoli
6. Cimetna kiselina i njeni derivati
7. Kumarini
8. Flavonoidi
9. Tanini
10. Steroidi i terpenoidi (seskviterpenski laktoni, diterpeni i triterpenoidi)

Biljka koja izlučuje alelohemikalije u okolinu označava se kao emiter, dok se biljka na koju deluju izlučene alelohemikalije označava kao recipijent (Soltys i sar., 2013). Veći broj alelohemikalija biljka emiter izlučuje u aktivnom obliku, dok se pojedine druge aktiviraju delovanjem mikroorganizama ili pri specifičnim ekološkim uslovima (pH, temperatura, svetlost) (Inderjit i sar., 2011; Li i sar., 2013). Mikroorganizmi preuzimaju alelohemikalije iz zemljišta, transformišu ih i na taj način smanjuju ili povećavaju njihovu toksičnost (De Albuquerque i sar., 2011). Osim toga, izlučene alelohemikalije mogu da stimulišu mikroorganizme da produkuju neke druge alelohemikalije koje će delovati na okolne biljke (**Slika 14.**). Međusobni odnosi među biljkama, kao i odnosi između biljke i spoljašnje sredine, utiču na alelopatsku komunikaciju menjajući alelopatski potencijal izlučenih supstanci (Inderjit i sar., 2011). Alelopatski uticaj je izraženiji ukoliko zajednički deluje više komponenti u poređenju sa istom koncentracijom alelopatskih supstanci koje deluju pojedinačno tj. deluju sinergistički (Sikora i Berenji, 2008).



**Slika 14.** Alelopatske interakcije (Soltys i sar., 2013) – (1a) Biljka A oslobađa alelohemikalije X i F koje utiču na rast biljke B, (1b-leva strana) Biljka A oslobađa alelohemikalije koje dalje modifikuju ili aktiviraju mikroorganizmi u alelohemikalije Y koje utiču na rast biljke B, (1b-desna strana) Biljka A oslobađa alelohemikalije X koje stimulišu mikroorganizme da produkuju alelohemikalije Z koje utiču na rast biljke B.

Pored toga što alelohemikalije utiču na mikroorganizme koji se nalaze u okolini biljke koja ih izlučuje (Weiβhuhn i Prati, 2009), indirektno utiču i na životinje koje se hrane biljkama, zatim na dekompoziciju organskih materija u zemljištu, kao i na kruženje azota u prirodi (Inderjit i sar., 2011).

Alelopatski odnosi koji su široko rasprostranjeni u biljnom svetu, manifestuju se preko različitih biohemijskih mehanizama, uz učešće različitih fiziološki aktivnih jedinjenja, s različitom brzinom delovanja i različitim posledicama (Vrbničanin i Kojić, 2000). Veliki broj alelopatskih interakcija je negativnog karaktera, dok su pozitivni odnosi retkost (Soltys i sar., 2013).

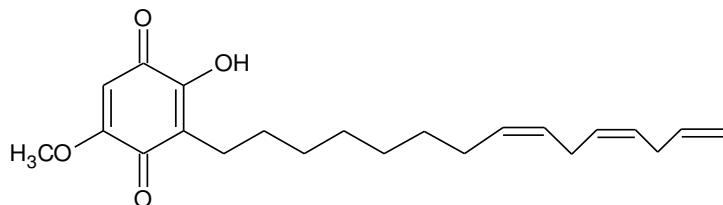
Od davnina se zna da oko pojedinih biljnih vrsta ne rastu druge zeljaste biljke. Poznata je toksičnost juglona (5-hidroksinaftohinon) iz oraha (*Juglans regia* L.) za mnoge biljke i insekte (Ercisli i sar., 2005). Tako niz vrsta zeljastih biljaka ne može da raste u neposrednoj okolini oraha. Ista pojava se zapaža na zemljištu u blizini žbunova žalfije (*Salvia leucophyta* Greene (Lamiaceae)) i pelina (*Artemisia californica* Less. (Asteraceae)). Ovaj efekat se pripisuje dejstvu etarskog ulja koje sadrži monoterpane kamfor i 1,8-cineol, poznate inhibitore klijanja i rasta klijanaca različitih vrsta zeljastih biljaka. Slična pojava je zapažena i u neposrednoj blizini eukaliptusa (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (Myrtaceae)), gde se pretpostavlja da komponente etarskog ulja  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -felandren i 1,8-cineol inhibiraju klijanje klica korenka (*Bromus rigidus* Roth (Poaceae)) (Jančić i sar., 1995; Kitić, 2010). Kao inhibitori klijanja navode se i borneol, (+)-kamfor i pulegon. Pulegon je veoma toksičan inhibitor klijanja, četri puta toksičniji za seme i klijanac rotkve (*Raphanus sativus* L. (Brassicaceae)) od cijanida (Kitić, 2010).

U žitaricama, kao što su kukuruz (*Zea mays* L.), pšenica (*Triticum aestivum* L.), raž (*Secale cereale* L.), ječam (*Hordeum vulgare* L.), pirinač (*Oryza sativa* L.) i sirak (*Sorghum bicolor* L.), identifikovano je prisustvo supstanci sa alelopatskim delovanjem uključujući fenolne kiseline, flavonoide, kumarine i alkaloide. Kakve će se posledice javiti u biljci koja je bila izložena uticaju alelohemikalija zavisi od strukture prisutnih jedinjenja, primenjene doze kao i od biotičkih i abiotičkih faktora (Bravo i sar., 2013).

Alelohemikalije sprečavaju klijanje semena tako što utiču na aktivnost metaboličkih enzima uključenih u procese glikolize i pentozo-fosfatnog puta. Pokazano je da neke fenolne kiseline (vanilinska, *p*-kumarinska, *p*-hidroksibenzoeva i protokatehinska kiselina) inhibiraju

aktivnost glikolitičkih enzima (aldolaza, glukozafosfat-izomeraza), iako tačan mehanizam inhibicije nije poznat (Weir i sar., 2004).

Najviše proučavan mehanizam fitotoksičnog delovanja alelohemikalija je inhibicija fotosinteze koja se javlja kao posledica interakcije alelohemikalija sa komponentama fotosistema II. Jedan od inhibitora fotosistema II je sorgoleon, iz sirka (*Sorghum bicolor* L.), koji je po strukturi benzohinon (**Slika 15.**). U zemljište dospeva eksudacijom preko korena. Vezuje se za atrazin-vezno mesto u fotosistemu II, sprečavajući redukciju plastohinona što za posledicu ima inhibiciju elektron-transportnog lanca (Weir i sar., 2004).



**Slika 15.** Struktura sorgoleona.

Jedan od alelohemičkih efekata koji dovodi do ćelijske smrti jeste i povećana produkcija i akumulacija reaktivnih kiseoničnih vrsta koje dovode do oksidativnog stresa u ciljnoj ćeliji (De Albuquerque i sar., 2011). Oksidativni stres izazvan alelohemikalijama dovodi do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije ćelijskih membrana, čime se narušava integritet membrana i aktivan transport kroz njih, i do povećanja aktivnosti antioksidativnih enzima (Li i sar., 2013; Bogatek i Gniazdowska, 2007; Ding i sar., 2007). Alelohemikalije rastvorene u vodi tada u većoj meri ulaze u koren, te dolazi do gubitka elektrolita iz oštećenih delova korenovog sistema (Dmitrović, 2012). Upravo se toksičnost hinona i fenola objašnjava formiranjem semihinon-radikala, donora elektrona molekulu kiseonika koji na taj način prelazi u superoksid-radikal (Weir i sar., 2004).

U poljoprivrednim sistemima interakcije između gajenih kultura, kao i interakcije između useva i korova, mogu da dovedu do smanjene produktivnosti (Dmitrović, 2012). Iz ovih činjenica je proizašla ideja o alelopatiji kao perspektivnoj strategiji za kontrolu korova u cilju smanjenja upotrebe sintetičkih herbicida i drugih pesticida koji zagađuju vazduh i zemljište (Akbarzadeh i sar., 2013).

Najveći broj istraživanja u oblastima alelopatije su do sada bila fokusirana na probleme suzbijanja korova na pirinčanim poljima, zbog specifičnog načina gajenja ove ratarske kulture (Janjić i sar., 2008). Identifikovane potencijalne alelohemikalije u ekstraktima i eksudatima pirinča pripadaju različitim klasama jedinjenja. U vodenim ekstraktima su identifikovane fenolne kiseline: *p*-hidroksibenzoeva, vanilinska, *p*-kumarinska i ferulna kiselina. Međutim, iako se smatra da fenolne kiseline, u poređenju sa ostalim klasama jedinjenja, imaju vodeću ulogu u alelopatiji utvrđeno je da je diterpenoid momilakton B u pirinču najznačajnije jedinjenje koje alelopatski deluje na korove (Roth i sar., 2000; Kato-Noguchi i Ino, 2003; Kato-Noguchi, 2004; Kato-Noguchi i Ino, 2005; Kato-Noguchi i Ino, 2005).

Primeri prirodnih bioherbicida su vodeni ekstrakti sirka (*Sorghum bicolor* L.) i suncokreta (*Helianthus annuus* L.) koji su se pokazali kao veoma efikasna zaštita gajenih biljaka bez gubitaka u prinosu (Soltys i sar., 2013). Međutim, upotrebo ekstrakata može da se maskira efekat jedne alelopatske supstance drugom zbog čega su interesovanja naučnika usmerena ka izolaciji i aplikaciji pojedinačnih alelopatskih supstanci. Tako je utvrđeno da fitotoksični efekat sirka potiče od sorgoleona koji se oslobađa eksudacijom korena i ispoljava toksičnost pri koncentracijama manjim od  $10 \text{ } \mu\text{mol}/\text{dm}^3$  (Dayan, 2006; Uddin i sar., 2013). U **Tabeli 4.** navedene su biljke i njihove aktivne supstance koje deluju inhibitorno na klijanje semena i rast korova.

Prednosti upotrebe prirodnih jedinjenja kao biopesticida su (Soltys i sar., 2013):

- Većina alelohemikalija je rastvorljiva u vodi i zbog toga ih je lakše naneti bez dodatnih reagenasa za razliku od sintetičkih herbicida, koji se slabo rastvaraju u vodi i zemljištu i imaju sposobnost akumulacije u organizmima biljaka i životinja.
- Ekološki su bolja opcija od sintetičkih herbicida jer sadrže relativno mali broj takozvanih „teških atoma“, i karakteriše ih odsustvo „neprirodnih“ prstenova. Ove odlike sprečavaju nagomilavanje štetnih jedinjenja u zemljištu i negativan uticaj na druge biljke.
- Raznovrsnost i prisutnost velikog broja jedinjenja omogućava im da deluju na korove koji su razvili rezistentnost na komercijalne herbicide.
- Veliki broj izolovanih alelohemikalija ispoljava svoju bioaktivnost u niskim ( $10^{-5}$  –  $10^{-6} \text{ mol}/\text{dm}^3$ ) ili izuzetno niskim koncentracijama  $10^{-10} \text{ mol}/\text{dm}^3$  (Gniazdowska i Bogatek, 2005).

**Tabela 4.** Alelopatske supstance izolovane iz biljaka koje deluju inhibitorno na klijanje semena i rast korova (Soltys i sar., 2013).

Alelopatska supstanca	Biljka iz koje je izolovana	Korov na koji deluje
Izotiocjanati	Rotkvica	<i>Sonchus asper</i> L. Hill <i>Matricaria inodora</i> L. <i>Amaranthus hybridus</i> L. <i>Convolvulus arvensis</i> L. <i>Daucus carota</i> L. <i>Hirschfeldia incana</i> L.
Sorgoleon	Sirak	<i>Phalaris minor</i> Retz. <i>Coronopus didymus</i> L. <i>Cyperus rotundus</i> L. <i>Solanum nigrum</i> L. <i>Amaranthus retroflexus</i> L. <i>Ambrosia atrtemisiflora</i> L.
Momilakton	Pirinač, mahovina	<i>Echinochloa colonum</i> L. <i>Amaranthus lividus</i> L. <i>Digitaria sanguinalis</i> L. <i>Poa annua</i> L.
Artemisinin	Pelin	<i>Ipomoea lacunose</i> L. <i>Portulaca oleracea</i> L. <i>Lemna minor</i> L.
Sarmentin	Biber	<i>Leptochloa filiformis</i> (Lam) Beauv. <i>Taraxacum</i> sp. Wigg <i>Chenopodium album</i> L.
Etarska ulja	Eukaliptus	<i>Cassia occidentalis</i> (L.) Link <i>Lolium rigidum</i> Gaudin

Nedostaci upotrebe prirodnih jedinjenja kao biopesticida su (Soltys i sar., 2013):

- Složenost strukture ih čini reaktivnijim i nestabilnim, tako da brza transformacija jedne od funkcionalnih grupa može značajno da smanji aktivnost celog jedinjenja.
- Alelohemikalije deluju na više mesta u biljkama i manje su specifične od sintetičkih herbicida.

Monokotiledone biljke (kojima pripada većina ratarskih kultura) su otpornije na alelohemikalije nego dikotiledone biljke, stoga je moguće korišćenje alelojedinjenja kao potencijalnih herbicida, ali je upotreba ograničena na tretiranje određenih useva sa definisanim sastavom korova (Gniazdowska i Bogatek, 2005).

Da bi alelohemikalija mogla da se upotrebljava kao prirodni herbicid, mora da deluje efikasno i da bude bezbedna po životnu sredinu. Iz tih razloga neophodno je da poseduje fitotoksičnu aktivnost u niskim koncentracijama, da je identifikovana hemijska struktura, da je poznat način delovanja u biljkama i vreme zadržavanja u zemljištu, da je poznat uticaj na mikroorganizme kao i da je ispitano moguće toksično dejstvo na ljudsko zdravlje.

Primenom prirodnih herbicida štiti se i čuva plodnost poljoprivrednog zemljišta, kao i mikrobiološka aktivnost zemljišta (Ugrenović i Filipović, 2012).

### **3.3.2. Uloga etarskih ulja u interakciji biljka-insekt**

Egarska ulja imaju funkciju u metabolizmu biljaka (fiziološka funkcija), i u biohemiskim interakcijama biljaka sa spoljašnjom sredinom (ekološka funkcija). Sastav etarskog ulja je određen selekcijom usmerenom ka stvaranju takve kompozicije terpena koji biljci daje prednost u preživljavanju i razmnožavanju (Jančić i sar., 1995). Ekološka uloga uslovljena je fizičkohemiskim osobinama komponenti etarskog ulja, koje mu omogućavaju da bude osnovni agens biohemiske interakcije biljke sa spoljašnjom sredinom. U tom smislu moguće je razlikovati ulogu etarskih ulja u alelopatskim odnosima, u odnosu biljka-životinja i značaj etarskih ulja za čoveka (Kostić i sar., 2012).

Miris biljaka, koji je značajan faktor u privlačenju insekata oprašivača, uglavnom potiče od isparljivih komponenti etarskih ulja. Neke od komponenti, odgovorne za privlačenje insekata, su citral, linalol, mircen i limonen. Pojedine komponente etarskih ulja mogu da deluju privlačno na

jednu grupu insekata, a drugu da odbijaju (Kitić, 2010). Prisustvo etarskih ulja u biljkama predstavlja jedan od brojnih razvijenih mehanizama odbrane biljaka od insekata i patogenih gljiva (Batish i sar., 2008).

Egarska ulja imaju značajnu ulogu u redukciji broja herbivora i parazita, tako da su pored farmaceutske, prehrambene i kozmetičke industrije, našli primenu i u zaštiti ekosistema, ljudi, životinja i hrane (Vučinić i sar., 2011).

Poslednjih decenija etarska ulja dobijaju sve više na značaju u naučnim istraživanjima kao potencijalni fumiganti i kontaktni insekticidi (Batish i sar., 2008). Kao lako isparljiva jedinjenja, koja karakteriše niska toksičnost prema sisarima, predstavljaju dobru alternativu za zaštitu uskladištenih proizvoda. Fumigantnim delovanjem etarskih ulja postiže se uništavanje insekata u svim fazama njihovog razvoja (Wang i sar., 2006).

O značaju etarskih ulja kao faktora redukcije herbivora svedoči veliki broj istraživanja. Ustanovljeno je da karvakrol, sam ili u kombinaciji sa drugim aktivnim sastojcima etarskih ulja, deluje repellentno na mnoge insekte (npr. komarce, krpelje, bubašvabe) (Vučinić i sar., 2011). Karvakrol i njegov izomer timol su glavni mirisni i lekoviti (antiseptički, antihelmintični) sastojci majčine dušice, vranilovke i drugih biljaka iz familije usnatica (Tucakov, 1996). Svojstvo pulegona, limonena i linalola da deluju kao kontaktni insekticidi na domaću muvu (*Musca domestica*) i bubašvabu (*Blattella germanica*) iskorišćeno je za dobijanje prirodnih, za ljude netoksičnih, insekticida (Kitić, 2010). Ustanovljeno je da proizvodi na bazi eukaliptusa pružaju osmočasovnu zaštitu od ujeda komaraca (Batish i sar., 2008), tj. da etarsko ulje eukaliptusa, u kom je u većim količinama prisutan monoterpen 1,8-cineol, ispoljava repellentno dejstvo na komarce. Istraživanja Çalmaşur i sar. (2005) su pokazala da etarska ulja biljaka familije Lamiaceae (*Micromeria fruticosa*, *Nepeta racemosa* i *Origanum vulgare*) takođe pokazuju insekticidnu aktivnost. Aktivne komponente dominantne u ulju su  $\gamma$ -terpinen,  $\alpha$ -terpinen, timol, karvakrol i linalol.

Pored toga što deluju toksično i repellentno na mnoge insekte, veliki broj monoterpena ispoljava antimikrobnu, antibakterijsku i antifungalnu aktivnost (Popović i Malenčić, 2006).

### **3.3.3. Alelopatske biljke**

#### **3.3.3.1. Familija Lamiaceae (Labiatae)**

Familiji Lamiaceae (porodici usnatica) pripadaju jednogodišnje ili višegodišnje, zeljaste ili žbunaste biljke (Krivokućin, 1998). Stablike ovih biljaka su uspravne, na poprečnom preseku često četvorouglaste, gusto pokrivenе žlezdanim dlakama koje luče ulja priјatnog mirisa (Vidanović, 2013). Listovi su naspramni, sa razvijenom lisnom drškom, žlezdanim dlakama ili ljuspama koje sadrže etarsko ulje. Cvetovi su retko pojedinačni, najčešće su grupisani u cimozne cvasti koje su ujedinjene u kombinovane cvasti (klas ili grozd) i nalaze se u pazuhu listova stabala i piperaka (Diklić, 1974).

Većina predstavnika ove familije su aromatične biljke (Krivokućin, 1998). Ekonomski značaj se ogleda kroz njihovu upotrebu kao lekovitih, začinskih i ukrasnih biljaka, kao i kroz primenu etarskih ulja i ekstrakata u različitim granama industrije (Diklić, 1974; Čančarević i sar., 2013). U tradicionalnoj medicini imaju široku primenu zbog visokog sadržaja etarskog ulja koje ispoljava antimikrobnu, antiviralnu, antikancerogenu i druge aktivnosti (Bozin i sar., 2006; Venkateshappa i Sreenath, 2013).

Familija Lamiaceae je jedna od najvećih biljnih familija zastupljena u toplijim predelima (Diklić, 1974). Obuhvata oko 7000 vrsta svrstanih u 236 rodova, rasprostranjenih skoro na čitavoj zemaljskoj kugli (Ramasubramania Raja, 2012). Najveće bogatstvo rodova i vrsta familije Lamiaceae nalazi se u Mediteranu. U flori Balkanskog poluostrva Lamiaceae su zastupljene sa 371 vrstom. U flori Srbije zastupljeno je 30 rodova sa 147 vrsta (Diklić, 1974).

### **3.3.3.2. *Salvia sclarea* L.**

Kadulja (muskatna žalfija) *S. sclarea* L. je višegodišnja zeljasta biljka. Ima snažan vretenast koren (Kišgeci, 2002). Stabljika je uspravna i čvrsta. Listovi su veliki, raspoređeni duž sabljike u 3–5 parova, prekriveni kovrdžavim, žlezdastim dlakama. Cvetovi su dugački 2–2,5 cm, plave, bele ili roze boje (Džamić i sar., 2008). Po 3–6 cvetova je sakupljeno u lažnu cimoznu cvast (Kišgeci, 2002).

Porekлом је из јуžне Европе и гаји се широм света, посебно у региону Медитерана и Централне Европе (Hudaib i sar., 2001). Расте прећево на сувим, шљунковитим теренима (Kišgeci, 2002).

Општа распространjenost: Средоземна област и Иран (Nasermoadeli i Rowshan, 2013).

Медицински и привредни значај потиче од етарског уља (Kužma i sar., 2007). Употребљава се као антideпресив, антисептик, антиспазмодик и карминатив (Džamić i sar., 2008). Показује antimikroбно (Gülçin i sar., 2004) и larvicidno dejstvo protiv komaraca (Džamić i sar., 2008). Кao mirisna komponenta ulazi u sastav mnogobrojnih kozmetičkih preparata. Етарско уље се налази у cvasti, dok ga listovi i stabljika sadrže само u tragovima. Главна komponenta etarskog уља је linalil-acetat, u većim količinama prisutni su i sklareol, linalol,  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ - i  $\beta$ -tujon, borneol (Kišgeci, 2002). Od fenola sadrži fenolne kiseline, fenolne glikozide, flavonoide, antocijane i kumarine (Džamić i sar., 2008; Nasermoadeli i Rowshan, 2013).



(<http://botany.cz/cs/salvia-sclarea/>)



(<http://davesgarden.com/guides/pf/showimage/141689/>)



(<http://www.cruydhoeck.nl/winkel/salvia+sclarea/207>)

**Slika 16.** *Salvia sclarea* L.

### **3.3.3.3. *Satureja montana* L.**

Rtanjski čaj (planinski čubar ili vrijesak) *S. montana* L. je višegodišnja žbunasta biljka, visoka od 10 cm do 40 cm, sa snažnim vretenastim korenom. Grane su četvorouglaste do skoro okrugle, jako odrvenjene, sa svetlo mrkom korom (Diklić, 1974). Listovi su linearo-lancelastog oblika, kožasti i sjajni, duž oboda prekriveni svetlucavim žlezdamama (Randelović, 2013). Na licu i naličju listova smeštene su žlezde u kojima se stvara etarsko ulje što biljci daje karakterističan prijatan miris. Cvetovi su dugački 7–12 mm (Diklić, 1974), dvousno sakupljeni u pazuh listova, sa kruničnim listićima bele, ružičaste ili ljubičaste boje (Randelović, 2013).

Staništa ove vrste su u pojasu od samog mora pa do 1200 m nadmorske visine, ali se često na nekim primorskim planinama nalaze lokaliteti i na većim visinama (Mihajilov-Krstev i sar., 2014).

Opšta rasprostranjenost: Južna Evropa i Srednja Azija.

Medicinski značaj: koristi se kao antiseptik, aromatik i karminativ (Damjanović-Vratnica i sar., 2011). Pozitivni efekti na ljudsko zdravlje povezani su sa prisustvom biološki aktivnih supstanci kao što su etarsko ulje, triterpeni, flavonoidi i ruzmarinska kiselina (Hassanein i sar., 2014). Etarsko ulje je poznato kao prirodni antioksidans (Marin i sar., 2012). Antioksidantna aktivnost se povezuje sa prisustvom karvakrola, timola,  $\beta$ -kariofilena,  $\gamma$ -terpinena, *p*-cimena kao dominantnih komponenti u etarskom ulju koje pokazuju snažnu antioksidativnu aktivnost (Damjanović-Vratnica i sar., 2011; Miladi i sar., 2013).



(<http://davesgarden.com/guides/pf/showimage/182473/>) (<http://luirig.altervista.org/pics/display.php?pos=295576/>)



(<http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-071/satureja-montana507.jpg>/)

**Slika 17.** *Satureja montana* L.

### **3.3.3.4. *Clinopodium menthifolium* Host**

Vrsta *Clinopodium menthifolium* Host pripada rodu *Clinopodium* koji je sličan rodu *Calamintha*. U zemljama Evrope, južne i istočne Azije zastupljeno je oko 10 vrsta ovog roda. U našoj flori zastupljena je samo jedna vrsta (Šilić, 1979).

Vrste roda *Clinopodium* su višegodišnje biljke, sa dobro razvijenim korenom. Listovi su ovalnog oblika. Cvetovi su sakupljeni u zbijenim, glavičastim, terminalnim ili pazušnim razmaknutim providnim pršljenovima, koji su smešteni u pazuhu listova pri vrhu stabljike (Šilić, 1979).

Poseduju antioksidativnu i antimikrobnu aktivnost (Slavkovska i sar., 2013).



(<http://www.biolib.cz/en/image/id195032/>)



(<https://www.flickr.com/photos/12639178@N07/8324540229/>)

(<http://dronnesauvage.canalblog.com/archives/2013/09/21/28060981.html>)

**Slika 18. *Clinopodium menthifolium* Host**

## ***4. Eksperimentalni deo***

#### 4.1. Biljni materijal i priprema ekstrakata

Biljni materijal korišćen za istraživanja u ovom radu sakupljen je u fazi cvetanja na području Republike Srbije i Crne Gore. Pregledan je i kolektovan u Kolekciji primeraka jemstva (Voucher collection) Herbariuma BUNS. Determinaciju je izvršio dr Goran Anačkov, vanredni profesor na Departmanu za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu. Pripremljen biljni materijal je osušen na vazduhu. U **Tabeli 5.** prikazani su osnovni podaci o brojevima vaučera, lokalitetu i datumu sakupljanja ispitivanih vrsta familije Lamiaceae.

**Tabela 5.** Podaci iz vaučera biljnih vrsta korišćenih u radu.

Broj vaučera	Vrsta	Lokalitet	Datum
2-1543	<i>Clinopodium menthifolium</i> (Host) Stace 1989*	Crna Gora Sutomore, Čanjs N 42.09.52,19; E 19.00.30,10; 31 m	Makija 14. maj 2012.
2-1544	<i>Satureja montana</i> L. 1753 subsp. <i>Montana</i>	Crna Gora Podgorica, Bioče, Potoci N 42.32.23,21; E 19.20.02,17; 123 m	krečnjački kamenjar, pseudomakija Jun 2012.
2-1545	<i>Salvia sclarea</i> L. 1753	Srbija Vranje, Rujan planina, selo Klenike N 42.22.40,44 E 21.53.09,23; 494 m	pored puta, termofilno hrastov šibljak Jul 2012.

\*zbog sakupljanja biljnog materijala na našim prostorima, odabrana je biljna vrsta *Clinopodium menthifolium* Host koja je sličnih morfoloških karakteristika kao prvo bitno planirana biljka *Calamintha glandulosa* L.

#### **4.1.1. Priprema ekstrakata maceracijom**

*Vodeni ekstrakti:* Odmereno je 0,15 g osušenog i prethodno usitnjenog biljnog materijala, i potom ekstrahovano vodom (15 ml). Nakon 24 h macerat je pročeđen kroz Büchner-ov levak da bi se uklonio biljni materijal. Napravljeni su osnovni 10 % vodenih ekstrakti od kojih su pravljena razblaženja korišćena u daljem radu za pojedine eksperimente. Ekstrakti su čuvani u frižideru na temperaturi od +4 °C.

*Acetonski ekstrakti:* Biljni materijal (0,2 g) ekstrahovan je 70 % acetonom (10 ml) tokom 24 h na tamnom mestu. Nakon izvršene ekstrakcije macerat je filtriran kroz kvalitativnu filter hartiju. Dobijeni ekstrakti čuvani su u frižideru na temperaturi od +4 °C.

#### **4.1.2. Izolacija etarskog ulja metodom hidrodestilacije (HD)**

Za izolaciju etarskih ulja primenjena je metoda hidrodestilacije (HD) uz *n*-heksan kao rastvarač-recipijent.

Postupak: U balon okruglog dna odmereno je 20 g usitnjenog biljnog materijala i preliveno sa 650 ml vode. Vreme destilacije iznosilo je 3 h. Dobijeno etarsko ulje sušeno je pomoću anhidrovanog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Nakon toga je *n*-heksan uparen na rotacionom vakuum-uparivaču. Dobijeno ulje je čuvano u eksikatoru do konstantne mase i izmeren je prinos ulja izražen u g/100g (%) osušenog biljnog materijala.

Prinos etarskog ulja biljke *C. menthifolium* (1,14 %) bio je znatno veći u poređenju sa prinosom etarskog ulja druge dve biljke (*S. montana* – 0,37 % i *S. sclarea* – 0,11 %).

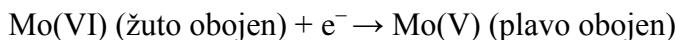
Ulja su čuvana u frižideru na +4 °C do momenta analize.

#### **4.2. Ispitivanje hemijskog sastava i antioksidativne aktivnosti biljnih ekstrakata**

Metode koje su korišćene u ovoj disertaciji za određivanje hemijskog sastava i antioksidativnog potencijala ekstrakata *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* zasnivaju se na spektrofotometrijskom merenju intenziteta boje produkta (na određenoj talasnoj dužini) nastalog u datim reakcijama. Za spektrofotometrijska merenja korišćen je spektrofotometar *Thermo Scientific Evolution 220*.

#### **4.2.1. Određivanje ukupnih reduktanata u ekstraktima**

Količina ukupnih reduktanata određena je spektrofotometrijski pomoću Folin-Ciocalteu reagensa (Hagerman i sar., 2000). Metoda se zasniva na merenju redupcionog kapaciteta fenola i drugih jedinjenja. Disocijacijom fenola nastaje fenoksidni anjon koji dalje redukuje Folin-Ciocalteu reagens do plavo obojenog jona ( $\text{Fenol} - \text{MoW}_{11}\text{O}_{40}$ )<sup>4-</sup>:



Rastvori i reagensi:

- 20 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .
- Folin-Ciocalteu reagens (sadrži natrijum-volframat, natrijum-molibdat, brom, 85 %  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , conc.  $\text{HCl}$ ,  $\text{Li}_2\text{SO}_4$ ).
- Standardni rastvor galne kiseline: 1 mg/ml u vodi.

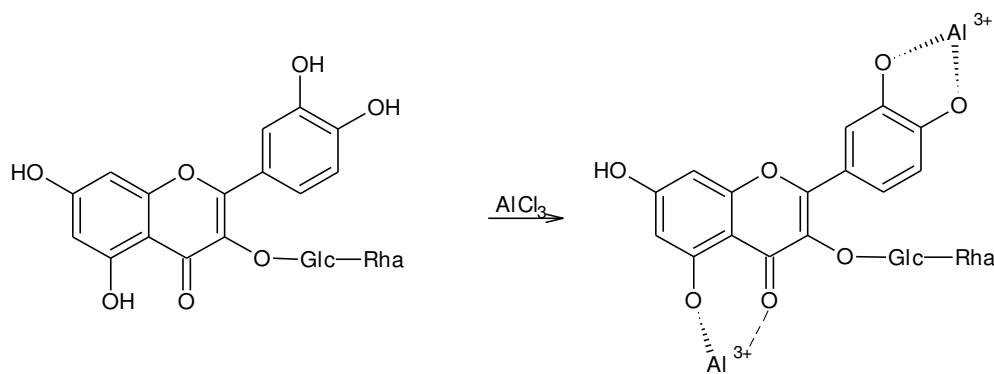
Postupak: Reakcionala smeša pripremljena je mešanjem 3,36 ml destilovane vode, 200  $\mu\text{l}$  33 % rastvora Folin-Ciocalteu, 20  $\mu\text{l}$  ekstrakta (osim u slepu probu gde je dodato 20  $\mu\text{l}$  vode) i 400  $\mu\text{l}$  rastvora  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Nakon 60 min očitana je apsorbanca na  $\lambda = 720 \text{ nm}$ .

Za konstruisanje kalibracione krive korišćena je serija razblaženja galne kiseline u vodi, (7,80 do 250,00)  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , pripremljena iz osnovnog rastvora galne kiseline.

Sadržaj ukupnih reduktanata u ispitivanim ekstraktima izražen je kao mg ekvivalenta galne kiseline po g suve mase biljnog materijala (mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm).

#### **4.2.2. Određivanje ukupnih flavonoida u ekstraktima**

Metoda za određivanje količine ukupnih flavonoida zasniva se na osobinama flavonoida da sa jonima metala grade odgovarajuće metalo-komplekse (Markham, 1989). Naročito je značajan  $\text{Al}^{3+}$  kompleks (**Slika 19.**).



**Slika 19.** Građenje kompleksa rutina sa aluminijum (III) jonom.

Rastvori i reagensi:

- 2 %  $\text{AlCl}_3$  reagens.
- Standardni rastvor rutina: 0,5 mg/ml u 70 % EtOH.

Postupak: Reakcionala smeša pripremljena je mešanjem određene zapremine uzorka (400  $\mu\text{l}$  ekstrakta), 1 ml destilovane vode i 2,5 ml rastvora  $\text{AlCl}_3$  (osim u slepu probu gde se dodaje voda). Nakon 15 minuta očitana je apsorbanca na  $\lambda = 430 \text{ nm}$ .

Kalibraciona kriva je konstruisana pomoću serije razblaženja rutina u 70 % EtOH, (15,60 do 500,00)  $\mu\text{g/ml}$  počevši od osnovnog rastvora.

Sa kalibracione krive standarda rutina izračunat je sadržaj flavonoida u ispitivanim ekstraktima i izražen kao mg ekvivalenta rutina po g suve mase biljnog materijala (mg rutina  $\text{g}^{-1} \text{ sm}^{-1}$ ).

#### 4.2.3. Određivanje ukupnih tanina u ekstraktima

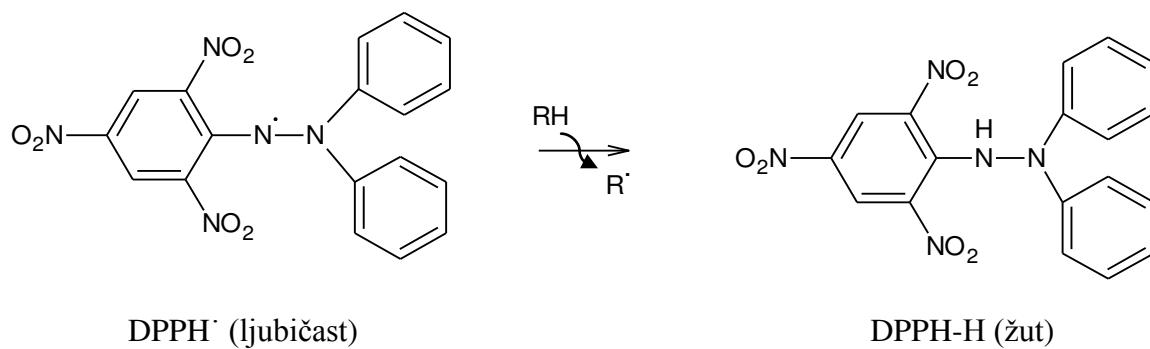
Za određivanje ukupnih tanina primenjena je metoda za određivanje ukupnih reduktanata (fenola), s tim što je kao uzorak korišćen supernatant dobijen centrifugiranjem (1960 x g 10 min) reakcione smeše koju su činili 0,1 g polivinilpolipirolidona (PVPP), 1 ml  $\text{H}_2\text{O}$  i 1 ml vodenog, odnosno acetonskog ekstrakta.

Nakon taloženja tanina, pomoću polivinilpolipirolidona, određen je sadržaj netaninskih fenola u supernatantu. Iz razlike sadržaja ukupnih reduktanata (fenola) i netaninskih fenola dobijen je sadržaj ukupnih tanina u uzorku.

Količina ukupnih tanina izražena je kao mg ekvivalenta galne kiseline po g suve mase biljnog materijala (mg galne kiseline g<sup>-1</sup> sm).

#### **4.2.4. Određivanje neutralizacije DPPH<sup>•</sup> radikala**

Spektrofotometrijsko određivanje "skevinžer" aktivnosti ispitivanih ekstrakata bazirano je na praćenju transformacije DPPH<sup>·</sup> radikala (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala) u redukovani (DPPH-H) formu (Lee i sar., 1998). Sam DPPH<sup>·</sup> radikal je purpurne boje i ima maksimum apsorpcije na 517 nm. Reakcijom sa antioksidantima vezuje vodonokov atom svojim nesparenim elektronom i na taj način prelazi u žut DPPH-H (**Slika 20.**).



**Slika 20.** Mehanizam reakcije DPPH radikala sa antioksidantima

### Rastvori i reagensi:

- Rastvor DPPH: DPPH reagens se rastvori u 70 % acetonu.
  - Standardni rastvor troloxa-a: 1 mg/ml u vodi.

Postupak: Radna proba pripremljena je mešanjem 3 ml DPPH reagensa i 10  $\mu$ l uzorka. Nakon 30 minuta očitana je apsorbanca na  $\lambda=517$  nm.

Kalibraciona kriva je konstruisana pomoću serije razblaženja troloxa u vodi, (0,03 do 1,00) mg/ml.

Aktivnost uklanjanja DPPH-radikala izražena je u mg ekvivalenta troloxa po g suvog bilinog materijala (mg troloxa  $\text{g}^{-1}$  sm).

#### **4.2.5. Ispitivanje sposobnosti neutralizacije ABTS<sup>·+</sup> radikala**

Sposobnost ekstrakata ispitivanih biljnih vrsta da neutrališu radikal-katjon 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline), ABTS<sup>·+</sup>, merena je prema metodi Re i sar. (1999), uz male izmene.

Rastvori i reagensi:

- ABTS<sup>·+</sup> je dobijen u reakciji 7,4 mmol/dm<sup>3</sup> vodenog rastvora 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline) (ABTS<sup>·+</sup>) sa 2,6 mmol/dm<sup>3</sup> K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> u mraku na sobnoj temperaturi, u trajanju od 12 h.
- Standardni rastvor troloxa-a: 1mg/ml u vodi.

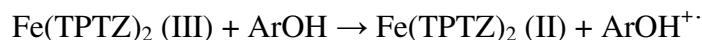
Postupak: Reakcionu smešu radne probe čine 3 ml ABTS reagensa i 20 µl vodenog, odnosno 100 µl acetonskog uzorka. Apsorbance su očitane na  $\lambda = 734$  nm.

Kalibraciona kriva je konstruisana pomoću serije razblaženja troloxa u vodi, (0,01 do 0,50) mg/ml počevši od osnovnog rastvora.

Aktivnost uklanjanja ABTS<sup>·+</sup> radikala izražena je u mg ekvivalenta troloxa po g suvog biljnog materijala (mg troloxa g<sup>-1</sup> sm).

#### **4.2.6. Određivanje redukcionog kapaciteta FRAP metodom (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay)**

Ovo je spektrofotometrijska metoda zasnovana na reakciji redukcije Fe<sup>3+</sup> u Fe<sup>2+</sup>. Nastali fero-joni sa prisutnim ligandom grade plavo obojeni kompleks Fe<sup>2+</sup>-TPTZ (gvožđe-tripiridiltriazin) (Benzie i Strain, 1999).



Rastvori i reagensi:

- Rastvor I: 300 mmol/dm<sup>3</sup> acetatni pufer pH=3,6.
- Rastvor II: 10 mmol/dm<sup>3</sup> TPTZ (tripiridiltriazin) u 40 mmol/dm<sup>3</sup> HCl.
- Rastvor III: 20 mmol/dm<sup>3</sup> FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O u vodi.
- FRAP reagens se dobija mešanjem tri rastvora u odnosu rastvor I : rastvor II : rastvor III = 10 : 1 : 1.
- Standardni rastvor troloxa-a: 1 mg/ml u vodi.

Postupak: Reakcionu smešu radne probe čine 3 ml FRAP reagensa i 50  $\mu\text{l}$  uzorka (vodenii ili acetonski ekstrakt). Apsorbance su očitane na  $\lambda = 593 \text{ nm}$ .

Redukcioni potencijal izračunat je na osnovu kalibracione krive standardnog rastvora troloxa, konstruisane pomoću serije razblaženja troloxa u vodi, (7,82 do 500,00)  $\mu\text{g/ml}$ .

Rezultat je izražen kao mg ekvivalenta troloxa po g suvog biljnog materijala (mg troloxa  $\text{g}^{-1} \text{ sm}$ ).

#### **4.2.7. HPLC analiza vodenih ekstrakata**

Sadržaj fenolnih jedinjenja u vodenim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* određen je tehnikom tečne hromatografije visoke rezolucije (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) na aparatu HPLC Agilent 1100 serije (Agilent Technologies, USA) po metodi Generalić i sar. (2012). Korišćena je kolona Agilent, ZORBAX SB-Aq, 5  $\mu\text{m}$ , 4,6 x 250 mm. Detekcija razdvojenih pikova je izvršena pomoću detektora sa serijom dioda (Diode Array Detector, DAD), a apsorpcioni spektri komponenata su snimljeni na 280 nm.

Kao mobilna faza korišćen je sistem rastvarača: 2 % sirčetna kiselina u acetonitrilu (rastvor A) i 2 % sirčetna kiselina u dejonizovanoj vodi (rastvor B). Kroz hromatograf je propuštana u gradijentnom modu sa protokom od 1,0 ml/min. Gradijent je programiran tako da se prvo propušta 92 % A na 0 min, zatim se smanjuje udio A na 80 % A u intervalu do 18 min, ponovna redukcija na 60 % A do 25 min, pa 55 % A do 30 min, 35 % A do 40 min, 20 % A do 50 min i na kraju se održava 20 % A tokom 4 min. Sam kraj analize automatski povećava procenat rastvora A do 90 % A na 57 minutu i ostavlja ga da stoji 3 minuta. Vreme između dva injektovanja je 2 minuta. Injektovano je 20  $\mu\text{l}$  rastvora uzorka, automatski, korišćenjem autosamplera. Kolona je termostatirana na temperaturi od 25 °C.

Za HPLC određivanja su korišćeni rastvori vodenih ekstrakata biljaka masenih koncentracija 1 mg/ml. Dobijeni ekstrakti su pre injektovanja u aparat profiltrirani kroz filtere sa porama veličine 0,45  $\mu\text{m}$  (Agilent, regenerisana celuloza).

Fenolne komponente prisutne u uzorcima su identifikovane poređenjem njihovih retencionih vremena i spektara sa retencionim vremenom i spektrom standarda za svaku komponentu. Korišćeni su standardi: galna kiselina, *p*-kumarinska kiselina, ferulna kiselina, 3-*O*-kafeoilhinska kiselina, kafena kiselina, *trans*-cimetna kiselina, *o*-hidroksicimetna kiselina, kvercetin i kemferol. Za potvrdu identifikacije komponente utvrđena je i čistoća pika.

Kvantifikacija komponenata je izvršena metodom spoljašnjeg standarda. Za svaki pojedinačni standard je pripremljen osnovni rastvor standarda masene koncentracije 1 mg/ml, rastvaranjem u metanolu. Od ovog rastvora je pripremljena serija razblaženih rastvora standarda masenih koncentracija u opsegu od 5 µg/ml do 100 µg/ml razblaživanjem mobilnom fazom. Na osnovu dobijenih površina pikova u zavisnosti od koncentracije standarda konstruisana je kalibraciona kriva za svaki standard. Iz dobijene jednačine linearne zavisnosti izračunate su masene koncentracije komponenti u uzorcima.

#### **4.2.8. Analiza etarskog ulja gasnom hromatografijom sa masenospektrometrijskom detekcijom (GC-MS analiza)**

Kvalitativna i semikvantitativna analiza sastava etarskih ulja biljaka *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* rastvorenih u *n*-heksanu izvršena je na gasnom hromatografu *Agilent Technologies* 6890N sa 5973 masenim detektorom (MSD), autosemplerom 7683 i na *Agilent Technologies* DB-5MS kapilarnoj koloni (30 m x 0,2 mm 5 x 0,25 µm). Injektovano je 1 µl uzorka (u inlet temperature 250 °C) u splitless modu. Helijum (čistoće 99,999 %) je korišćen kao gas nosač, sa konstantnim protokom 1 ml/min. Razdvajanje komponenti je vršeno prema sledećem programu: početna temperatura 50 °C, 8 °C/min do 120 °C, 15 °C/min do 230 °C, 20 °C/min do 270 °C, zadržavanje na 270 °C tokom 16,92 min. Komponente su analizirane na masenom spektrometru (temperatura transfer-linije 280 °C, temperatura jonskog izvora 230 °C, energija elektrona 70 eV) u sken modu, u opsegu *m/z* 50–550.

Identifikacija komponenti se bazirala na poređenju njihovih masenih spektara sa spektrima iz spektralne biblioteke Wiley Registry of Mass Spectral Data 7th Edition i NIST/EPA/NHA Mass Spectral Library 05. Po potrebi, nakon denkonvolucije programom AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System) i NIST MS Search softverom, identitet detektovanih jedinjenja je potvrđen poređenjem linearnih retencionih indeksa (LRI) sa podacima iz literature (Adams, 2007). Za određivanje LRI kao standard korišćeno je dizel ulje koje sadrži smeš *n*-alkana (C<sub>8</sub>–C<sub>28</sub>).

### **4.3. Ispitivanje alelopatskog potencijala vodenih ekstrakata**

Za ispitivanje alelopatskog potencijala vodenih ekstrakata *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* korišćene su sadnice paprike (*Capsicum annuum* L.) sorta Anita, soje (*Glycine max* L.) sorta Viktorija i tri vrste korova: crna pomoćnica (*Solanum nigrum* L.), tatula (*Datura stramonium* L.) i klasača (*Bromus mollis* L.).

#### **4.3.1. Priprema sadnica**

Semena su površinski sterilisana potapanjem u 10 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na 3 minuta, zatim su ispirana destilovanom vodom nekoliko puta. Uniformno klijanje je dobijeno na vlažnom pesku pod kontrolisanim uslovima: 28 °C, relativna vlažnost vazduha 60 %, fotoperiod od 18 h, i osvetljenost od 10 000 lx. Nakon 15 dana sadnice su prenete u plastične kutije sa Hoglandovim rastvorom (10 % MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O, 10 % Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> x 4 H<sub>2</sub>O, 10 % KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 % KNO<sub>3</sub>, mikroelementi, 7,5 % Fe-EDTA). Dve nedelje kasnije tretirane su vodenim ekstraktima ispitivanih biljaka. Listovi i korenovi tretiranih biljaka, uzorkovani 24 h, 72 h i 120 h nakon tretmana, su korišćeni u daljem radu.

#### **4.3.2. Priprema ekstrakata za određivanje biohemijskih parametara**

Ekstrakti svežeg biljnog materijala (listova i korenova tretiranih biljaka) za biohemijске analize dobijeni su homogenizacijom 1 g svežeg biljnog materijala u avanu uz dodatak 10 ml 0,1 mol/dm<sup>3</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pufera (pH 7). Nakon homogenizacije, homogenat je kvantitativno prenet u plastičnu epruvetu. Dobijeni ekstrakti su centrifugirani na 2500 x g 15 min. Supernatant je korišćen kao uzorak u daljim analizama.

#### **4.3.3. Određivanje ukupnih proteina**

Sadržaj rastvorljivih proteina određen je metodom po Bradfordu (Sedmark i Grossberr, 1977; Spector, 1978) koja se zasniva na vezivanju boje Coomassie blue G-250 za bazne i aromatične ostatke aminokiselina u proteinu. Boja postoji u tri oblika, kao katjon (crvena), neutralan molekul (zelena) i anjon (plava). U kiseloj sredini dominira protonovana katjonska forma sa maksimumom apsorpcije na  $\lambda= 465$  nm. Kada se boja veže za protein, prelazi u stabilan neprotonovani oblik plave boje sa maksimumom apsorpcije na  $\lambda= 595$  nm.

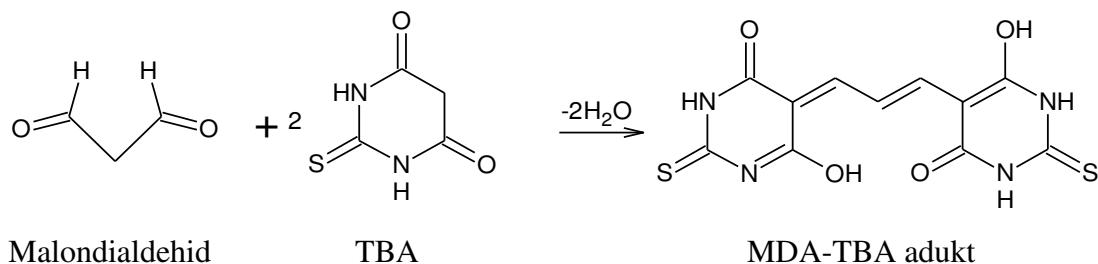
Reakcioni medijum činilo je 1 ml 0,07 mol/dm<sup>3</sup> rastvora boje Coomasie brilian blue G-250 u 3 % HClO<sub>4</sub> i 20 µl uzorka (ekstrakta svežeg biljnog materijala). Nakon 5–30 min, očitana je apsorbanca na  $\lambda= 595$  nm.

Sadržaj proteina određen je na osnovu kalibracione krive dobijene merenjem različite koncentracije standardnog rastvora albumina, (0,007–1,000) mg/ml.

Koncentracija proteina u uzorku izražena je kao mg proteina po gramu svežeg biljnog materijala (mg proteina g<sup>-1</sup> svr).

#### 4.3.4. Određivanje intenziteta lipidne peroksidacije

Sadržaj malondialdehida (MDA), jednog od krajnjih proizvoda razgradnje membranskih lipida u ćelijama, koristi se kao merilo intenziteta lipidne peroksidacije (LP). Intenzitet LP određuje se pomoću tiobarbiturne kiseline (TBA), pri čemu je merena oksidacija lipida ćelijskih membrana preko reakcije lipid-peroksidnih produkata nastalih u reakcionom sistemu sa tiobarbiturnom kiselinom (**Slika 21.**) (Mandal i sar., 2008).



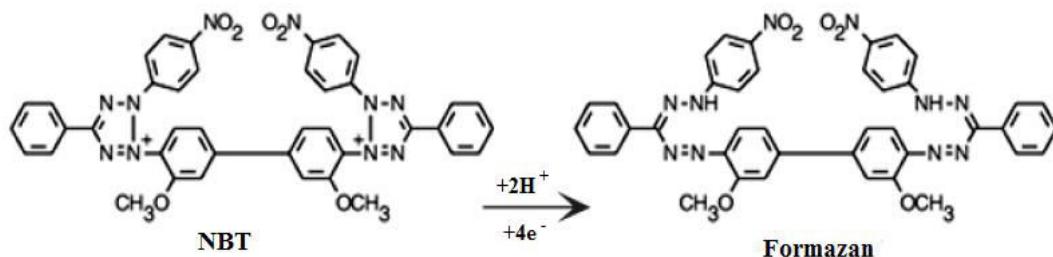
**Slika 21.** Reakcija stvaranja MDA-TBA adukta.

Reakcione smeše, koju čine 0,5 ml uzorka (ekstrakti svežeg biljnog materijala) i 2 ml rastvora za ekstrakciju MDA (20 % TCA (100 g CCl<sub>3</sub>COOH + 500 ml H<sub>2</sub>O) : 0,5 % TBA (1 g TBA + 100 ml 10 % HClO<sub>4</sub>) = 3 : 1), zagrevane su 30 min na 90 °C na vodenom kupatilu. Nakon toga su ohlađene i centrifugirane 10 min na 1500 x g. Sadržaj MDA u dobijenom supernatantu očitan je spektrofotometrijski na  $\lambda= 532$  nm.

Intenzitet LP izražen je brojem nmol MDA ekvivalenta po miligramu proteina (nmol MDA ekvivalenta mg<sup>-1</sup> proteina)

#### 4.3.5. Određivanje aktivnosti superoksid-dizmutaze

Aktivnost superoksid-dizmutaze (SOD, EC 1.15.1.1) određena je po metodi Mandal i sar. (2008) sa malim izmenama, koja se zasniva na principu sposobnosti inhibicije fotohemiske redukcije nitroblutetrazolijum-hlorida (NBT) (**Slika 22.**).



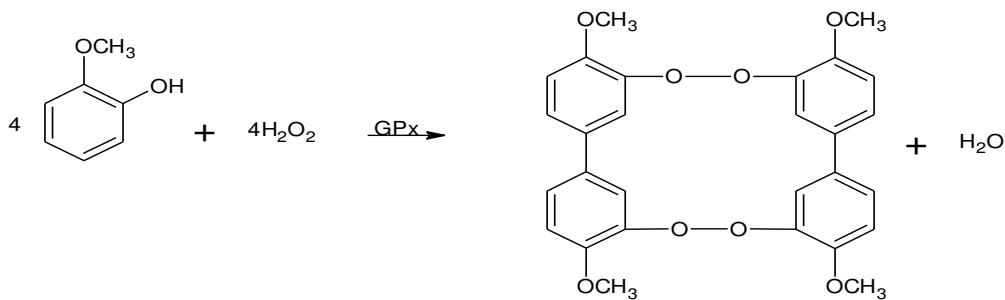
**Slika 22.** Reakcija redukcije nitroblutetrazolijuma (NBT).

Reakcioni medijum činili su: 200 µl fosfatnog pufera (pH 7,8), 600 µl NBT-a (63 µmol/dm<sup>3</sup>), 200 µl L-metionina (13 mmol/dm<sup>3</sup>), 200 µl EDTA (0,1 mmol/dm<sup>3</sup>), 600 µl riboflavina (13 µmol/dm<sup>3</sup>) i 20 µl ekstrakta svežeg biljnog materijala (odnosno vode u slepoj probi). Epruvete sa reakcionim smešama izložene su 15 min fluorescentnoj lampi od 18 W, a zatim su očitane apsorbance slepe i radnih proba na  $\lambda= 560$  nm.

Aktivnost SOD izražava se kao 1 jedinica (U), definisana kao količina SOD potrebna za 50 % inhibicije redukcije NBT, a u ovoj disertaciji je izražen kao broj U po mg proteina (U mg<sup>-1</sup> proteina).

#### 4.3.6. Određivanje aktivnosti gvajakol-peroksidaze

Metoda za određivanje aktivnosti gvajakol-peroksidaze (GPx, EC 1.11.1.7), zasniva se na transformaciji gvajakola u tetragvajakol (**Slika 23.**) (Morkunas i Gmerek, 2007).



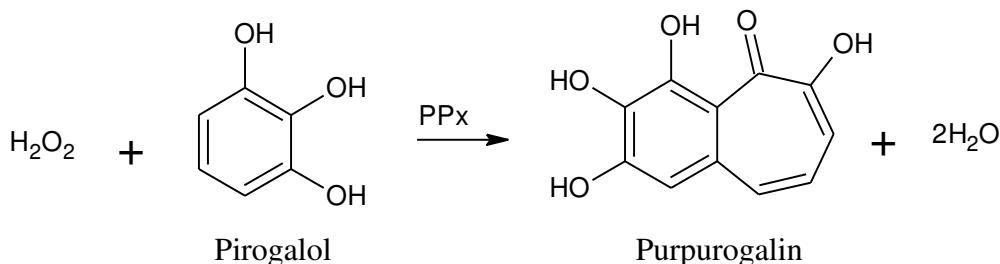
**Slika 23.** Reakcija transformacije gvajakola u bifenohinon pod dejstvom gvajakol-peroksidaze.

U epruvete radne probe je sipano 3 ml rastvora gvajakola (1 g u 100 ml acetatnog pufera pH 5,5), 20 µl 1 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i 20 µl uzorka (ekstrakta svežeg biljnog materijala). Apsorbanca je očitana na  $\lambda = 430$  nm, po dodatu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u intervalu od po 1 min.

Aktivnost GPx je izražena kao broj U ( $\mu\text{mol GV}/\text{min}$ ) po 1 mg proteina (U  $\text{mg}^{-1}$  proteina).

#### 4.3.7. Određivanje aktivnosti pirogalol-peroksidaze

Metoda za određivanje pirogalol-peroksidaze (PPx, EC 1.11.1.7), zasniva se na reakciji oksidacije pirogalola u purpurogalin u prisustvu enzima pirogalol-peroksidaze (Slika 24.) (Morkunas i Gmerek, 2007).



**Slika 24.** Reakcija transformacije pirogalola u purpurogalin pod dejstvom pirogalol-peroksidaze.

U epruvetu radne probe je sipano 3 ml 0,87  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$  pirogalola, 20 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i 20 µl uzorka (ekstrakt svežeg biljnog materijala). Apsorbanca je očitana na  $\lambda = 430$  nm, po dodatu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u intervalu od po 1 min.

Aktivnost PPx izražena je u U ( $\mu\text{mol PG}/\text{min}$ ) po mg proteina (U  $\text{mg}^{-1}$  proteina).

#### 4.3.8. Određivanje aktivnosti katalaze

Aktivnost katalaze (CAT, EC 1.11.1.6), je određena pomoću vodonik-peroksida kao supstrata (Sathya i Bjorn, 2010).

Radna proba je pripremljena dodavanjem 0,02 ml homogenata u 1 ml 50  $\text{mmol}/\text{dm}^3$  fosfatnog pufera (pH 7) i 10  $\text{mmol}/\text{dm}^3$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Merena je apsorbanca na  $\lambda = 240$  nm.

Rezultati su izraženi u broju U ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}$ ) po mg proteina (U  $\text{mg}^{-1}$  proteina).

#### **4.4. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata i etarskih ulja**

##### ***4.4.1. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* na žitnog kukuljičara***

Eksperiment je izveden na odraslim insektima žitnog kukuljičara, *Rhyzopertha dominica* (Fabricius), primenom testova za ispitivanje kontaktnog i digestivnog dejstva.

**Kontaktno delovanje:** U cilju ispitivanja kontaktnog delovanja vodenih ekstrakata, ogled je postavljen po metodi Kouninki i sar. (2007). U epruvete, prethodno „isprane“ biljnim ekstraktima, je postavljeno po 10 imaga žitnog kukuljičara. Epruvete su zatim zatvorene parafilmom i položene u horizontalni položaj kako bi insekti mogli da se kreću po nakvašenim zidovima epruvete. Epruvete su takođe inkubirane u termostatu na 28 °C u mraku. Broj uginulih jedinki je praćen nakon 24 h i 48 h.

**Kontaktno-digestivno delovanje:** Kontaktno-digestivni efekat ispitivanih ekstrakata je procenjen primenom „testa bez izbora“ („No-choice test“), po metodi Obeng-Oferi i Reichmuth (1997). Za svaki biljni ekstrakt na vagi je odmereno 40 g zrna pšenice koje je tretirano određenom koncentracijom vodenog ekstrakta u odnosu 3 ml ekstrakta na 100 g zrna. Tretirano zrno je ostavljeno da se suši 2 h na sobnoj temperaturi, a nakon sušenja, podeljeno je na četiri dela, za četiri ponavljanja i postavljeno u Petri kutije zajedno sa po 20 odraslih jedinki žitnog kukuljičara. Uginuće jedinki je praćeno nakon 24 h, 48 h i 72 h, a nakon 72 h je merena i masa pojedene hrane.

##### ***4.4.2. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* na belu leptirastu vaš***

Eksperiment je izveden na odraslim insektima bele leptiraste vaši, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) (Homoptera: Aleyrodidae), sakupljenim u staklenoj bašti.

Paprika (sorta Anita) gajena je u saksijama. U ogledu je korišćena cela biljka u početnom stadijumu rasta (obrazovana četiri lista). Nadzemni deo sadnice paprike isprskan je vodenim ekstraktima biljaka *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* određene koncentracije (0,1 % i 0,2 %). Za kontrolu je poslužila paprika isprskana vodom. U laboratorijske čaše (25 cm x 12 cm),

koje su sadržale tretiranu papriku, dodato je 20 odraslih jedinki bele leptiraste vaši. Ogled je postavljen u tri ponavljanja i tri kontrole. Mortalitet je proveravan posle 24 h, 48 h i 96 h.

#### **4.4.3. Ispitivanje insekticidnog dejstva etarskog ulja *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* na kestenjastog brašnara i pirinčanog žiška**

Eksperiment je izveden na odraslim jedinkama štetočina skladišta kestenjastog brašnara, *Tribolium castaneum* (Herbst, 1779) i pirinčanog žiška, *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763).

Odrasli insekti, korišćeni u ovom istraživanju, uzgajani su u laboratoriji u kontrolisanim uslovima ( $25 \pm 1$  °C i 70–80 % vlage) na pšeničnom brašnu.

Ogled je postavljen u Petri pusudama, u tri ponavljanja za svaku biljku i kontrolu. Postavljeno je 10 odraslih insekata u svaku Petri posudu, u kojima su za hranjenje insekata postavljeni diskovi napravljeni od vode i pšeničnog brašna, na koje je naneta poznata koncentracija etarskog ulja ispitivanih biljaka. Za kontrolu su postavljene Petri kutije koje su sadržale diskove na koje je naneta ista zapremina *n*-heksana. Razmatrano je insekticidno dejstvo etarskih ulja ispitivanih biljaka, takođe i stopa smrtnosti odraslih insekata nakon 24 h, 48 h i 96 h.

#### **4.5. Ispitivanje uticaja vodenih ekstrakata *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* na rast korisnih mikroorganizama**

Za ispitivanje uticaja vodenih ekstrakata herbi odabranih biljnih vrsta na rast i razmnožavanje bakterija i gljivica primenjena je disk-difuziona metoda (Prabuseenivasan i sar., 2006). U radu su korišćeni bakterijski sojevi i gljivice prikazani u **Tabeli 6.**, poreklom iz laboratorije predmeta Mikrobiologija, Departmana za ratarstvo i povrtarstvo Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu. Bakterije su čuvane u dubokom LB Agar-u, na +4 °C.

Agar-difuziona metoda se izvodi na čistoj, sterilnoj, hranljivoj podlozi u Petri posudi. Diskovi sa definisanim koncentracijama ispitivanih vodenih ekstrakata se stavljaju na površinu podloge koja je prethodno zasejana čistom bakterijskom kulturom. Sposobnost rasta i razmnožavanja soja zasejanog na podlozi zavisi od njihove osetljivosti na ispitivani ekstrakt, tako da se oko diska gradi bistra providna zona kružnog oblika u kojoj nema rasta mikroorganizama ili gusta zona ukoliko ekstrakt deluje stimulativno na rast.

Pripremane su kulture mikroorganizama u odgovarajućim hranljivim podlogama (Fjodorova podloga za *Azotobacter*, MPA podloga za *Pseudomonas* i *Bacillus*, podloga po Vjucentu za *Rhizobium*, sintetička podloga za *Actinomycete* i Čapek za gljivice) i inkubirane na 37 °C. Kulture su zasejane na odgovarajuće sterilne podloge u Petri posudama (prečnik 90 mm, zapremina podloge 25 ml, debljina sloja podloge 4 mm) kako bi se postigao uniformni rast mikroorganizama. Pod sterilnim uslovima, sterilni diskovi (prečnik 2 cm) sa prethodno nanetim različitim koncentracijama ispitivanih vodenih ekstrakata (0,1 %, 0,2 % i 10 %), su postavljeni u Petri posude sa pripremljenom podlogom i bakterijskom suspenzijom. Inkubacija je vršena na 28 °C. Svaki test je urađen u triplikatu. Nakon 48 h, 72 h i 120 h mereni su prečnici (mm) zona inhibicije/stimulacije rasta.

**Tabela 6.** Bakterijski sojevi i gljivice korišćeni u radu.

<i>Azotobacter</i>	<i>Ritska crnica 2</i>
	<i>Pseudoglej 1</i>
	<i>Černozem</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Violeta</i>
	<i>Dragana</i>
	<i>Marker</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus subtilis marker 44</i>
	<i>Bacillus subtilis Violeta</i>
	<i>Bacillus megaterium 2</i>
<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium japoniku S511</i> (soja)
	<i>Rhizobium D<sub>1</sub></i> (grašak)
	<i>Rhizobium trifolii 1</i> (detelina)
<i>Actinomycete</i>	10
	9K
	5
Gljivice	<i>Penicillium sp</i>
	<i>Alternarium sp</i>
	<i>Trichoderma asperellum</i>

#### **4.6. Statistička obrada podataka**

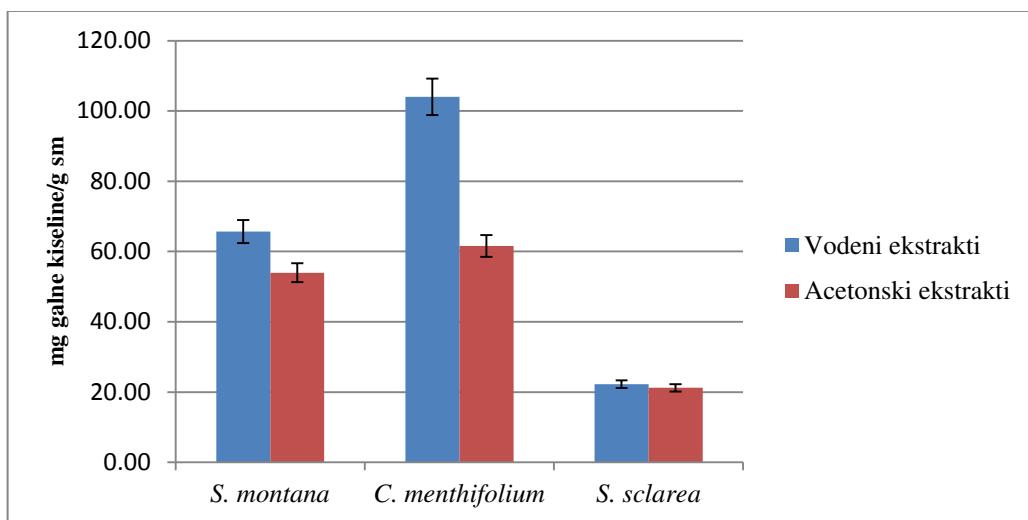
Svi eksperimenti su izvedeni u najmanje tri ponavljanja, a rezultati predstavljeni kao srednja vrednost. Određena je standardna greška (SE). Za pojedine parametre je urađen Duncanov test višestrukih intervala. Podaci su obradjeni primenom softverskog paketa Microsoft Excel for Windows version 2007 i Statistica for Windows version 12 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA).

## ***5. Rezultati i diskusija***

## 5.1. Hemijski sastav i antioksidativna aktivnost biljnih ekstrakata

### 5.1.1. Sadržaj ukupnih reduktanata

Sadržaj ukupnih reduktanata u vodenim i acetonskim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* prikazan je na **Histogramu 1.**



**Histogram 1.** Sadržaj ukupnih reduktanata u vodenim i acetonskim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* izražen kao mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  suvog biljnog materijala.

Najveći sadržaj ukupnih reduktanata, uključujući i fenole, izmeren je u vodenom ekstraktu *C. menthifolium* ( $(1,04 \pm 0,05) \cdot 10^2$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm). Voden ekstrakt ove biljke sadrži statistički značajno više ukupnih reduktanata od acetonskog ekstrakta ( $(0,61 \pm 0,02) \cdot 10^2$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm). Voden ekstrakt *S. montana* sadrži nešto više reduktanata ( $(0,65 \pm 0,01) \cdot 10^2$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm) od acetonskog ekstrakta ( $(0,53 \pm 0,03) \cdot 10^2$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm), dok je razlika u sadržaju ukupnih reduktanata ispitivanih ekstrakata *S. sclarea* veoma mala, i ovi ekstrakti imaju znatno manji sadržaj u odnosu na ostale ekstrakte (voden:  $22,2 \pm 0,6$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm; acetonski:  $21,2 \pm 0,5$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm).

Sadržaj ukupnih reduktanata je viši u vodenim ekstraktima kod sve tri ispitivane biljke, na osnovu čega zaključujemo da su reduktanti pretežno polarna jedinjenja (fenolne kiseline, npr. 5-*O*-kafeoilhinska kiselina).

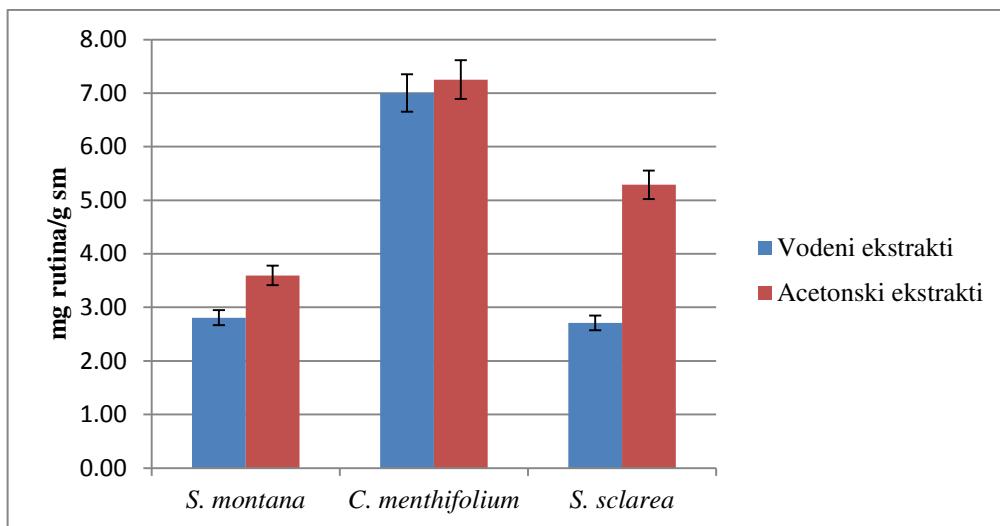
Tahirović i sar. (2014) su dobili vrednosti sadržaja ukupnih fenola za vodeni ekstrakt *S. montana* od  $78,5 \pm 23,5$  mg galne kiseline  $100\text{ ml}^{-1}$ , dok su Chrpová i sar. (2010), dobili  $27,1$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$ .

Na osnovu rezultata dobijenih za sadržaj ukupnih reduktanata u vodenom i acetonskom ekstraktu *S. sclarea* i rezultata Miliauskas i sar. (2004) za sadržaj ukupnih fenola u metanolnom ekstraktu *S. sclarea* ( $24,00 \pm 1,10$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$ ) primećuje se da ova biljka ima značajno niži sadržaj ukupnih fenola, tj. reduktanata u poređenju sa druge dve i da odabir rastvarača ne utiče mnogo na njihov sadržaj.

Sadržaj sekundarnih biomolekula u biljkama posledica je velikog broja faktora kao što su područje kultivacije, period sakupljanja biljnog materijala, temperaturni uslovi u kojima se biljka razvijala i dr. (Ramanauskienė i sar., 2009; Gião i sar., 2013).

### 5.1.2. Sadržaj ukupnih flavonoida

Sadržaj ukupnih flavonoida u vodenim i acetonskim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* prikazan je na **Histogramu 2**.



**Histogram 2.** Sadržaj ukupnih flavonoida u vodenim i acetonskim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* izražen kao mg rutina  $\text{g}^{-1}$  suvog biljnog materijala.

Biljni ekstrakti sa najvećim sadržajem ukupnih flavonoida su voden i acetonski ekstrakti *C. menthifolium* (voden:  $7,0 \pm 0,1$  mg rutina g<sup>-1</sup> sm, acetonski:  $7,2 \pm 0,3$  mg rutina g<sup>-1</sup> sm). Acetonski ekstrakt *S. montana* sadrži nešto više flavonoida od vodenog ekstrakta (acetonski:  $3,5 \pm 0,1$  mg rutina g<sup>-1</sup> sm; voden:  $2,8 \pm 0,1$  mg rutina g<sup>-1</sup> sm). Razlika u sadržaju ukupnih flavonoida između ispitivanih ekstrakata *S. sclarea* je najveća, pri čemu acetonski ekstrakt ima znatno veći sadržaj ukupnih flavonoida ( $5,3 \pm 0,1$  mg rutina g<sup>-1</sup> sm) u odnosu na voden ( $2,71 \pm 0,05$  mg rutina g<sup>-1</sup> sm).

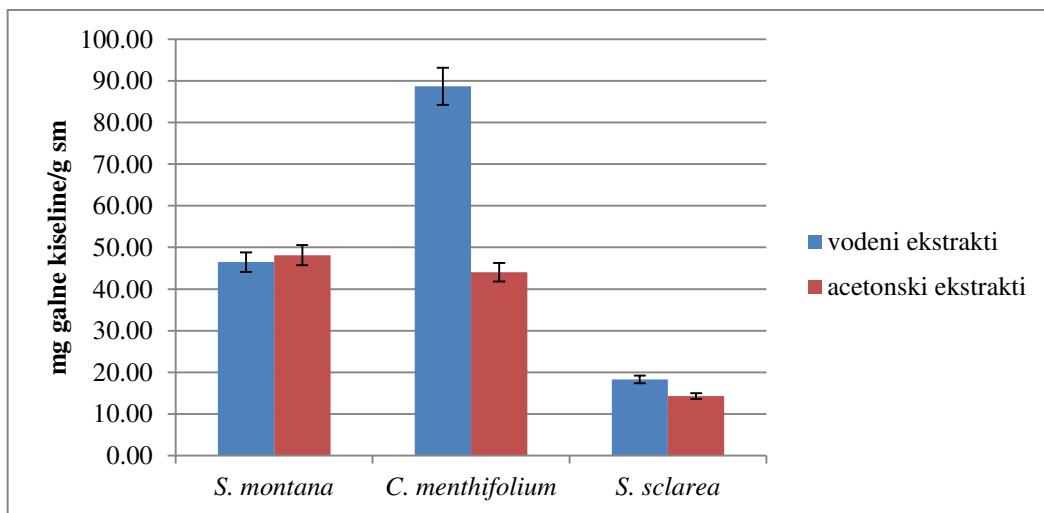
Istraživanja Miliauskas i sar. (2004) pokazuju da je sadržaj ukupnih flavonoida u metanolnom ekstraktu *S. sclarea* između vrednosti koje su dobijene u ovoj disertaciji za voden i acetonski ekstrakt ( $4,8 \pm 0,5$  mg rutina g<sup>-1</sup>). Poznato je da sadržaj sekundarnih biomolekula u nekom ekstraktu zavisi od polarnosti rastvarača, vremena trajanja ekstrakcije, temperature, kao i hemijskih i fizičkih karakteristika uzorka (Ćavar i sar., 2013).

Veći sadržaj flavonoida u acetonskim ekstraktima, u poređenju sa vodenim, za sve tri biljke ukazuje na veće prisustvo aglikona. Međutim, neki flavonoidi koji pokazuju antioksidativnu aktivnost (npr. katehini) nisu vidljivi u ovom testu.

Uočava se da je sadržaj ukupnih flavonoida viši u acetonskim ekstraktima za sve tri biljke, za razliku od sadržaja ukupnih reduktanata, koji je viši u vodenim ekstraktima. Može da se zaključi da uzorci pored flavonoida sadrže i druga, polarnija jedinjenja sa redupcionim svojstvima. Slična zapažanja zabeležena su u istraživanjima Zdravković i sar. (2012), u kojima je potvrđeno da vodeno-etanolni ekstrakti lista koprive imaju visok sadržaj fenola (dosta viši u poređenju sa sadržajem ovih komponenti u metanolnom ekstraktu) nezavisno od primenjene tehnike ekstrakcije, dok je sadržaj flavonoida dosta niži.

### 5.1.3. Sadržaj ukupnih tanina

Sadržaj kondenzovanih tanina u vodenim i acetonskim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* dati su na **Histogramu 3.**



**Histogram 3.** Sadržaj kondenzovanih tanina u vodenim i acetonskim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* izražena kao mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  suvog biljnog materijala.

Iz prikazanih rezultata na **Histogramu 3.** uočava se da je sadržaj kondenzovanih tanina u svim ispitivanim ekstraktima visok. Tanini zahvaljujući interakciji sa proteinima iz digestivnog trakta pokazuju astringentno delovanje, te predstavljaju fagorepelente za insekte i sisare.

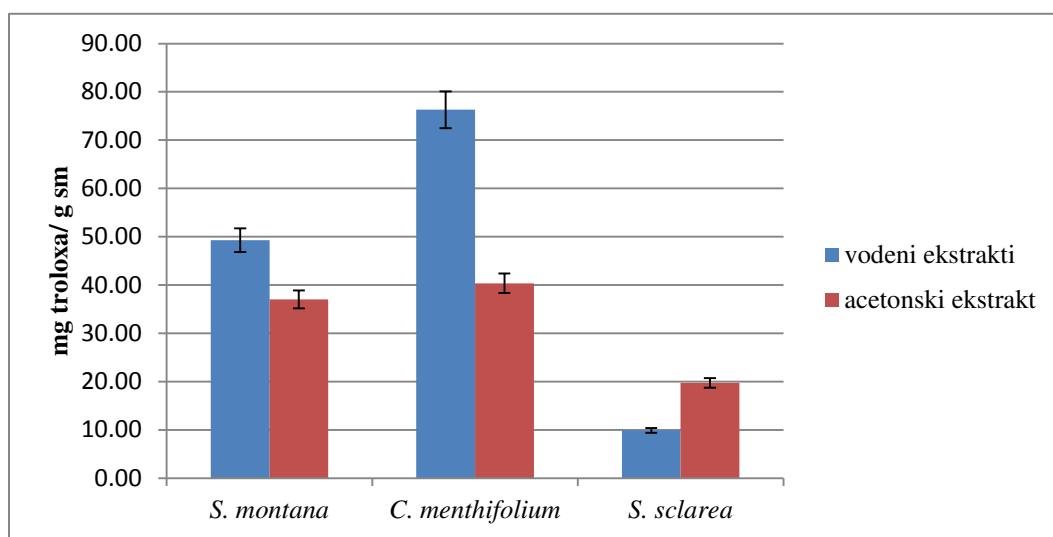
Sadržaj kondenzovanih tanina je ujednačen u vodenom i acetonskom ekstraktu, izuzev kod biljke *C. menthifolium* gde je izmeren znatno viši sadržaj kondenzovanih tanina u vodenom ekstraktu ( $(0,88 \pm 0,04) \cdot 10^2$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm). Približne vrednosti kondenzovanih tanina dobijene su za *S. montana* ekstrakte (acetonski:  $(0,48 \pm 0,01) \cdot 10^2$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm; vodeni:  $(0,46 \pm 0,03) \cdot 10^2$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm), dok ekstrakati *S. sclarea* ponovo pokazuju značajno manji sadržaj u odnosu na ekstrakte druge dve biljke (vodeni:  $18,3 \pm 0,4$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm; acetonski:  $14,3 \pm 0,2$  mg galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm).

Odnos sadržaja ukupnih tanina u vodenom i acetonskom ekstraktu *C. menthifolium* je isti kao odnos ukupnih reduktanata – moguće je da vodorastvorni tanini značajno doprinose redukcionim svojstvima ove biljke.

### 5.1.4. Neutralizacija DPPH<sup>·</sup> radikala biljnim ekstraktima

DPPH test se zasniva na praćenju procenta obezbojavanja, odnosno smanjenja apsorbancije DPPH rastvora na 517 nm, čime se dolazi do podataka o antioksidativnoj sposobnosti ispitivanog uzorka, tj. o njegovoj sposobnosti da radikalu DPPH<sup>·</sup> preda atom vodonika i na taj način ga deaktivira.

Rezultati ispitivanja sposobnosti neutralizacije DPPH<sup>·</sup> radikala vodenim i acetonskim ekstraktima ispitivanih biljaka prikazani su na **Histogramu 4.**

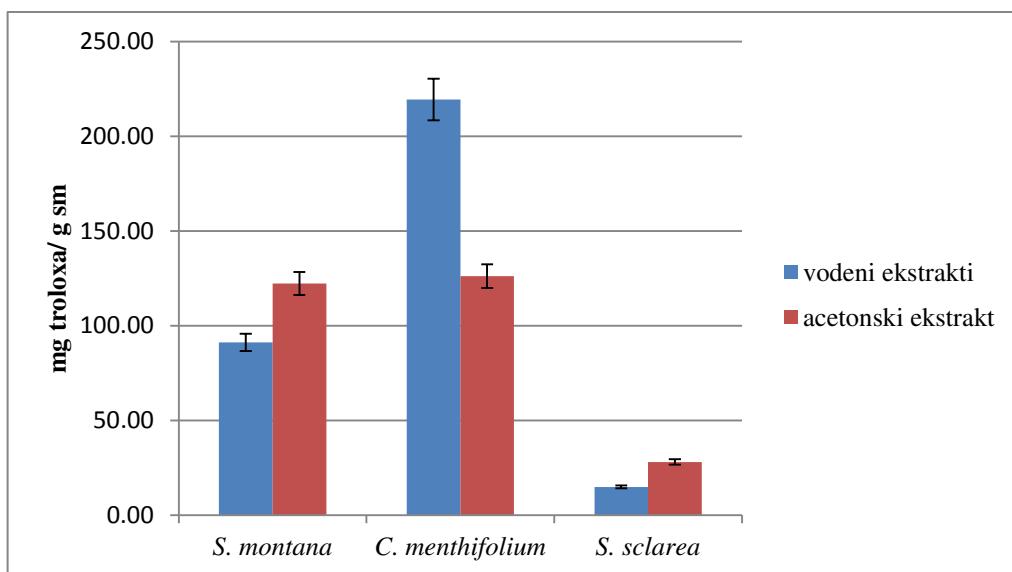


**Histogram 4.** Neutralizacija DPPH<sup>·</sup> radikala vodenim i acetonskim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* izražena kao mg ekvivalenta troloxa g<sup>-1</sup> suvog biljnog materijala.

Iz prikazanih rezultata može se videti da najveću sposobnost neutralizacije DPPH<sup>·</sup> radikala od vodenih ekstrakata pokazuje *C. menthifolium* ekstrakt ( $(0,76 \pm 0,04) \cdot 10^2$  mg troloxa g<sup>-1</sup> sm). Od acetonskih ekstrakata najveću aktivnost pokazali su ekstrakti biljaka *C. menthifolium* ( $(0,40 \pm 0,01) \cdot 10^2$  mg troloxa g<sup>-1</sup> sm) i *S. montana* ( $(0,37 \pm 0,01) \cdot 10^2$  mg troloxa g<sup>-1</sup> sm), iako je aktivnost acetonskih ekstrakata bila niža od vodenih ekstrakata istih biljaka. Najnižu antioksidativnu aktivnost ispoljili su vodeni ( $(0,09 \pm 0,02) \cdot 10^2$  mg troloxa g<sup>-1</sup> sm) i acetonski ( $(0,19 \pm 0,05) \cdot 10^2$  mg troloxa g<sup>-1</sup> sm) ekstrakti *S. sclarea*.

### 5.1.5. Neutralizacija ABTS<sup>+</sup> radikala biljnim ekstraktima

Rezultati ispitivanja sposobnosti vodenih i acetonskih ekstrakata ispitivanih biljnih vrsta da neutrališu ABTS<sup>+</sup> radikale prikazani su na **Histogramu 5.**

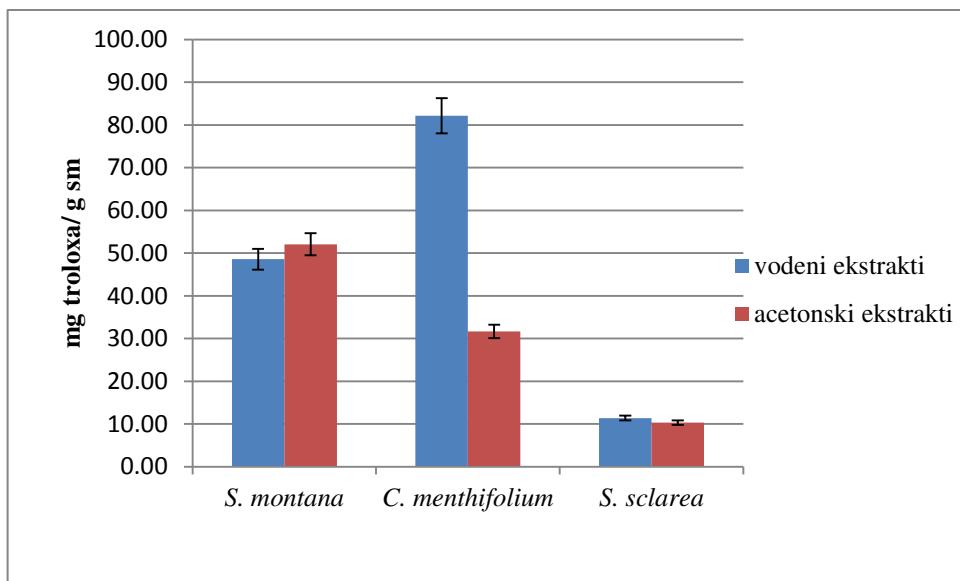


**Histogram 5.** Neutralizacija ABTS<sup>+</sup> radikala vodenim i acetonskim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* izražena kao mg ekvivalenta troloxa g<sup>-1</sup> suvog biljnog materijala.

Najveću sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala pokazuje vodeni ekstrakt *C. menthifolium* ( $(2,19 \pm 0,02) \cdot 10^2$  mg troloxa g<sup>-1</sup> sm). Od acetonskih ekstrakata približnu aktivnost imali su ekstrakti *C. menthifolium* ( $(1,26 \pm ,01) \cdot 10^2$  mg troloxa g<sup>-1</sup> sm) i *S. montana* ( $122,20 \pm 0,75$  mg troloxa g<sup>-1</sup> sm), dok je *S. sclarea* pokazala najmanji učinak u uklanjanju ABTS<sup>+</sup> radikala za oba ekstrakta. Iz priloženog histograma može se primetiti da stepen neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala zavisi od primjenjenog ekstrakcionog sredstva, u slučaju biljke *C. menthifolium* bolji antioksidativni kapacitet pokazao je vodeni ekstrakt, dok je kod druge dve biljke veći efekat pokazao acetonski ekstrakt.

### 5.1.6. Redukcioni kapacitet biljnih ekstrakata-FRAP metoda (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay)

Rezultati ispitivanja redukcionog kapaciteta vodenih i acetonskih ekstrakata ispitivanih biljaka prikazani su na **Histogramu 6.**



**Histogram 6.** Redukcioni kapacitet vodenih i acetonskih ekstrakata *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* izražen kao mg ekvivalenta troloxa  $\text{g}^{-1}$  suvog biljnog materijala.

Iz priloženog **Histograma 6.** se vidi da je najveći redukcionji kapacitet pokazao vodenii ekstrakt *C. menthifolium* ( $(0,82 \pm 0,01) \cdot 10^2$  mg troloxa  $\text{g}^{-1}$  sm). Nižu aktivnost pokazali su acetonski ( $52,05 \pm 0,75$  mg troloxa  $\text{g}^{-1}$  sm) i vodenii ( $(0,48 \pm 0,03) \cdot 10^2$  mg troloxa  $\text{g}^{-1}$  sm) ekstrakti biljke *S. montana*. Najnižu aktivnost, kao i u prethodnim testovima, pokazuju *S. sclarea* ekstrakti.

U **Tabeli 7.**, **Tabeli 8.**, i **Tabeli 9.** date su korelacije antioksidativne aktivnosti sa sadržajem ukupnih reduktanata, flavonoida i tanina u vodenim i acetonskim ekstraktima ispitivanih biljaka.

**Tabela 7.** Korelacija između sadržaja ukupnih reduktanata i antioksidativne aktivnosti.

	Reducensi	DPPH	ABTS	FRAP
Reducensi	(1,000)	0,985*	0,963*	0,950*
DPPH	0,985*	(1,000)	0,942*	0,946*
ABTS	0,963*	0,942*	(1,000)	0,934*
FRAP	0,950*	0,946*	0,934*	(1,000)

\*Označene korelacije su statistički značajne, p<0,050

**Tabela 8.** Korelacija između sadržaja ukupnih flavonoida i antioksidativne aktivnosti.

	Flavonoidi	DPPH	ABTS	FRAP
Flavonoidi	(1,000)	0,497	0,603	0,306
DPPH	0,497	(1,000)	0,942*	0,946*
ABTS	0,603	0,942*	(1,000)	0,934*
FRAP	0,306	0,946*	0,934*	(1,000)

\*Označene korelacije su statistički značajne, p<0,050

**Tabela 9.** Korelacija između sadržaja ukupnih tanina i antioksidativne aktivnosti.

	Tanini	DPPH	ABTS	FRAP
Tanini	(1,000)	0,965*	0,975*	0,975*
DPPH	0,965*	(1,000)	0,942*	0,946*
ABTS	0,975*	0,942*	(1,000)	0,934*
FRAP	0,975*	0,946*	0,934*	(1,000)

\*Označene korelacije su statistički značajne, p<0,050

Statističkom analizom dobijenih rezultata ustanovljena je značajna pozitivna korelacija između sadržaja ukupnih reduktanata i neutralizacije DPPH<sup>·</sup> radikala ( $r=0,98$ ;  $p<0,05$ ), neutralizacije ABTS<sup>·+</sup> radikala ( $r=0,96$ ;  $p<0,05$ ) i redukcionog kapaciteta ( $r=0,95$ ;  $p<0,05$ ), kao i između sadržaja ukupnih tanina i navedenih antioksidativnih testova (neutralizacije DPPH<sup>·</sup> radikala ( $r=0,96$ ;  $p<0,05$ ), neutralizacije ABTS<sup>·+</sup> radikala ( $r=0,97$ ;  $p<0,05$ ) i redukcionog kapaciteta ( $r=0,97$ ;  $p<0,05$ )).

Loša korelacija sadržaja flavonoida sa antioksidativnom aktivnošću ukazuje na druge klase jedinjenja kao dominantne antioksidante.

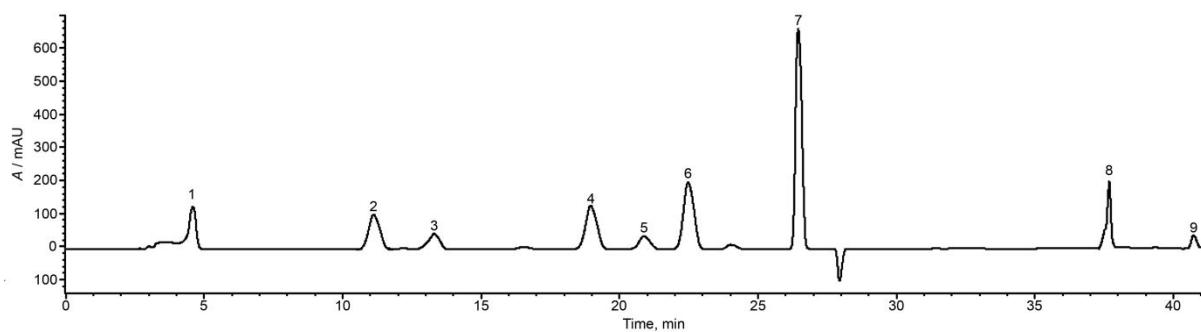
Ispitivanjem antioksidativnog potencijala vodenih i acetonskih ekstrakata *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* primenom gore pomenutih testova može se zaključiti sledeće:

- veći antioksidativni potencijal najčešće pokazuju polarniji (vodeni) ekstrakti (vodeni ekstrakt *C. menthifolium* je pokazao veću antioksidativnu aktivnost od acetonskog ekstrakta u svim testovima, vodeni ekstrakt *S. montana* je imao veću sposobnost neutralizacije DPPH<sup>·</sup> radikala od acetonskog ekstrakta, dok je vodeni ekstrakt *S. sclarea* pokazao veći redukcioni kapacitet od acetonskog ekstrakta).
- najveći antioksidativni efekat pokazuje vodeni ekstrakt biljke *C. menthifolium*.

Ove dve činjenice se mogu objasniti većom količinom polarnijih fenolnih komponenti koje doprinose antioksidativnoj aktivnosti kao što su fenolne kiseline, tanini, kao i različitim sadržajem navedenih komponenti u ekstraktima ispitivanih biljnih vrsta.

### 5.1.7. HPLC analiza fenolnih komponenti vodenih ekstrakata

Razdvajanje fenolnih komponenti vršeno je iz vodenih ekstrakata ispitivanih biljaka koji su primenjivani u testovima za ispitivanje alelopatskog uticaja i insekticidne aktivnosti ovih biljaka, kao i na rast mikroorganizama. Na **Slici 25.** prikazan je hromatogram smeše standarda na 280 nm. Redosled eluiranja komponenti pri opisanim hromatografskim uslovima je: galna kiselina, 5-O-kafeoilhinska kiselina, kafena kiselina, *p*-kumarinska kiselina, ferulna kiselina, 2-hidroksicimetna kiselina, *trans*-cimetna kiselina, kemferol, kvercetin.

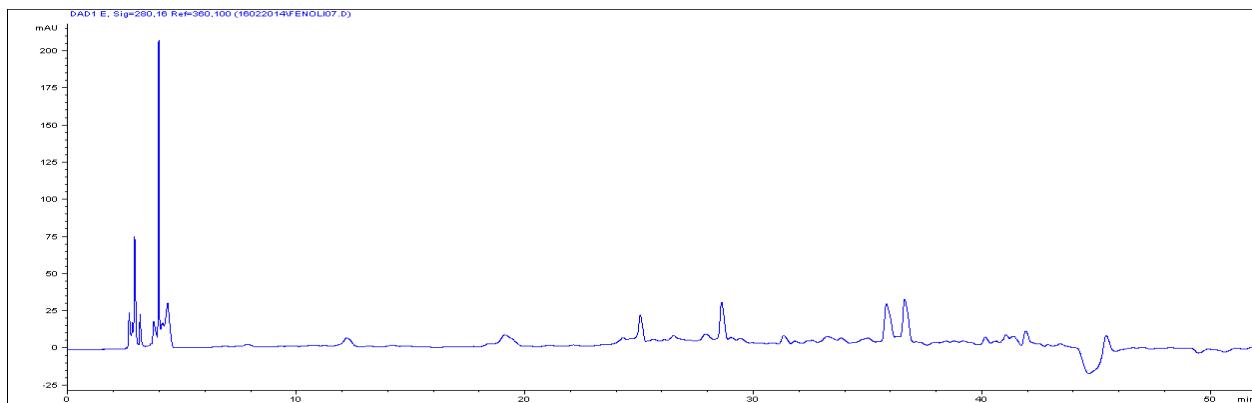


**Slika 25.** Hromatogram smeše standarda fenolnih komponenti. Redosled eluiranja: (1) galna kiselina, (2) 5-O-kafeoilhinska kiselina, (3) kafena kiselina, (4) *p*-kumarinska kiselina, (5) ferulna kiselina, (6) 2-hidroksicimetna kiselina, (7) *trans*-cimetna kiselina, (8) kemferol, (9) kvercetin.

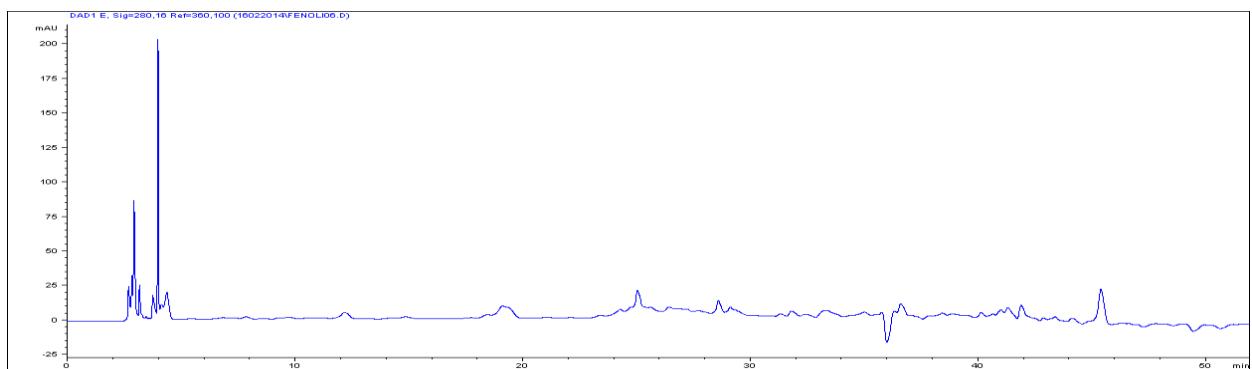
Identifikacija slobodnih fenolnih kiselina i aglikona u ekstraktima vršena je poređenjem retencionih vremena i spektara sa odgovarajućim vrednostima dobijenim za standard. Kvantifikacija je vršena metodom eksternog standarda, pri čemu je za svako dostupno jedinjenje konstruisana kalibraciona kriva u četiri tačke, (5 do 100) µg/ml. Stepen linearnosti konstruisanih krivih iznosio je  $r^2 > 0,99$ .

Na **slici 26.** prikazani su HPLC hromatogrami vodenih ekstrakata ispitivanih biljaka. Rezultati HPLC analize fenolnih komponenti vodenih ekstrakata prikazani su u **Tabeli 10.**

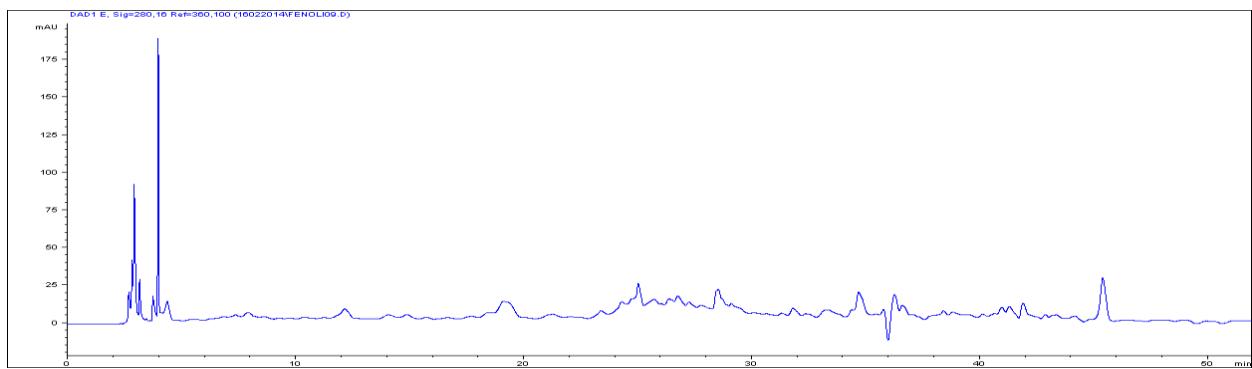
a)



b)



c)



**Slika 26.** HPLC hromatogrami vodenih ekstrakata ispitivanih biljaka: a – *Clinopodium menthifolium* Host, b – *Salvia sclarea* L., c – *Satureja montana* L.

**Tabela 10.** Sadržaj ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) fenolnih jedinjenja u vodenim ekstraktima *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea*.

Jedinjenje	<i>S. montana</i>	<i>C. menthifolium</i>	<i>S. sclarea</i>
Galna kiselina	15,36	15,99	3,13
5-O-kafeoilhinska kiselina	1,36	12,00	<LOQ
Kafena kiselina	78,17	13,87	65,78
<i>p</i> -kumarinska kiselina	1,59	1,46	0,26
Ferulna kiselina	0,50	<LOQ	<LOQ
2-hidroksicimetna kiselina	<LOQ	13,54	<LOQ
<i>trans</i> -cimetna kiselina	<LOQ	2,17	5,27
Kemferol		2,25	40,79
Kvercetin	2,39	2,39	1,36
Katehin	3,13	<LOQ	<LOQ

LOQ – 0,3 $\mu\text{g/kg}$

U vodenom ekstraktu *S. montana* utvrđeno je i kvantifikovano prisustvo sledećih jedinjenja: kafena kiselina ( $78,17 \mu\text{g g}^{-1}$ ), galna kiselina ( $15,36 \mu\text{g g}^{-1}$ ), katehin ( $3,13 \mu\text{g g}^{-1}$ ), kvercetin ( $2,39 \mu\text{g g}^{-1}$ ), *p*-kumarinska kiselina ( $1,59 \mu\text{g g}^{-1}$ ), 5-O-kafeoilhinska kiselina ( $1,36 \mu\text{g g}^{-1}$ ) i ferulna kiselina ( $0,50 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Kvantifikovana količina kafene kiseline, kao najdominantnije fenolne komponente u poređenju sa ostalim kvantifikovanim jedinjenjima, je u skladu sa literaturnim podacima (Gião i sar., 2009). Gião i sar. (2012) su utvrdili prisustvo i rutina i ruzmarinske kiseline u vodenom ekstraktu *S. montana*.

U vodenom ekstraktu *C. menthifolium* identifikovane su: galna kiselina ( $15,99 \mu\text{g g}^{-1}$ ), kafena kiselina ( $13,87 \mu\text{g g}^{-1}$ ), 2-hidroksicimetna kiselina ( $13,54 \mu\text{g g}^{-1}$ ), 5-O-kafeoilhinska kiselina ( $12,00 \mu\text{g g}^{-1}$ ), *trans*-cimetna kiselina ( $2,17 \mu\text{g g}^{-1}$ ), kemferol ( $2,25 \mu\text{g g}^{-1}$ ), kvercetin ( $2,39 \mu\text{g g}^{-1}$ ) i *p*-kumarinska kiselina ( $1,46 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

U vodenom ekstraktu *S. sclarea* prisutne su: kafena kiselina ( $65,78 \mu\text{g g}^{-1}$ ), kemferol ( $40,79 \mu\text{g g}^{-1}$ ), *trans*-cimetna kiselina ( $5,27 \mu\text{g g}^{-1}$ ), galna kiselina ( $3,13 \mu\text{g g}^{-1}$ ), kvercetin ( $1,36 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

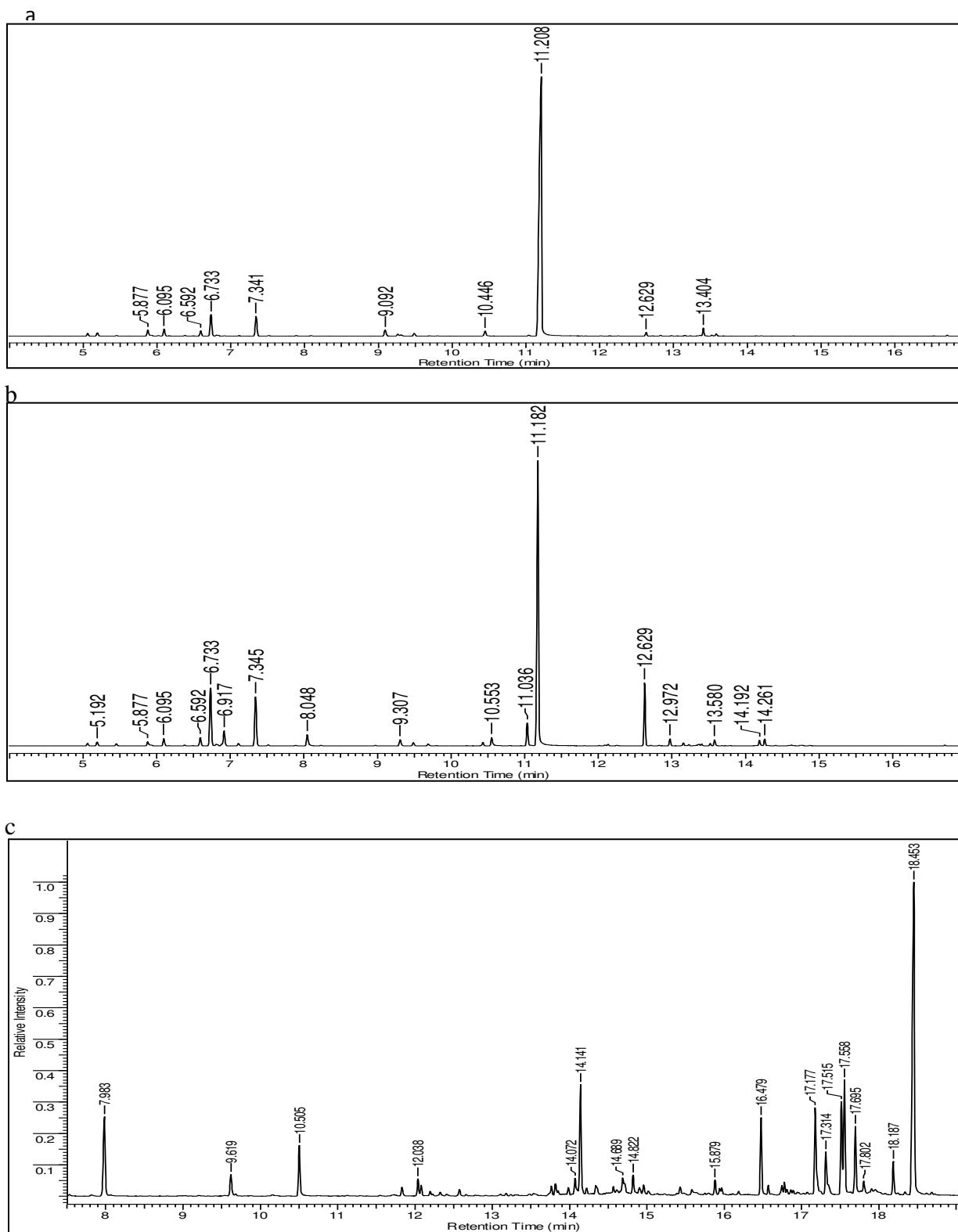
$\mu\text{g g}^{-1}$ ) i *p*-kumarinska kiselina ( $0,26 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Kao i kod vodenog ekstrakta *S. montana* i u vodenom ekstraktu *S. sclarea* od kvantifikovanih jedinjenja najdominantnija je kafena kiselina.

Poznato je da biljni fenoli ispoljavaju antimutagenu, antikancerogenu i antioksidativnu biološku aktivnost. Smatra se da galna kiselina ispoljava snažnu antioksidativnu aktivnost (Yen i sar., 2002). Na osnovu dobijenih rezultata se uočava da biljke sa većim sadržajem galne kiseline (*C. menthifolium* i *S. montana*) pokazuju veću antioksidativnu aktivnost od biljke koja ima niži sadržaj ovog jedinjenja (*S. sclarea*).

Na osnovu prikazanih rezultata, uočava se da voden ekstrakt *C. menthifolium* pokazuje najveću antioksidativnu aktivnost, u poređenju sa ostalim ispitivanim ekstraktima. Upoređivanjem sastava kvantifikovanih jedinjenja u vodenim ekstraktima, primećuje se da je sadržaj galne kiseline približno jednak u ekstraktima *C. menthifolium* i *S. montana*, međutim, ekstrakt *C. menthifolium* ima veći sadržaj 2-hidroksicimetne i 5-*O*-kafeoilhinske kiseline od ekstrakta *S. montana*. Hidroksicimetna kiselina je poznata kao komponenta koja deluje kao snažni antioksidant, može se primenjivati u lečenju bolesti prouzrokovanih oksidativnim stresom (Teixeira i sar., 2013). Biološki efekti 5-*O*-kafeoilhinske kiseline (u literature se javljaju i nazivi 3-*O*-kafeoilhinska kiselina i hlorogenska kiselina koji nisu po IUPAC nomenklaturi), koja je po strukturi estar kafene i hinske kiseline, u većini sličajeva su povezani sa njenom antioksidativnom aktivnošću (Farah i sar., 2008; Sato i sar., 2011). Chen i sar. (2004) su ustanovili da najaktivnije uklanja DPPH<sup>+</sup> radikale. Međutim, ova komponenta štiti biljku od napada patogena i biljnih štetočina, tako što se u organizmu štetočina konvertuje u toksični hlorogenohinon koji reaguje sa  $-\text{SH}$  i  $-\text{NH}_2$  grupama na proteinima narušavajući funkciju proteina i aminokiselinski pool samog insekta (Francišković, 2015).

#### **5.1.8. Analiza sastava etarskog ulja gasnom hromatografijom sa masenospektrometrijskom detekcijom (GC-MS analiza)**

Primenom metode gasne hromatografije sa masenospektrometrijskom detekcijom izvršena je kvalitativna i semikvantitativna analiza etarskih ulja biljaka *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea*. Na slici 27. prikazani su GC-MS hromatogrami etarskih ulja. Rezultati, dati kao relativni udio komponenata u etarskom ulju izražen kao udio površine pika u ukupnoj površini, prikazani su u Tabeli 11.



**Slika 27.** GC-MS hromatogrami etarskih ulja: a – *Clinopodium menthifolium* Host, b – *Satureja montana* L., c – *Salvia sclarea* L.

**Tabela 11.** Sadržaj (%) isparljivih jedinjenja prisutnih u etarskom ulju *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* sa udelom većim od 0,1 %.

t <sub>R</sub> (min)	LRI	Jedinjenje	<i>S. montana</i>	<i>C. menthifolium</i>	<i>S. sclarea</i>
5,063	926	α-tujon	0,43	0,52	-
5,193	934	α-pinен	0,66	0,64	-
5,848	974	Sabinen	-	-	-
5,879	976	1-okten-3-ol	0,92	0,99	-
5,927	976	β-pinен	-	-	-
6,099	989	β-mircen	1,21	1,34	-
6,595	1018	α-terpinen	1,45	1,05	-
6,734	1026	p-cimen	10,02	4,41	-
6,919	1037	Z-β-ocimen	2,81	-	-
7,113	1048	E-β-ocimen	0,44	-	-
7,345	1061	γ-terpinen	8,79	4,06	-
9,094	1165	izo-menton	-	1,33	-
9,266	1175	Mentol	-	0,42	-
9,311	1178	Borneol	1,18	0,29	-
9,489	1189	4-terpineol	0,60	0,56	-
10,450	1253	Pulegon	-	1,24	-
10,554	1260	Geraniol	1,62	-	-
11,039	1295	Timol	3,58	0,20	-
11,186	1308	Karvakrol	50,1	79,91	-
12,631	1429	Kariofilen	8,71	0,63	-
12,866	1452	Z-β-farnezen	-	-	-
12,976	1463	α-humulen	1,00	-	-
13,159	1482	α-amorfen	0,41	-	-
13,407	1509	β-bisabolon	-	1,33	-
13,523	1522	γ-kadinen	0,33	0,17	-
13,582	1528	δ-kadinen	0,92	0,41	-
14,623	1657	α-kadinol	-	-	-
7,984	1101	Linalol	-	-	5,82
9,621	1196	α-terpineol	-	-	1,44
10,505	1259	Linalil acetat	-	-	3,44
11,833	1366	Neril acetat	-	-	0,54
12,041	1384	Geranil acetat	-	-	0,97
12,082	1388	α-kopaen	-	-	0,64
12,199	1398	β-bourbonen	-	-	0,33
12,577	1436	Trans-β-kariofilen	-	-	0,44
14,143	1608	Germakren D	-	-	0,16
14,222	1618	Kariofilen-oksid	-	-	6,70
15,942	1844	Drimenol	-	-	0,36
16,478	1923	Sklareol-oksid	-	-	4,33
17,179	2035	Manool-oksid	-	-	5,90
17,316	2059	13-epi-manool-oksid	-	-	3,38
17,517	2093	Manool	-	-	5,33
18,453	2268	Sklareol	-	-	26,53

GC-MS analizom etarskih ulja *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* identifikovana su 43 različita isparljiva jedinjenja. U etarskom ulju *C. menthifolium* i *S. montana* zabeleženo je prisustvo monocikličnog monoterpenskog alkohola karvakrola, kao najdominantnije komponente (79,91 % i 50,10 %). Od monocikličnih monoterpena u većim količinama nalaze se *p*-cimen i  $\gamma$ -terpinen, iako su prisutni u mnogo manjoj količini u odnosu na karvakrol kod obe biljke. Od bicikličnih seskviterpena u etarskom ulju *S. montana* dominira kariofilen (8,71 %), a od bicikličnih monoterpena zastupljen je borneol (1,18 %). U etarskom ulju *C. menthifolium* od ketonskih komponenti najzastupljeniji su pulegon (1,24 %) i izo-menton (1,33 %). U etarskom ulju *S. sclarea* najdominantnija identifikovana komponenta je biciklični diterpenski alkohol sklareol (26,53 %). U većim količinama prisutni su kariofilen-oksid i linalol.

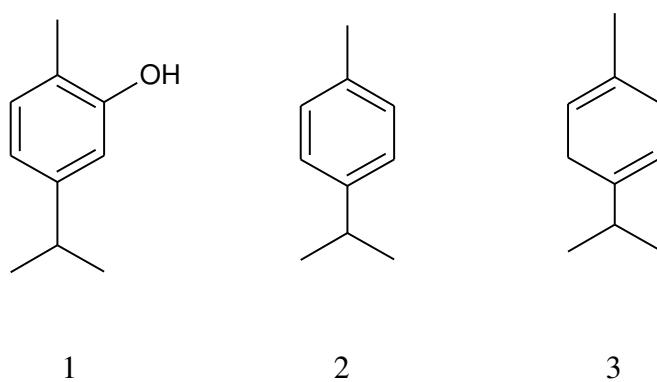
Prema istraživanju Coutinho de Olivera i sar. (2012), dominantne komponente etarskog ulja *S. montana*, sa područja Albanije, su karvakrol, *p*-cimen i kariofilen što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u ovoj disertaciji kada se posmatra kvalitativna analiza. Međutim, sadržaj karvakrola je mnogo manji (10,71 %), a sadržaj timola je veći.

Za razliku od rezultata dobijenih u ovoj disertaciji, u kojima je kao najdominantnija komponenta etarskog ulja *C. menthifolium* identifikovan karvakrol, istraživanja drugih autora ukazuju da je dominantna komponenta etarskog ulja nekih vrsta koje pripadaju rodu *Clinopodium* (jedna od njih je i *Clinopodium pulegium* L.) pulegon (Slavkovska i sar., 2013).

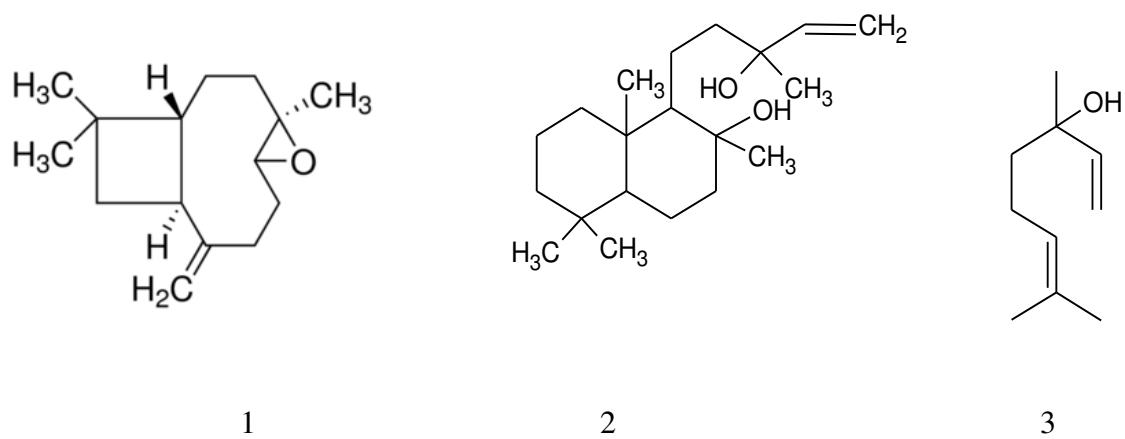
Istrazivanja Džamić i sar. (2008) pokazuju da je dominantna komponenta etarskog ulja *S. sclarea* linalil-acetat (52,83 %), zatim linalol,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -pinen, 1,8-cineol, limonen i dr.

Neke od dominantnih komponenti, uključujući timol i karvakrol, poseduju značajnu antimikrobnu aktivnost.

Treba imati u vidu da sastav etarskog ulja neke biljke zavisi od primjenjenog postupka za izolaciju ulja, genetskih faktora, ekoloških faktora u kojima se biljka razvijala poput klimatskih uslova i osunčanosti, kao i perioda uzorkovanja biljnog materijala.



**Slika 28.** Dominantne komponente etarskih ulja *C. menthifolium* i *S. montana*: (1) karvakrol, (2) *p*-cimen, (3)  $\gamma$ -terpinen.



**Slika 29.** Dominantne komponente etarskog ulja *S. sclarea*: (1) kariofilen-oksid, (2) sklareol, (3) linalol.

## **5.2. Alelopatski efekat vodenih ekstrakata**

Radi utvrđivanja alelopatskog efekta odabranih biljnih vrsta familije Lamiaceae – *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea*, u ovom radu je ispitivan efekat vodenih ekstrakata navedenih biljaka na aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listovima i korenovima pet test-biljaka: tri korova – crne pomoćnice (*Solanum nigrum* L.), tatule (*Datura stramonium* L.) i klasače (*Bromus mollis* L.), i dve gajene kulture – soje (*Glycine max* (L.) Merr) i paprike (*Capsicum annuum* L.).

### **5.2.1. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test-biljaka tretiranih vodenim ekstraktom *Satureja montana* L.**

#### *Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenu crne pomoćnice*

U **Tabeli 12.** su prikazani rezultati uticaja vodenog ekstrakta *S. montana* na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA u listu i korenu crne pomoćnice. Praćenjem aktivnosti antioksidativnih enzima u listu crne pomoćnice tretirane vodenim ekstraktom *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) zapaža se da obe primjenjene koncentracije indukuju povećanu aktivnost enzima katalaze (CAT) nakon 24 h i enzima superoksid-dizmutaze (SOD) sve vreme tokom trajanja eksperimenta.

Tretman vodenim ekstraktom *S. montana* koncentracije od 0,2 % doveo je do povećane aktivnosti gvajakol-peroksidaze (GPx) 72 h i 120 h nakon tretmana, dok je u tretmanu sa primjenjom nižom koncentracijom GPx imala statistički značajno različitu aktivnost kod tretiranih biljaka u odnosu na kontrolnu grupu biljaka crne pomoćnice nakon 24 h.

Porast aktivnosti pirogalol-peroksidaze (PPx) zabeležen je nakon 72 h u tretmanu sa višom koncentracijom (0,2 %), dok je u tretmanu sa nižom koncentracijom (0,1 %) bila statistički značajno smanjena u odnosu na kontrolu nakon 120 h.

Poređenjem sadržaja MDA u listovima biljaka tretiranih vodenim ekstraktom *S. montana* sa sadržajem MDA netretiranih biljaka, primećuje se veća akumulacija MDA u listovima

tretiranih biljaka. Najveća razlika u sadržaju MDA zabeležena je u listu crne pomoćnice tretirane vodenim ekstraktom *S. montana* koncentracije 0,1 % nakon 120 h, kada je zabeležena i inhibicija aktivnosti PPx.

Primena vodenog ekstrakta *S. montana* u koncentracijama od 0,1 % i 0,2 % dovodi do indukcije aktivnosti SOD u korenju crne pomoćnice već nakon 24 h nakon aplikacije.

Najveći porast aktivnosti CAT zabeležen je nakon 24 h u tretmanu sa višom koncentracijom (0,2 %) vodenog rastvora *S. montana*. Nasuprot tome, u tretmanu sa nižom koncentracijom (0,1 %) zabeležena je inhibicija aktivnosti CAT 72 h nakon tretmana.

Inhibicija aktivnosti peroksidaza (GPx i PPx) uočena je nakon 120 h nakon primene tretmana, s tim što je aktivnost PPx statistički značajno smanjena samo nakon tretmana sa višom koncentracijom (0,2 %). Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima dobijenim za sadržaj MDA u korenju crne pomoćnice. Najveća razlika u sadržaju MDA u korenovima tretiranih i netretiranih biljaka zabeležena je nakon 120 h, kada je sadržaj MDA u korenovima tretiranih biljaka bio skoro dva puta veći u poređenju sa netretiranim biljkama.

#### *Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenju tatule*

Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u biljkama tatule tretiranih vodenim ekstraktom *S. montana* su prikazani u **Tabeli 13**. U listu tatule, izložene uticaju 0,2 % vodenog ekstrakta *S. montana*, došlo je do inhibicije katalazne aktivnosti 120 h nakon tretmana, dok tretman sa 0,1 % vodenim ekstraktom *S. montana* nije doveo do statistički značajnih promena.

Za aktivnost SOD statistički značajno smanjenje zabeleženo je u tretmanu sa nižom koncentracijom (0,1 %) nakon 72 h.

Aktivnosti GPx i PPx su bile statistički značajno veće nakon tretmana sa 0,2 % ekstraktom posle 72 h u odnosu na kontrolu. Nasuprot tome, 0,1 % koncentracija nije uticala na promenu aktivnosti GPx i PPx u prvih 72 h. Međutim, nakon 120 h zabeležen je statistički značajan porast aktivnosti PPx. Primjenjene koncentracije vodenog ekstrakta *S. montana* nisu dovele do statistički značajne indukcije lipidne peroksidacije u listu tatule.

U korenju tatule, aktivnost CAT se pod uticajem vodenog ekstrakta *S. montana* koncentracije 0,1 % utrostručila u odnosu na kontrolu nakon 120 h, dok je pri tretmanu sa rastvorom koncentracije 0,2 % bila četiri puta veća nakon istog vremenskog perioda.

Primenom niže ispitivane koncentracije vodenog rastvora *S. montana* (0,1 %) došlo je do porasta aktivnosti SOD u prvih 24 h, nakon čega se beleži pad aktivnosti ovog enzima na vrednosti koje se nisu statistički značajno razlikovale od kontrole. U tretmanu sa rastvorom 0,2 % koncentracije došlo je do statistički značajnog smanjenja aktivnosti SOD nakon 24 h.

Pad aktivnosti GPx zabeležen je nakon 24 h pod uticajem više koncentracije (0,2 %), dok je tretman sa nižom koncentracijom doveo do statistički značajno veće aktivnosti nakon 120 h. Na aktivnost PPx obe primenjene koncentracije vodenog rastvora *S. montana* uticale su na isti način. Do statistički značajne razlike došlo je nakon 72 h, kada je zabeležena inhibicija aktivnosti ovog enzima.

Značajan porast intenziteta lipidne peroksidacije zabeležen je u korenju tatule tretirane višom koncentracijom (0,2 %) vodenog ekstrakta *S. montana* nakon 24 h, dok je u tretmanu sa nižom koncentracijom (0,1 %) do istog efekta došlo nakon 72 h. Međutim, 120 h nakon tretmana nije bilo statistički značajne razlike u sadržaju MDA u korenju između tretiranih i kontrolnih biljaka.

#### *Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenju klasače*

U **Tabeli 14.** su prikazani rezultati uticaja vodenog ekstrakta *S. montana* na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA u listu i korenju klasače. U listu klasače, pod uticajem vodenog ekstrakta *S. montana* koncentracije 0,1 % zabeležen je porast aktivnosti CAT 24 h nakon tretmana, dok u tretmanu sa višom koncentracijom nije došlo do statistički značajnih promena u aktivnosti CAT.

Obe primenjene koncentracije prouzrokovale su porast aktivnosti SOD nakon 72 h i 120 h. Najveći porast zabeležen je nakon 120 h u tretmanu sa 0,2 % vodenim ekstraktom *S. montana*, kada je postignuta skoro četiri puta veća aktivnost ovog enzima u odnosu na kontrolnu grupu biljaka.

Statistički značajna promena u aktivnosti GPx zabeležena je pri tretmanu sa 0,2 % koncentracijom nakon 72 h, kada dolazi do porasta aktivnosti. Statistički značajna inhibicija aktivnosti PPx je zabeležena nakon 24 h u tretmanu sa nižom koncentracijom vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 %). Sadržaj MDA u listu klasače, bio je statistički značajno povećan u tretiranim listovima u odnosu na kontrolu nakon 24 h i 72 h.

Koren klasače se pokazao osetljivijim na uticaj vodenog ekstrakta *S. montana*. Aktivnosti SOD i CAT su se statistički značajno povećavale u prvih 72 h, naročito u tretmanu sa vodenim rastvorom *S. montana* koncentracije od 0,1 %. Izmerena aktivnost SOD je bila skoro osam puta veća kod tretiranih u odnosu na kontrolnu grupu biljaka nakon 72 h.

Nakon 120 h uočava se statistički značajna inhibicija enzima PPx, pri čemu je tretman sa višom koncentracijom izazvao veću inhibiciju. Statistički značajna inhibicija aktivnosti GPx zabeležena je 72 h nakon tretmana, za obe primenjene koncentracije.

Ni jedna od primenjenih koncentracija vodenog ekstrakta *S. montana* nije dovela do povećane akumulacije MDA.

#### *Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenu paprike*

Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u biljkama paprike tretiranih vodenim ekstraktom *S. montana* su prikazani u **Tabeli 15**. Indukcija aktivnosti CAT je registrovana u listovima paprike izloženih uticaju delovanja obe primenjene koncentracije vodenog rastvora *S. montana* tokom celokupnog trajanja eksperimentalnog perioda. Najveća aktivnost CAT zabeležena je u listovima paprike koji su bili izloženi uticaju 0,2 % vodenog ekstrakta *S. montana* u toku 72 h.

U listovima tretiranih biljaka je došlo do inhibicije aktivnosti SOD i GPx nakon 24 h, kako u tretmanu sa 0,1 % koncentracijom tako i u tretmanu sa 0,2 % koncentracijom. Nasuprot tome, nakon 120 h nema statistički značajne razlike u aktivnosti GPx između eksperimentalnih grupa, dok je aktivnost SOD statistički značajno veća u listovima tretiranih biljaka u poređenju sa biljkama kontrolne grupe.

Tretman sa 0,2 % vodenim ekstraktom *S. montana* je doveo do statistički značajnog smanjenja aktivnosti PPx u odnosu na kontrolu nakon 120 h, dok je u tretmanu sa 0,1 % ekstraktom aktivnost PPx imala vrednosti koje se statistički značajno nisu razlikovale od vrednosti u kontroli.

Ni jedna od primenjenih koncentracija vodenog ekstrakta *S. montana* nije dovela do povećane akumulacije MDA u listovima paprike.

U korenovima tretiranih biljaka paprike došlo je do smanjenja aktivnosti CAT i PPx u prvih 72 h.

Aktivnost enzima SOD se povećavala sa dužinom trajanja eksperimenta, pri čemu je najveći porast zabeležen u tretmanu sa 0,2 % ekstraktom nakon 120 h.

Koncentracija izmerenog MDA povećala se samo u korenju paprike tretirane sa 0,1 % vodenim ekstraktom *S. montana* 120 h nakon tretmana, dok se nakon tretmana sa 0,2 % koncentracijom nije statistički značajno razlikovala između eksperimentalnih grupa.

#### *Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenju soje*

U **Tabeli 16.** su prikazani rezultati uticaja vodenog ekstrakta *S. montana* na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA u listu i korenju soje. U listovima soje, pod uticajem vodenog ekstrakta *S. montana*, nije došlo do statistički značajnih promena u aktivnosti CAT.

Aktivnost SOD u listovima soje je bila statistički značajno veća u svim tretiranim listovima u odnosu na kontrolnu grupu biljaka.

Inhibicija aktivnosti PPx zabeležena je nakon 72 h. Statistički značajne promene u aktivnosti GPx zabeležene su nakon 72 h u tretmanu sa većom koncentracijom (0,2 %), kada dolazi do porasta aktivnosti ovog enzima. Isti efekat je postignut u tretmanu sa nižom koncentracijom (0,1 %), nakon 120 h.

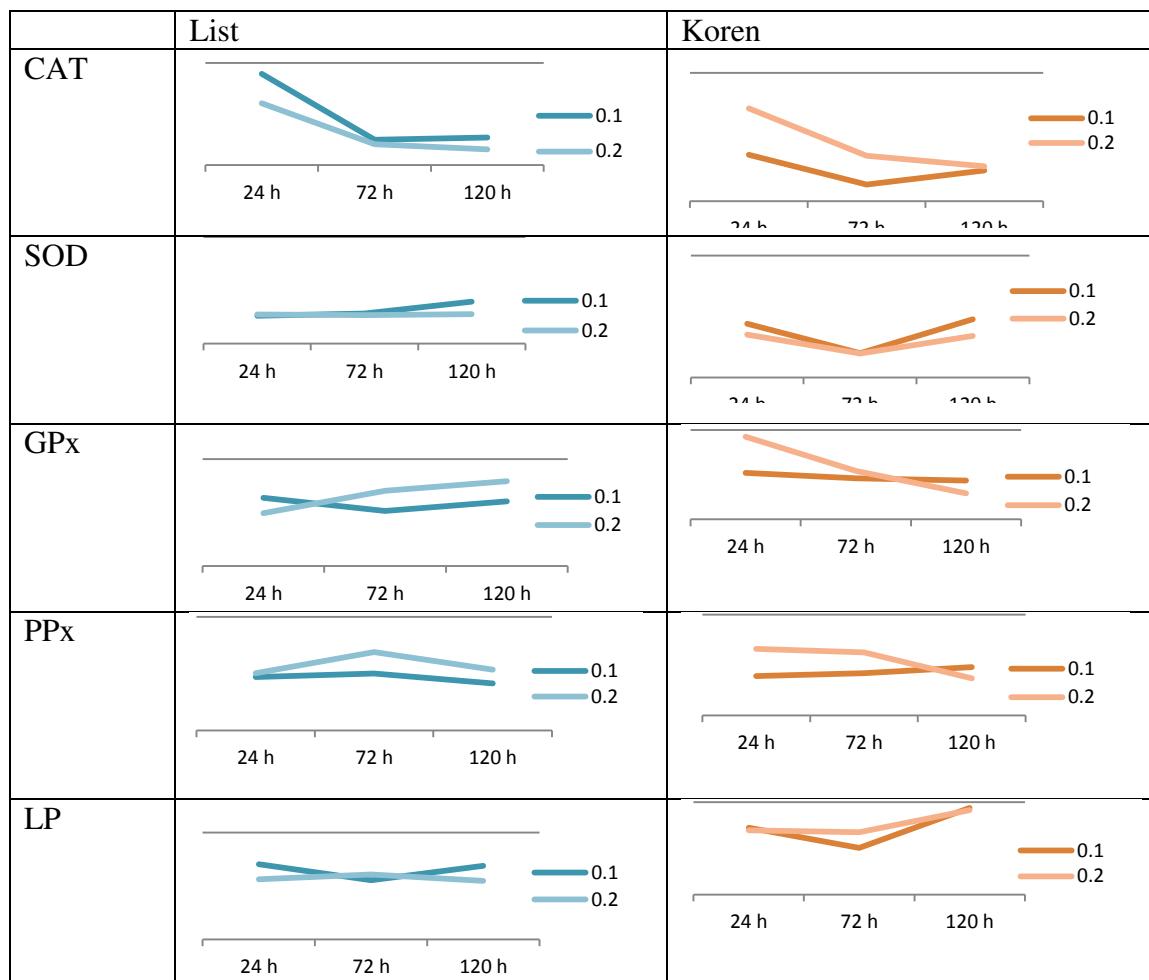
Najveća akumulacija MDA zabeležena je nakon 72 h u tretmanu sa 0,2 % koncentracijom vodenog ekstrakta.

Koren soje se pokazao osjetljivijim na uticaj obe koncentracije vodenog ekstrakta *S. montana*. Nakon tretmana došlo je do indukcije aktivnosti SOD. U korenju biljaka tretiranih vodenim ekstraktima *S. montana* je izmerena četiri puta veća aktivnost ovog enzima u odnosu na koren biljaka kontrolne grupe nakon 72 h.

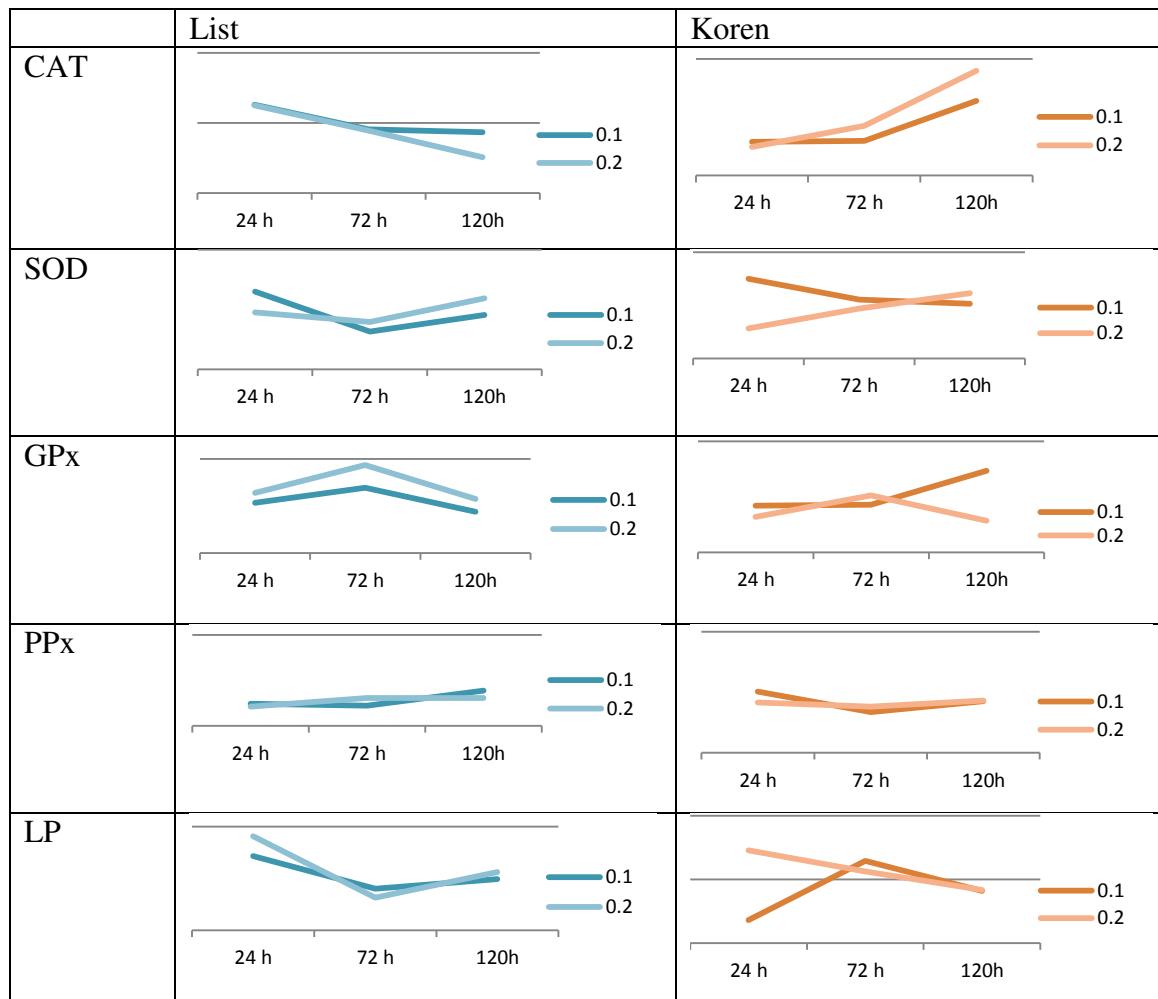
Najveći porast aktivnosti CAT zabeležen je nakon 72 h pri tretmanu sa obe primenjene koncentracije (0,1 % i 0,2 %), gde je aktivnost bila tri puta veća u odnosu na kontrolu.

Aktivnost GPx i PPx se nakon 24 h nije statistički značajno razlikovala u korenovima tretiranih i kontrolnih biljaka. Nakon 120 h uočava se statistički značajno smanjenje aktivnosti enzima PPx i GPx, pri čemu je tretman sa većom koncentracijom (0,2 %) izazvao veću inhibiciju. Primanjene koncentracije vodenog ekstrakta *S. montana* nisu dovele do povećane akumulacije MDA u korenju soje.

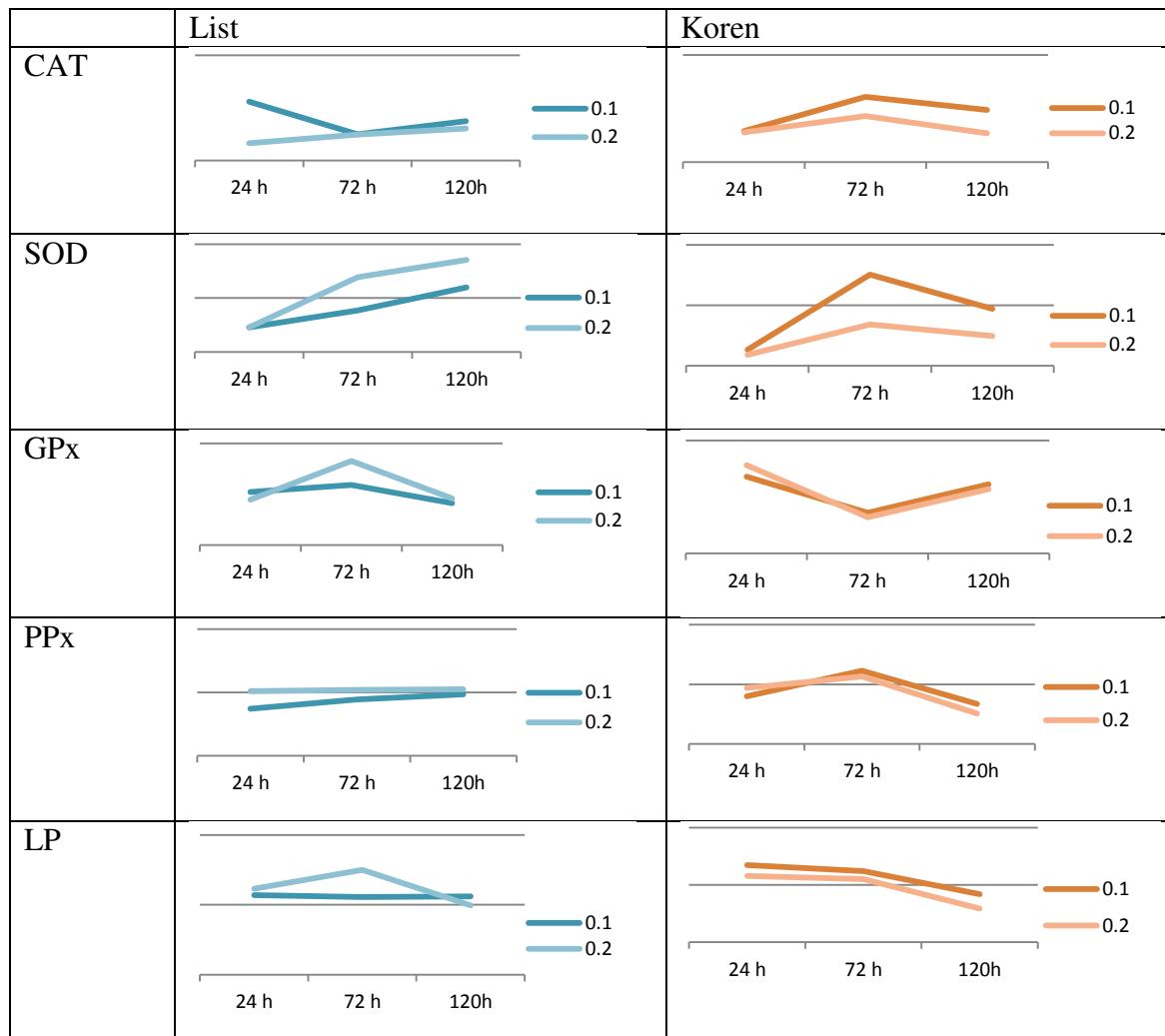
**Tabela 12.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu crne pomoćnice.



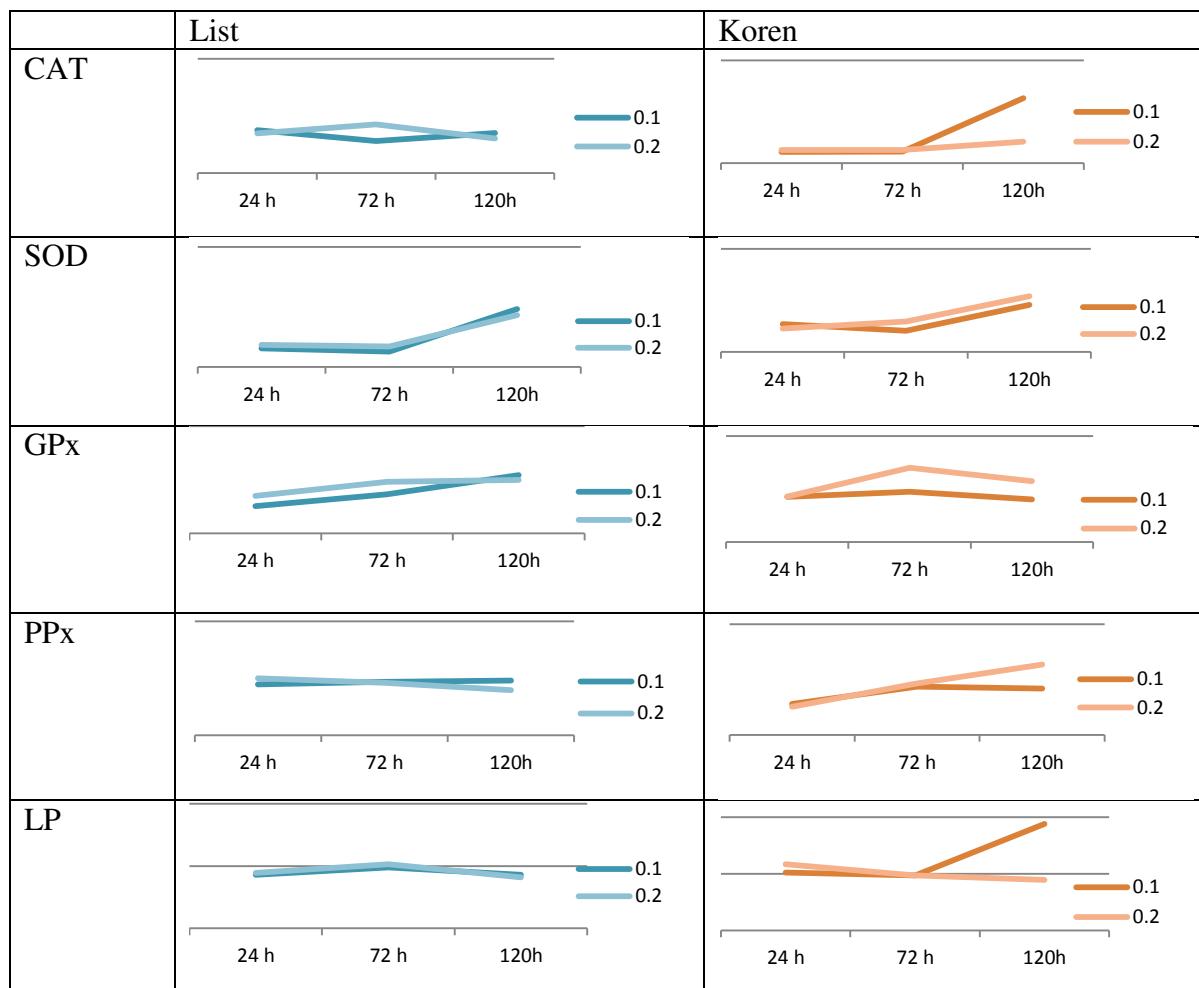
**Tabela 13.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu tatule.



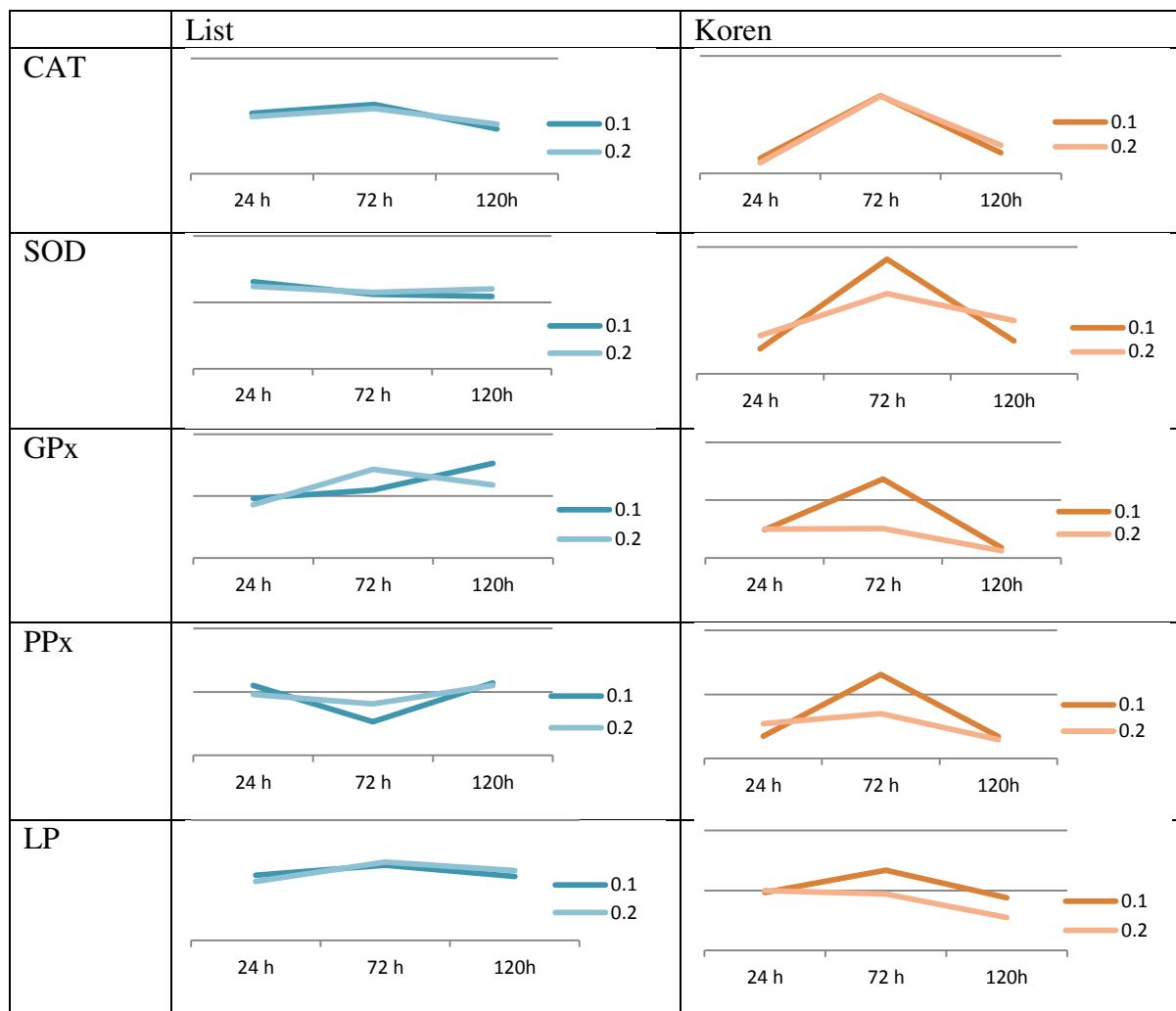
**Tabela 14.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu klase.



**Tabela 15.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu paprike.



**Tabela 16.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu soje.



### **5.2.2. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test-biljaka tretiranih vodenim ekstraktom *Salvia sclarea L.***

*Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenu crne pomoćnice*

U **Tabeli 17.** su prikazani rezultati uticaja vodenog ekstrakta *S. sclarea* na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA u listu i korenu crne pomoćnice. U listu crne pomoćnice, izložene uticaju 0,1 % vodenog ekstrakta *S. sclarea*, došlo je do statistički značajnog povećanja aktivnosti CAT, koja je nakon 24 h bila četiri puta veća u listovima tretiranih biljaka u poređenju sa kontrolnom grupom biljaka. U biljkama tretiranim sa 0,2 % koncentracijom uočena je dva puta veća aktivnost CAT nakon 24 h.

Iako se zapaža pad aktivnosti SOD tokom prva 72 h, nakon 120 h je bila veća u listovima tretiranih biljaka u poređenju sa kontrolom.

Statistički značajan porast aktivnosti GPx i PPx detektuje se u listovima crne pomoćnice tretirane nižom koncentracijom vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 %) nakon 24 h, dok u tretmanu sa primjenjom višom koncentracijom najveća aktivnost peroksidaza je uočena nakon 72 h.

Najveća akumulacija MDA u listovima crne pomoćnice zabeležena je 24 h nakon tretmana sa 0,1 % koncentracijom vodenog ekstrakta *S. sclarea*.

U korenu crne pomoćnice statistički značajan porast aktivnosti enzima CAT zabeležen je 24 h i 72 h nakon tretmana sa rastvorom *S. sclarea* koncentracije 0,2 %.

Obe primjenjene koncentracije indukovale su tri puta veću SOD aktivnost u korenu crne pomoćnice nakon 120 h.

Aktivnost enzima PPx i GPx opadala je sa dužinom trajanja eksperimenta, tako da se statistički značajna inhibicija aktivnosti PPx i GPx uočava nakon 120 h, pri čemu je tretman sa nižom primjenom koncentracijom (0,1 %) izazvao veću inhibiciju.

Veća akumulacija MDA zabeležena je u korenu nego u listovima. Najveća razlika u sadržaju MDA u korenovima tretiranih i netretiranih biljaka bila je nakon 120 h, u tretmanu sa nižom koncentracijom.

*Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenju tatule*

Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u biljkama tatule tretiranih vodenim ekstraktom *S. sclarea* su prikazani u **Tabeli 18**. Pod uticajem vodenih ekstrakata *S. sclarea* došlo je do promene aktivnosti i inhibicije aktivnosti enzima SOD u listovima tatule pri obe primenjene koncentracije (0,1 % i 0,2 %) nakon 72 h.

Nasuprot tome, primenjene koncentracije vodenih ekstrakata *S. sclarea* uticale su na povećanu aktivnost peroksidaza u listovima tatule. Statistički značajno povećanje GPx aktivnosti detektovano je u tretmanima sa obe koncentracije nakon 72 h, dok je na povećanu aktivnost PPx uticala niža primenjena koncentracija nakon 24 h.

Ni jedna od primenjenih koncentracija vodenog ekstrakta *S. sclarea* nije imala uticaja na aktivnost CAT u listovima tatule, kao ni na indukciju lipidne peroksidacije. Naprotiv, nakon 24 h i 72 h zabeležen je manji sadržaj MDA u listovima tretiranih biljaka u poređenju sa kontrolnim.

U korenju tatule, aktivnost CAT se povećala pod uticajem vodenog ekstrakta *S. sclarea* koncentracije 0,1 % 120 h nakon tretmana, dok se u tretmanu sa 0,2 % koncentracijom nije značajno razlikovala od kontrole nakon istog vremenskog perioda.

Kako u listovima, tako je i u korenju tatule došlo do inhibicije aktivnosti SOD u tretmanima sa obe primenjene koncentracije.

Pad aktivnosti zabeležen je i za PPx. Pod uticajem više koncentracije vodenog ekstrakta *S. sclarea* aktivnost PPx je bila niža u tretiranim biljkama sve vreme tokom tretmana, dok je u tretmanu sa nižom koncentracijom najveća inhibicija postignuta nakon 72 h. Na aktivnost GPx uticale su obe primenjene koncentracije. Do statistički značajne razlike između tretmana došlo je nakon 120 h, kada je zabeležena inhibicija aktivnosti ovog enzima.

Značajno povećanje intenziteta lipidne peroksidacije zabeleženo je u korenju tatule nakon 24 h. Međutim, 72 h nakon tretmana nisu uočene statistički značajne razlike u sadržaju MDA između tretiranih i kontrolnih biljaka.

*Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenju klasače*

U **Tabeli 19.** su prikazani rezultati uticaja vodenog ekstrakta *S. sclarea* na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA u listu i korenju klasače. Niža koncentracija (0,1 %)

vodenog ekstrakta *S. sclarea* dovodi do povećane aktivnosti enzima CAT u listovima klasače 120 h nakon tretmana, dok 0,2 % koncentracija nije uticala na aktivnost pomenutog enzima.

Obe primenjene koncentracije indukovale su povećanje aktivnosti SOD u listovima tretiranih biljaka 72 h i 120 h nakon tretmana.

Tretman sa 0,2 % koncentracijom vodenog ekstrakta *S. sclarea* prouzrokovao je indukciju aktivnosti GPx 72 h nakon tretmana. Ni jedna od primenjenih koncentracija nije imala značajan uticaj na aktivnost PPx u listovima klasače.

Pri tretmanu sa nižom koncentracijom vodenog ekstrakta *S. sclarea* u listovima je zabeležen veći sadržaj MDA u prvih 72 h, u odnosu na netretirane biljke. U tretmanu sa većom koncentracijom, razlika u sadržaju MDA u listovima tretiranih i netretiranih biljaka povećavala se sa vremenom, najveći sadržaj je zabeležen nakon 120 h.

Aktivnost CAT u korenju klasače povećavala se u prvih 72 h, kada je zabeležena maksimalna aktivnost. U tretmanu sa nižom koncentracijom bila je tri puta veća u poređenju sa onom izmerenom kod kontrolne grupe biljaka, dok je pod uticajem veće koncentracije izmerena pet puta veća aktivnost. Nakon 72 h dolazi do smanjenja aktivnosti ovog enzima.

Povećanje aktivnosti SOD u korenju klasače zabeleženo je 72 h i 120 h nakon tratmana za obe primenjene koncentracije.

Maksimalna aktivnost GPx i PPx u korenovima klasače tretiranim 0,1 % koncentracijom dostignuta je nakon 120 h. Veća koncentracija prouzrokovala je povećanu aktivnosti GPx i PPx nakon 72 h. Povećana aktivnost GPx se održala i nakon 120 h, dok se aktivnost PPx nakon tog perioda nije statistički značajno razlikovala od izmerene aktivnosti u kontroli.

Ni jedna od primenjenih koncentracija vodenog ekstrakta *S. sclarea* nije dovela do povećane akumulacije MDA.

#### *Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenju paprike*

Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u biljkama paprike tretiranih vodenim ekstraktom *S. sclarea* su prikazani u **Tabeli 20**. Pod uticajem 0,2 % vodenog ekstrakta *S. sclarea* aktivnost CAT se statistički značajno povećala nakon 24 h u odnosu na kontrolu, nakon čega je aktivnost opadala do vrednosti jednakih onim izmerenim u listovima kontrolne grupe biljaka.

Tretman sa 0,1 % koncentracijom nije uticao na promenu SOD aktivnosti u listovima paprike, dok je tretman sa 0,2 % koncentracijom doveo do inhibicije aktivnosti SOD.

Smanjenje aktivnosti GPx i PPx primećeno je u listovima paprike pod uticajem obe primenjene koncentracije vodenih ekstrakata.

Koncentracija izmerenog MDA povećala se u listovima paprike tretirane sa 0,2 % vodenim ekstraktom *S. sclarea* 24 h i 72 h nakon tretmana, dok je nakon 120 h zabeležen manji sadržaj MDA u tretiranim biljkama u odnosu na kontrolu za obe primenjene koncentracije.

U korenovima biljaka paprike tretiranih vodenim rastvorima *S. sclarea* došlo je do smanjenja aktivnosti CAT, SOD, PPx i GPx nakon 120 h, kao i sadržaja MDA.

#### *Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenu soje*

U **Tabeli 21.** su prikazani rezultati uticaja vodenog ekstrakta *S. sclarea* na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA u listu i korenu soje. Veća primenjena koncentracija vodenog rastvora *S. sclarea* (0,2 %) dovodi do inhibicije aktivnosti enzima CAT u listovima soje nakon 120 h, dok niža primenjena koncentracija nije ispoljila uticaj na katalaznu aktivnost.

Obe primenjene koncentracije indukovale su povećanu aktivnost SOD u listovima tretiranih biljaka.

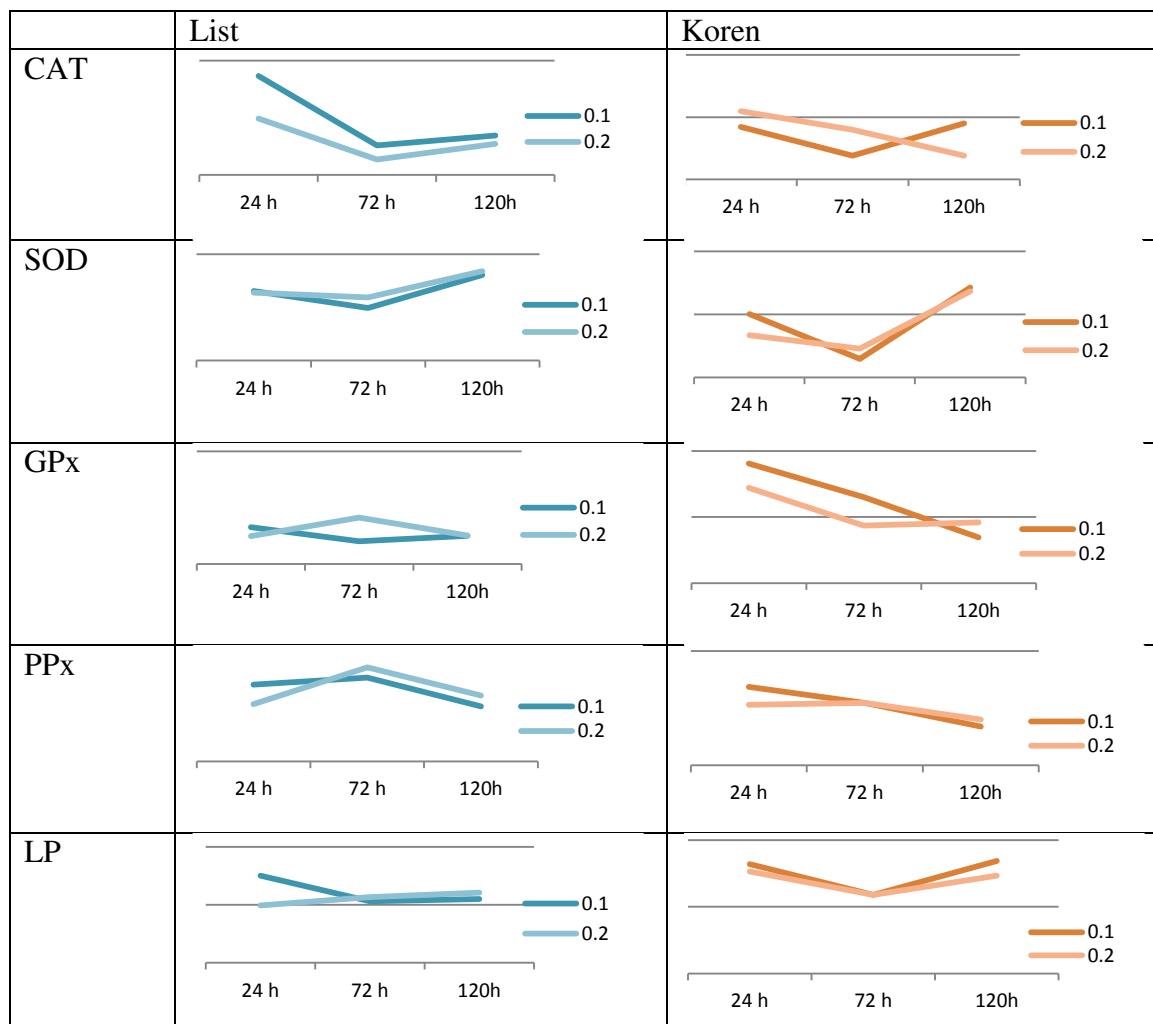
Tretman sa 0,1 % koncentracijom vodenog ekstrakta *S. sclarea* izazvao je statistički značajan porast aktivnosti GPx 72 h i 120 h nakon tretmana. Primanjene koncentracije vodenog ekstrakta *S. sclarea* nisu dovele do statistički značajne promene aktivnost PPx.

Pri tretmanu sa manjom koncentracijom vodenog ekstrakta *S. sclarea* u listovima soje zabeležen je statistički značajno veći sadržaj MDA u odnosu na kontrolu. Razlika u sadržaju MDA u listovima tretiranih i netretiranih biljaka bila je najveća nakon 24 h, nakon čega je opadala.

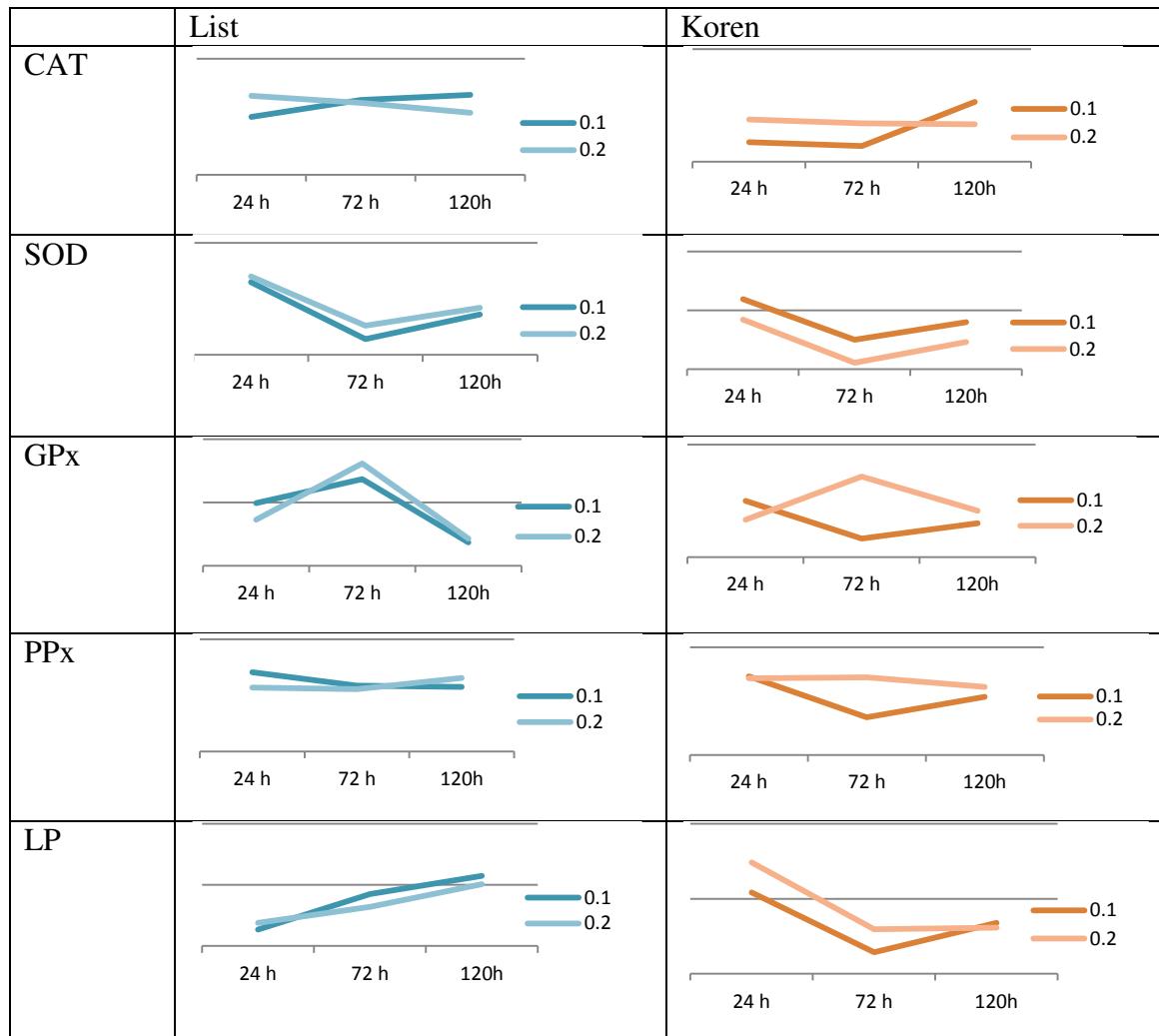
U korenu soje zabeleženo je povećanje aktivnosti CAT 72 h nakon tretmana za obe primenjene koncentracije, dok se nakon 120 h nije statistički značajno razlikovala od izmerene aktivnosti u korenovima kontrolnih biljaka.

Obe primjenjene koncentracije dovele su do povećanja aktivnosti SOD u korenovima soje 72 h nakon tretmana. Nasuprot tome, nakon 120 h zabeležen je pad aktivnosti GPx i PPx, kao i sadržaja MDA u odnosu na kontrolnu grupu biljaka.

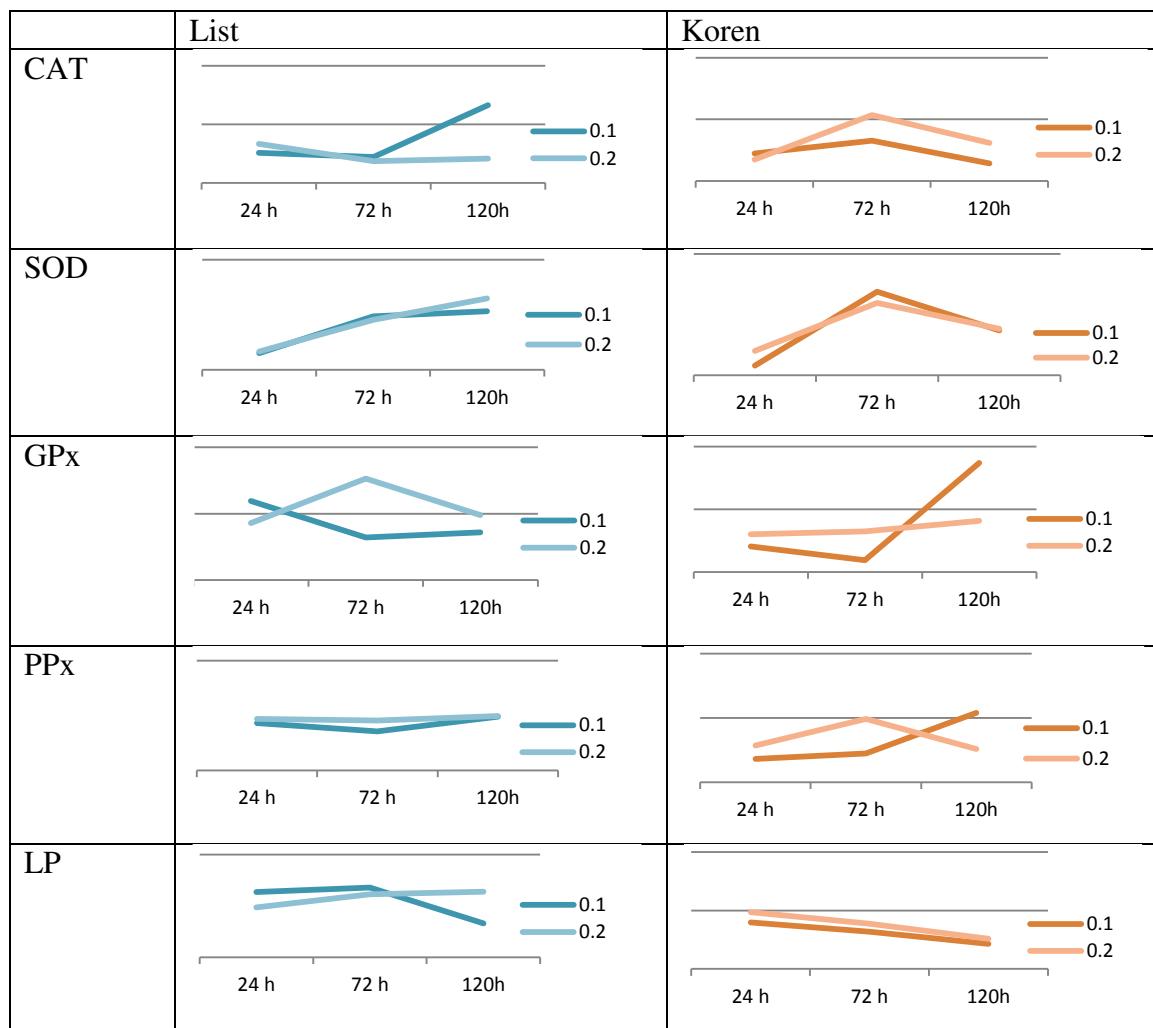
**Tabela 17.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu crne pomoćnice.



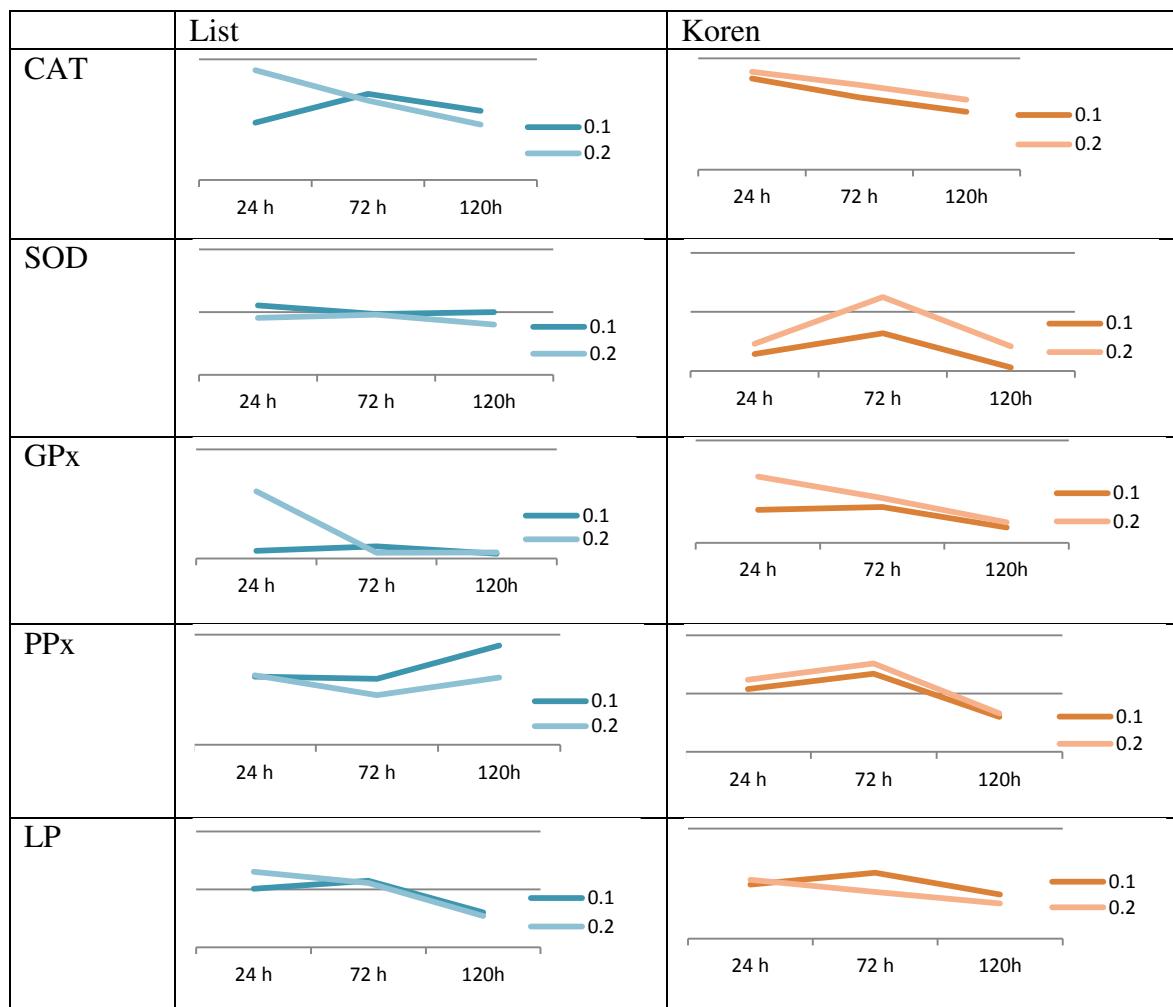
**Tabela 18.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu tatule.



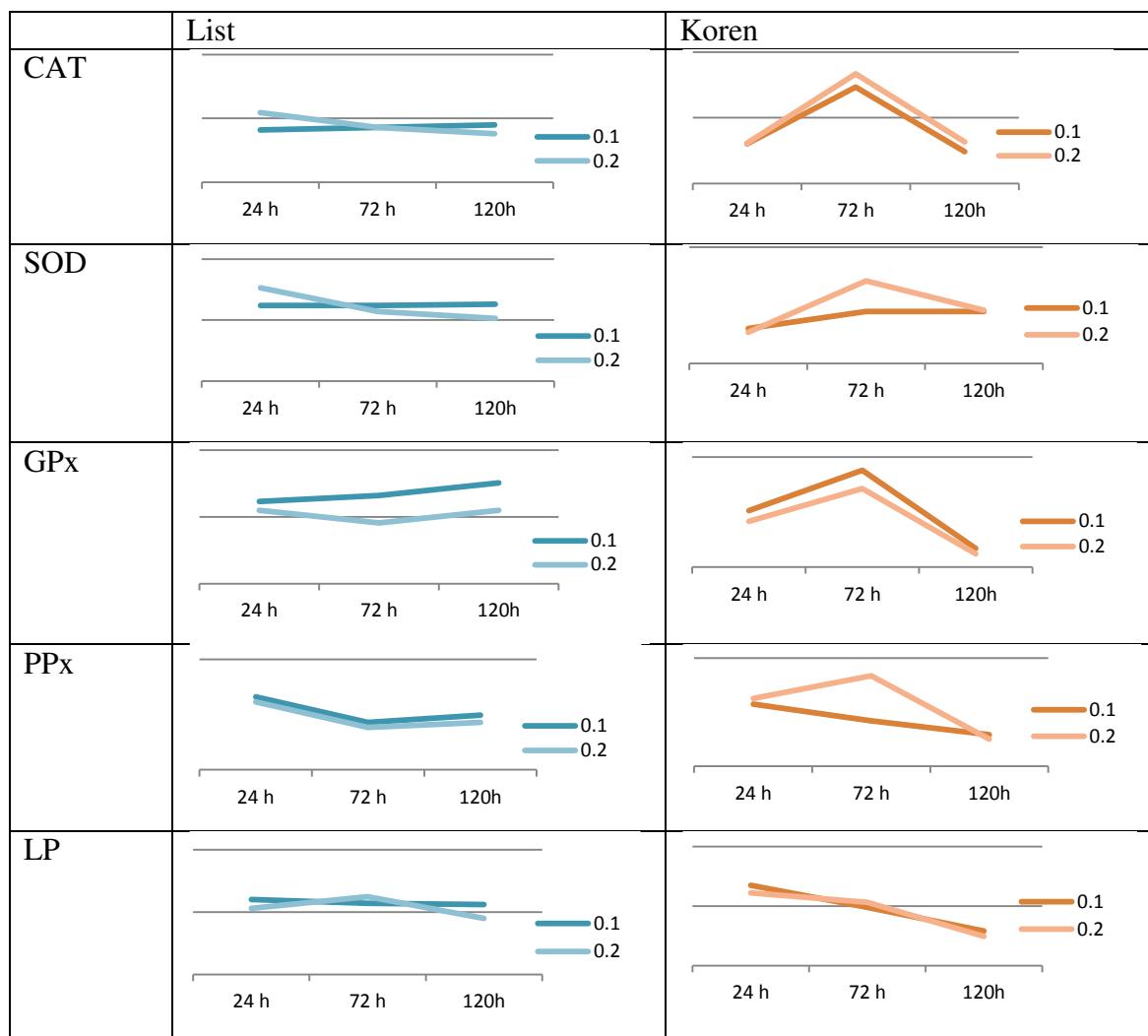
**Tabela 19.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu klaseče.



**Tabela 20.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu paprike.



**Tabela 21.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu soje.



**5.2.3. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test-biljaka tretiranih vodenim ekstraktom *Clinopodium menthifolium* Host.**

*Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenju crne pomoćnice*

U **Tabeli 22.** su prikazani rezultati uticaja vodenog ekstrakta *C. menthifolium* na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA u listu i korenju crne pomoćnice. Vodeni ekstrakt *C. menthifolium* dovodi do indukcije aktivnosti enzima CAT i SOD u listovima crne pomoćnice, pri čemu je najveća razlika u aktivnosti između tretiranih i netretiranih biljaka izmerena nakon 120 h.

Nakon tretmana sa nižom koncentracijom vodenog ekstrakta *C. menthifolium* zabeležen je statistički značajan porast aktivnosti enzima GPx i PPx, pri čemu je najveća razlika u aktivnosti između tretiranih i kontrolnih biljaka zabeležena 120 h nakon tretmana. U prvih 72 h zabeležen je statistički značajan porast aktivnosti GPx u listovima crne pomoćnice tretirane većom koncentracijom vodenog ekstrakta *C. menthifolium* (0,2 %), nakon čega dolazi do pada peroksidazne aktivnosti.

Intenzitet lipidne peroksidacije je bio statistički značajno veći u listovima tretiranih biljaka u svim tretmanima. Najveći sadržaj MDA je izmeren u listovima crne pomoćnice tretirane nižom koncentracijom, nakon 120 h.

Do statistički značajnog porasta aktivnosti CAT u korenju crne pomoćnice dovele su obe ispitivane koncentracije.

Obe primenjene koncentracije inhibirale su SOD aktivnost nakon 24 h, dok je nakon 120 h izmerena aktivnost u listovima tretiranih biljaka bila veća u odnosu na kontrolnu grupu biljaka.

Pad aktivnosti zabeležen je i za GPx nakon 120 h izloženosti korena uticaju 0,1 % koncentracije, dok 0,2 % koncentracija vodenog ekstrakta *C. menthifolium* nije dovela do statistički značajne promene aktivnosti GPx. Statistički značajan porast aktivnosti PPx u tretmanu sa nižom koncentracijom zabeležen je nakon 72 h, dok je tretman sa većom koncentracijom doveo do statistički značajno veće aktivnosti PPx nakon 120 h.

Značajniji porast intenziteta lipidne peroksidacije zabeležen je u korenovima biljaka crne pomoćnice tretiranih vodenim rastvorom *C. menthifolium* nakon 120 h.

*Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenu tatule*

Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u biljkama tatule tretiranih vodenim ekstraktom *C. menthifolium* su prikazani u **Tabeli 23**. Na statistički značajno povećanje aktivnosti SOD u listovima tatule uticala je 0,1 % koncentracija vodenog ekstrakta *C. menthifolium*.

Nasuprot tome, ista koncentracija je prouzrokovala inhibiciju aktivnosti CAT. Tretman sa većom koncentracijom nije imao uticaj na aktivnost enzima SOD nakon 120 h, dok je nakon istog vremenskog perioda zabeležena statistički značajna inhibicija aktivnosti CAT.

Značajno povećanje aktivnosti PPx zabeleženo je nakon 120 h u tretmanu sa 0,2 % vodenim ekstraktom *C. menthifolium*, dok je u tretmanu sa nižom koncentracijom isti efekat postignut nakon 72 h. Na statistički značajan porast aktivnosti GPx uticale su obe primenjene koncentracije.

Ni jedna od primenjenih koncentracija vodenog ekstrakta *C. menthifolium* nije dovela do povećane akumulacije MDA u listovima tatule.

Primenjene koncentracije vodenog ekstrakta *C. menthifolium* indukovale su povećanu aktivnost enzima CAT koja je bila skoro četiri puta veća u korenu tretiranih biljaka u poređenju sa kontrolnom grupom. Zabeležena je i dva puta veća aktivnost SOD u korenu tretiranog korova nakon 72 h.

Primena vodenog rastvora *C. menthifolium* koncentracije 0,1 % dovela je do statistički značajne modulacije aktivnosti peroksidaza. Nakon 24 h izmerena aktivnost oba enzima (GPx i PPx) je bila manja u tretiranim korenovima u odnosu na kontrolu, dok je nakon 120 h zabeležen statistički značajan porast aktivnosti GPx i PPx u tretiranim korenovima. Koncentracija vodenog ekstrakta *C. menthifolium* od 0,2 % je dovela do povećanja aktivnosti GPx i PPx nakon 24 h, nakon čega je zabeležen pad aktivnosti. Tako da se izmerene vrednosti GPx nisu razlikovale od vrednosti izmerenih u korenu biljaka kontrolne grupe nakon 120 h, dok je za PPx detektovana manja aktivnost u korenu tretiranih biljaka.

Koren tatule se pokazao osetljivijim na uticaj primenjenih koncentracija vodenih ekstrakata *C. menthifolium* na sadržaj MDA u odnosu na listove. U tretiranim korenovima je zabeležena veća akumulacija MDA u poređenju sa netretiranim korenovima posle 72 h i 120 h, dok u listovima nije došlo do statistički značajnih promena u sadržaju MDA.

*Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenu klasače*

U **Tabeli 24.** su prikazani rezultati uticaja vodenog ekstrakta *C. menthifolium* na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA u listu i korenu korova klasače. U listovima klasače, pod uticajem 0,1 % vodenog ekstrakta *C. menthifolium* nije došlo do statistički značajnih promena u aktivnosti CAT. Tretman vodenim rastvorom *C. menthifolium* koncentracije 0,2 % je doveo do statistički značajne indukcije ovog enzima 120 h nakon tretmana.

Aktivnost SOD je bila veća u listovima tretiranih korova posle 72 h izloženosti uticaju ekstrakata, pri čemu je najveća aktivnost zabeležena u tretmanu sa 0,2 % ekstraktom nakon 120 h.

Tretman sa obe primjenjene koncentracije vodenog ekstrakta *C. menthifolium* izazvao je statistički značajan porast aktivnosti GPx 72 h nakon tretmana. Tokom čitavog eksperimentalnog perioda aktivnost PPx je bila ujednačena između eksperimentalnih grupa. Jedino povećanje aktivnosti ovog enzima izmereno je nakon 120 h nakon tretmana sa većom primjenjom koncentracijom vodenog rastvora *C. menthifolium* (0,2 %).

Do akumulacije MDA dolazi nakon 72 h nakon tretmana, međutim, nakon 120 h nema statistički značajne razlike u sadržaju MDA između tretiranih i kontrolnih biljaka.

U korenu klasače statistički značajan porast aktivnosti CAT zabeležen je 72 h nakon tretmana za obe primjenjene koncentracije, kada je izmerena šest puta veća aktivnost.

Praćenjem aktivnosti SOD uočava se porast aktivnosti tokom vremena u tretmanu sa nižom koncentracijom vodenog ekstrakta *C. menthifolium* (0,1 %), tako da je najveća aktivnost ovog enzima zabeležena nakon 120 h. Nasuprot tome u tretmanu sa većom koncentracijom najveća aktivnost SOD izmerena je nakon 72 h, nakon čega je zabeležen pad superoksidazne aktivnosti, tako da se aktivnost SOD nije statistički značajno razlikovala od kontrole nakon 120 h.

Inhibicija aktivnosti zabeležena je i za GPx za obe koncentracije vodenog rastvora *C. menthifolium* sve vreme tokom trajanja eksperimenta. Na aktivnost PPx veći uticaj je imala veća koncentracija koja dovodi do inhibicije aktivnosti nakon 120 h.

Ni jedna od primjenjenih koncentracija vodenog ekstrakta *C. menthifolium* nije dovela do povećane akumulacije MDA u korenu ove korovske biljke.

*Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenu paprike*

Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u biljkama paprike tretiranih vodenim ekstraktom *C. menthifolium* su prikazani u **Tabeli 25**. Pod uticajem vodenog ekstrakta *C. menthifolium* aktivnost CAT se statistički značajno povećala u listovima i korenu paprike nakon 120 h, pri čemu je veća koncentracija (0,2 %) dovela do većeg povećanja aktivnosti ovog enzima antioksidativne zaštite. Ista promena aktivnosti zabeležena je i za SOD u listovima paprike, dok je u korenu došlo do inhibicije superoksidazne aktivnosti 120 h nakon tretmana.

Inhibicija aktivnosti GPx i PPx je izmerena u listovima paprike nakon 24 h pod uticajem obe ispitane koncentracije vodenih ekstrakata. Međutim, nakon 120 h zabeležen je statistički značajan porast aktivnosti ovih enzima.

Koncentracija izmerenog MDA povećala se u listovima paprike tretirane sa 0,2 % vodenim ekstraktom *C. menthifolium* 72 h i 120 h nakon tretmana, dok u tretmanu sa manjom koncentracijom nije došlo da statistički značajne promene u sadržaju MDA.

U korenu paprike tretirane sa 0,1 % vodenim ekstraktom *C. menthifolium*, zabeležen je pad aktivnosti enzima GPx i PPx 24 h i 72 h nakon tretmana. U tretmanu sa 0,2 % koncentracijom vodenog rastvora *C. menthifolium* inhibicija navedenih enzima je zabeležena nakon 24 h i 72 h. Porast aktivnosti uočen je nakon 120 h, kada je zabeležena veća aktivnost enzima PPx u tretiranim korenovima paprike u odnosu na kontrolu, dok se aktivnost GPx nije statistički značajno razlikovala u odnosu na kontrolu.

Tretman sa 0,1 % koncentracijom vodenog ekstrakta *C. menthifolium* izazvao je statistički značajan porast aktivnosti SOD nakon 72 h i 120 h, dok je u tretmanu sa 0,2 % koncentracijom zabeležen porast aktivnosti u prvih 72 h, a nakon 120 h je zabeležena inhibicija aktivnosti SOD.

Statistički značajne promene u sadržaju MDA uočene su u tretmanu sa većom koncentracijom (0,2 %) nakon 72 h i 120 h.

*Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listu i korenu soje*

U **Tabeli 26.** su prikazani rezultati uticaja vodenog ekstrakta *C. menthifolium* na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA u listu i korenu soje. U listovima soje, pod uticajem vodenog ekstrakta *C. menthifolium*, nije došlo do statistički značajnih promena u aktivnosti enzima CAT i PPx.

Aktivnost SOD je bila povećana u odnosu na kontrolu u prvih 24 h, nakon čega je došlo do izjednačavanja aktivnosti SOD u listovima tretiranih i netretiranih biljaka.

Tretman sa 0,1 % koncentracijom vodenog ekstrakta *C. menthifolium* izazvao je statistički značajan porast aktivnosti GPx 72 h i 120 h nakon tretmana.

Do akumulacije MDA dolazi nakon 72 h, dok nakon 120 h nema statistički značajne razlike u sadržaju MDA između tretiranih i kontrolnih biljaka.

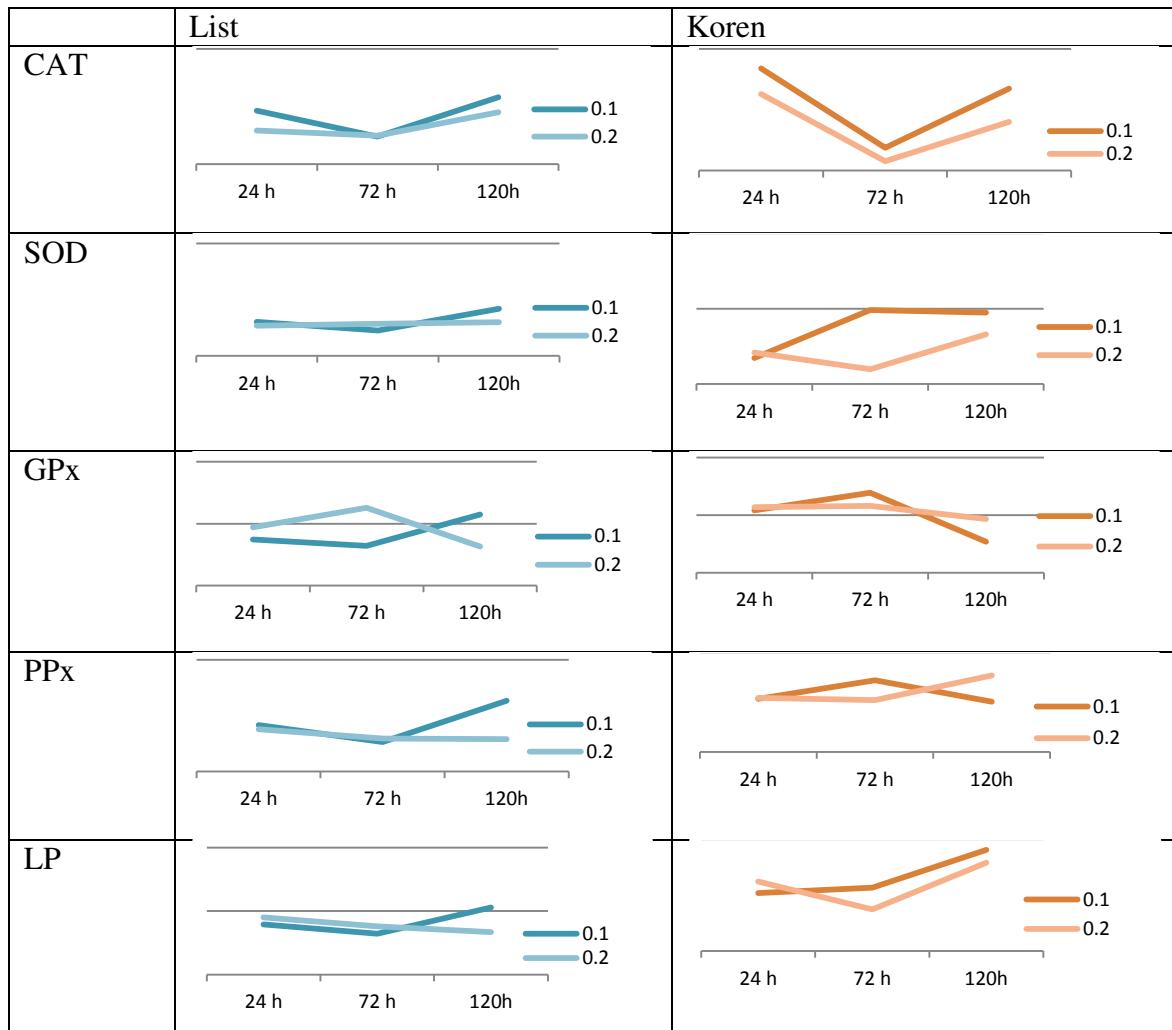
U korenu soje statistički značajan porast aktivnosti CAT zabeležen je u tretmanu sa nižom koncentracijom (0,1 %) vodenog ekstrakta *C. menthifolium*, 120 h nakon tretmana.

Praćenjem SOD uočava se pad aktivnosti ovog enzima nakon 120 h u tretmanima sa većom koncentracijom (0,2 %).

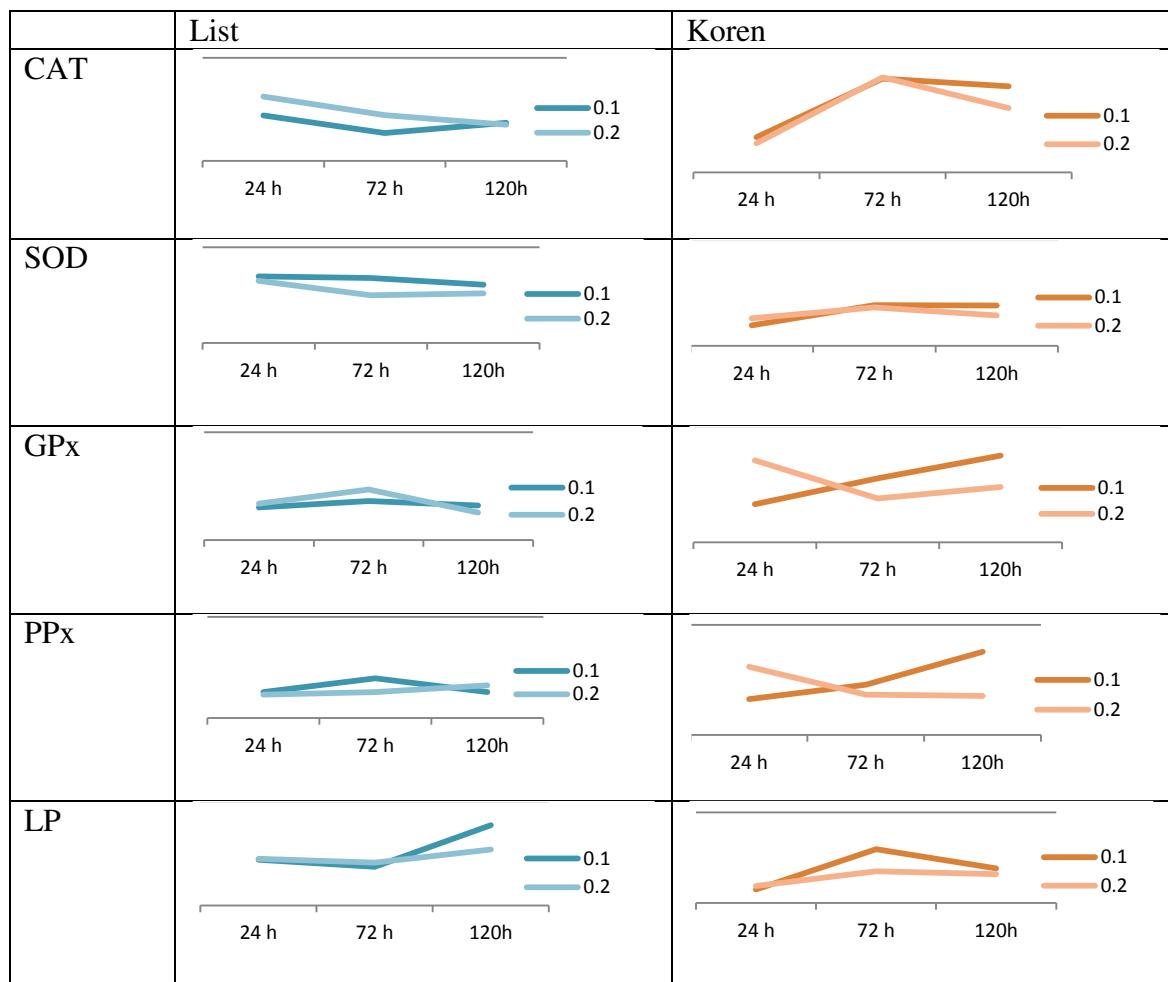
Nakon 120 h vodenog ekstrakta *C. menthifolium* je doveo do inhibicije aktivnosti GPx. Pri tretmanu sa koncentracijom od 0,1 % aktivnost ovog enzima je bila tri puta niža u odnosu na biljke kontrolne grupe. Na aktivnost PPx veći uticaj je imala koncentracija od 0,2 % koja dovodi do statistički značajne inhibicije aktivnosti nakon 120 h.

Značajan porast intenziteta lipidne peroksidacije zabeležen je u korenu soje tretirane sa većom koncentracijom ekstrakta nakon 120 h.

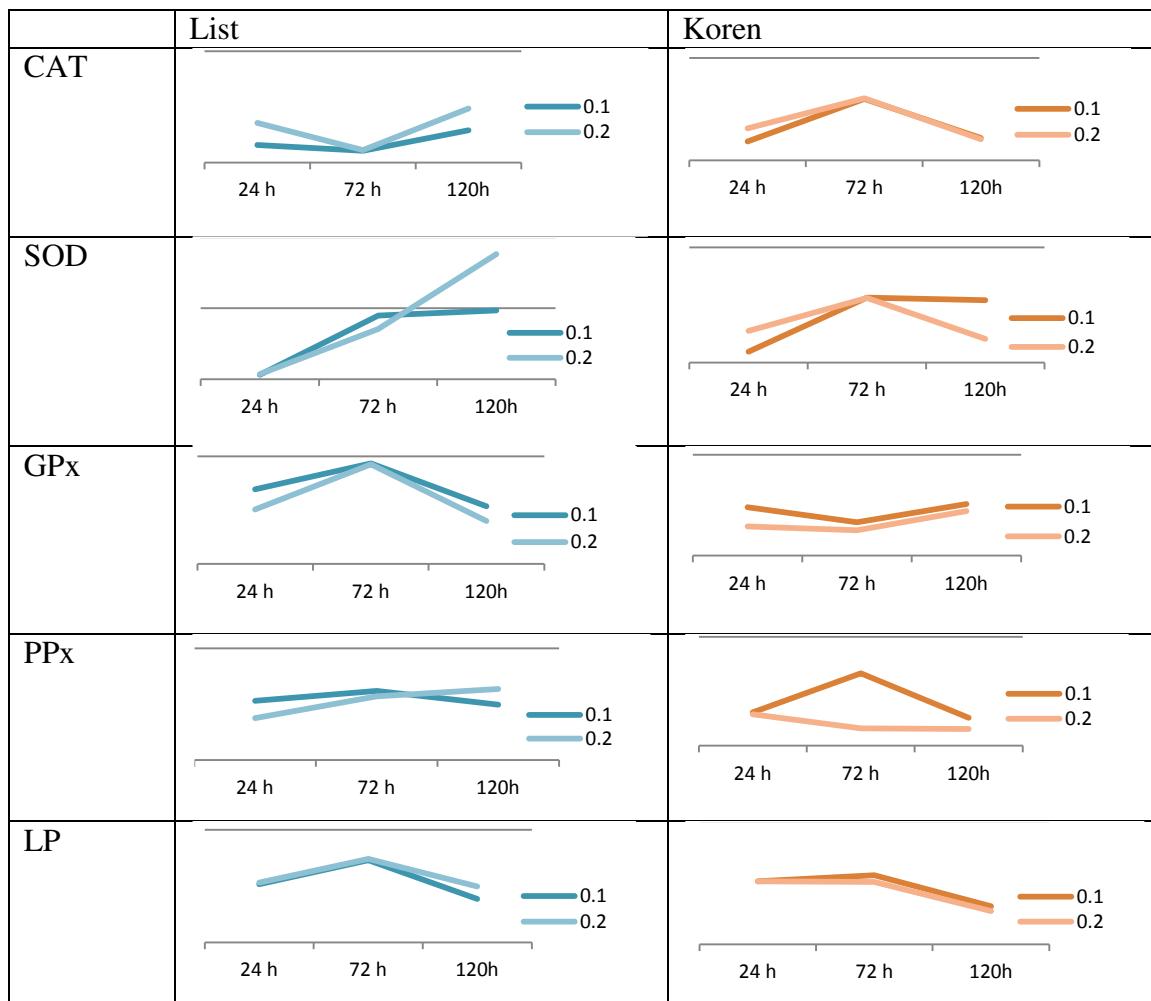
**Tabela 22.** Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthifolium* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima an tioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu crne pomoćnice.



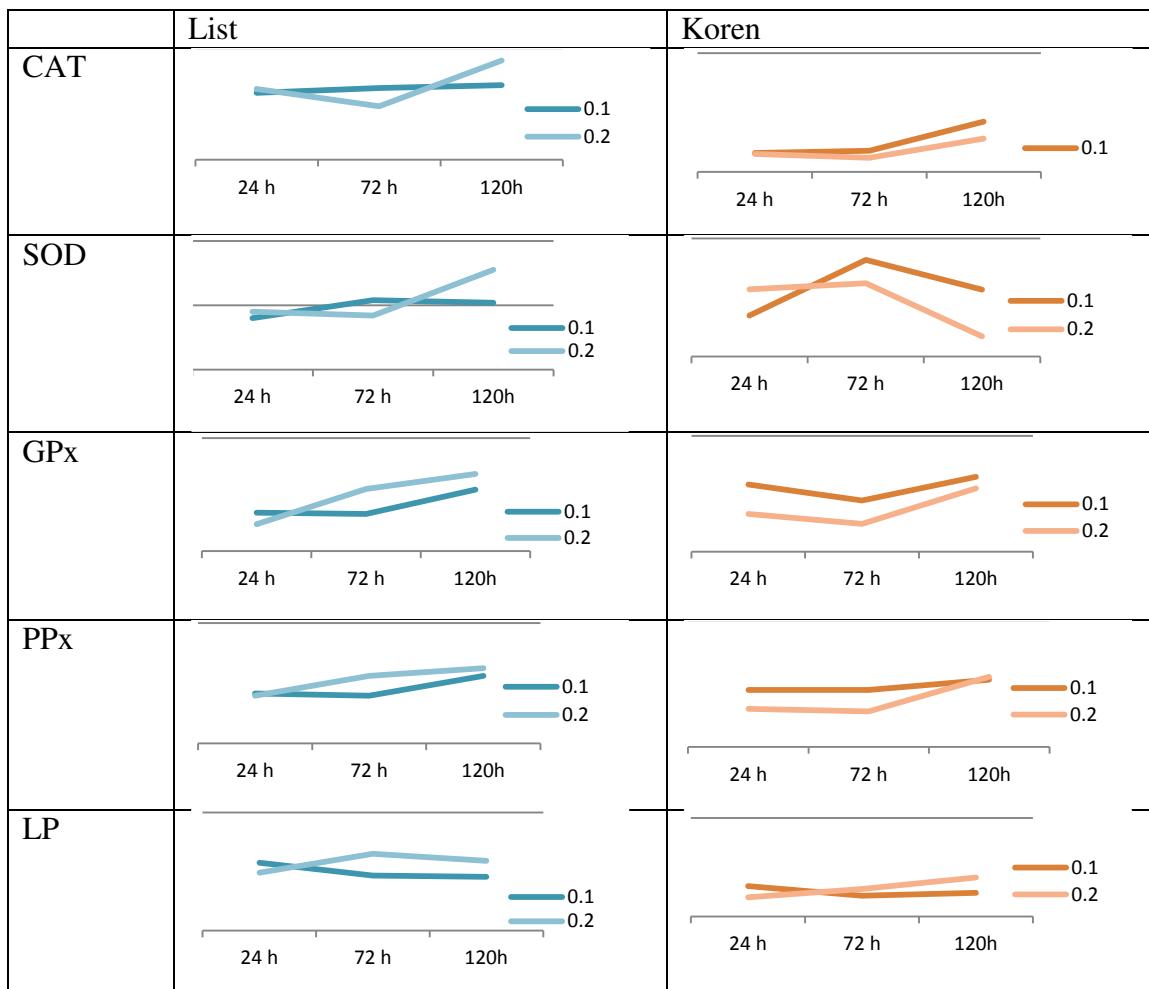
**Tabela 23.** Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthifolium* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu tatule.



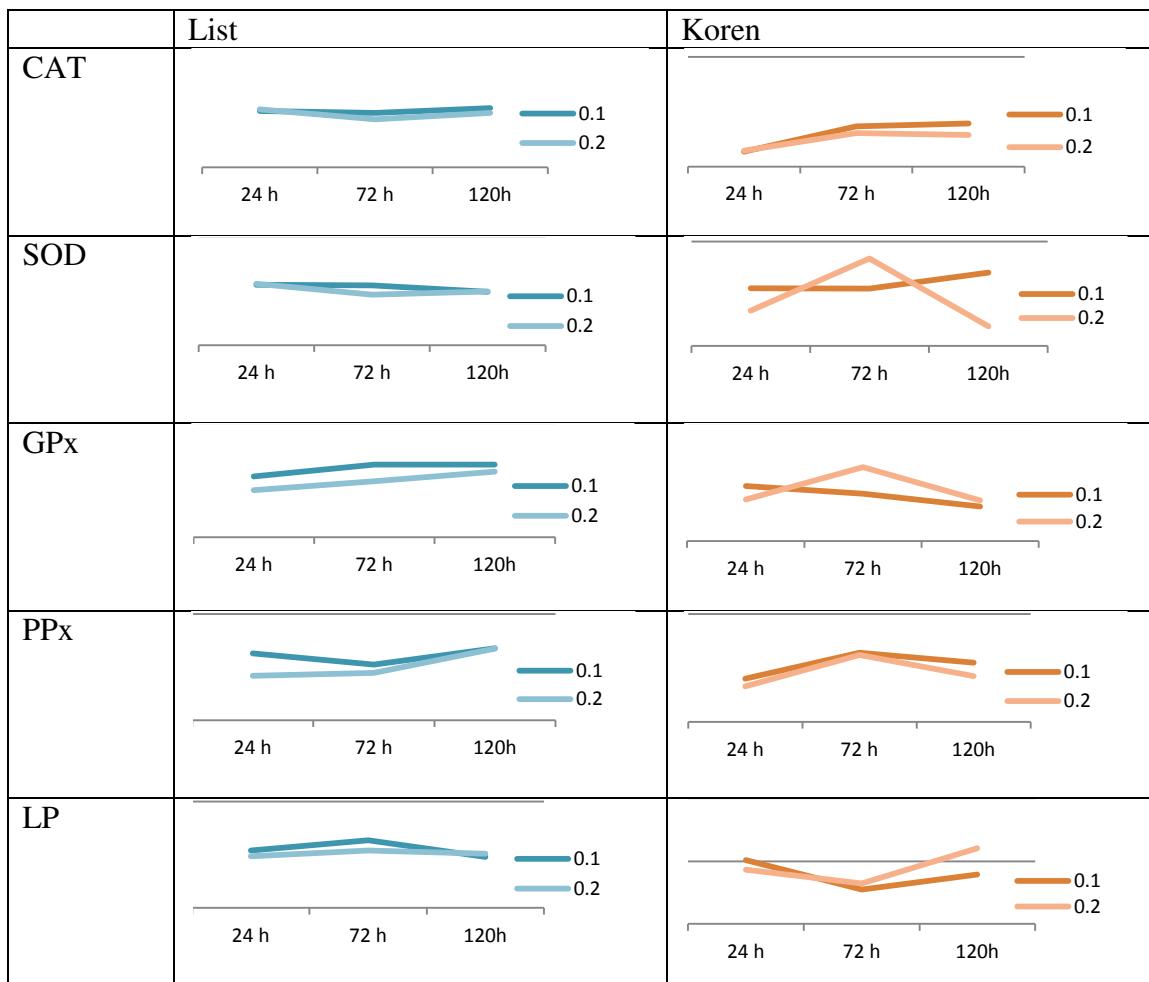
**Tabela 24.** Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthaefolium* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu klaseče.



**Tabela 25.** Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthaefolium* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu paprike.



**Tabela 26.** Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthaefolium* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx uzorka u odnosu na kontrolu i na sadržaj MDA u listu i korenu soje.



Alelohemikalije mogu direktno uticati na veći broj fizioloških i biohemijskih procesa, a samim tim i na rast i razviće biljnih organa (Weir i sar., 2004; Safari i sar., 2010). Procena alelopatskog uticaja jedne biljne vrste na rast i razvoj druge može da se utvrdi merenjem ukupnog procenta klijavosti semena ili merenjem dužine korena i klica (Šćepanović i sar., 2007). Alelopatski efekti biljaka familije Lamiaceae su ispitivani u većem broju studija. Safari i sar. (2010) su ustanovili da vodeni ekstrakti biljke *Thymus kotschyanus* (Lamiaceae) ispoljavaju dozno-zavisne alelopatske efekte na klijanje semena i rast klijanaca *Bromus tomentellus*. Takođe, Bajalan i sar. (2013) su ispitivali dejstvo različitih koncentracija vodenog ekstrakta žalfije (*Salvia officinalis* (Lamiaceae)) na klijanje semena štira (*Amaranthus retroflexus*) i ustanovili da primjenjeni ekstrakti pokazuju snažan inhibitorni efekat na klijavost semena. Ispitivanjem alelopatskog uticaja vodenog ekstrakta *Lavandula officinalis* (Lamiaceae), ustanovljeno je da pored toga što postoji inhibicija klijanja semena *Amaranthus retroflexus*, postoji i inhibitorni efekat na dužinu korena i masu svog biljnog materijala (Akbarzadeh i sar., 2013).

Primena alelohemikalija kod tretiranih biljaka izaziva nekontrolisanu produkciju i akumulaciju reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) (Inze i Van Montagu, 1995; Weir i sar., 2004; Gniazdowska i Bogatek, 2005), aktivirajući ćeljske antioksidacione sisteme koji imaju funkciju da ublaže oksidativni stres (Hammond-Kosack i Jones, 1996; Gniazdowska i Bogatek, 2005; De Albuquerque i sar., 2011). Povećana produkcija reaktivnih vrsta kiseonika može da dovede do povećane aktivnosti enzima antioksidativnog odgovora poput superoksid-dizmutaze (SOD), gvajakol-peroksidaze (GPx) i dr. (Mandal i sar., 2013), koji imaju važnu ulogu u zaštiti ćelije (Kuthan i sar., 1986). Sa druge strane, prekomerna akumulacija vodonik-peroksida može da dovede i do inhibicije enzimske aktivnosti, pri čemu biljka ostaje nezaštićena tj. podložna oksidativnom stresu prouzrokovanim slobodnim radikalima (Mandal i sar., 2013). Sunmonu i Van Staden (2014) su utvrdili da vodeni ekstrakti biljaka *Vachellia sieberiana*, *Albizia adianthifolia* i *Rapanea melanophloeos* u početku dovode do povećanja superoksidazne, katalazne i peroksidazne aktivnosti u sadnicama salate. Međutim, duže izlaganje sadnica salate uticaju navedenih ekstrakata dovodi do inhibicije enzimske aktivnosti, koja je bila dozno zavisna. I u rezultatima prikazanim u ovoj disertaciji se uočava (ponekad) porast, sa kojim sledi postepeni pad aktivnosti, kao npr. aktivnost CAT u listu i korenju crne pomoćnice nakon tretmana ekstraktom *S. montana*, aktivnost CAT u listu tatule nakon tretmana ekstraktom *S. montana*,

aktivnost CAT u listu crne pomoćnice nakon tretmana ekstraktom *S. sclarea* i aktivnost CAT u listu i korenui paprika nakon tretmana ekstraktom *S. sclarea*.

Formirani slobodni radikali su inicijatori lipidne peroksidacije, lančane reakcije u kojoj dolazi do oksidacije membranskih lipida i njihove dekompozicije pri čemu se stvara veliki broj visokoreaktivnih intermedijera kao što su alkil-radikali, peroksi- i alkoxi-radikali i lipidni hidroperoksiđi. Jedan od krajnjih proizvoda lipidne peroksidacije je malondialdehid (MDA), čije određivanje sadržaja služi za merenje intenziteta lipidne peroksidacije (Štefan i sar., 2007). Pojedini autori ukazuju na to da različite koncentracije alelohemikalija mogu dovesti do akumulacije MDA (Ding i sar., 2007; Haddadchi i Gerivani, 2009). Neke alelohemikalije mogu da dovedu do brze depolarizacije ćelijske membrane i promene njene permeabilnosti (Devi i Prasad, 1996; Zeng i sar., 2001; Yu i sar., 2003).

Kako je odgovor biljke na abiotički stres u bliskoj vezi sa promenom enzimske aktivnosti u njenim tkivima i organima (Sunmonu and Van Staden, 2014), promena aktivnosti enzimâ i intenzitet lipidne peroksidacije su glavni markeri oksidativnog stresa (Taulavuori, 2001; Cao i sar., 2011). Oracz i sar. (2007) su ustanovili da ekstrakt suncokreta (*Helianthus annuus*) dovodi do značajnog povećanja aktivnosti enzimâ antioksidativne zaštite kod slaćice (*Sinapis alba*). Istraživanja Bogateka i sar. (2006) su pokazala da ekstrakti suncokreta prouzrokuju oksidativni stres povećavajući koncentraciju vodonik-peroksida u tkivima slaćice, što prati povećan intenzitet lipidne peroksidacije. Ding i sar. (2007) su ustanovili da cimetna kiselina izaziva oksidativni stres, povećavajući koncentraciju superoksid-radikala i vodonik-peroksida u korenui krastavca, što dovodi do povećane aktivnosti enzima SOD, CAT i GPx.

Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih u ovoj disertaciji uočava se da su vodenii ekstrakti ispitivanih samoniklih biljaka familije Lamiaceae različito uticali na aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA u listovima i korenovima tretiranih test-biljaka.

Primenjeni vodenii ekstrakti *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* uglavnom su dovodili do povećane aktivnosti SOD u listovima i korenovima tretiranih biljaka, naročito nakon 120 h. Izuzetak je vodenii ekstrakt *S. sclarea*, jer je utvrđeno da u listovima i korenovima tatule i paprike koji su izloženi dejstvu vodenog ekstrakta ove biljke dolazi do inhibicije SOD aktivnosti. Prepostavka je da su alelohemikalije (sekundarni biomolekuli) prisutne u vodenim ekstraktima dovele do povećanja koncentracije ROS u tkivima lista i korena tretiranih test biljaka, što je dalje

uslovilo povećanu aktivnost SOD. Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjima Haddadchi i Gerivani (2009), koji su pokazali da fenolni ekstrakt korena uljane repice (*Brassica napuse* L.) povećava aktivnost superoksid-dizmutaze i peroksidaze u korenčićima soje.

Peroksidazna aktivnost 120 h nakon tretmana sa vodenim ekstraktima *S. montana* i *S. sclarea* je bila ista ili manja u odnosu na kontrolu u svim tretiranim test biljkama. Nasuprot tome, vodeni ekstrakt *C. menthifolium* je uticao na povećanje aktivnosti PPx i GPx u listovima i korenju crne pomoćnice, tatule i paprike.

Za razliku od drugih ispitivanih biljaka, aktivnost katalaze u korenju soje tretiranog vodenim ekstraktima je bila ista kao i u kontroli nakon 120 h u tretmanu sa ekstraktima biljaka *S. montana* i *S. sclarea*. To je u skladu sa istraživanjima Haddadchi i Gerivani (2009) koji su pokazali da fenolni ekstrakti uljane repice ne utiču na aktivnost CAT u korenčićima soje.

Na osnovu dobijenih rezultata za vodene ekstrakte *S. montana* primećuje se da su dve primenjene koncentracije različito uticale na intenzitet lipidne peroksidacije u listovima i korenovima tretiranih biljaka. U korenovima gajenih biljaka, pri tretmanu sa 0,1 % vodenim ekstraktom, došlo je do povećanja sadržaja MDA, dok pri tretmanu sa 0,2 % vodenim ekstraktom nije došlo do statistički značajnih promena u koncentraciji MDA. U korenovima crne pomoćnice i tatule obe primenjene koncentracije su dovele do akumulacije MDA, pri čemu je veći sadržaj akumuliran u korenju tatule što ukazuje na njenu manju otpornost prema vodenom ekstraktu *S. montana* u poređenju sa crnom pomoćnicom. Veća akumulacija MDA zabeležena je u korenju tatule nego u listovima, što može da se objasni direktnom izloženošću korenova uticaju alelohemikalija prisutnim u rastvoru (Sunmonu i Van Staden, 2014). To je razlog zbog kojeg korenovi ispoljavaju veću osetljivost prema alelohemikalijama od listova (Omezzine i sar., 2014). Koren klasače je pokazao veću rezistentnost prema vodenom ekstraktu *S. montana*. Inhibirana aktivnost peroksidaza u njemu nije dovela do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije i do oksidativnog stresa.

Obe primenjene koncentracije vodenih ekstrakata *C. menthifolium* su dovele do akumulacije MDA u korenovima crne pomoćnice i tatule. Veći sadržaj MDA akumuliran je u korenju tatule što ukazuje na njenu manju otpornost prema vodenom ekstraktu *C. menthifolium* u poređenju sa crnom pomoćnicom. Vodeni ekstrakt *C. menthifolium* je ispoljio isti efekat na crnu pomoćnicu i tatulu kao i vodeni ekstrakt *S. montana*. Iako su se korenovi tatule pokazali kao najosetljiviji prema vodenom ekstraktu *C. menthifolium*, gde je sadržaj MDA dostizao i do tri

puta veće vrednosti u odnosu na kontrolu, u listovima nije došlo do statistički značajne razlike. Na osnovu toga se zaključuje da različita tkiva iste biljke, a naručito dve različite biljne vrste aktiviraju različite komponente antioksidativnog sistema i u različitoj meri prilikom dejstva istog stresora, što je u skladu sa literaturnim podacima (Dmitrović, 2012). Kod gajenih biljaka, povećan sadržaj MDA zabeležen je samo u korenovima tretiranih biljaka sa 0,2 % koncentracijom vodenog ekstrakta *C. menthifolium* 120 h nakon tretmana, dok u tretmanu sa 0,1 % vodenim ekstraktom nije došlo do ikakvih statistički značajnih promena u koncentraciji MDA.

Kafena kiselina stimuliše proces lipidne peroksidacije, indukujući oksidativni stres u biljkama. Tako je povećanje koncentracije MDA kao krajnjeg proizvoda lipidne peroksidacije i povećanje sadržaja vodonik-peroksida usled izlaganja uticaju kafene kiseline uočeno u korenju pasulja (Singh i sar., 2009) i kupusa (Singh i sar., 2013). I za druge fenolne komponente je pokazano da imaju negativan uticaj na rast i razvoj susednih biljaka. Smatra se da je za inhibitorni uticaj žitarica na rast nekih korovskih vrsta odgovorno prisustvo *p*-hidroksibenzoeve, vanilinske, *p*-kumarne, siringinske i ferulne kiseline (Wu i sar., 2000). Po istraživanjima Stupnicka-Rodzynkiewicz i sar. (2006) najjači inhibitorni efekat na korov konicu (*Galinsoga parviflora*) pokazale su *p*-hidroksibenzoeva, protokatehinska i vanilinska kiselina od osam ispitanih fenolnih jedinjenja (hlorogenska, ferulna, *p*-hidroksibenzoeva, *p*-kumarna, protokatehinska, salicilna, *trans*-cimetna i vanilinska kiselina).

Kada se uporede efekti vodenih ekstrakata *S. sclarea* na sadržaj MDA u listovima i korenovima tretiranih biljaka, uočava se povećani sadržaj MDA nakon 120 h jedino u listovima i korenju crne pomoćnice. Preostale četiri tretirane biljke pokazale su veću otpornost prema vodenom ekstraktu *S. sclarea* na promenu sadržaja MDA, iako je i kod njih uočena promena enzimske aktivnosti. Dobijeni rezultati potvrđuju da su različite biljne vrste različito osetljive na iste ekstrakte tj. alelohemikalije prisutne u njima.

Ukoliko se izuzmu rezultati dobijeni za klasaču, može se zaključiti da vodiči ekstrakti *S. montana* i *C. menthifolium* poseduju alelopatski potencijal prema tretiranim korovima. Međutim, neophodna su dalja istraživanja da bi se utvrdilo da li poseduju herbicidno dejstvo. Pokazano je da se kao prirodni herbicidi mogu koristiti vodiči ekstrakti šećerne trske i sunčokreta (Soltys i sar., 2013). Iako se ne može očekivati da se upotreboom alelopatije reši problem suzbijanja korova u potpunosti, alelopatija ima izuzetan potencijal kao komponentu ukupne strategije u borbi protiv korova i kao značajan korak u razvoju održivih sistema poljoprivrede sa smanjenom

upotreboom sintetičkih herbicida (Kovačević i Momirović, 2000). Kombinovanjem biljnih ekstrakata sa manjom koncentracijom sintetičkih herbicida postiže se mnogo bolja kontrola rasta korova nego primenom propisane doze čistog sintetičkog herbicida (Farooq i sar., 2011).

### **5.3. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata i etarskih ulja odabranih biljnih vrsta familije Lamiaceae**

Lekovito bilje predstavlja bogat izvor potencijalnih prirodnih pesticida, posebno insekticida (Fakoorziba i sar., 2014). Biljni ekstrakti privlače veliku pažnju istraživača kao ekološki prihvatljivija alternativa za suzbijanje štetočina. Prirodni proizvodi su znatno manje toksični od sintetičkih insekticida, biorazgradivi su i odlikuju se ciljnom specifičnošću (Nguyen i sar., 2013).

Radi utvrđivanja insekticidnog efekta odabranih biljnih vrsta familije Lamiaceae – *S. montana*, *S. sclarea* i *C. menthifolium*, u ovom radu je ispitivan efekat vodenih ekstrakata odabranih biljaka na belu leptirastu vaš i žitnog kukuljičara, kao i etarskih ulja na kestenjastog brašnara i pirinčanog žiška.

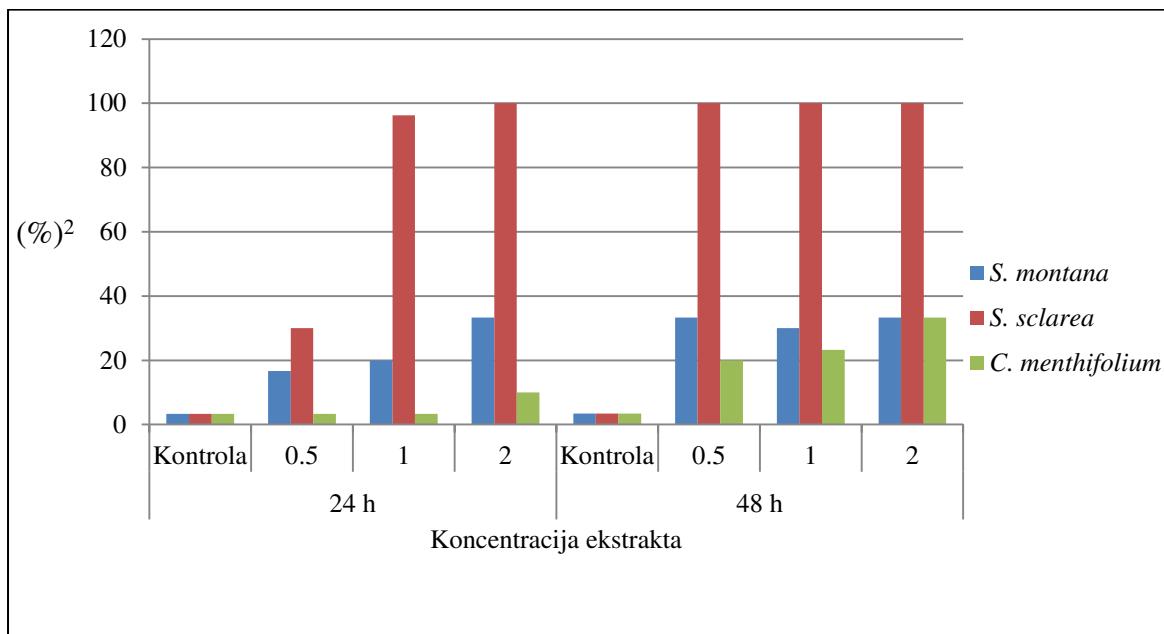
#### **5.3.1. Insekticidno dejstvo vodenih ekstrakata *S. montana*, *S. sclarea* i *C. menthifolium* na žitnog kukuljičara**

Žitni kukuljičar, *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) je tipična primarna skladišna štetočina, koja pravi velike štete na uskladištenim zrnima žita (Oppert i Morgan, 2013). Osim pšenice ovaj insekt oštete i kukuruz, ječam, pirinač, pasulj, a može se razvijati i u brašnu. Napada i suve proizvode, sa niskom vlažnošću, te se ni sušenjem ne može sprečiti njena pojava i razmnožavanje.

Efekat vodenih ekstrakata na intenzitet ishrane i mortalitet odraslih jedinki žitnog kukuljičara ispitana je primenom biotesta za kontaktno i digestivno dejstvo.

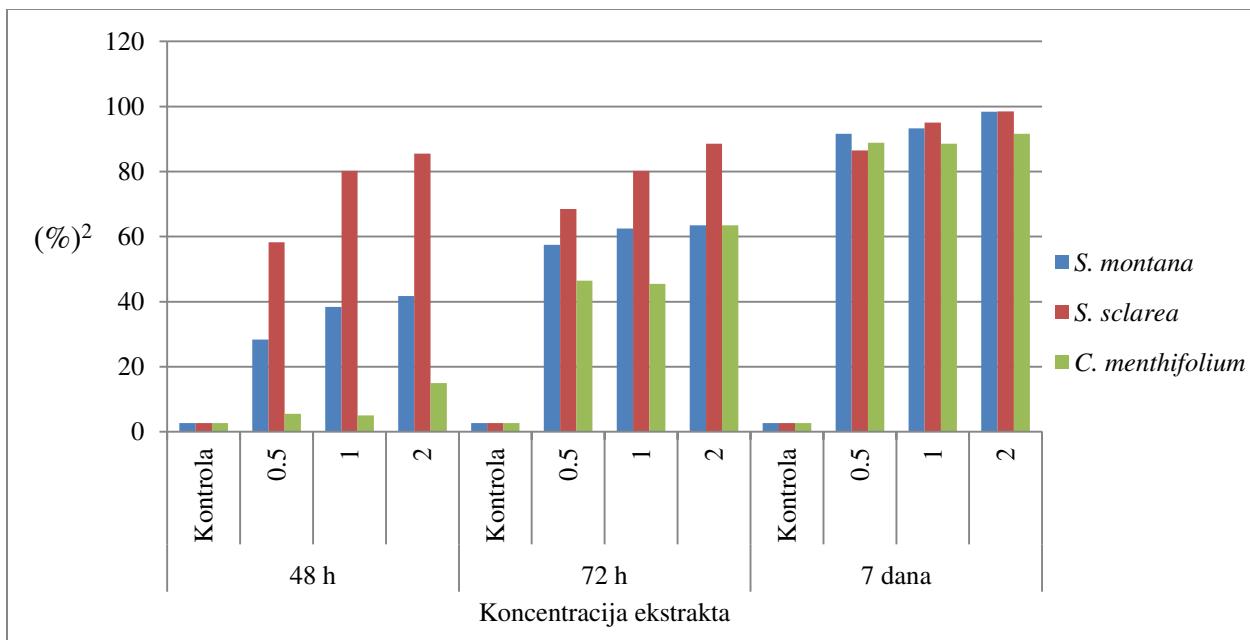
U testu kontaktne toksičnosti vodenih ekstrakata *S. montana*, *S. sclarea* i *C. menthifolium* na žitnog kukuljičara (**Histogram 7.**), nakon 24 h najjači toksični efekat ispoljile su dve koncentracije vodenog ekstrakta *S. sclarea* (1 % i 2 %) sa stopom smrtnosti preko 95 %. Smrtnost od oko 30 % postignuta je u tretmanu vodenim ekstraktom *S. montana*, dok je

najmanju aktivnost ispoljio vodeni ekstrakt *C. menthifolium* (koncentracija od 2 % prouzrokovala je smrtnost od 10 %). Nakon 48 h, sve tri primenjene koncentracije vodenog ekstrakta *S. sclarea* prouzrokovale su smrtnost insekata od 100 %. Ekstrakti *S. montana* i *C. menthifolium* su takođe doveli do statistički značajno višeg mortaliteta (20,0–33,3 %) u poređenju sa kontrolom (3,4 %).



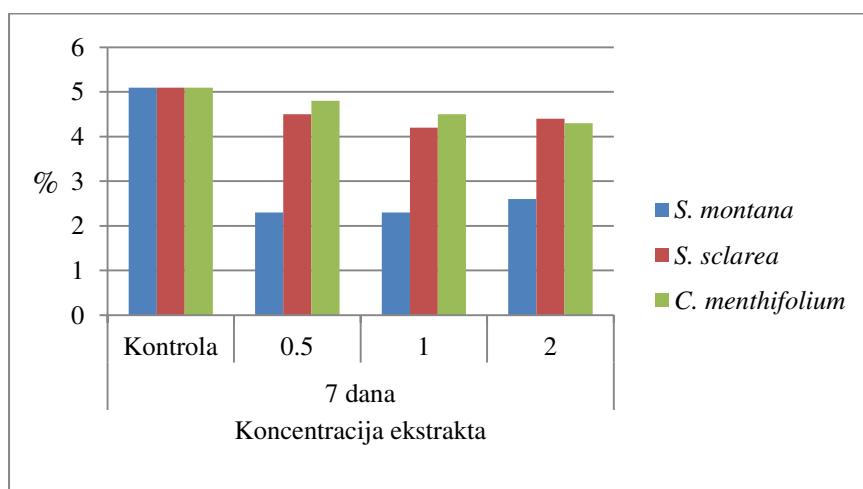
**Histogram 7.** Smrtnost odraslih insekata žitnog kukuljičara tretiranih vodenim ekstraktima poznatih koncentracija (0,5 %, 1 % i 2 %) nakon 24 h i 48 h kontaktne ekspozicije.

U testu kontaktno-digestivnog dejstva vodenih ekstrakata *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* na žitnog kukuljičara, nezavisno od vremena ekspozicije, statistički najvišu smrtnost u poređenju sa kontrolom (2,7 %) izazvali su vodeni ekstrakti *S. sclarea* primjenjeni u sve tri koncentracije (56,7–98,5 %) (**Histogram 8.**). Već nakon 48 h, pomenuti ekstrakti su doveli do mortaliteta koji je statistički značajno veći u poređenju sa ostalim ekstraktima. Posle 72 h, stopa smrtnosti se povećala i u ostalim tretmanima, međutim, i dalje je bila najviša u tretmanima sa vodenim ekstraktima *S. sclarea* (68,5–88,5 %). Nakon 7 dana, ekstrakti svih biljaka nezavisno od primjenje koncentracije su ispoljili zadovoljavajući insekticidni efekat i izazvali mortalitet koji se kretao od 86,5 % do 98,5 %.



**Histogram 8.** Smrtnost odraslih insekata žitnog kukuljičara tretiranih vodenim ekstraktima poznatih koncentracija (0,5 %, 1 % i 2 %) nakon 48 h, 72 h i 7 dana kontaktno-digestivne ekspozicije.

Nakon 7 dana ekspozicije, merena je i količina konzumiranog zrna pšenice (**Histogram 9.**). Rezultati ukazuju da su u poređenju sa kontrolom, gde je pojedeno 5,1 % od ponuđene hrane, statistički značajno manje konzumirano u tretmanima vodenim ekstraktom *S. montana*, nezavisno od primenjene koncentracije (2,3–2,3 %), nasuprot tome, druge dve biljne vrste nisu izazvale značajnu inhibiciju ishrane (4,2–4,8 %).



**Histogram 9.** Konzumirana hrana nakon 7 dana zavisno od primenjenih vodenih ekstrakata poznatih koncentracija (0,5 %, 1 % i 2 %).

Na osnovu dobijenih rezultata primećuje se da u testu kontaktne toksičnosti 0,5 % i 1 % vodenih ekstrakti *C. menthifolium* nisu ispoljili insekticidni efekat, stopa smrtnosti se nije statistički značajno razlikovala od kontrole. Međutim, 2 % vodeni ekstrakt *C. menthifolium*, kao i vodeni ekstrakti *S. montana*, ispoljili su nakon 48 h slabiji toksični efekat. Najveću smrtnost jedinki u testu kontaktne toksičnosti prouzrokovao je vodeni ekstrakt *S. sclarea* već nakon 24 h. Nakon 48 h i 72 h kontaktne-digestivne ekspozicije, najjače insekticidno dejstvo je ispoljio vodeni ekstrakt *S. sclarea* u sve tri koncentracije (2 %, 1 % i 0,5 %). Nakon 7 dana, svi primjenjeni ekstrakti, u svim koncentracijama, su izazvali izuzetno visoku smrtnost, te se smatra da su imali dobro insekticidno dejstvo.

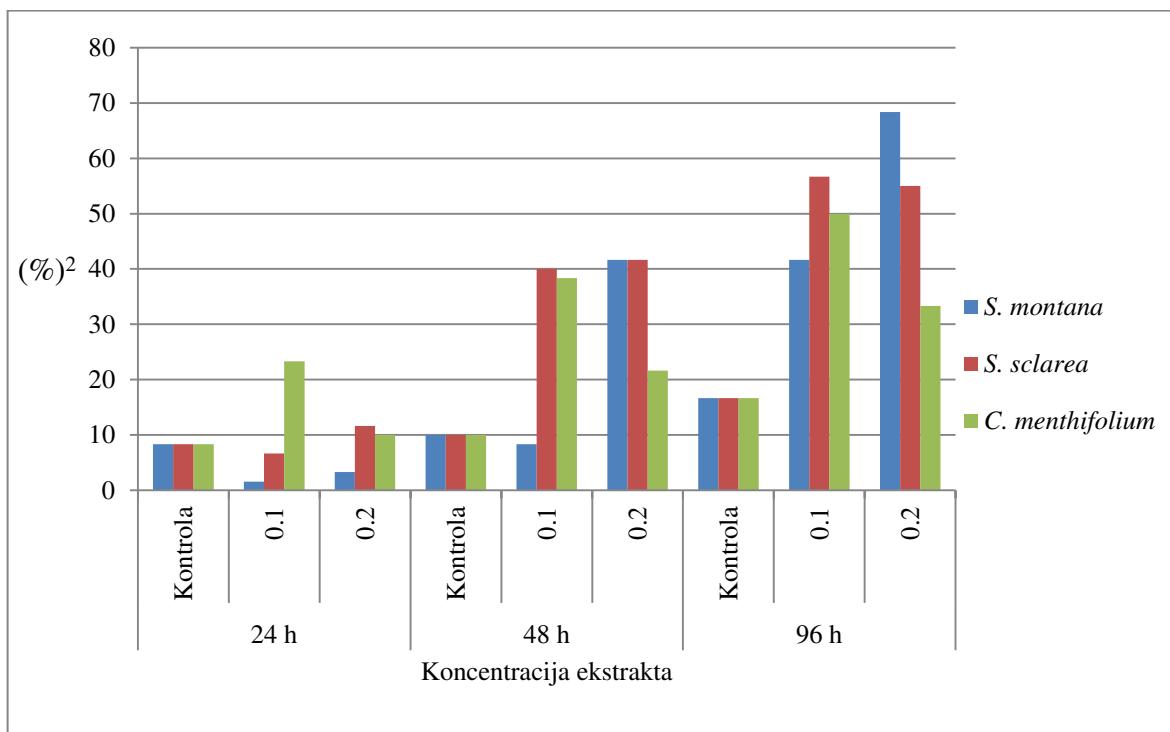
### **5.3.2. Insekticidno dejstvo vodenih ekstrakata *S. montana*, *S. sclarea* i *C. menthifolium* na belu leptirastu vaš**

Bela leptirasta vaš, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), je veoma značajan problem u povrtarskoj proizvodnji širom sveta. Ona sisaju biljni sok, usled čega biljke slabe i postaju podložne napadu bolesti (Marčić i sar., 2011). Najveći problem u suzbijanju bele leptiraste vaši je životni ciklus ovog insekta i preplitanje generacija tako da se na jednom listu mogu naći svi razvojni oblici.

Rezultati ispitivanja insekticidne aktivnosti vodenih ekstrakata *S. montana*, *S. sclarea* i *C. menthifolium* na belu leptirastu vaš prikazani su na **Histogramu 10**. Najjači toksični efekat ispoljio je 0,2 % vodeni ekstrakt *S. montana* sa stopom smrtnosti od 68,33 %, nakon 96 sati. Obe testirane koncentracije vodenog ekstrakta *S. sclarea* su nakon 96 h prouzrokovale smrtnost jedinki preko 50 %. Najmanju aktivnost je ispoljio vodeni ekstrakt *C. menthifolium*.

Razlika u ispoljenoj insekticidnoj aktivnosti vodenih ekstrakata može se objasniti prisustvom različitih biološki aktivnih jedinjenja u ekstraktima. Vodeni ekstrakti *S. montana* i *S. sclarea*, koji su ispoljili jaču insekticidnu aktivnost, sadrže u većoj količini kafenu kiselinu u poređenju sa ostalim kvantifikovanim jedinjenjima (*S. montana* – 78,17  $\mu\text{g g}^{-1}$ ; *S. sclarea* – 65,78  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), koja je u vodenom ekstraktu *C. menthifolium* znatno manje prisutna (13,87  $\mu\text{g g}^{-1}$ ). Dokazano je da kafena kiselina poseduje insekticidnu aktivnost (Harrison i sar., 2003; Pavela i sar., 2009). Smatra se da je važan deo odbrambenog mehanizma biljaka protiv mikroba, insekata i drugih predatora (Harrison i sar., 2003).

Pavela i sar. (2009), smatraju da je prisustvo kafene kiseline u *Impatiens parviflora* razlog insekticidne aktivnosti ove biljke na zelenu lisnu vaš. Ekstrakti *S. sclarea* deluju repellentno na kućne muve (Fakoorziba i sar., 2014) i inhibitorno na rast gljivica (Dellavalle i sar., 2011). I rezultati drugih autora ukazuju na potencijalnu upotrebu vodenih ekstrakata samoniklih biljaka u suzbijanju bele leptiraste vaši (Dehghani i Ahmadi, 2013). Fenoli predstavljaju jednu od najaktivnijih grupa alelohemikalija koje utiču na rast, razvoj i ponašanje leptiraste vaši (Wójcicka, 2010).



**Histogram 10.** Smrtnost odraslih insekata bele leptiraste vaši tretiranih vodenim ekstraktima odabranih biljaka poznatih koncentracija (0,1 %, 0,2 %).

### **5.3.3. Insekticidno dejstvo etarskih ulja *S. montana*, *S. sclarea* i *C. menthifolium* na kestenjastog brašnara i pirinčanog žiška**

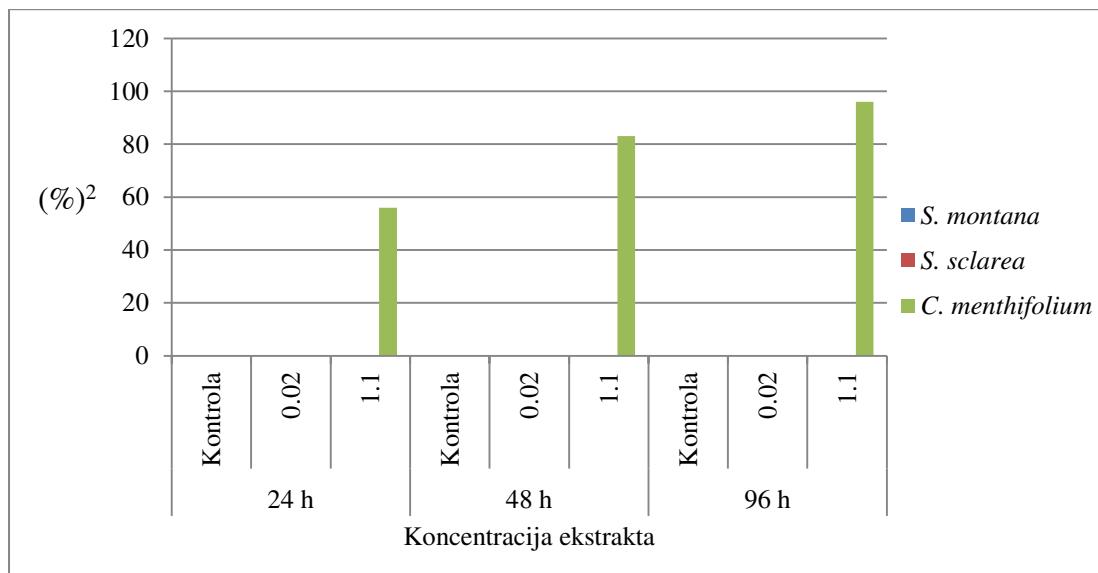
Kestenjasti brašnar, *Tribolium castaneum* (Herbst) je jedna od najzastupljenijih vrsta štetočina uskladištenih proizvoda i uskladištenih zrna u svetu (Sinha i Watters, 1985). Široko je rasprostranjen, tako da se može naći u skladištima, mlinovima i magacinima brašna (Garcia i sar., 2005; Jemâa i sar., 2012). U skladištima žitarica, od velikih silosa pa do tavana individualnog proizvođača nalazi se i pirinčani žižak, *Sitophilus oryzae* (Linnaeus). Za zaštitu skladišnog prostora od skladišnih insekata koriste se kontaktni insekticidi. Poznato je da je ograničavajući faktor primene kontaktnih insekticida pojava rezistentnosti (smanjenja osetljivosti) insekata, tako da se usled izostanka efekata suzbijanja povećavaju doze primene što dovodi do negativnog uticaja na kvalitet hrane, zdravlje ljudi i životnu sredinu (Subramanyam i Hagstrum, 1995; White i Leesch, 1995). Po potencijalu razvoja rezistentnosti kestenjasti brašnar je svrstan u prvu kategoriju (Andrić, 2012).

Biljke predstavljaju bogat izvor bioaktivnih hemikalija (Wink, 1993), iz tog razloga predmet savremenih istraživanja je upravo iskorišćavanje prirodnih proizvoda u suzbijanju štetočina (Derbalah i Ahmed, 2011).

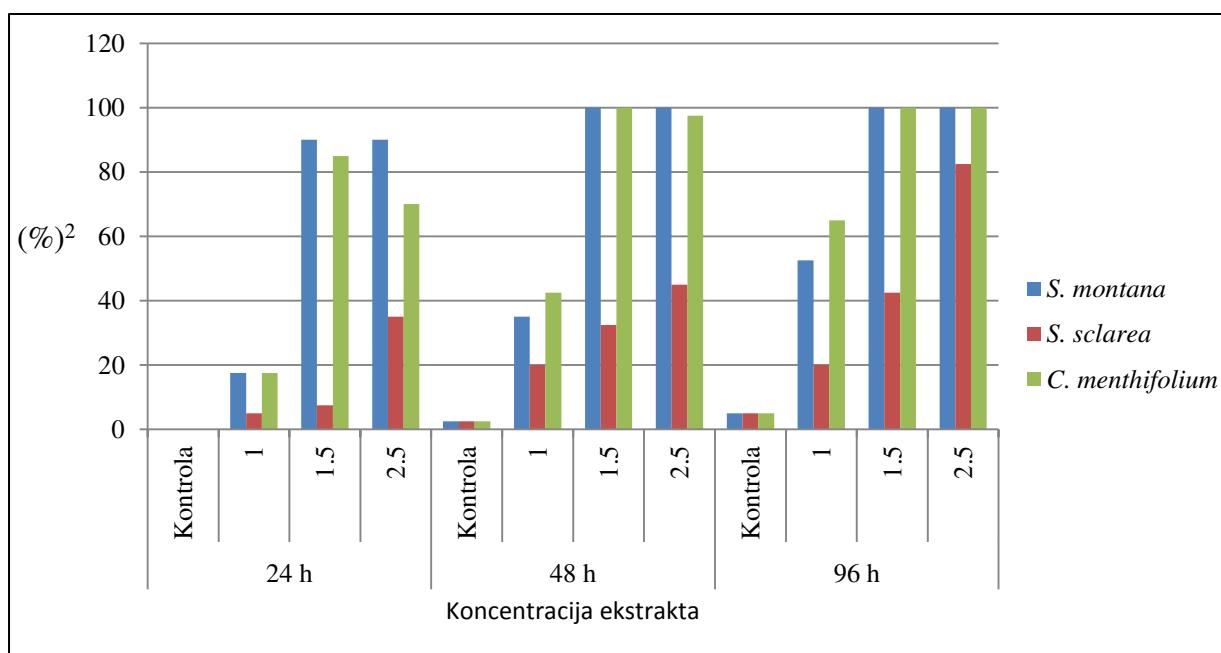
Egarska ulja, za koja se veruje da pored ostalog štite biljku od insekata i parazita (Simpson, 1995), smatraju se i potencijalnim izvorom prirodnih insekticida (Singh i Upadhyay, 1993). Za etarska ulja nekih začina, npr. anisa (*Pimpinella anisum* L.) i nane (*Mentha piperita* L.), pokazano je da imaju fumigantni efekat na četiri vrste skladišnih štetočina: dominikanskog brašnara (*R. dominica*), kestenjastog brašnara (*T. castaneum*), pirinčanog žiška (*S. oryzae*) i surinamskog brašnara (*O. surinamensis* (L.)) (Shaaya i sar., 1991). Etarska ulja belog luka i semena muskatnog oraščića deluju insekticidno na kestenjastog brašnara (Ho i sar., 1996; Huang i sar., 1997).

Sa ciljem da se proširi izbor prirodnih jedinjenja sa insekticidnim delovanjem, kao i da se prevaziđe problem rezistentnosti ispitani su efekti etarskih ulja odabralih samoniklih biljnih vrsta familije Lamiaceae na kestenjastog brašnara i pirinčanog žiška.

Rezultati istraživanja insekticidnog efekta etarskih ulja *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* na kestenjastog brašnara prikazani su na **Histogramu 11.** i na pirinčanog žiška na **Histogramu 12..**



**Histogram 11.** Smrtnost odraslih insekata kestenjastog brašnara hranjenih 4 dana na poznatim koncentracijama (1,1 %, 0,02 %) etarskih ulja odabralih biljnih vrsta.



**Histogram 12.** Smrtnost odraslih insekata pirinčanog žiška hranjenih 4 dana na poznatim koncentracijama (1,0 %, 1,5 %, 2,5 %) etarskih ulja odabralih biljnih vrsta.

Pri ispitivanju toksičnog efekta etarskih ulja na adulte kestenjastog brašnara značajan efekat postignut je jedino u tretmanu etarskim uljem *C. menthifolium* pri koncentraciji od 1,1 %. Visoka stopa smrtnosti od 56,67 % postiže se već nakon 24 sata, dok je posle 48 h iznosila 83,33 %. U kontroli su svi insekti preživeli, tj. stopa smrtnosti je iznosila 0 %. Niža koncentracija od 0,02 % etarskih ulja ispitivanih biljaka nije uzrokovala uginuće insekata kestenjastog brašnara.

Eatarska ulja *S. montana* i *C. menthifolium* pokazuju značajan toksičan efekat na adulte pirinčanog žiška. Nakon 24 h etarsko ulje *S. montana* koncentracije od 1,5 % i 2,5 % je prouzrokovalo smrtnost jedinki od 90 %, dok je nakon 48 h postignuto 100 % uginuće. Stopa smrtnosti bila je nešto niža u tretmanu sa istim koncentracijama etarskog ulja *C. menthifolium* (1,5 % i 2,5 %) nakon 24 h. Nakon 48 h postiže se 100 % uginuće insekata u tretmanu sa koncentracijom od 1,5 %. Etarsko ulje *S. sclarea* je ispoljilo slabiji efekat, pri nižim koncentracijama se ne postiže smrtnost preko 50 %, dok je za isti efekat u tretmanu sa najvećom koncentracijom potrebno 96 h.

Eatarsko ulje biljke *C. menthifolium*, koje sadrži najveću količinu monoterpeinskog alkohola karvakrola (79,91 %), kao i ketonske komponente pulegon i izo-menton, koje nisu prisutne u etarskom ulju druge dve biljke, ima jak insekticidni i fumigantni efekat na adulte kestenjastog brašnara i pirinčanog žiška.

Karvakrol predstavlja samo jedan od mnogobrojnih sastojaka etarskih ulja, koji poseduje insekticidni i fumigantni efekat (Ayvaz i sar., 2010). Prema literaturnim podacima karvakrol deluje insekticidno na bubašvabe (*Periplaneta brunnea* i *Blattella germanica*) sa visokim toksičnim efektom, i ima topikalnu primenu kao fumigant (Phillips, 2009; Phillips i Appel, 2010; Phillips i sar., 2010). Smatra se da karvakrol ima jače insekticidno dejstvo od svog izomera timola, ali da prisustvo timola pojačava toksični efekat karvakrola (Karpouhtsis i sar., 1998).

Korišćenje prirodnih supstanci, kao što su etarska ulja, predstavlja dobru alternativnu metodu u kontroli insekata. Postoje literaturni podaci o insekticidnoj aktivnosti i drugih biljnih ekstrakata (Rajković i sar., 2003), što potvrđuju rezultati prikazani u ovoj disertaciji.

Upoređivanjem rezultata dobijenih ispitivanjem insekticidne aktivnosti vodenih ekstrakata i etarskih ulja odabralih biljaka familije Lamiaceae primećuje se da su primenjene koncentracije vodenih ekstrakata i etarskih ulja biljke *S. montana* ispoljile insekticidno dejstvo sa visokom stopom smrtnosti. Druge dve biljke su ispoljile različitu aktivnost u zavisnosti od toga koji ekstrakt je primjenjen (vodeni ekstrakt ili etarsko ulje). Vodeni ekstrakt *S. sclarea* je postigao najveću stopu smrtnosti, za razliku od etarskog ulja iste biljke koje je pokazalo slabiji efekat u poređenju sa etarskim uljem druge dve biljke. Dok je etarsko ulje biljke *C. menthifolium* ispoljilo veći toksični efekat na testirane insekte od vodenog ekstrakta te biljke.

#### 5.4. Uticaj vodenih ekstrakata *S. montana*, *C. menthifolium* i *S. sclarea* na rast mikroorganizama

Rezultati disk-difuzionog testa primene različitih koncentracija vodenih ekstrakata odabralih biljaka (0,1 %, 0,2 % i 10 %), kao i bakterijski sojevi i gljivice na kojima je vršeno ispitivanje, prikazani su u **Tabeli 27.** za vodeni ekstrakt *S. montana*, **Tabeli 28.** za vodeni ekstrakt *C. menthifolium* i **Tabeli 29.** za vodeni ekstrakt *S. sclarea*.

Analizom rezultata može se videti da vodeni ekstrakti odabralih biljnih vrsta familije Lamiaceae ne pokazuju baktericidno dejstvo. Izuzetak je 10 % koncentracija vodenog ekstrakta *S. sclarea* koja deluje inhibitorno na rast soja bakterija *Pseudomonas Marker*, nakon 120 h (**Slika 30.**).



**Slika 30.** Zona inhibicije rasta bakterijskog soja *Pseudomonas Marker* pod uticajem 10 % vodenog ekstrakta *S. sclarea*.

Bakterijski sojevi *Černozem*, *Violeta*, *Dragana*, *Rhizobium trifolii* i *9K*, kao i gljivice *Penicillium sp* i *Alternarium sp* pokazali su se potpuno rezistentnim na dejstvo vodenih ekstrakata i pri najvećoj koncentraciji (10 %). Na bakterijske sojeve *Ritska crnica 2*, *Pseudoglej 1*, *Bacillus subtilis marker 44*, *Bacillus subtilis Violeta*, *Bacillus megaterium*, *Bradyrhizobium japoniku S511*, *Rhizobium D<sub>1</sub>* vodeni ekstrakti su ispoljili stimulativno dejstvo na rast tj. bakterijski tepih je bio gušći oko diskova. Najveći stimulativni efekat postignut je pri najvećoj koncentraciji, što ukazuje da vodeni ekstrakti nemaju negativan a imaju pozitivan uticaj na korisne mikroorganizme prisutne u zemljištu. Vodeni ekstrakti ne utiču na rast ispitivanih gljivica, dakle ne poseduju ni fungicidno dejstvo.



**Slika 31.** Zona stimulacije rasta bakterijskog soja *Azotobacter Pseudoglej 1* pod uticajem vodenog ekstrakta *S. sclarea*.



**Slika 32.** Zona stimulacije rasta bakterijskog soja *Rhizobium Bradyrhizobium japoniku S511* pod uticajem vodenog ekstrakta *S. montana*.

Rezultati ispitivanja antibakterijske aktivnosti vodenih ekstrakata *S. montana* su slični sa podacima koji se mogu naći u referentnoj literaturi (Serrano i sar., 2011). Pomenuti autori su utvrdili da vodeni ekstrakti ne pokazuju antibakterijsku aktivnost na testiranim Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama. Na istim bakterijskim sojevima etarsko ulje *S. montana* pokazuje snažno antimikrobnو dejstvo (Serrano i sar., 2011). Većina etarskih ulja različitih biljnih vrsta poseduju antimikrobnу aktivnost zbog njihovog liposolubilnog karaktera, što im omogućava lak prolaz kroz fosfolipidni dvosloj ćelijske membrane mikroorganizma. Za razliku od vodenih ekstrakata, i etarsko ulje *S. sclarea* poseduje snažno baktericidno i fungicidno dejstvo (Džamić i sar., 2008; Chovanová i sar., 2013). Etarsko ulje *C. menthifolium*, kao i pulegon prisutan u ulju, takođe pokazuju antimikrobnу i antifungalnu aktivnost (Demirci i sar., 2011).

Odsustvo fungicidne aktivnosti polarnih ekstrakta samoniklih biljaka utvrđeno je i za metanolne ekstrakte četiri vrste žalfije *Salvia reflexa*, *Salvia nemorosa*, *Salvia glutinosa* i *Salvia officinalis* (Malenčić, 2001).

Interesantno je istaći da ne postoji veća razlika u delovanju vodenih ekstrakata odabralih biljaka familije Lamiaceae. Sve tri biljke ispoljile su približno isti efekat na testirane mikroorganizme, osim na bakterijski soj *Marker* (*Pseudomonas*), čiji je rast inhibirala najveća primenjena koncentracija vodenog ekstrakta *S. sclarea*.

Iako je poznato da flavonoidi poseduju potencijalnu antimikrobnу aktivnost, primenjene koncentracije vodenih ekstrakata nisu pokazale antimikrobnу sposobnost. Ovi rezultati se mogu objasniti time da ispitivani vodeni ekstrakti imaju nizak sadržaj bioaktivnih jedinjenja odgovornih za antimikrobnу aktivnost, što omogućava njihovu primenu u polju bez negativnog efekta po korisne mikroorganizme zemljišta.

**Tabela 27.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 %, 0,2 % i 10 %) na rast korisnih mikroorganizama

% Azotobacter		72 h			120 h	
		0.1	0.2	10	0.1	0.2
<i>Pseudomonas</i>	<i>Ritska crnica 2</i>	+	++	+++	+++	+++
	<i>Pseudoglej 1</i>	+	++	++	+	++
	<i>Černozem</i>	nu	nu	nu	nu	nu
<i>Bacillus</i>	<i>Violeta</i>	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Dragana</i>	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Marker</i>	nu	nu	nu	nu	nu
<i>Rhizobijum</i>	<i>Bacillus subtilis marker 44</i>	nu	nu	++	+	++
	<i>Bacillus subtilis Violeta</i>	nu	nu	++	nu	nu
	<i>Bacillus megatherium</i>	nu	nu	++	nu	nu
<i>Gljivice</i>	<i>Bradyrhizobium japoniku S511</i>	nu	nu	+	+	+
	<i>Rhizobium D<sub>1</sub></i>	nu	nu	+	++	++
	<i>Rhizobium trifoliit 1</i>	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Penicilium sp</i>	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Alternarium sp</i>	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Trichoderma asperellum</i>	-	nu	nu	nu	nu

144 h				
	0.1	0.2	10	
<i>Aktinomicete</i>	<i>10</i>	nu	nu	++
	<i>9K</i>	nu	nu	nu
	<i>5</i>	nu	nu	++

Znak „-“ označava da je u toj zoni proređen bakterijski tepih, odnosno usporen rast bakterija; znak „+“ označava da je u toj zoni gušći bakterijski tepih, odnosno stimulisan rast bakterija; „nu“ znači da nema uticaja na bakterijski rast

**Tabela 28.** Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 %, 0,2 % i 10 %) na rast korisnih mikroorganizama.

		72 h			120 h		
%		0.1	0.2	10	0.1	0.2	10
Azotobacter	<i>Ritska crnica 2</i>	++	++	+++	+++	+++	+++
	<i>Pseudoglej 1</i>	+	++	++	+	++	+++
	<i>Černozem</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
<i>Pseudomonas</i>	<i>Violeta</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Dragana</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Marker</i>	nu	nu	nu	nu	nu	- - -
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus subtilis marker 44</i>	nu	nu	++	+	++	+++
	<i>Bacillus subtilis Violeta</i>	nu	nu	++	nu	nu	++
	<i>Bacillus megatherium</i>	nu	nu	+++	nu	nu	+++
<i>Rhizobijum</i>	<i>Bradyrhizobium japoniku S511</i>	nu	nu	+	+	+	+
	<i>Rhizobium D<sub>1</sub></i>	nu	nu	+	++	++	+
	<i>Rhizobium trifoliit 1</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
<i>Gljivice</i>	<i>Penicilium sp</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Alternarium sp</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Trichoderma asperellum</i>	nu	nu	-	nu	nu	nu
		144 h					
		0.1	0.2	10			
<i>Aktinomicete</i>	<i>10</i>	nu	nu	nu			
	<i>9K</i>	nu	nu	+			
	<i>5</i>	nu	nu	nu			

Znak „-“ označava da je u toj zoni proređen bakterijski tepih, odnosno usporen rast bakterija; znak „+“ označava da je u toj zoni gušći bakterijski tepih, odnosno stimulisan rast bakterija; „nu“ znači da nema uticaja na bakterijski rast

**Tabela 29.** Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthifolium* (0,1 %, 0,2 % i 10 %) na rast korisnih mikroorganizama.

% Azotobacter		72 h			120 h		
		0.1	0.2	10	0.1	0.2	10
<i>Pseudomonas</i>	<i>Ritska crnica 2</i>	+	++	+++	+++	+++	+++
	<i>Pseudoglej 1</i>	+	++	++	+	++	+++
	<i>Černozem</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
<i>Bacillus</i>	<i>Violeta</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Dragana</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Marker</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
<i>Rhizobijum</i>	<i>Bacillus subtilis marker 44</i>	nu	nu	++	+	++	+++
	<i>Bacillus subtilis Violeta</i>	nu	nu	++	nu	nu	++
	<i>Bacillus megatherium</i>	nu	nu	++	nu	nu	++
<i>Gljivice</i>	<i>Bradyrhizobium japoniku S511</i>	nu	nu	+	+	+	+
	<i>Rhizobium D<sub>1</sub></i>	nu	nu	+	++	+	+
	<i>Rhizobium trifoliit 1</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Penicilium sp</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Alternarium sp</i>	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	<i>Trichoderma asperellum</i>	nu	nu	-	nu	nu	nu
144 h							
<i>Aktinomicete</i>	10	nu	nu	++			
	9K	nu	nu	nu			
	5	nu	nu	+++			

Znak „–“ označava da je u toj zoni proređen bakterijski tepih, odnosno usporen rast bakterija; znak „+“ označava da je u toj zoni gušći bakterijski tepih, odnosno stimulisan rast bakterija; „nu“ znači da nema uticaja na bakterijski rast

## ***6. Zaključak***

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Za sve tri ispitivane biljne vrste zabeležen je veći sadržaj ukupnih reduktanata u vodenim ekstraktima (kretao se od 22,2 do 104,0 mg galne kiseline g<sup>-1</sup> sm), u poređenju sa sadržajem ukupnih reduktanata u acetonskim ekstraktima, na osnovu čega je zaključeno da su reduktanti pretežno polarna jedinjenja. Acetonski ekstrakti su bili bogatiji flavonoidima (čiji se sadržaj kretao od 3,59 do 7,25 mg rutina g<sup>-1</sup> sm) od vodenih, što ukazuje na veće prisustvo aglikona.
- Najveći sadržaj ukupnih tanina detektovan je u vodenom ekstraktu *C. menthifolium*, dok je najveći sadržaj flavonoida zabeležen u acetonskom ekstraktu *C. menthifolium*.
- Najbolju antioksidativnu aktivnost (najveći redukcioni kapacitet i sposobnost neutralizacije DPPH<sup>·</sup> i ABTS<sup>+</sup> radikala) pokazao je voden ekstrakt *C. menthifolium*, dok su najnižu aktivnost u svim testovima pokazali ekstrakti biljke *S. sclarea*.
- HPLC analizom odabranih fenolnih komponenti utvrđeno je prisustvo značajnih količina kafene kiseline u vodenim ekstraktima sve tri ispitivane biljke, a u većoj količini zastupljena je i galna kiselina. U vodenom ekstraktu *S. montana* kao najzastupljenija ispitivana komponenta identifikovana je kafena kiselina, dok je u manjoj količini utvrđeno prisustvo galne kiseline, katehina, kvercetina i *p*-kumarinske kiseline. U vodenom ekstraktu *S. sclarea* je takođe u najvećem sadržaju identifikovana kafena kiselina, pored nje u većem sadržaju utvrđeno je prisustvo kemferola. U vodenom ekstraktu *C. menthifolium* u najvećem sadržaju prisutna je galna kiselina, zatim kafena kiselina, 2-hidroksicimetna kiselina i 5-*O*-kafeoilhinska kiselina. Za neke fenole je utvrđeno da negativno utiču na rast i razvoj drugih biljaka. Od fenolnih komponenti, ispitivanih u ovoj disertaciji, utvrđeno je da kafena kiselina indukuje oksidativni stres u drugim biljkama, povećavajući sadržaj vodonik-peroksida. Fenoli predstavljaju i jednu od najaktivnijih grupa alelohemikalija koje utiču na rast i razvoj insekata.
- GC-MS analizom hemijskog sastava etarskih ulja identifikovana su 43 različita isparljiva hemijska jedinjenja. U etarskom ulju *C. menthifolium* i *S. montana* od identifikovanih komponenti monociklični monoterpenski alkohol karvakrol detektovan je u najvećem sadržaju. Od monocikličnih monoterpena u većim količinama identifikovani su *p*-cimen i

$\gamma$ -terpinen kod obe biljke. U etarskom ulju *S. sclarea* kao najdominantnija komponenta identifikovan je biciklični diterpenski alkohol sklareol. Budući da je za mnoga od navedenih jedinjenja od ranije poznata antimikrobnia i insekticidna aktivnost, može se pretpostaviti da ispitivane vrste mogu štititi kultivisane vrste od patogenih mikroorganizama i insekata. Isparljivi fagorepelenti formiraju „oblak” koji odbija biljojede, na taj način štite biljke unutar oblaka.

- Na povećanu aktivnost SOD u listu i korenju tretiranih biljaka uticali su vodeni ekstrakti *S. montana* i *C. menthifolium*. Inhibiciju SOD aktivnosti u listu i korenju paprike i tatule prouzrokovao je vodeni ekstrakt *S. sclarea*. Povećanje aktivnosti PPx i GPx uočava se u listovima crne pomoćnice, tatule i paprike nakon tretmana vodenim ekstraktom *C. menthifolium*. Pod uticajem vodenih ekstrakata *S. montana* i *C. menthifolium* zabeležen je dva puta veći sadržaj MDA u korenju crne pomoćnice. Porast intenziteta lipidne peroksidacije zabeležen je i u korenovima tatule izloženim uticaju vodenih ekstrakata *S. montana* i *C. menthifolium* 72 h i 120 h nakon tretmana, kao i ekstrakta *S. sclarea* nakon 24 h. Koren klasače se pokazao rezistentan na uticaj ovih ekstrakata. Promena aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i intenziteta lipidne peroksidacije kod nekih testiranih biljaka potvrđuje alelopatsko delovanje vodenih ekstrakata biljaka *C. menthifolium*, *S. montana* i *S. sclarea*, sa različitim alelopatskim potencijalom u zavisnosti od biljne vrste na koju deluju. Uticaj ekstrakta *S. sclarea* je bio manji u poređenju sa ekstraktima druge dve biljke. Iako su vodeni ekstrakti *C. menthifolium* i *S. montana* imali veći uticaj na aktivnost enzima antioksidativne zaštite i sadržaj MDA prema korovskim test vrstama, korov klasača pokazao se kao rezistentna vrsta i prema ovim ispitivanim ekstraktima. Zbog povećanog intenziteta lipidne peroksidacije kod dve testirane korovske vrste možemo da zaključimo da ispitivani ekstrakti nepovoljno utiču na rast nekih korova.
- Ispitivanjem uticaja vodenih ekstrakata na belu leptirastu vaš i žitnog kukuljičara potvrđen je insekticidni efekat ispitivanih biljaka. U testu kontaktne toksičnosti na žitnog kukuljičara najjači toksični efekat je ispoljio vodeni ekstrakt *S. sclarea*, sa stopom smrtnosti preko 95 % nakon 24 h. U testu kontaktno-digestivnog dejstva na žitnog kukuljičara najjači toksični efekat je ispoljio vodeni ekstrakt *S. sclarea* sa stopom smrtnosti u intervalu od 56,7–98,5 % u zavisnosti od primenjene koncentracije. Na belu

leptirastu vaš najjači toksični efekat ispoljio je vodeni ekstrakt *S. montana* prouzrokujući stopu smrtnosti preko 60 %.

- Ispitivanjem uticaja etarskog ulja na pirinčanog žiška utvrđeno je insekticidno dejstvo etarskog ulja *C. menthifolium* i *S. montana* prema pirinčanom žišku sa visokom stopom smrtnosti nakon 24 h, dok se nakon 48 h postiže 100 % uginuće. Na adulte kestenjastog brašnara insekticidno dejstvo imalo je etarsko ulje *C. menthifolium* sa stopom smrtnosti od 56,67 % već nakon 24 h.
- Analizom rezultata disk-difuzionog testa primenjenih koncentracija vodenih ekstrakata na korisne bakterije i gljivice zemljišta primećuje se da vodeni ekstrakti ne pokazuju baktericidno dejstvo, te neće na taj način nepovoljno uticati na rast kultivisanih vrsta.

Iz svega napred navedenog izvodi se opšti zaključak da ispitivane biljne vrste, njihovi ekstrakti i etarska ulja mogu biti korišteni kao biopesticidi.

## **7. Literatura**

Abuja, P.M., Albertini, R. (2001): Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, **306**: 1–17.

Adams, R.P. (2007): Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy, 4th Edition, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA.

Agrawal, A.D. (2011): Pharmacological Activities of Flavonoids: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, **4(2)**: 1394–1398.

Akbarzadeh, M., Bajalan, I., Qalayi, E. (2013): Allelopathic effect of Lavender (*Lavandula officinalis*) on seed germination of velvet flower and purslane. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, **4(6)**: 1285–1289.

An, M., Liu, D.L., Johnson, I.R., Lovett, J.V. (2003): Mathematical modelling of allelopathy: II. The dynamics of allelochemicals from living plants in the environment. *Ecological Modelling*, **161**: 53–66.

Andrić, G. (2012): Osetljivost populacija kestenjastog brašnara, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) na sintetisane i prirodne insekticide u interakciji sa efektima ekstremne temperature. *Doktorska disertacija*, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.

Apel, K., Hirt, H. (2004): Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant Biology*, **55**: 373–399.

Asami, K.D., Hong, J.Y., Barrett, M.D., Mitchell, E.A. (2003): Comparison of the Total Phenolic and Ascorbic Acid Content of Freeze-Dried and Air-Dried Marionberry, Strawberry, and Corn Grown Using Conventional, Organic, and Sustainable Agricultural Practices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 1237–1241.

Ayvaz, A., Sagdic, O., Karaborklu, S., Ozturk, I. (2010): Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*, **10**: 21–26.

Babović, N., Petrović, S. (2011): Izolovanje antioksidanasa postupkom nadkritične ekstrakcije. *Hemidska industrija*, **65**: 79–86.

Bajalan, I., Oregani, K.E., Moezi, A.A., Gholami, A. (2013): Allelopathic Effects of Aqueous Extract from *Salvia officinalis* L. On Seed Germination of Wheat and Velvet flower. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, **3(6)**: 485–488.

- Barrera, G. (2012): Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. *International Scholarly Research Notices*, **2012**: 1–21.
- Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K., Kaur, S. (2008): Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, **256**: 2166–2174.
- Beecher, G.R. (2003): Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake. *The Journal of Nutrition*, **133**: 3248–3254.
- Bell, A.E., Charlwood, B.V. (1980): Secondary Plant Products, u: A.E. Bell, B.V. Gharlwood (ur.), Encyclopedia of Plant Physiology Vol **8**: 11–21, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1999): Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, **299**: 15–27.
- Betancur, J. R., Silva, A.G., Rodríguez, J.M.C., Fischer, G.S., Zapata, S.M.N. (2010): Insecticidal activity of *Peumus boldus* Molina essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean Journal of Agricultural Research*, **70(3)**: 399–407.
- Bhadoria, P.B.S. (2011): Allelopathy: A Natural Way towards Weed Management. *American Journal of Experimental Agriculture*, **1(1)**: 7–20.
- Blanco, J.A. (2007): The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. *Ecological Modelling*, **209**: 65–77.
- Bogatek, R., Gniazdowska, A. (2007): ROS and Phytohormones in Plant-Plant Allelopathic Interaction. *Plant Signaling & Behavior*, **2(4)**: 317–318.
- Bogatek, R., Gniazdowska, A., Zakrzewska, W., Oracz, K., Gawroski, S.W. (2006): Allelopathic effects of sunflower extracts on mustard seed germination and seedling growth. *Biologia Plantarum*, **50(1)**: 156–158.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., Anackov, G. (2006): Characterization of the Volatile Composition of Essential Oils of Some Lamiaceae Spices and the Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 1822–1828.
- Braca, A., Sortino, C., Politi, M., Morelli, I., Mendez, J. (2002): Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeiflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, **79**: 379–381.

Bravo, R.H., Copaja, V.S., Lamborot, M. (2013): Phytotoxicity of Phenolic Acids From Cereals, Herbicides-Advances in Research, doi:10.5772/55942.

Bruneton, J. (1999): Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, Editions TEC & DOC, Paris, France.

Çalmaşur, O., Aslan, I., Sahin, F. (2005): Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products*, **23**: 140–146.

Cao, P., Liu, C., Li, D. (2011): Effects of different autotoxins on antioxidant enzymes and chemical compounds in tea (*Camellia sinensis* L.) Kuntze. *African Journal of Biotechnology*, **10(38)**: 7480–7486.

Carocho, M., Ferreira, I.C.F.R. (2013): A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, **51**: 15–25.

Castellano, G. (2012): Classification of Phenolic Compounds by Chemical Structural Indicators and Its Relation to Antioxidant Properties of *Posidonia Oceanica* (L.) Delile. *MATCH Communications in Mathematical and in Computer Chemistry*, **67**: 231–250.

Chadwick, M., Trewin, H., Gawthrop, F., Wagstaff, C. (2013): Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People. *International Journal of Molecular Sciences*, **14**: 12780–12805.

Chen, F.A., Wu, A.B., Chen, C.Y. (2004): The influence of different treatments on the free radical scavenging activity of burdock and variations of its active components. *Food Chemistry*, **86(4)**: 479–484.

Chen, S., Schopfer, P. (1999): Hydroxyl-radical production in physiological reactions. A novel function of peroxidase. *European Journal of Biochemistry*, **260**: 726–735.

Chou, C.H. (2006): Introduction to allelopathy, u: M.J. Regiosa, N. Pedrol, L. González (ur.), Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications Vol **1**: 1–9, Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Chovanová, R., Mikulášová, M., Vaverková, Š. (2013): *In Vitro* Antibacterial and Antibiotic Resistance Modifying Effect of Bioactive Plant Extracts on Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis*. *International Journal of Microbiology*, doi: 10.1155/2013/760969.

Chrpová, D., Kouřimská, L., Gordon, M.H., Heřmanová, V., Roubíčková, I., Pánek, J. (2010): Antioxidant Activity of Selected Phenols and Herbs Used in Diets for Medical Conditions. *Czech Journal Food Science*, **28**: 325–317.

Coutinho de Oliveira, T.L., Malfitano de Carvalhob, S., Soaresa, R.A., Andradeb, M.A., Cardosob, M.G., Ramosc, E.M., Piccolia, R.H. (2012): Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *LWT – Food Science and Technology*, **45**: 204–212.

Croteau, R. (1998): The discovery of terpenes, u: S.D. Kung, S.F. Yang. (ur.), Discoveries in Plant Biology Vol **1**: 329–343, Washington State University, Washington, USA.

Čančarević, A., Bugarski, B., Šavikin, K., Zdunić, G. (2013): Biološka aktivnost vrsta *Thymus vulgaris* i *Thymus serpyllum* i njihovo korišćenje u etnomedicini. *Lekovite sirovine*, **33**: 3–17.

Čeković, Ž. (2006): Zaštita bilja pomoću prirodnih pesticida. *Hemisjska industrija*, **60(5–6)**: 113–119.

Ćavar, S., Vidic, D., Maksimović, M. (2013): Volatile constituents, phenolic compounds, and antioxidant activity of *Calamintha glandulosa* (Req.) Benth. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **93**: 1758–1764.

Damjanović-Vratnica, B., Perović, A., Šuković, A., Perović, S. (2011): Effect of vegetation cycle on chemical content and antibacterial activity of *Satureja montana* L. *The Archives of Biological Sciences*, **63(4)**: 1173–1179.

Davey, W.M., Van Montagu, M., Inzé, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, J.J.I., Strain, J.J., Favell, D., Fletcher, J. (2000): Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**: 825–860.

Dayan, E.F. (2006): Factors modulating the levels of the allelochemical sorgoleone in *Sorghum bicolor*. *Planta*, **224(2)**: 339–346.

De Albuquerque, M.B., Dos Santos, R.C., Lima, L.M., Melo Filho, P.A., Nogueira, R.J.M.C., Da Camara, C.A.G., Ramos, A.R. (2011): Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **31**: 379–395.

Degenhardt, J., Köllner, G.T., Gershenzon, J. (2009): Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, **70**: 1621–1637.

Dehghani, M., Ahmadi, K. (2013): Anti-oviposition and repellence activities of essential oils and aqueous extracts from five aromatic plants against greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Homoptera: Aleyrodidae). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, **19**: 691–696.

Dellavalle, P.D., Cabrera, A., Alem, D., Larrañaga, P., Ferreira, F., Rizza, M.D. (2011): Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. *Chilean Journal of Agricultural Research*, **71**(2): 231–239.

Demirci, B., Temel, H.E., Portakal, T., Kirmizibekmez, H., Demirci, F., Bašer, K.H.C. (2011): Inhibitory effect of *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* essential oil on lipoxygenase. *Turkish Journal of Biochemistry*, **36**(4): 290–295.

Derbalah, A.S., Ahmed, S.I. (2011): Oil and powder of spearmint as an alternative to *Sitophilus oryzae* chemical control of wheat grains. *Journal of plant protection research*, **51**: 145–150.

Devi, S.R., Prasad, M.N.V. (1996): Ferulic acid mediated changes in oxidative enzymes of maize seedlings: implications in growth. *Biology of Plants*, **38**(3): 387–395.

Diklić, N. (1974): Flora SR Srbije, tom IV (ur. M. Josifović), SANU, Beograd, SR Srbija.

Ding, J., Sun, Y., Xiao, C.L., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q. (2007): Physiological basis of different allelopathic reactions of cucumber and figleaf gourd plants to cinnamic acid. *Journal of Experimental Botany*, **58**(13): 3765–3773.

Dmitrović, S. (2012): Alelopatski efekti transformisanih korenova. *Doktorska disertacija*, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu.

Dotan, Y., Lichtenberg, D., Pinchuk, I. (2004): Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Progress in Lipid Research*, **43**: 200–227.

Džamić, A., Soković, M., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., Marin, P.D. (2008): Chemical composition and antifungal activity of *Salvia sclarea* (Lamiaceae) essential oil. *Archives of Biological Science*, **60**(2): 233–237.

Džidić-Uzelac, L. (2014): Alelopatija. *Seminarski rad*, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.

Đilas, S., Čanadanović-Brunet, J., Tumbas, V., Ćetković, G. (2010): Biološka aktivnost bobičastog voća. *Glasnik hemičara, tehnologa i ekologa Republike Srpske*, **4**: 1–11.

Elavarthi, S., Martin, B. (2010): Spectrophotometric assays for antioxidant enzymes in plants. *Methods in Molecular Biology*, **639**: 273–281.

Ercisli, S., Esitken, A., Turkal, C., Orhan, E. (2005): The allelopathic effects of juglone and walnut leaf extracts on yield, growth, chemical and PNE compositions of strawberry cv. Fern. *Plant, Soil and Environment*, **51(6)**: 283–287.

Fakoorziba, M.R., Moemenbellah-Fard, M.Dj., Azizi, K., Shekarpoor, H., Alipoor, H. (2014): Excito-Repellency Effects of *Salvia sclarea* L. (Lamiaceae) Extracts on Adult House Flies, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Journal of Health Sciences and Surveillance System*, **2(1)**: 2–7.

Farah, A., Monteiro, M., Donangelo, C.M., Lafay, S. (2008): Chlorogenic Acids from Green Coffee Extract are Highly Bioavailable in Humans. *The Journal of Nutrition*, **138**: 2309–2315.

Farooq, M., Jabran, K., Cheema, Z.A., Wahid, A., Kadambot, H.M., Siddique, K.H.M. (2011): The role of allelopathy in agricultural pest management. *Pest Management Science*, **67**: 493–506.

Francišković, M. (2015): Fitohemijska karakterizacija i biološka aktivnost odabranih vrsta Tribusa urticae i parietarieae (Urticaceae Juss.), *Doktorska disertacija*, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.

Garcia, M., Donael, O.J., Ardanaz, C.E., Tonn, C.E., Sosa, M.E. (2005): Toxic and repellent effects of *Baccharis salicifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*. *Pest Management Science*, **61**: 612–618.

Gatti, A.B., Ferreira, A.G., Arduin, M., Perez, S.C.G.A. (2010): Allelopathic effects of aqueous extracts of *Artistolochia esperanzae* O. Kuntze on development of *Sesamum indicum* L. seedlings. *Acta Botanica Brasilica*, **24**: 454–461.

Gella, D., Ashagre, H., Negewo, T. (2013): Allelopathic effect of aqueous extracts of major weed species plant parts on germination and growth of wheat. *Journal of Agricultural and Crop Research*, **1(3)**: 30–35.

Generalić, I., Skroza, D., Šurjak, J., Možina, S., Ljubenkov, I., Katalinić, A., Šimat, V., Katalinić, V. (2012): Seasonal variations of phenolic compounds and biological properties in sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, **9**: 441–457.

Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N. (2011): Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**: 6697–6703.

Gião, M.S., Gomes, S., Madureira, A.R., Faria, A., Pestana, D., Calhau, C., Pintado, E.M., Azevedo, I., Malcata, F.X. (2012): Effect of *in vitro* digestion upon the antioxidant capacity of aqueous extracts of *Agrimonia eupatoria*, *Rubus idaeus*, *Salvia* sp. and *Satureja montana*. *Food Chemistry*, **131**: 761–767.

Gião, M.S., Pereira, C.I., Fonseca, S.C., Pintado, M.E., Malcata, F.X. (2009): Effect of particle size upon the extent of extraction of antioxidant power from the plants *Agrimonia eupatoria*, *Salvia* sp. and *Satureja montana*. *Food Chemistry*, **117**: 412–416.

Gião, M.S., Pereira, C.I., Pintado, M.E., Malcata, F.X. (2013): Effect of technological processing upon the antioxidant capacity of aromatic and medicinal plant infusions: From harvest to packaging. *LWT Food Science and Technology*, **50**: 320–325.

Girotti, A.W. (1985): Mechanisms of lipid peroxidation. *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine*, **1**: 87–95.

Gniazdowska, A., Bogatek, R. (2005): Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. *Acta Physiologiae Plantarum*, **27**: 395–407.

Groves, T.J. (1999): Peroxinitrite: reactive, invasive and enigmatic. *Current Opinion in Chemical Biology*, **3**: 226–235.

Gülçin, İ., Uğuz, T.M., Oktay, M., Bejdemir, Ş., Küfrevoğlu, Ö. (2004): Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **28**: 25–33.

Haddadchi, G.R., Gerivani, Z. (2009): Effects of Phenolic Extracts of Canola (*Brassica napuse* L.) on Germination and Physiological Responses of Soybean (*Glycin max* L.) Seedlings. *International Journal of Plant Production*, **3(1)**: 63–74.

Hagerman, A., Harvey-Mueller, I., Makkar, H.P.S. (2000): Quantification of Tannins in Tree Foliage – a Laboratory Manual, FAO/IAEA, Vienna, Austria.

- Häkkinen, S. (2000): Flavonols and Phenolic Acids in Berries and Berry Products. *Doctoral dissertation*, Faculty of Medicine, University of Kuopio.
- Halliwell, B. (2012): Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition Reviews*, **70(5)**: 257–265.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M. (1985): Free radicals in biology and medicine, Oxford University press, Toronto, New York.
- Halliwell, B., Whiteman, M. (2004): Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British Journal of Pharmacology*, **142**: 231–255.
- Hammond-Kosack, K.E., Jones, J.D.G. (1996): Resistance Gene-Dependent Plant Defense Responses. *Plant Cell*, **8**: 1773–1791.
- Harrison, H.F., Peterson, J.K., Snook, M.E., Bohac, J.R., Jackson, D.M. (2003): Quantity and Potential Biological Activity of Caffeic Acid in Sweet Potato [Ipomoea batatas (L.) Lam.] Storage Root Periderm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 2943–2948.
- Hassanein, H.D., Said-Al, A.H., Abdelmohsen, M.M. (2014): Antioxidant polyphenolic constituents of *Satureja montana* L. growing in Egypt. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **6(4)**: 578–581.
- Ho, S.H., Koh, L., Ma, Y., Huang, Y., Sim, K.Y. (1996): The oil of garlic, *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae), as a potential grain protectant against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Postharvest Biology and Technology*, **9**: 41–48.
- Huang, Y., Tan, J.M.W.L., Kini, R.M., Ho, S.H. (1997): Toxic and antifeedant action of nutmeg oil against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Journal of Stored Products Research*, **33**: 289–298.
- Huda-Faujan, N., Noriham, A., Norrakiah, A.S., Babji, A.S. (2009): Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. *African Journal of Biotechnology*, **8(3)**: 484–489.
- Hudaib, M., Bellardi, M.G., Rubies-Autonell, C., Fiori, J., Cavrini, V. (2001): Chromatographic (GC-MS, HPLC) and virological evaluations of *Salvia sclarea* infected by BBWV-I. *IL Farmaco*, **56**: 219–227.

- Inderjit, I., Wardle, D.A., Karban, R., Callaway, R.M. (2011): The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology and Evolution*, **26**: 655–662.
- Inzé, D., Van Montagu, M. (1995): Oxidative stress in plants. *Current Opinion in Biotechnology*, **6**: 153–158.
- Jančić, R., Stošić, D., Mimica-Dukić, N., Lakušić, B. (1995): Aromatične biljke Srbije, NIP dečje novine, Beograd, Srbija.
- Janićijević-Hudomal, S., Kenić, J., Arsić-Komljenović, G. (2008): Antioksidantni potencijal biljke matočina (*Mellitis Melisophyllum*). *Praxis Medica*, **36**: 83–87.
- Janjić, V., Stanković-Kalezić, R., Radivojević Lj. (2008): Prirodni proizvodi sa alelopatskim, herbicidnim i toksičnim delovanjem. *Acta Herbologica*, **17**: 1–22.
- Jemâa, J.M.B., Tersim, N., Toudert K.T. (2012): Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Product Research*, **48**: 97–104.
- Karpouhtsis, I., Pardali, E., Feggou, E., Kokkini, S., Scouras, Z.G., Mavragani-Tsipidou, P. (1998): Insecticidal and Genotoxic Activities of Oregano Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 1111–1115.
- Kato-Noguchi, H. (2004): Allelopathic substance in rice root exudates: Rediscovery of momilactone B as an allelochemical. *Journal of Plant Physiology*, **161**: 271–276.
- Kato-Noguchi, H., Ino, T. (2003): Rice seedlings release momilactone B into the environment. *Phytochemistry*, **63**: 551–554.
- Kato-Noguchi, H., Ino, T. (2005): Concentration and release level of momilactone B in the seedlings of eight rice cultivars. *Journal of Plant Physiology*, **162**: 965–969.
- Kato-Noguchi, H., Ino, T. (2005): Possible involvement of momilactone B in rice allelopathy. *Journal of Plant Physiology*, **162**: 718–721.
- Kelly da Silva, A., Cazarin, C.B.B., Colomeu, T.C., Batista, A.G., Meletti, L.M.M., Paschoal, J.A.R., Bogusz, S., Furlan, M.F., Reyes, F.G.R., Augusto, F., Marostica, M.R., Zollner, R. (2013): Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: *in vitro* and *in vivo* study. *Food Research International*, **53**: 882–890.
- Kitić, D. (2010): Etarska ulja. *Studentski Medicinski Glasnik*, **1**: 149–156.
- Kišgeci, J. (2002): Lekovito bilje. Gajenje, sakupljanje, upotreba, Partenon, Beograd, Srbija.

- Kišgeci, J. (2005): Lekovite i aromatične biljke, Partenon, Beograd, Srbija.
- Kostić, I., Marković, T., Krnjajić, S. (2012): Sekretorne strukture aromatičnih biljaka sa posebnim osvrtom na strukture sa etarskim uljima, mesta sinteze ulja i njihove važnije funkcije. *Lekovite Sirovine*, **32**: 3–25.
- Kouninki, H., Hance, T., Noudjou, F.A., Lognay, G., Malaisse, F., Ngassoum, M.B., Mapongmetsem, P.M., Ngamo, L.S.T., Haubrige, E. (2007): Toxicity of some terpenoids of essential oils of *Xylopia aethiopica* from Cameroon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Journal of Applied Entomology*, **131**: 269–274.
- Kovačević, D., Momirović, N. (2000): Uloga integralnih sistema u suzbijanju korova u konceptu održive poljoprivrede. *Acta Herbologica*, **9**: 29–40.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R. (2011): A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, **8(9)**: 217–233.
- Krivokućin, I. (1998): Lekovite biljke familije Lamiaceae Lindley u flori Zapadne Bačke. *Specijalistički rad*, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Kumar, S., Pandey, A.K. (2013): Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, doi: 10.1155/2013/162750.
- Kuthan, H., Haussmann, H.J., Werringloer, J. (1986): A spectrophotometric assay for superoxide dismutase activities in crude tissue fractions. *Biochemical Journal*, **237**: 175–180.
- Kuźma, Ł., Różalski, M., Walencka, E., Różalska, B., Wysokińska, H. (2007): Antimicrobial activity of diterpenoids from hairy roots of *Salvia sclarea* L.: Salvipisone as a potential anti-biofilm agent active against antibiotic resistant *Staphylococci*. *Phytomedicine*, **14**: 31–35.
- Lee, S., Mbwambo, Z., Chung, H., Luyengi, L., Gamez, E., Mehta, R., Kinghorn, A., Pezzuto, J. (1998): Evaluation of the antioxidant potential of natural products. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, **1**: 35–46.
- Li, Y., Hu, T., Zeng, F., Chen, H., Wu, X. (2013): Effects of *Eucalyptus grandis* Leaf Litter Decomposition on the Growth and Resistance Physiology Traits of *Eremochloa ophiurooides*. *Journal of Plant Studies*, **2(1)**: 158–165.
- Li, Z.H., Wang, Q., Ruan, X., Pan, C., Jiang, D.A. (2010): Phenolics and Plant allelopathy. *Molecules*, **15**: 8933–8952.

Liu, Y., Li, F., Huang, Q. (2013): Allelopathic effects of gallic acid from *Aegiceras corniculatum* on *Cyclotella caspia*. *Journal of Environmental Sciences*, **25(4)**: 776–784.

Lopez-Alarcona, C., Denicolab, A. (2013): Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, **763**: 1–10.

Malenčić, Dj., Kiprovska, B., Popović, M., Prvulović, D., Miladinović, J., Djordjević, V. (2010): Changes in antioxidant systems in soybean as affected by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Plant Physiology and Biochemistry*, **48**: 903–908.

Malenčić, Đ. (2001): Biohemija istraživanja odabranih samoniklih vrsta roda *Salvia* iz Vojvodine. *Doktorska disertacija*, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.

Malenčić, Đ., Popović, M. (2011): Praktikum iz biohemije biljaka, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

Mandal, C., Ghosh, N., Adak, M.K., Dey, N. (2013): Interaction of polyamine on oxidative stress induced by exogenously applied hydrogen peroxide in *Salvinia natans* Linn. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, **25(3)**: 203–212.

Mandal, M.S., Chakraborty, D., Dey, S. (2010): Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling & Behavior*, **5(4)**: 359–368.

Mandal, S., Mitra, A., Mallick, N. (2008): Biochemical characterization of oxidative burst during interaction between *Solanum lycopersicum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **72**: 56–61.

Marčić, D., Prijović, M., Drobnjaković, T., Perić, P., Šević, M., Stamenković, S. (2011): Efekti bioinsekticida u suzbijanju bele leptiraste vaši (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) na paradajzu. *Pesticidi i Fitomedicina*, **26(4)**: 363–369.

Marin, M., Novaković, M., Tešević, V., Vučković, I., Milojević, N., Vuković-Gačića, B., Marin, P.D. (2012): Antioxidative, antibacterial and antifungal activity of the essential oil of wild-growing *Satureja montana* L. from Dalmatia, Croatia. *Flavour and Fragrance Journal*, **27**: 216–223.

Markham, K.R. (1989): Flavones, flavonols and their glycosides, u: P.M. Dey, J.B. Harborne (ur.), *Methods in Plant Biochemistry 1 Vol 1*: 197–235, Academic Press, London, UK.

- Marnett, L.J. (1999): Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research*, **424**: 83–95.
- McCord, J.M. (2000): The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress. *The American Journal of Medicine*, **108**: 652–659.
- Meda, A., Lamien, E.C., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, G.O. (2005): Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, **91**: 571–577.
- Michalak, A. (2006): Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, **4**: 523–530.
- Mihajilov-Krstev, T., Radnović, D., Kitić, D., Stankov Jovanović, V., Mitić, V., Stojanović-Radić, Z., Zlatković, B. (2014): Chemical composition, antimicrobial, antioxidative and anticholinesterase activity of *Satureja montana* L. ssp *montana* essential oil. *Central European Journal of Biology*, **9(7)**: 668–677.
- Miladi, H., Slama, R.B., Mili, D., Zouari, S., Bakhrouf, A., Ammar, E. (2013): Chemical Composition and Cytotoxic and Antioxidant Activities of *Satureja montana* L. Essential Oil and Its Antibacterial Potential against *Salmonella* Spp. Strains. *Journal of Chemistry*, doi:10.1155/2013/275698.
- Miladinović, D., Ilić, B. (2010): Oksidativni stres u samoniklim biljkama. *Lekovite Sirovine*, **30**: 31–39.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A. (2004): Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, **85**: 231–237.
- Mimica-Dukić, N., Bugarin, D., Grbović, S., Mitić-Ćulafić, D., Vuković-Gačić, B., Orčić, D., Jovin, E., Couladis, M. (2010): Essential Oil of *Myrtus communis* L. as a Potential Antioxidant and Antimutagenic Agents. *Molecules*, **15**: 2759–2770.
- Moharram, A.H., Youssef, M.M. (2014): Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, **11(1)**: 31–42.
- Molnar, M., Čačić, M. (2011): Biološka aktivnost derivata kumarina. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, **3**: 55–65.

- Morkunas, I., Gmerek, J. (2007): The possible involvement of peroxidase in defense of yellow lupine embryo axes against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Plant Physiology*, **164**: 185–194.
- Nagegowda, A.D. (2010): Plant volatile terpenoid metabolism: Biosynthetic genes, transcriptional regulation and subcellular compartmentation. *FEBS Letters*, **584**: 2965–2973.
- Nasermodadi, S., Rowshan, V. (2013): Comparison of *Salvia sclarea* L. Essential Oil Components in Wild and Field Population. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, **5(8)**: 828–831.
- Nguyen, D.M., Seo, D.J., Lee, H.B., Kim, I.S., Kim, K.Y., Park, R.D., Jung, W.J. (2013): Antifungal activity of gallic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against *Fusarium solani*. *Microbial Pathogenesis*, **56**: 8–15.
- Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Hoorn, D.E.C., Boelens, P.G., Van Norren, K., Van Leeuwen, P.A.M. (2001): Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **74**: 418–425.
- Niki, E. (1987): Lipid antioxidants: how they may act in biological systems. *British Journal of Cancer*, **8**: 153–157.
- Niki, E. (2010): Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine*, **49**: 503–515.
- Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y., Noguchi, N. (2005): Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **338**: 668–676.
- Obeng-Ofori, D., Reichmuth, Ch. (1997): Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored product Coleoptera. *International Journal of Pest Management*, **43**: 89–94.
- Omezzine, F., Bouaziz, M., Simmonds, M.S.J., Haouala, R. (2014): Variation in chemical composition and allelopathic potential of mixoploid *Trigonella foenum-graecum* L. with developmental stages. *Food Chemistry*, **148**: 188–195.
- Oppert, B., Morgan, T.D. (2013): Improved high-throughput bioassay for *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Stored Products Research*, **52**: 68–73.

- Oracz, K., Bailly, C., Gniazdowska, A., Côme, D., Corbineau, F., Bogatek, R. (2007): Induction of Oxidative Stress by Sunflower Phytotoxins in Germinating Mustard Seeds. *Journal of Chemical Ecology*, **33**: 251–264.
- Orčić, D. (2010): Vrste *Tribusa scandiceae* (Apiaceae Lindley 1836, subfam. Apioideae) Potencijalni izvor biološki i farmakološki aktivnih sekundarnih biomolekula. *Doktorska disertacija*, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Pavela, R., Vrchotova, N., Šerá, B. (2009): Repellency and toxicity of three *Impatiens* species (Balsaminaceae) extracts on *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae). *Journal of Biopesticides*, **2(1)**: 48–51.
- Pereira, M.D., Valentão, P., Pereira, A.J., Andrade, B.P. (2009): Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*, **14**: 2202–2211.
- Phillips, A.K. (2009): Toxicity and repellency of essential oils to the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Master thesis*, Graduate Faculty of Auburn University.
- Phillips, A.K., Appel, A.G. (2010): Fumigant toxicity of essential oils to the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology*, **103(3)**: 781–790.
- Phillips, A.K., Appel, A.G., Sims, S.R. (2010): Topical toxicity of essential oils to the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology*, **103(2)**: 448–459.
- Pietta, P.G. (2000): Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63(7)**: 1035–1042.
- Popović, B., Štajner, D. (2008): Oksidativni stres kod biljaka, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Srbija.
- Popović, M. (2001): Biohemija biljaka, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Srbija.
- Popović, M., Gašić, O., Simmonds, M., Malenčić, Đ. (1997): Antimikrobnna aktivnost sekundarnih biomolekula nekih vrsta familije Asteraceae. *Arhiv za Farmaciju*, **5**: 630–631.
- Popović, M., Malenčić, Đ. (2006): Aktivni principi ukrasnog bilja, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Srbija.
- Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. (2006): In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **6**: 39–47.

- Putnam, R.A. (1988): Allelochemicals from Plants as Herbicides. *Weed Technology*, **2(4)**: 510–518.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., Dhama, K. (2014): Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. *BioMed Research International*, **2014**: 1–19.
- Rajković, S., Stević, T., Kostić, M., Stanković, S. (2003): Patogene gljive kao mogući uzročnici pojave mikotoksina štetnih za ljude i životinje. *Lekovite Sirovine*, **23**: 23–30.
- Ramanauskienė, K., Savickas, A., Inkēnienė, A., Vitkevičius, K., Kasparavičienė, G., Briedis, V., Amšiejus, A. (2009): Analysis of content of phenolic acids in Lithuanian propolis using high-performance liquid chromatography technique. *Medicina (Kaunas)*, **45(9)**: 712–717.
- Ramasubramania Raja, R. (2012): Medicinally Potential Plants of Labiateae (Lamiaceae) Family: An Overview. *Research Journal of Medicinal Plant*, **6(3)**: 203–213.
- Randđelović, J. (2013): Multielementarna analiza crnog, zelenog i biljnih infuz čajeva primenom ICP-OES metode. *Master rad*, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu.
- Re, P., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999): Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, **26(9-10)**: 1231–1237.
- Roth, C.M., Shrozer, J.P., Paulsen, G.M. (2000): Allelopathy of Sorghum on Wheat under Several Tillage Systems. *Agronomy Journal*, **92**: 855–860.
- Safari, H., Tavili, A., Saberi, M. (2010): Allelopathic effects of *Thymus kotschyanus* on seed germination and initial growth of *Bromus tomentellus* and *Trifolium repens*. *Frontiers of Agriculture in China*, **4(4)**: 475–480.
- Sakihama, Y., Cohen, F.M., Grace, C.S., Yamasaki, H. (2002): Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, **177**: 67–80.
- Sandhar, H.K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M., Sharma P. (2011): A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutical Sciencia*, **1**: 25–41.

Sathya, E., Bjorn, M. (2010): Spectrophotometric Assays for Antioxidant Enzymes in Plants, u: E. Sathya, M. Bjorn (ur.), Plant Stress Tolerance Vol **639**: 273–280, Humana Press, Oklahoma, USA.

Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M., Iseki, K. (2011): *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, **403**: 136–138.

Sedmark, J., Grossberg, S.E. (1977): A rapid, sensitive and versatile assay for protein using Coomassie Brilliant Blue G250. *Analytical Biochemistry*, **79**: 544–552.

Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, J., Nunes, M.L., Marques, A. (2011): Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. extracts. *Journal of Science of food and Agriculture*, **91**: 1554–1560.

Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U., Pissarev, V. (1991): Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. *Journal of Chemical Ecology*, **17**: 499–504.

Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G., Mirtajaldini, M. (2009): Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium*. *Food Chemistry*, **112**: 885–888.

Sharma, M., Satsangi, P.G. (2013): Potential Allelopathic Influence of Sunflower (*Helianthus Annuus* L.) on Germination and Growth behavior of Two Weeds *in-vitro* Condition. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*, **4(5)**: 421–426.

Shaw, S., Jayatilleke, E. (1990): The role of aldehyde oxidase in ethanol-induced hepatic lipid peroxidation in the rat. *Biochemical Journal*, **268**: 579–583.

Sikora, V., Berenji, J. (2008): Alelopatski potencijal Sirkova (*Sorghum* sp.). *Bilten za Hmelj, Sirak i Lekovito Bilje*, **40(81)**: 5–14.

Simpson, B.B. (1995): Spices, herbs, and perfumes, u: B.B. Simpson, M.C. Ogorzaly (ur.), Economic Botany: plants in Our World, Vol **2**: 278–301, McGraw-Hill, New York, USA.

Singh, G., Upadhyay, R.K. (1993): Essential oils: a potent source of natural pesticides. *Journal of Scientific and Industrial Research*, **52**: 676–683.

Singh, H.P., Kaur, S., Batish, D.R., Kohli, R.K. (2009): Caffeic acid inhibits in vitro rooting in mung bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] hypocotyls by inducing oxidative stress. *Plant Growth Regulation*, **57**: 21–30.

Singh, N.B., Sunaina, Yadav, K., Amist, N. (2013): Phytotoxic Effects of Cinnamic Acid on Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **9(2)**: 307–317.

Sinha, R.N., Watters, F.L. (1985): Insect Pests of Flour Mills, Grain Elevators, and Feed Mills and Their Control, Agriculture Canada, Ottawa, Canada.

Slavkovska, V., Zlatković, B., Bräuchler, C., Stojanović, D., Tzakou, O., Couladis, M. (2013): Variations of essential oil characteristics of *Clinopodium pulegium* (Lamiaceae) depending on phenological stage. *Botanica Serbica*, **37(2)**: 97–104.

Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R., Gniazdowska, A. (2013): Allelochemicals as Bioherbicides-Present and Perspectives, Herbicides – Current Research and Case Studies in Use, doi: 10.5772/56185.

Spector, T. (1978): Refinement of the Coomassie blue method of protein quantitation. *Analytical Biochemistry*, **86**: 142–146.

Stajčić, S. (2012): Visokovredna funkcionalna jedinjenja iz sporednih proizvoda prerade paradajza. *Doktorska disertacija*, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.

Stanković, Ž., Petrović, M., Krstić, B., Erić, Ž. (2006): Fiziologija biljaka, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad, Srbija.

Stoiljković, Z., Mihajlović, D., Đokić-Nasković, D. (2004): HPLC određivanje ruzmarinske kiseline u suvom ekstraktu ruzmarina. *Zbornik Radova Tehnološkog Fakulteta*, **13**: 18–25.

Strack, D. (1997): Phenolic metabolism, u: P.M. Dey, J.B. Harborne (ur.), *Plant Biochemistry*, p. 387–437, Academic Press, New York, USA.

Stupnicka-Rodzynkiewicz, E., Dabkowska, T., Stoklosa, A., Hura, T., Dubert, F.H., Lepiarczyk, A. (2006): The effect of selected phenolic compounds on the initial growth of four weed species. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **XX**: 479–486.

Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (1995): Resistance measurement and management, u: B. Subramanyam, D.W. Hagstrum (ur.), “Integrated Management of Insects in Stored Products”, p. 331–397, Marcel Dekker, New York, USA.

Sunmonu, T.O., Van Staden, J. (2014): Phytotoxicity evaluation of six fast-growing tree species in South Africa. *South African Journal of Botany*, **90**: 101–106.

Šćepanović, M., Novak, N., Barić, K., Ostojić, Z., Galzina, N., Goršić, M. (2007): Alelopatski utjecaj korovnih vrsta *Abutilon theophrasti* Med. i *Datura stramonium* L. na početni razvoj kukuruza. *Agronomski glasnik*, **6**: 459–472.

Šilić, Č. (1979): Monografija rodova Satureja L., Calamintha Miller, Micromeria Bentham, Acinos Miller i Clinopodium L. u flori Jugoslavije, Zemaljski muzej, Sarajevo, Bosna i Hercegovina.

Štajner, D., Milić-De Marino, N., Verešbaranji, A. (1998): Slobodni radikali u biološkim sistemima. *Pharmacia Iugoslavica*, **36**: 75–78.

Štefan, L., Tepšić, T., Zavidić, T., Urkalo, M., Tota, D., Domitrović, R. (2007): Lipidna peroksidacija-uzroci i posledice. *Medicina*, **43**: 84–93.

Tahirović, I., Kožljak, M., Toromanović, J., Čopra-Janićijević, A., Klepo, L., Topčagić, A., Demirović, H. (2014): Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Infusions of Various Herbal Teas. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*, **42**: 51–55.

Taulavuouri, E., Hellström, E.K., Taulavuouri, K., Laine, K. (2001): Comparison of two methods used to analyse lipid peroxidation from *Vaccinium myrtillus* (L.) during snow removal, reacclimation and cold acclimation. *Journal of Experimental Botany*, **52(365)**: 2375–2380.

Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E.M., Garrido, J., Borges, F. (2013): Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *BioMed Research International*, doi: 10.1155/2013/251754.

Tongnuanchan, P., Benjakul, S. (2014): Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, **79**: 1231–1249.

Tucakov, J. (1996): Lečenje biljem, Rad, Beograd, Srbija.

Uddin, M.R., Thwe, A.A., Kim, Y.B., Park, W.T., Chae, S.C., Park, S.U. (2013): Effects of Jasmonates on Sorgoleone Accumulation and Expression of Genes for Sorgoleone Biosynthesis in Sorghum Roots. *Journal of Chemical Ecology*, **39**: 712–722.

Ugrenović, V., Filipović, V. (2012): Organska proizvodnja i biodiverzitet. II Otvoreni dani biodiverziteta, Zbornik referata, Pančevo, Srbija.

Veličković, J. (2013): Hemiska analiza i antioksidativna aktivnost ekstrakata odabranih biljnih vrsta bogatih fenolnim jedinjenjima. *Doktorska disertacija*, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu.

Venkateshappa, S.M., Sreenath, K.P. (2013): Potential medicinal plants of Lamiaceae. *American International Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences*, **3(1)**: 82–87.

Vidanović, S.N. (2013): Uporedna analiza epidermisa lista vrsta roda *Salvia* L. (Lamiales, Lamiaceae). *Master rad*, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu.

Vrbničanin, S., Kojić, M. (2000): Biološka i ekološka proučavanja korova na području Srbije. Razvoj, današnje stanje, perspektive. *Acta Herbologica*, **9(1)**: 41–59.

Vučinić, M., Nedeljković-Trailović, J., Trailović, S., Ivanović, S., Milovanović, M., Krnjaić, D. (2011): Karvakrol kao ekološki insekticid i akaricid od značaja za humanu i veterinarsku medicinu. *Veterinarski glasnik*, **65**: 433–441.

Vulić, J. (2012): Funkcionalne i Antioksidativne osobine tropa cvekle (*Beta vulgaris*). *Doktorska disertacija*, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.

Wang, J., Zhu, F., Zhou, X.M., Niu, C.Y., Lei, C.L. (2006): Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, **42**: 339–347.

Weir, T.L., Park, S.W., Vivanco, J.M. (2004): Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biology*, **7**: 472–479.

Weiβhuhn, K., Prati, D. (2009): Activated carbon may have undesired side effects for testing allelopathy in invasive plants. *Basic and Applied Ecology*, **10**: 500–507.

White, N.D.G., Leesch, J.G. (1995): Chemical control, u: B. Subramanyam, D.W. Hagstrum (ur.), “Integrated Management of Insects in Stored Products”, p. 287–330, Marcel Dekker, New York, USA.

Wink, M. (1993): Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective, u: T.A. van Beek, H. Breteler (ur.), “Phytochemistry and Agriculture” Vol **34**: 171–213, Clarendon, Oxford, UK.

Wójcicka, A. (2010): Cereal Phenolic Compounds as Biopesticides of Cereal Aphids. *Polish Journal of Environmental Studies*, **19(6)**: 1337–1343.

Wu, H., Haig, T., Pratley, J., Lemerle, D., An, M. (2000): Allelochemicals in Wheat (*Triticum Aestivum L.*): Variation of Phenolic Acids in Root Tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**: 5321–5325.

Yen, G.C., Duh, P.D., Tsai, H.L. (2002): Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, **79**: 307–313.

Yoshida, Y., Ito, N., Shimakawa, S., Niki, E. (2003): Susceptibility of plasma lipids to peroxidation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **305**: 747–753.

Yu, J.Q., Ye, S.F., Zhang, M.F., Hu, W.H. (2003): Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*), and allelochemicals on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. *Biochemical Systematics and Ecology*, **31(2)**: 129–139.

Zdravković, S.A., Stanojević, P.Lj., Stanković, Z.M., Cakić, D.M., Nikolić, D.V., Nikolić, B.Lj., Ilić, P.D. (2012): Uticaj operativnih uslova i tehnike ekstrakcije na prinos, kinetiku i sastav vodeno-etanolnih ekstrakata iz lista koprive (*Urtica dioica L.*). *Savremene Tehnologije*, **1(1)**: 30–37.

Zeman, S., Fruk, G., Jeremić, T. (2011): Alelopatski odnosi biljaka: pregled djelujućih čimbenika i mogućnost primjene. *Glasnik zaštite bilja*, **34(4)**: 52–59.

Zeng, R.S., Luo, S.M., Shi, Y.H., Shi, M.B., Tu, C.Y. (2001): Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonic acid F on higher plants. *Agronomy Journal*, **93(1)**: 72–79.

Zhang, H., Qiu, M., Chen, Y., Chen, J., Sun, Y., Wang, C., Fong, H.H.S. (2011): Plant terpenes. Phytochemistry and Pharmacognosy. Encyclopedia of Life Support Systems, <http://www.eolss.net/sample-chapters/c06/e6-151-05-00.pdf>.

Internet sajtovi:

Biela, M. (2008): URL: <http://botany.cz/cs/salvia-sclarea/> (pristupljeno 12. 02. 2015.).

Mgarr, (2007): URL: <http://davesgarden.com/guides/pf/showimage/141689/> (pristupljeno 12. 02. 2015.).

Hoeck, C. (2015): URL: <http://www.cruydhoeck.nl/winkel/salvia+sclarea/207> (pristupljeno 12. 02. 2015.).

Kennedyh, (2007): URL: <http://davesgarden.com/guides/pf/showimage/182473/> (pristupljeno 12. 02. 2015.).

Maggia, S. (Photo gallery): URL: <http://luirig.altervista.org/pics/display.php?pos=295576> (pristupljeno 12. 02. 2015.).

Maggia, S. (2009): URL: [http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-071/satureja-montana507.jpg/](http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-071/satureja-montana507.jpg) (pristupljeno 12. 02. 2015.).

Kocna, P. (2015): URL: <http://www.biolib.cz/en/image/id195032/> (pristupljeno 12. 02. 2015.).

Flickr, (2012): URL: <https://www.flickr.com/photos/12639178@N07/8324540229/> (pristupljeno 12. 02. 2015.).

Sauvage, D. (2013): URL: <http://dronnesauvage.canalblog.com/archives/2013/09/21/28060981.html> (pristupljeno 12. 02. 2015.)

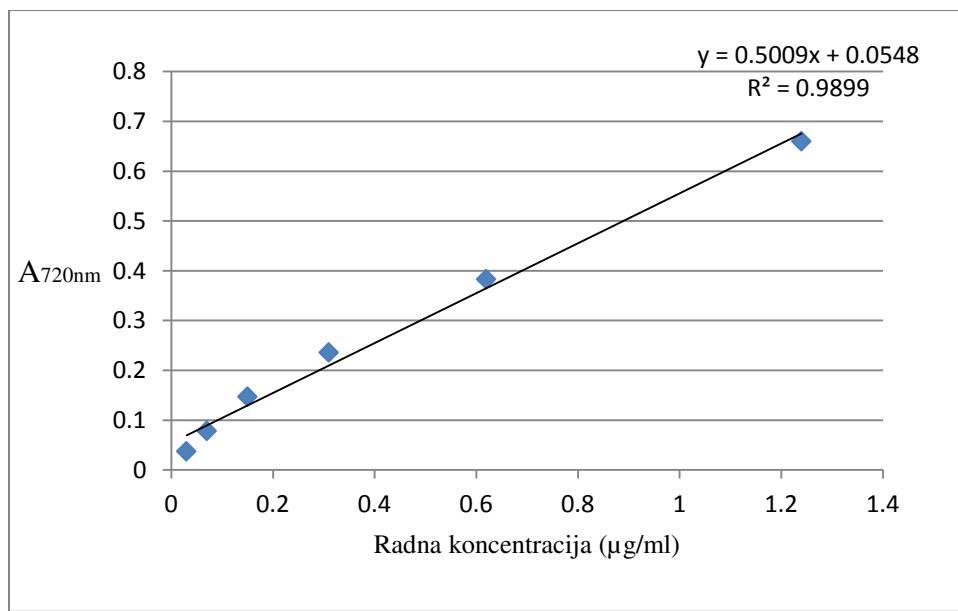
## ***8. Prilog***

## 8.1. Ispitivanje hemijskog sastava i antioksidativne aktivnosti biljnih ekstrakata

### 8.1.1. Određivanje ukupnih reduktanata

Podaci pomoću kojih je konstruisana kalibraciona kriva za galnu kiselinu.

Radna konc. mg/ml	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>sr</sub>
1,24	0,644	0,662	0,674	0,660
0,62	0,380	0,399	0,371	0,383
0,31	0,240	0,234	0,233	0,236
0,15	0,149	0,145	0,147	0,147
0,07	0,077	0,082	0,075	0,078
0,03	0,034	0,039	0,040	0,037

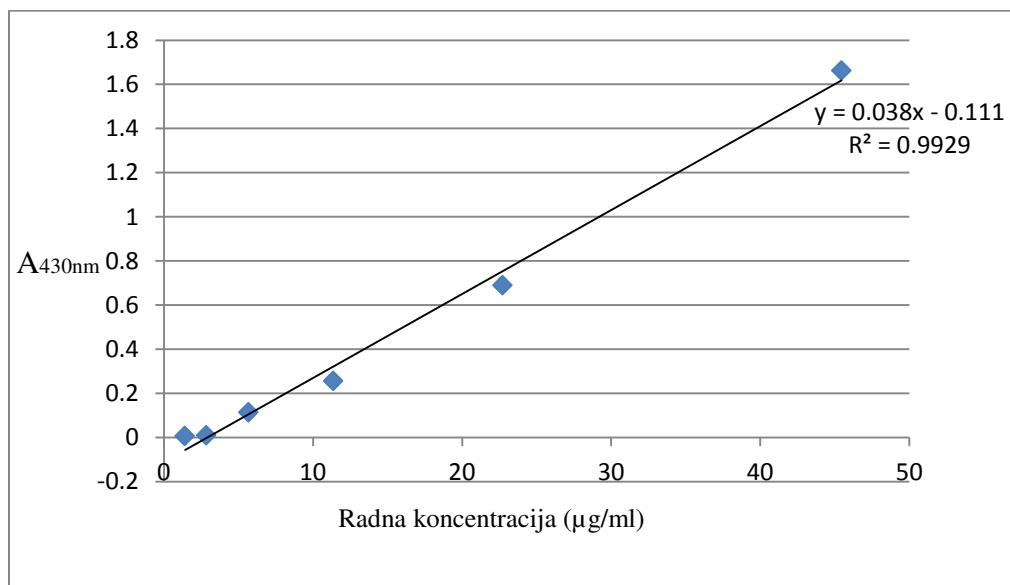


Kalibraciona kriva standarda galne kiseline.

### 8.1.2. Određivanje ukupnih flavonoida

*Podaci pomoću kojih je konstruisana klibraciona kriva za rutin.*

Radna konc. mg/ml	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>sr</sub>
45,45	1,539	1,758	1,688	1,661
22,73	0,639	0,753	0,676	0,689
11,36	0,258	0,264	0,254	0,258
5,68	0,101	0,130	0,112	0,114
2,84	0,010	0,010	0,011	0,010
1,42	0,006	0,007	0,006	0,006

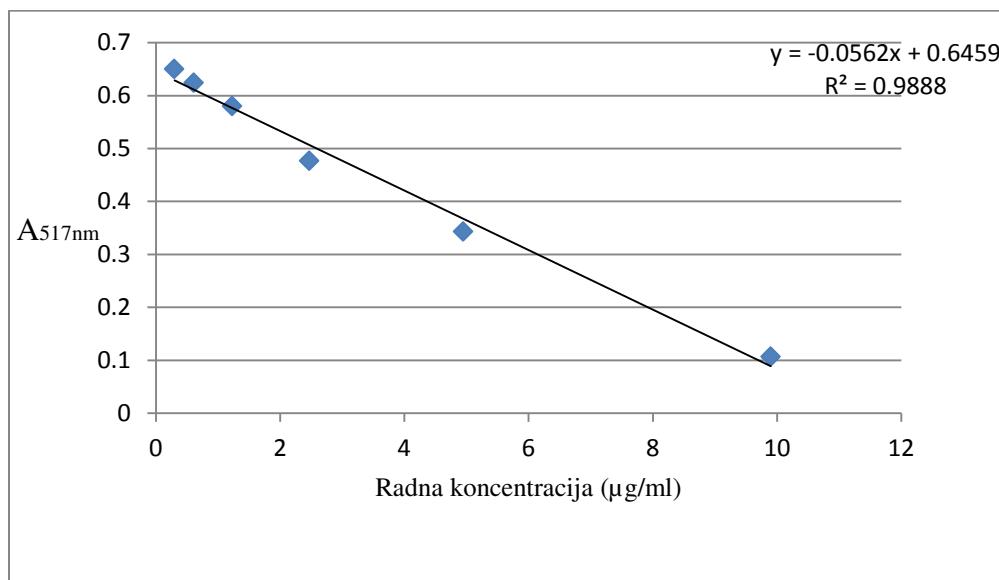


*Kalibraciona kriva standardnog rastvora rutina.*

### 8.1.3. Određivanje neutralizacije DPPH<sup>·</sup> radikala

Podaci pomoću kojih je konstruisana kalibraciona kriva za trolox.

Radna konc. µg/ml	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>sr</sub>
9,90	0,104	0,115	0,103	0,107
4,95	0,338	0,342	0,350	0,343
2,47	0,483	0,464	0,484	0,477
1,23	0,583	0,588	0,570	0,580
0,61	0,622	0,621	0,629	0,624
0,3	0,658	0,649	0,645	0,650

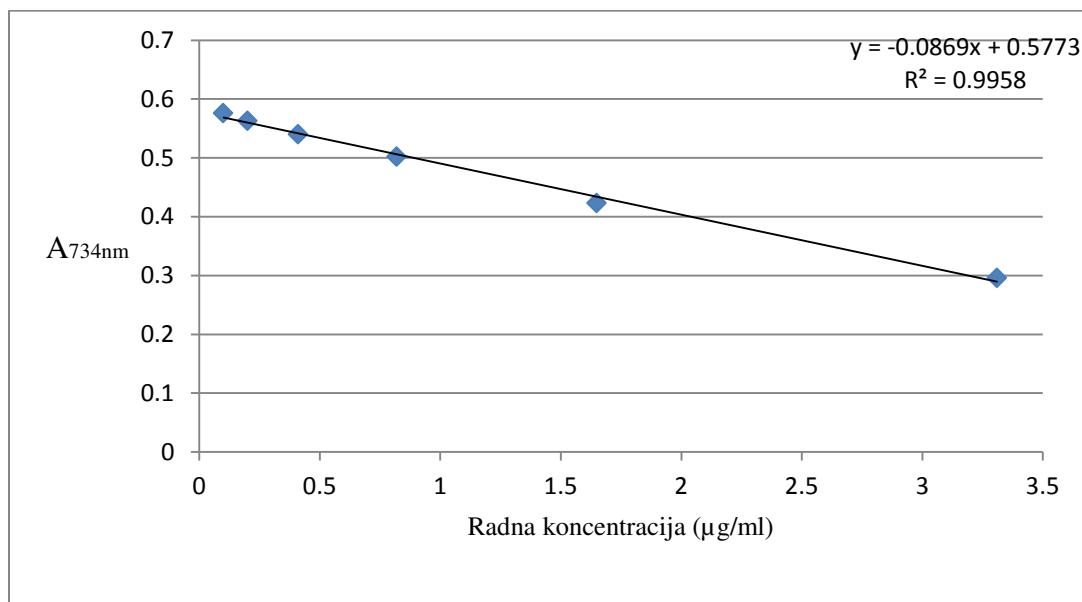


Kalibraciona kriva standardnog rastvora troloxa.

#### 8.1.4. Ispitivanje sposobnosti neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala

Podaci pomoću kojih je konstruisana kalibraciona kriva za trolox.

Radna konc. µg/ml	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>sr</sub>
3,31	0,300	0,301	0,288	0,296
1,65	0,425	0,427	0,419	0,423
0,82	0,500	0,508	0,500	0,502
0,41	0,542	0,564	0,531	0,540
0,20	0,563	0,564	0,563	0,563
0,10	0,575	0,580	0,575	0,576

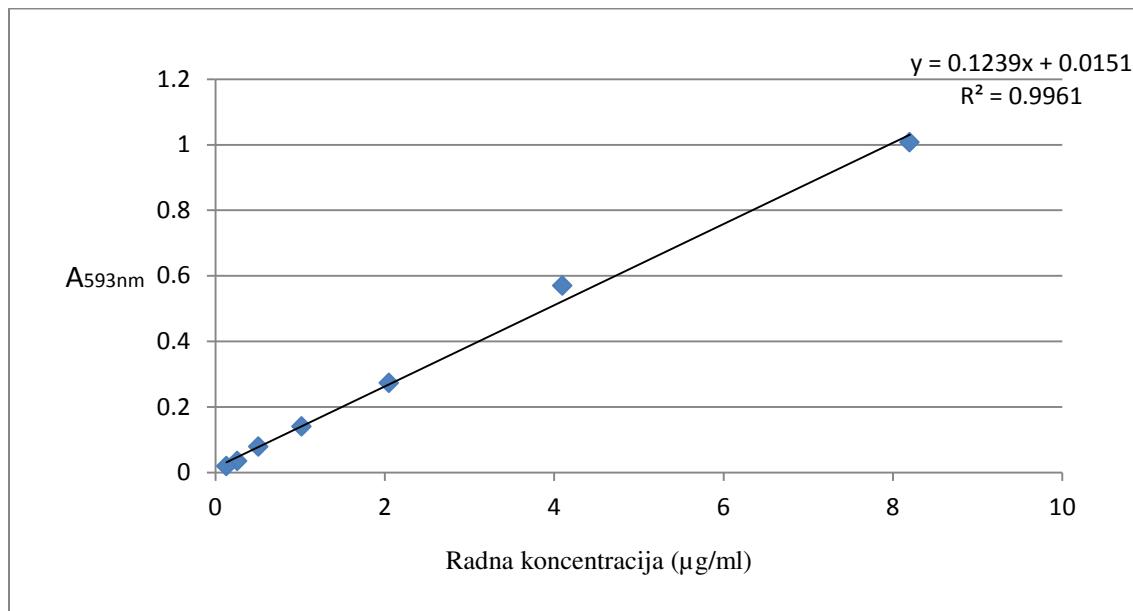


Kalibraciona kriva standardnog rastvora troloxa.

### 8.1.5. Određivanje redukcionog kapaciteta FRAP metodom

*Podaci pomoću kojih je konstruisana kalibraciona kriva za trolox.*

Radna konc. µg/ml	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>sr</sub>
8,2	1,006	1,007	1,007	1,007
4,1	0,562	0,571	0,578	0,570
2,05	0,267	0,276	0,275	0,273
1,02	0,139	0,135	0,146	0,140
0,51	0,091	0,072	0,072	0,078
0,26	0,033	0,034	0,034	0,034
0,13	0,021	0,017	0,018	0,019



*Kalibraciona kriva standardnog rastvora troloxa.*

## 8.2. Alelopatski efekat vodenih ekstrakata

8.2.1. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test biljaka tretiranih vodenim ekstraktom *Satureja montana* L.

*Uticaj vodenog ekstrakta S. montana (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenju crne pomoćnice.*

		Vreme	24h	72h	120h
List					
CAT	Kontrola		10.34 ± 0.11 <sup>a</sup>	25.83 ± 1.76 <sup>d</sup>	15.28 ± 0.15 <sup>b</sup>
	0.1 %		46.29 ± 0.21 <sup>f</sup>	32.13 ± 1.42 <sup>c</sup>	20.67 ± 0.55 <sup>c</sup>
	0.2 %		31.41 ± 0.97 <sup>e</sup>	26.15 ± 2.49 <sup>d</sup>	11.81 ± 0.77 <sup>a</sup>
SOD	Kontrola		16.50 ± 0.04 <sup>a</sup>	16.28 ± 0.19 <sup>a</sup>	9.88 ± 0.11 <sup>c</sup>
	0.1 %		21.72 ± 0.22 <sup>d</sup>	23.15 ± 0.06 <sup>g</sup>	19.49 ± 0.14 <sup>b</sup>
	0.2 %		22.69 ± 0.13 <sup>f</sup>	21.96 ± 0.15 <sup>d</sup>	13.80 ± 0.05 <sup>c</sup>
GPx	Kontrola		99.26 ± 6.03 <sup>a</sup>	94.99 ± 7.02 <sup>a</sup>	85.71 ± 5.18 <sup>a</sup>
	0.1 %		127.18 ± 7.73 <sup>b</sup>	98.31 ± 6.16 <sup>a</sup>	104.41 ± 5.47 <sup>a,b</sup>
	0.2 %		99.10 ± 5.14 <sup>a</sup>	134.73 ± 15.72 <sup>b</sup>	136.44 ± 10.84 <sup>b</sup>
PPx	Kontrola		145.90 ± 3.99 <sup>a</sup>	151.05 ± 3.54 <sup>a</sup>	112.65 ± 3.88 <sup>b</sup>
	0.1 %		137.38 ± 5.31 <sup>a,b</sup>	152.53 ± 7.59 <sup>a</sup>	94.00 ± 1.45 <sup>c</sup>
	0.2 %		147.96 ± 4.70 <sup>a</sup>	209.90 ± 13.76 <sup>d</sup>	120.86 ± 3.31 <sup>b</sup>
LP	Kontrola		1.68 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.15 ± 0.05 <sup>c</sup>	1.96 ± 0.08 <sup>b</sup>
	0.1 %		2.38 ± 0.03 <sup>d</sup>	2.39 ± 0.03 <sup>d</sup>	2.67 ± 0.05 <sup>e</sup>
	0.2 %		1.91 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.64 ± 0.05 <sup>e</sup>	2.17 ± 0.03 <sup>c</sup>
Koren					
CAT	Kontrola		3.61 ± 0.07 <sup>a</sup>	20.06 ± 0.59 <sup>c</sup>	9.36 ± 0.33 <sup>a,b</sup>
	0.1 %		6.50 ± 0.06 <sup>a</sup>	13.13 ± 1.39 <sup>b</sup>	11.15 ± 1.77 <sup>b</sup>
	0.2 %		13.04 ± 0.93 <sup>b</sup>	35.55 ± 2.79 <sup>d</sup>	12.67 ± 0.47 <sup>b</sup>
SOD	Kontrola		33.82 ± 0.08 <sup>a</sup>	25.90 ± 1.91 <sup>b</sup>	11.37 ± 0.68 <sup>f</sup>
	0.1 %		75.65 ± 0.44 <sup>d</sup>	26.04 ± 0.15 <sup>b</sup>	27.09 ± 1.53 <sup>b</sup>
	0.2 %		59.80 ± 0.48 <sup>c</sup>	25.60 ± 3.06 <sup>b</sup>	19.36 ± 0.25 <sup>e</sup>
GPx	Kontrola		(1.47 ± 0.06)·10 <sup>3 a,b</sup>	(1.47 ± 0.07)·10 <sup>3 a</sup>	(2.07 ± 0.07)·10 <sup>3 d</sup>
	0.1 %		(1.54 ± 0.11)·10 <sup>3 a</sup>	(1.36 ± 0.07)·10 <sup>3 a,b</sup>	(1.81 ± 0.06)·10 <sup>3 c</sup>
	0.2 %		(2.74 ± 0.12)·10 <sup>3 e</sup>	(1.60 ± 0.08)·10 <sup>3 a,c</sup>	(1.21 ± 0.07)·10 <sup>3 b</sup>
PPx	Kontrola		(1.30 ± 0.02)·10 <sup>3 a,b</sup>	(1.34 ± 0.02)·10 <sup>3 a</sup>	(1.27 ± 0.05)·10 <sup>3 a,b</sup>
	0.1 %		(1.01 ± 0.04)·10 <sup>3 b,c</sup>	(1.14 ± 0.05)·10 <sup>3 b</sup>	(1.22 ± 0.03)·10 <sup>3 a,b</sup>
	0.2 %		(1.72 ± 0.09)·10 <sup>3 d</sup>	(1.68 ± 0.07)·10 <sup>3 d</sup>	(0.94 ± 0.021)·10 <sup>3 c</sup>
LP	Kontrola		2.38 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.37 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.88 ± 0.05 <sup>b</sup>
	0.1 %		3.46 ± 0.06 <sup>c</sup>	3.41 ± 0.04 <sup>c</sup>	3.54 ± 0.11 <sup>c</sup>
	0.2 %		3.33 ± 0.03 <sup>c</sup>	4.57 ± 0.10 <sup>d</sup>	3.45 ± 0.08 <sup>c</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-h</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u U mg<sup>-1</sup> proteina. Intenzitet LP je izražen u nmol mg<sup>-1</sup> proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenu tatule.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	72.04 ± 6.75 <sup>a</sup>	80.45 ± 1.33 <sup>a</sup>	74.92 ± 5.55 <sup>a</sup>
	0.1 %	91.43 ± 14.66 <sup>a</sup>	73.26 ± 13.01 <sup>a</sup>	65.66 ± 2.08 <sup>a</sup>
	0.2 %	90.52 ± 5.30 <sup>a</sup>	71.86 ± 10.27 <sup>a</sup>	38.57 ± 4.69 <sup>b</sup>
SOD	Kontrola	27.07 ± 1.02 <sup>a</sup>	32.51 ± 0.15 <sup>b</sup>	31.96 ± 0.43 <sup>b</sup>
	0.1 %	35.36 ± 0.92 <sup>c</sup>	20.70 ± 0.17 <sup>d</sup>	29.33 ± 0.21 <sup>c</sup>
	0.2 %	25.84 ± 0.23 <sup>a</sup>	25.97 ± 0.09 <sup>a</sup>	38.20 ± 0.56 <sup>f</sup>
GPx	Kontrola	(0.76 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.80 ± 0.09)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(1.42 ± 0.09)·10 <sup>3</sup> <sup>c,d</sup>
	0.1 %	(0.82 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(1.12 ± 0.07)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(1.25 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
	0.2 %	(0.97 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(1.50 ± 0.11)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(1.65 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
PPx	Kontrola	(0.64 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.91 ± 0.077.86)·10 <sup>3</sup> <sup>a,c</sup>	(0.67 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
	0.1 %	(0.79 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b,c</sup>	(1.02 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(1.32 ± 0.09)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.2 %	(0.69 ± 0.08)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(1.41 ± 0.13)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(1.04 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
LP	Kontrola	6.90 ± 1.57 <sup>a,b</sup>	11.24 ± 2.08 <sup>a,b</sup>	6.33 ± 0.09 <sup>b</sup>
	0.1 %	9.88 ± 1.13 <sup>a,b</sup>	9.07 ± 3.00 <sup>a,b</sup>	6.32 ± 0.38 <sup>b</sup>
	0.2 %	12.15 ± 2.44 <sup>a</sup>	7.17 ± 0.61 <sup>a,b</sup>	7.09 ± 0.14 <sup>a,b</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	23.64 ± 2.58 <sup>a,b</sup>	21.93 ± 1.81 <sup>a</sup>	17.86 ± 2.83 <sup>a</sup>
	0.1 %	34.43 ± 2.22 <sup>a,b</sup>	32.89 ± 3.46 <sup>a,b</sup>	57.38 ± 10.72 <sup>b</sup>
	0.2 %	29.29 ± 3.71 <sup>a,b</sup>	46.77 ± 8.63 <sup>a,b</sup>	80.27 ± 27.58 <sup>c</sup>
SOD	Kontrola	68.79 ± 3.22 <sup>a</sup>	57.16 ± 4.09 <sup>a,b</sup>	96.37 ± 0.83 <sup>c</sup>
	0.1 %	103.57 ± 20.23 <sup>c</sup>	63.75 ± 7.06 <sup>a,b</sup>	99.96 ± 5.42 <sup>c</sup>
	0.2 %	39.77 ± 8.00 <sup>b</sup>	54.06 ± 10.58 <sup>a,b</sup>	118.97 ± 3.66 <sup>c</sup>
GPx	Kontrola	(4.58 ± 0.25)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(5.60 ± 0.27)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>	(6.76 ± 0.27)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>
	0.1 %	(3.87 ± 0.46)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(4.85 ± 0.10)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(10.00 ± 0.22)·10 <sup>3</sup> <sup>f</sup>
	0.2 %	(2.93 ± 0.13)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(5.80 ± 0.26)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(3.92 ± 0.47)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
PPx	Kontrola	(4.36 ± 0.34)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(5.61 ± 0.28)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(3.77 ± 0.24)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
	0.1 %	(4.42 ± 0.19)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(3.76 ± 0.64)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(3.23 ± 0.09)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
	0.2 %	(3.63 ± 0.16)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(4.28 ± 0.21)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(3.25 ± 0.26)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
LP	Kontrola	8.22 ± 1.09 <sup>a,b</sup>	8.15 ± 0.03 <sup>a,b</sup>	7.36 ± 0.27 <sup>a</sup>
	0.1 %	5.98 ± 0.17 <sup>a</sup>	21.08 ± 7.05 <sup>c</sup>	12.13 ± 0.64 <sup>a,b,c</sup>
	0.2 %	23.99 ± 4.83 <sup>d</sup>	18.34 ± 3.89 <sup>b</sup>	12.34 ± 0.11 <sup>a,b,c</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-f</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u  $\text{nmol mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenju klasače.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	15.33 ± 1.66 <sup>a,b</sup>	20.53 ± 1.74 <sup>a,c</sup>	8.94 ± 0.37 <sup>b</sup>
	0.1 %	42.93 ± 7.21 <sup>d</sup>	25.60 ± 3.51 <sup>c</sup>	16.66 ± 1.56 <sup>a,b,c</sup>
	0.2 %	12.51 ± 0.62 <sup>a</sup>	25.44 ± 1.66 <sup>c,d</sup>	13.64 ± 1.85 <sup>a,b</sup>
SOD	Kontrola	36.14 ± 2.35 <sup>a</sup>	11.87 ± 0.21 <sup>e</sup>	11.59 ± 0.19 <sup>e</sup>
	0.1 %	33.15 ± 0.53 <sup>a</sup>	18.35 ± 0.60 <sup>d</sup>	27.78 ± 0.60 <sup>c</sup>
	0.2 %	33.27 ± 0.93 <sup>a</sup>	33.10 ± 2.28 <sup>a</sup>	39.75 ± 0.19 <sup>b</sup>
GPx	Kontrola	(0.40 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(0.35 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.51 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
	0.1 %	(0.42 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(0.42 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(0.42 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
	0.2 %	(0.35 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.59 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(0.47 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b,c</sup>
PPx	Kontrola	(0.38 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.35 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(0.34 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
	0.1 %	(0.29 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.31 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.33 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
	0.2 %	(0.39 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.36 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(0.36 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
LP	Kontrola	3.83 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.26 ± 0.15 <sup>c</sup>	5.48 ± 0.07 <sup>e</sup>
	0.1 %	4.38 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.64 ± 0.07 <sup>a</sup>	6.18 ± 0.03 <sup>f</sup>
	0.2 %	4.74 ± 0.21 <sup>d</sup>	4.89 ± 0.06 <sup>d</sup>	5.47 ± 0.06 <sup>e</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	4.13 ± 0.20 <sup>a</sup>	3.27 ± 0.86 <sup>a</sup>	5.03 ± 0.67 <sup>a</sup>
	0.1 %	11.93 ± 0.62 <sup>b,c</sup>	19.94 ± 0.72 <sup>d</sup>	24.49 ± 0.34 <sup>e</sup>
	0.2 %	11.52 ± 0.55 <sup>b</sup>	14.07 ± 0.96 <sup>c</sup>	13.45 ± 0.8 <sup>b,c</sup>
SOD	Kontrola	29.35 ± 6.04 <sup>a</sup>	10.24 ± 2.24 <sup>c</sup>	18.85 ± 1.94 <sup>c</sup>
	0.1 %	39.40 ± 1.10 <sup>a,b</sup>	77.32 ± 10.34 <sup>d</sup>	89.18 ± 0.00 <sup>d</sup>
	0.2 %	36.44 ± 2.85 <sup>a,b</sup>	35.08 ± 3.85 <sup>a,b</sup>	46.87 ± 0.00 <sup>b</sup>
GPx	Kontrola	(2.09 ± 0.21)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(1.56 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(1.03 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
	0.1 %	(1.44 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.57 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(0.63 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.2 %	(1.64 ± 0.13)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.50 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(0.59 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
PPx	Kontrola	(1.75 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.53 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(0.94 ± 0.16)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
	0.1 %	(1.40 ± 0.11)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.66 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(0.64 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.2 %	(1.65 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.60 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(0.48 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
LP	Kontrola	1.66 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.52 ± 0.13 <sup>a</sup>	2.85 ± 1.36 <sup>a</sup>
	0.1 %	2.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.89 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.40 ± 0.32 <sup>a</sup>
	0.2 %	1.93 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.68 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.70 ± 0.03 <sup>a</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-f</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u nmol  $\text{mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenju paprike.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	18.32 ± 0.48 <sup>a</sup>	16.84 ± 0.53 <sup>a</sup>	17.88 ± 0.77 <sup>a</sup>
	0.1 %	34.27 ± 0.37 <sup>e</sup>	23.64 ± 0.78 <sup>b</sup>	31.43 ± 0.58 <sup>d</sup>
	0.2 %	31.77 ± 1.48 <sup>d</sup>	35.76 ± 0.50 <sup>e</sup>	27.06 ± 0.33 <sup>c</sup>
SOD	Kontrola	11.23 ± 0.06 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.04 <sup>e</sup>	5.96 ± 0.28 <sup>f</sup>
	0.1 %	8.70 ± 0.14 <sup>c</sup>	4.77 ± 0.09 <sup>d</sup>	14.41 ± 0.05 <sup>f</sup>
	0.2 %	10.38 ± 0.08 <sup>b</sup>	6.36 ± 0.14 <sup>f</sup>	12.86 ± 0.18 <sup>c</sup>
GPx	Kontrola	(0.54 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.47 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.55 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
	0.1 %	(0.29 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(0.34 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>c,d</sup>	(0.60 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
	0.2 %	(0.38 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(0.46 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.55 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
PPx	Kontrola	(0.58 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.70 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(0.77 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.1 %	(0.52 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>	(0.66 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>	(0.74 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>c,d</sup>
	0.2 %	(0.58 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.65 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.61 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
LP	Kontrola	2.76 ± 0.14 <sup>a</sup>	2.86 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.29 ± 0.07 <sup>c</sup>
	0.1 %	2.38 ± 0.05 <sup>b</sup>	2.81 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.83 ± 0.05 <sup>a</sup>
	0.2 %	2.48 ± 0.11 <sup>b</sup>	2.95 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.72 ± 0.05 <sup>a</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	22.93 ± 0.67 <sup>a</sup>	20.40 ± 0.73 <sup>b</sup>	10.56 ± 0.22 <sup>f</sup>
	0.1 %	12.41 ± 0.40 <sup>e,f</sup>	11.55 ± 0.39 <sup>e,f</sup>	33.37 ± 1.03 <sup>c</sup>
	0.2 %	14.87 ± 0.80 <sup>d</sup>	13.01 ± 0.35 <sup>e</sup>	11.05 ± 0.54 <sup>f</sup>
SOD	Kontrola	7.27 ± 0.15 <sup>a</sup>	7.99 ± 0.07 <sup>b</sup>	9.34 ± 0.21 <sup>d</sup>
	0.1 %	9.85 ± 0.20 <sup>c</sup>	8.17 ± 0.03 <sup>h</sup>	21.41 ± 0.72 <sup>g</sup>
	0.2 %	8.31 ± 0.18 <sup>b</sup>	11.87 ± 0.54 <sup>f</sup>	25.28 ± 0.49 <sup>e</sup>
GPx	Kontrola	(2.65 ± 0.21)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(3.58 ± 0.14)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>	(3.31 ± 0.16)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
	0.1 %	(2.25 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(3.43 ± 0.08)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>	(2.68 ± 0.13)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
	0.2 %	(2.30 ± 0.19)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(5.02 ± 0.09)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(3.83 ± 0.17)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
PPx	Kontrola	(2.62 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(2.40 ± 0.11)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(1.88 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.1 %	(1.48 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>e,f</sup>	(2.09 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(1.59 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>
	0.2 %	(1.35 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>f</sup>	(2.24 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(2.39 ± 0.09)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
LP	Kontrola	2.23 ± 0.17 <sup>a</sup>	2.98 ± 0.06 <sup>b</sup>	2.85 ± 0.24 <sup>b</sup>
	0.1 %	2.29 ± 0.15 <sup>a</sup>	2.92 ± 0.08 <sup>b</sup>	5.37 ± 0.44 <sup>c</sup>
	0.2 %	2.61 ± 0.08 <sup>a,b</sup>	2.92 ± 0.06 <sup>b</sup>	2.55 ± 0.11 <sup>a,b</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-h</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u nmol  $\text{mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenu soje.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	11.96 ± 0.65 <sup>a,b</sup>	9.95 ± 0.34 <sup>b</sup>	12.39 ± 0.12 <sup>a</sup>
	0.1 %	12.57 ± 0.93 <sup>a</sup>	12.01 ± 0.35 <sup>a,b</sup>	9.74 ± 1.24 <sup>b</sup>
	0.2 %	11.88 ± 0.96 <sup>a,b</sup>	11.32 ± 0.34 <sup>a,b</sup>	10.67 ± 0.58 <sup>a,b</sup>
SOD	Kontrola	12.88 ± 0.14 <sup>a</sup>	18.29 ± 0.17 <sup>d</sup>	17.75 ± 0.23 <sup>d</sup>
	0.1 %	16.90 ± 0.13 <sup>c</sup>	20.63 ± 0.06 <sup>f</sup>	19.39 ± 0.44 <sup>e</sup>
	0.2 %	16.04 ± 0.05 <sup>b</sup>	21.04 ± 0.10 <sup>f,g</sup>	21.34 ± 0.19 <sup>g</sup>
GPx	Kontrola	(0.23 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.25 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(0.29 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
	0.1 %	(0.22 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.28 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.44 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.2 %	(0.19 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.36 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(0.34 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
PPx	Kontrola	(0.39 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.54 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.44 ± 0.09)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
	0.1 %	(0.43 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b,c</sup>	(0.29 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(0.50 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
	0.2 %	(0.37 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>a,c</sup>	(0.44 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(0.49 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
LP	Kontrola	3.38 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.64 ± 0.08 <sup>b</sup>	4.49 ± 0.12 <sup>c</sup>
	0.1 %	3.68 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.57 ± 0.08 <sup>c,d</sup>	4.79 ± 0.08 <sup>d</sup>
	0.2 %	3.34 ± 0.04 <sup>a</sup>	4.76 ± 0.01 <sup>d</sup>	5.24 ± 0.04 <sup>e</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	4.47 ± 0.50 <sup>a</sup>	3.58 ± 0.32 <sup>a</sup>	9.48 ± 0.99 <sup>b,c</sup>
	0.1 %	2.82 ± 0.29 <sup>a</sup>	11.88 ± 0.85 <sup>b</sup>	8.34 ± 1.80 <sup>c</sup>
	0.2 %	2.04 ± 0.07 <sup>a</sup>	11.78 ± 1.51 <sup>b</sup>	11.38 ± 0.84 <sup>b</sup>
SOD	Kontrola	20.84 ± 3.73 <sup>a,b</sup>	15.55 ± 3.25 <sup>a</sup>	19.99 ± 1.11 <sup>a,b</sup>
	0.1 %	20.75 ± 1.99 <sup>a,b</sup>	70.37 ± 3.19 <sup>e</sup>	26.03 ± 1.51 <sup>b</sup>
	0.2 %	31.52 ± 1.63 <sup>c</sup>	49.15 ± 1.78 <sup>d</sup>	42.16 ± 3.22 <sup>d</sup>
GPx	Kontrola	(4.96 ± 0.62) <sup>a</sup>	(4.24 ± 0.17) <sup>a,b</sup>	(9.37 ± 0.14) <sup>c</sup>
	0.1 %	(4.90 ± 0.60) <sup>a</sup>	(11.62 ± 1.08) <sup>d</sup>	(3.46 ± 0.27) <sup>a,b</sup>
	0.2 %	(4.97 ± 1.01) <sup>a</sup>	(4.36 ± 0.70) <sup>a,b</sup>	(2.41 ± 0.13) <sup>b</sup>
PPx	Kontrola	(2.54 ± 0.15) <sup>a,b</sup>	(2.13 ± 0.14) <sup>a</sup>	(5.21 ± 0.20) <sup>d</sup>
	0.1 %	(1.75 ± 0.03) <sup>b</sup>	(5.58 ± 0.72) <sup>d</sup>	(3.58 ± 0.25) <sup>c</sup>
	0.2 %	(2.76 ± 0.03) <sup>a,c</sup>	(2.98 ± 0.06) <sup>a,c</sup>	(3.02 ± 0.03) <sup>a,c</sup>
LP	Kontrola	2.40 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.23 ± 0.12 <sup>b</sup>	5.92 ± 0.13 <sup>e</sup>
	0.1 %	2.34 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.36 ± 0.04 <sup>c</sup>	5.24 ± 0.13 <sup>d</sup>
	0.2 %	2.40 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.05 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.31 ± 0.17 <sup>b</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-g</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u nmol  $\text{mg}^{-1}$  proteina.

8.2.2. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test biljaka tretiranih vodenim ekstraktom *Salvia sclarea* L.

*Uticaj vodenog ekstrakta S. sclarea (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenju crne pomoćnice.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	10.34 ± 0.12 <sup>a</sup>	25.83 ± 1.77 <sup>d</sup>	15.28 ± 0.15 <sup>b</sup>
	0.1 %	44.79 ± 1.40 <sup>f</sup>	33.66 ± 0.52 <sup>e</sup>	26.40 ± 1.00 <sup>d</sup>
	0.2 %	25.61 ± 1.22 <sup>d</sup>	17.71 ± 0.78 <sup>b</sup>	20.76 ± 0.94 <sup>c</sup>
SOD	Kontrola	16.50 ± 0.04 <sup>a,b</sup>	16.28 ± 0.19 <sup>a,b</sup>	9.88 ± 0.11 <sup>f</sup>
	0.1 %	21.58 ± 0.19 <sup>g</sup>	16.18 ± 0.05 <sup>b</sup>	15.88 ± 0.06 <sup>c</sup>
	0.2 %	21.12 ± 0.13 <sup>e</sup>	19.37 ± 0.18 <sup>d</sup>	16.62 ± 0.06 <sup>a</sup>
GPx	Kontrola	(0.99 ± 0.06)·10 <sup>2 a,b</sup>	(0.94 ± 0.07)·10 <sup>2 a</sup>	(0.87 ± 0.04)·10 <sup>2 a</sup>
	0.1 %	(1.61 ± 0.10)·10 <sup>2 c</sup>	(0.96 ± 0.08)·10 <sup>2 a</sup>	(1.09 ± 0.05)·10 <sup>2 a,b</sup>
	0.2 %	(1.12 ± 0.06)·10 <sup>2 b</sup>	(1.96 ± 0.11)·10 <sup>2 d</sup>	(1.10 ± 0.05)·10 <sup>2 a,b</sup>
PPx	Kontrola	(1.47 ± 0.04)·10 <sup>2 a</sup>	(1.48 ± 0.05)·10 <sup>2 a</sup>	(1.12 ± 0.03)·10 <sup>2 c</sup>
	0.1 %	(1.96 ± 0.03)·10 <sup>2 d</sup>	(1.55 ± 0.03)·10 <sup>2 a</sup>	(1.06 ± 0.03)·10 <sup>2 c</sup>
	0.2 %	(1.45 ± 0.07)·10 <sup>2 a</sup>	(2.42 ± 0.03)·10 <sup>2 e</sup>	(1.29 ± 0.01)·10 <sup>2 b</sup>
LP	Kontrola	1.68 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.15 ± 0.05 <sup>c</sup>	1.98 ± 0.07 <sup>b</sup>
	0.1 %	2.52 ± 0.07 <sup>e</sup>	2.29 ± 0.07 <sup>c,d</sup>	2.19 ± 0.02 <sup>c</sup>
	0.2 %	2.13 ± 0.04 <sup>b,c</sup>	2.42 ± 0.06 <sup>d</sup>	2.40 ± 0.06 <sup>d,e</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	3.61 ± 0.08 <sup>a</sup>	20.06 ± 0.60 <sup>d</sup>	9.36 ± 0.34 <sup>b</sup>
	0.1 %	6.11 ± 0.51 <sup>a,b</sup>	15.24 ± 1.63 <sup>c</sup>	16.84 ± 1.51 <sup>c,d</sup>
	0.2 %	7.92 ± 0.41 <sup>b</sup>	32.11 ± 2.67 <sup>e</sup>	7.16 ± 0.36 <sup>a,b</sup>
SOD	Kontrola	33.82 ± 0.08 <sup>a</sup>	25.90 ± 1.91 <sup>c</sup>	11.37 ± 0.68 <sup>f</sup>
	0.1 %	68.07 ± 0.04 <sup>d</sup>	15.59 ± 1.39 <sup>e</sup>	32.42 ± 0.33 <sup>a</sup>
	0.2 %	45.53 ± 0.44 <sup>b</sup>	23.60 ± 1.78 <sup>c</sup>	31.01 ± 0.65 <sup>a</sup>
GPx	Kontrola	(1.37 ± 0.09)·10 <sup>3 a</sup>	(1.40 ± 0.11)·10 <sup>3 a</sup>	(1.65 ± 0.19)·10 <sup>3 b,c</sup>
	0.1 %	(2.48 ± 0.10)·10 <sup>3 a,b</sup>	(1.44 ± 0.09)·10 <sup>3 c</sup>	(1.13 ± 0.04)·10 <sup>3 d</sup>
	0.2 %	(1.98 ± 0.06)·10 <sup>3 a,b,c</sup>	(1.22 ± 0.04)·10 <sup>3 a,b,c</sup>	(1.53 ± 0.02)·10 <sup>3 b</sup>
PPx	Kontrola	(1.30 ± 0.02)·10 <sup>3 a</sup>	(1.34 ± 0.02)·10 <sup>3 a</sup>	(1.32 ± 0.05)·10 <sup>3 a</sup>
	0.1 %	(1.79 ± 0.05)·10 <sup>3 c</sup>	(1.48 ± 0.10)·10 <sup>3 a</sup>	(0.89 ± 0.03)·10 <sup>3 b</sup>
	0.2 %	(1.37 ± 0.03)·10 <sup>3 a</sup>	(1.47 ± 0.10)·10 <sup>3 a</sup>	(1.06 ± 0.04)·10 <sup>3 b</sup>
LP	Kontrola	2.38 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.40 ± 0.07 <sup>d</sup>	1.88 ± 0.05 <sup>c</sup>
	0.1 %	3.91 ± 0.21 <sup>e</sup>	4.02 ± 0.12 <sup>e</sup>	3.17 ± 0.12 <sup>d</sup>
	0.2 %	3.64 ± 0.13 <sup>d,e</sup>	4.03 ± 0.14 <sup>e</sup>	2.77 ± 0.07 <sup>b</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-g</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u U mg<sup>-1</sup> proteina. Intenzitet LP je izražen u nmol mg<sup>-1</sup> proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenu tatule.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	72.04 ± 6.75 <sup>a</sup>	80.45 ± 1.33 <sup>a</sup>	74.92 ± 5.55 <sup>a</sup>
	0.1 %	72.19 ± 14.54 <sup>a</sup>	103.64 ± 20.89 <sup>a</sup>	103.57 ± 10.49 <sup>a</sup>
	0.2 %	98.24 ± 0.58 <sup>a</sup>	99.50 ± 21.06 <sup>a</sup>	80.25 ± 15.12 <sup>a</sup>
SOD	Kontrola	27.07 ± 1.02 <sup>a</sup>	32.51 ± 0.15 <sup>c</sup>	31.96 ± 0.43 <sup>c</sup>
	0.1 %	35.31 ± 0.92 <sup>d</sup>	9.18 ± 1.08 <sup>f</sup>	23.03 ± 1.84 <sup>b</sup>
	0.2 %	38.05 ± 0.23 <sup>d</sup>	16.78 ± 0.95 <sup>e</sup>	26.79 ± 1.61 <sup>a</sup>
GPx	Kontrola	(0.76 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.80 ± 0.09)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(1.42 ± 0.09)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
	0.1 %	(1.51 ± 0.13)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(2.20 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(1.06 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
	0.2 %	(1.11 ± 0.11)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(2.61 ± 0.36)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(1.22 ± 0.12)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
PPx	Kontrola	(0.64 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.91 ± 0.07)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(0.67 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
	0.1 %	(0.91 ± 0.38)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(1.07 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(0.77 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b,c</sup>
	0.2 %	(0.73 ± 0.47)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(1.02 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c,d</sup>	(0.88 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
LP	Kontrola	6.90 ± 1.57 <sup>a</sup>	11.24 ± 2.08 <sup>b</sup>	6.33 ± 0.09 <sup>a</sup>
	0.1 %	1.84 ± 0.05 <sup>c</sup>	9.57 ± 0.60 <sup>a,b</sup>	7.28 ± 1.25 <sup>a</sup>
	0.2 %	2.65 ± 0.20 <sup>c</sup>	7.26 ± 0.28 <sup>a</sup>	6.40 ± 0.54 <sup>a</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	23.64 ± 2.58 <sup>a,b</sup>	21.93 ± 1.81 <sup>a,b</sup>	17.86 ± 2.83 <sup>a,b</sup>
	0.1 %	20.26 ± 1.64 <sup>a,b</sup>	15.15 ± 1.04 <sup>a</sup>	47.49 ± 6.45 <sup>c</sup>
	0.2 %	44.52 ± 4.15 <sup>c</sup>	37.31 ± 1.05 <sup>c</sup>	29.61 ± 7.83 <sup>b</sup>
SOD	Kontrola	68.79 ± 3.22 <sup>a,b</sup>	57.16 ± 4.09 <sup>b</sup>	96.37 ± 0.83 <sup>c</sup>
	0.1 %	81.64 ± 5.93 <sup>a,c</sup>	28.50 ± 3.39 <sup>d</sup>	76.99 ± 5.68 <sup>a</sup>
	0.2 %	57.86 ± 13.20 <sup>b,d</sup>	6.40 ± 0.61 <sup>e</sup>	44.18 ± 5.44 <sup>d</sup>
GPx	Kontrola	(4.58 ± 0.25)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(5.60 ± 0.27)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(6.76 ± 0.27)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.1 %	(4.60 ± 0.27)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(1.84 ± 0.24)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>	(4.06 ± 0.08)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
	0.2 %	(3.05 ± 0.08)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(8.03 ± 0.54)·10 <sup>3</sup> <sup>f</sup>	(5.52 ± 0.29)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
PPx	Kontrola	(4.36 ± 0.34)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(5.61 ± 0.28)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(3.77 ± 0.24)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
	0.1 %	(3.20 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(1.95 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(2.05 ± 0.24)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
	0.2 %	(3.11 ± 0.17)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(4.05 ± 0.77)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(2.38 ± 0.16)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>
LP	Kontrola	8.22 ± 1.09 <sup>a</sup>	8.15 ± 0.03 <sup>a</sup>	7.36 ± 0.27 <sup>a,b</sup>
	0.1 %	17.84 ± 0.92 <sup>c</sup>	4.66 ± 0.29 <sup>b</sup>	10.02 ± 0.09 <sup>a</sup>
	0.2 %	24.44 ± 2.09 <sup>d</sup>	9.71 ± 1.06 <sup>a</sup>	9.08 ± 0.47 <sup>a</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-f</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u nmol  $\text{mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenju klasače.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	15.33 ± 1.66 <sup>a</sup>	20.53 ± 1.74 <sup>a,b</sup>	8.94 ± 0.37 <sup>c</sup>
	0.1 %	15.85 ± 1.40 <sup>a</sup>	18.16 ± 0.76 <sup>a</sup>	23.77 ± 3.70 <sup>b</sup>
	0.2 %	20.37 ± 0.64 <sup>a,b</sup>	15.20 ± 0.48 <sup>a</sup>	7.46 ± 0.90 <sup>c</sup>
SOD	Kontrola	36.14 ± 2.35 <sup>a</sup>	11.87 ± 0.21 <sup>c</sup>	11.59 ± 0.19 <sup>c</sup>
	0.1 %	27.36 ± 2.67 <sup>b</sup>	28.77 ± 2.67 <sup>b</sup>	30.91 ± 0.00 <sup>b</sup>
	0.2 %	29.72 ± 0.78 <sup>b</sup>	27.01 ± 1.91 <sup>b</sup>	37.59 ± 0.00 <sup>a</sup>
GPx	Kontrola	(4.01 ± 0.09)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(3.56 ± 0.32)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(5.17 ± 0.18)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>
	0.1 %	(4.77 ± 0.27)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	(2.29 ± 0.17)·10 <sup>2</sup> <sup>c</sup>	(3.74 ± 0.13)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>
	0.2 %	(3.44 ± 0.04)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(5.46 ± 0.25)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	(5.05 ± 0.41)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>
PPx	Kontrola	(3.87 ± 0.18)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(3.51 ± 0.10)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(3.41 ± 0.37)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>
	0.1 %	(3.35 ± 0.39)·10 <sup>2</sup> <sup>a,b</sup>	(2.48 ± 0.14)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	(3.35 ± 0.98)·10 <sup>2</sup> <sup>a,b</sup>
	0.2 %	(3.63 ± 0.31)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(3.21 ± 0.33)·10 <sup>2</sup> <sup>a,b</sup>	(3.40 ± 0.34)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>
LP	Kontrola	3.83 ± 0.02 <sup>a,b</sup>	3.26 ± 0.15 <sup>c</sup>	5.48 ± 0.07 <sup>f</sup>
	0.1 %	4.87 ± 0.05 <sup>e</sup>	4.44 ± 0.03 <sup>d</sup>	3.60 ± 0.05 <sup>a</sup>
	0.2 %	3.70 ± 0.10 <sup>a</sup>	4.00 ± 0.03 <sup>b</sup>	7.04 ± 0.09 <sup>g</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	4.13 ± 0.20 <sup>a</sup>	3.27 ± 0.86 <sup>a</sup>	5.03 ± 0.67 <sup>a</sup>
	0.1 %	9.20 ± 1.13 <sup>b</sup>	10.69 ± 1.01 <sup>b</sup>	7.21 ± 0.82 <sup>a,b</sup>
	0.2 %	16.08 ± 0.99 <sup>c</sup>	17.52 ± 3.23 <sup>c</sup>	15.57 ± 0.51 <sup>c</sup>
SOD	Kontrola	29.35 ± 6.04 <sup>a</sup>	10.24 ± 2.24 <sup>b</sup>	18.85 ± 1.94 <sup>b</sup>
	0.1 %	23.88 ± 4.54 <sup>a,b</sup>	70.66 ± 10.98 <sup>c</sup>	69.73 ± 0.00 <sup>c</sup>
	0.2 %	58.86 ± 7.21 <sup>c</sup>	61.24 ± 2.05 <sup>c</sup>	72.19 ± 0.00 <sup>c</sup>
GPx	Kontrola	(2.09 ± 0.21)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(1.56 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(1.03 ± 0.00)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
	0.1 %	(1.71 ± 0.12)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.59 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(3.59 ± 0.17)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.2 %	(2.53 ± 0.26)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(2.04 ± 0.16)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(1.68 ± 0.08)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
PPx	Kontrola	(1.75 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.53 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(0.94 ± 0.16)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>
	0.1 %	(1.27 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.47 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(2.04 ± 0.10)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
	0.2 %	(1.99 ± 0.11)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(1.05 ± 0.32)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.97 ± 0.23)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>
LP	Kontrola	1.66 ± 0.16 <sup>a,b</sup>	1.52 ± 0.13 <sup>a</sup>	2.85 ± 1.36 <sup>a,b</sup>
	0.1 %	2.64 ± 0.10 <sup>a,b</sup>	1.93 ± 0.08 <sup>a,b</sup>	2.46 ± 0.01 <sup>a,b</sup>
	0.2 %	3.22 ± 0.08 <sup>b</sup>	2.36 ± 0.10 <sup>a,b</sup>	2.16 ± 0.04 <sup>a,b</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-g</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u  $\text{nmol mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenu paprike.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	18.32 ± 0.48 <sup>a</sup>	16.84 ± 0.53 <sup>a</sup>	17.88 ± 0.77 <sup>a</sup>
	0.1 %	17.35 ± 0.90 <sup>a</sup>	24.11 ± 1.03 <sup>c</sup>	20.52 ± 0.41 <sup>b</sup>
	0.2 %	33.40 ± 0.52 <sup>d</sup>	22.28 ± 0.14 <sup>b</sup>	16.54 ± 0.24 <sup>a</sup>
SOD	Kontrola	11.23 ± 0.06 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.04 <sup>d</sup>	5.96 ± 0.28 <sup>e</sup>
	0.1 %	12.51 ± 0.03 <sup>b</sup>	7.17 ± 0.01 <sup>d</sup>	6.01 ± 0.01 <sup>e</sup>
	0.2 %	10.24 ± 0.11 <sup>c</sup>	7.13 ± 0.02 <sup>d</sup>	4.76 ± 0.03 <sup>f</sup>
GPx	Kontrola	(5.41 ± 0.11)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(4.86 ± 0.18)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	(5.53 ± 0.22)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>
	0.1 %	(3.79 ± 0.15)·10 <sup>2</sup> <sup>c</sup>	(5.52 ± 0.11)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(2.52 ± 0.04)·10 <sup>2</sup> <sup>e</sup>
	0.2 %	(33.39 ± 0.13)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>	(2.59 ± 0.10)·10 <sup>2</sup> <sup>e</sup>	(3.17 ± 0.06)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>
PPx	Kontrola	(35.51 ± 0.43)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(38.54 ± 0.80)·10 <sup>2</sup> <sup>c</sup>	(33.48 ± 0.62)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>
	0.1 %	(21.98 ± 0.79)·10 <sup>2</sup> <sup>e,f</sup>	(22.98 ± 0.51)·10 <sup>2</sup> <sup>e</sup>	(30.26 ± 0.71)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>
	0.2 %	(22.55 ± 0.48)·10 <sup>2</sup> <sup>e</sup>	(17.46 ± 0.58)·10 <sup>2</sup> <sup>g</sup>	(20.51 ± 0.45)·10 <sup>2</sup> <sup>f</sup>
LP	Kontrola	2.52 ± 0.15 <sup>a</sup>	3.02 ± 0.11 <sup>b</sup>	3.29 ± 0.07 <sup>b,c</sup>
	0.1 %	2.55 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.47 ± 0.06 <sup>c</sup>	1.98 ± 0.03 <sup>d</sup>
	0.2 %	3.28 ± 0.14 <sup>b,c</sup>	3.35 ± 0.14 <sup>c</sup>	1.78 ± 0.03 <sup>d</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	22.93 ± 0.67 <sup>a</sup>	20.64 ± 0.58 <sup>b</sup>	10.56 ± 0.22 <sup>e</sup>
	0.1 %	18.88 ± 0.48 <sup>b</sup>	13.52 ± 0.86 <sup>d</sup>	5.50 ± 0.44 <sup>f</sup>
	0.2 %	20.12 ± 1.22 <sup>b</sup>	15.79 ± 0.45 <sup>c</sup>	6.71 ± 0.32 <sup>f</sup>
SOD	Kontrola	7.27 ± 0.15 <sup>a</sup>	7.99 ± 0.07 <sup>b</sup>	9.34 ± 0.21 <sup>e</sup>
	0.1 %	2.10 ± 0.06 <sup>h</sup>	5.12 ± 0.22 <sup>c</sup>	0.57 ± 0.06 <sup>i</sup>
	0.2 %	3.33 ± 0.03 <sup>f</sup>	10.04 ± 0.05 <sup>g</sup>	4.55 ± 0.14 <sup>d</sup>
GPx	Kontrola	(2.65 ± 0.21)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(3.58 ± 0.14)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(3.31 ± 0.16)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>
	0.1 %	(1.70 ± 0.16)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(2.53 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(0.98 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>
	0.2 %	(3.43 ± 0.12)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>	(3.13 ± 0.17)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(1.33 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>d,e</sup>
PPx	Kontrola	(2.62 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(2.54 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(1.92 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>
	0.1 %	(1.40 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(1.70 ± 0.03)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(0.58 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>
	0.2 %	(1.63 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(1.93 ± 0.07)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(0.64 ± 0.01)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>
LP	Kontrola	2.46 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.92 ± 0.09 <sup>b</sup>	2.45 ± 0.08 <sup>a</sup>
	0.1 %	2.42 ± 0.12 <sup>a</sup>	3.51 ± 0.30 <sup>d</sup>	1.96 ± 0.10 <sup>c</sup>
	0.2 %	2.65 ± 0.11 <sup>a,b</sup>	2.50 ± 0.08 <sup>a,b</sup>	1.57 ± 0.12 <sup>c</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-i</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u nmol  $\text{mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *S. sclarea* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenu soje.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	11.96 ± 0.65 <sup>a,c</sup>	9.95 ± 0.34 <sup>a,b</sup>	12.39 ± 0.12 <sup>a</sup>
	0.1 %	9.79 ± 0.60 <sup>a,b</sup>	8.54 ± 0.49 <sup>b</sup>	11.11 ± 1.37 <sup>a,b</sup>
	0.2 %	13.05 ± 1.22 <sup>c</sup>	8.54 ± 0.26 <sup>b</sup>	9.41 ± 1.17 <sup>b</sup>
SOD	Kontrola	12.88 ± 0.14 <sup>a</sup>	18.29 ± 0.17 <sup>c</sup>	17.75 ± 0.23 <sup>c</sup>
	0.1 %	15.99 ± 0.06 <sup>b</sup>	22.78 ± 0.09 <sup>f</sup>	22.46 ± 0.36 <sup>f</sup>
	0.2 %	19.78 ± 0.07 <sup>d</sup>	20.80 ± 0.01 <sup>e</sup>	18.31 ± 0.21 <sup>c</sup>
GPx	Kontrola	(2.31 ± 0.08)·10 <sup>2 a</sup>	(2.58 ± 0.20)·10 <sup>2 a</sup>	(2.93 ± 0.08)·10 <sup>2 a,b</sup>
	0.1 %	(2.83 ± 0.18)·10 <sup>2 a,b</sup>	(3.41 ± 0.14)·10 <sup>2 b</sup>	(4.42 ± 0.43)·10 <sup>2 c</sup>
	0.2 %	(2.56 ± 0.05)·10 <sup>2 a</sup>	(2.37 ± 0.14)·10 <sup>2 a</sup>	(3.24 ± 0.17)·10 <sup>2 b</sup>
PPx	Kontrola	(3.90 ± 0.12)·10 <sup>2 a,b</sup>	(5.46 ± 0.49)·10 <sup>2 b</sup>	(4.42 ± 0.91)·10 <sup>2 a,b</sup>
	0.1 %	(5.14 ± 0.54)·10 <sup>2 a,b</sup>	(4.69 ± 0.33)·10 <sup>2 a,b</sup>	(4.38 ± 0.37)·10 <sup>2 a,b</sup>
	0.2 %	(4.82 ± 0.37)·10 <sup>2 a,b</sup>	(4.19 ± 0.30)·10 <sup>2 a,b</sup>	(3.82 ± 0.31)·10 <sup>2 a</sup>
LP	Kontrola	3.38 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.64 ± 0.08 <sup>a</sup>	4.49 ± 0.12 <sup>c</sup>
	0.1 %	4.07 ± 0.08 <sup>b</sup>	4.16 ± 0.08 <sup>b</sup>	5.04 ± 0.03 <sup>d</sup>
	0.2 %	3.59 ± 0.04 <sup>a</sup>	4.56 ± 0.09 <sup>c</sup>	4.04 ± 0.17 <sup>b</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	4.47 ± 0.50 <sup>a</sup>	3.58 ± 0.32 <sup>a</sup>	9.48 ± 0.99 <sup>b</sup>
	0.1 %	5.42 ± 0.38 <sup>a</sup>	10.50 ± 2.57 <sup>b</sup>	9.24 ± 0.95 <sup>b</sup>
	0.2 %	5.44 ± 0.63 <sup>a</sup>	11.96 ± 0.55 <sup>b</sup>	11.96 ± 1.79 <sup>b</sup>
SOD	Kontrola	20.84 ± 3.73 <sup>a,b</sup>	15.55 ± 3.25 <sup>b,c</sup>	19.99 ± 1.11 <sup>b</sup>
	0.1 %	31.22 ± 2.00 <sup>a</sup>	34.85 ± 3.60 <sup>a,d</sup>	44.75 ± 4.00 <sup>d</sup>
	0.2 %	27.95 ± 2.64 <sup>a</sup>	55.22 ± 5.65 <sup>e</sup>	45.77 ± 2.50 <sup>c</sup>
GPx	Kontrola	(4.96 ± 0.62)·10 <sup>3 a,b</sup>	(4.24 ± 0.17)·10 <sup>3 a</sup>	(9.37 ± 0.14)·10 <sup>3 e</sup>
	0.1 %	(5.10 ± 0.55)·10 <sup>3 a,b</sup>	(7.48 ± 0.39)·10 <sup>3 d</sup>	(3.18 ± 0.17)·10 <sup>3 a,c</sup>
	0.2 %	(4.12 ± 0.21)·10 <sup>3 a</sup>	(6.09 ± 0.41)·10 <sup>3 b</sup>	(2.25 ± 0.26)·10 <sup>3 c</sup>
PPx	Kontrola	(2.54 ± 0.15)·10 <sup>3 b</sup>	(2.13 ± 0.14)·10 <sup>3 b</sup>	(5.21 ± 0.20)·10 <sup>3 d</sup>
	0.1 %	(2.92 ± 0.01)·10 <sup>3 a,c</sup>	(1.80 ± 0.04)·10 <sup>3 b</sup>	(3.01 ± 0.12)·10 <sup>3 a,c</sup>
	0.2 %	(3.17 ± 0.12)·10 <sup>3 c</sup>	(3.57 ± 0.32)·10 <sup>3 c</sup>	(2.60 ± 0.19)·10 <sup>3 a,b</sup>
LP	Kontrola	2.40 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.23 ± 0.12 <sup>c</sup>	5.92 ± 0.13 <sup>d</sup>
	0.1 %	3.24 ± 0.06 <sup>c</sup>	3.18 ± 0.11 <sup>b,c</sup>	3.49 ± 0.04 <sup>c</sup>
	0.2 %	2.92 ± 0.14 <sup>b</sup>	3.42 ± 0.06 <sup>c</sup>	2.93 ± 0.01 <sup>b</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-f</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u  $\text{nmol mg}^{-1}$  proteina.

8.2.3. Aktivnost antioksidativnih enzima i sadržaj MDA kod test biljaka tretiranih vodenim ekstraktom *Clinopodium menthifolium* Host.

*Uticaj vodenog ekstrakta C. menthifolium (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenju crne pomoćnice.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	10.34 ± 0.11 <sup>a</sup>	25.82 ± 1.76 <sup>c</sup>	15.27 ± 0.15 <sup>b</sup>
	0.1 %	24.04 ± 1.76 <sup>c</sup>	30.74 ± 1.01 <sup>d</sup>	44.51 ± 0.16 <sup>e</sup>
	0.2 %	15.00 ± 0.90 <sup>b</sup>	31.81 ± 2.24 <sup>d</sup>	34.44 ± 1.11 <sup>d</sup>
SOD	Kontrola	16.50 ± 0.04 <sup>a</sup>	16.28 ± 0.19 <sup>a</sup>	9.88 ± 0.11 <sup>f</sup>
	0.1 %	24.95 ± 0.34 <sup>h</sup>	18.49 ± 0.39 <sup>b</sup>	20.71 ± 0.28 <sup>d</sup>
	0.2 %	22.24 ± 0.13 <sup>e</sup>	23.26 ± 0.36 <sup>g</sup>	14.81 ± 0.18 <sup>c</sup>
GPx	Kontrola	(0.95 ± 0.05)·10 <sup>2 a,b</sup>	(0.94 ± 0.06)·10 <sup>2 a</sup>	(0.84 ± 0.06)·10 <sup>2 a</sup>
	0.1 %	(1.42 ± 0.10)·10 <sup>2 c</sup>	(1.21 ± 0.06)·10 <sup>2 b</sup>	(1.94 ± 0.12)·10 <sup>2 d</sup>
	0.2 %	(1.72 ± 0.03)·10 <sup>2 d</sup>	(2.36 ± 0.15)·10 <sup>2 e</sup>	(1.06 ± 0.06)·10 <sup>2 a,b</sup>
PPx	Kontrola	(1.47 ± 0.04)·10 <sup>2 a</sup>	(1.69.69 ± 0.10)·10 <sup>2 a</sup>	(1.09 ± 0.04)·10 <sup>2 b</sup>
	0.1 %	(3.05 ± 0.06)·10 <sup>2 f</sup>	(2.24.45 ± 0.08)·10 <sup>2 c</sup>	(3.45 ± 0.15)·10 <sup>2 g</sup>
	0.2 %	(2.77 ± 0.03)·10 <sup>2 e</sup>	(2.50.58 ± 0.07)·10 <sup>2 d</sup>	(1.57 ± 0.05)·10 <sup>2 a</sup>
LP	Kontrola	1.66 ± 0.02 <sup>a</sup>	2.15 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.98 ± 0.07 <sup>b</sup>
	0.1 %	2.63 ± 0.07 <sup>c</sup>	2.79 ± 0.06 <sup>c</sup>	4.19 ± 0.08 <sup>f</sup>
	0.2 %	3.00 ± 0.03 <sup>d</sup>	3.28 ± 0.12 <sup>e</sup>	2.66 ± 0.03 <sup>c</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	3.61 ± 0.07 <sup>a</sup>	20.05 ± 0.59 <sup>d</sup>	9.36 ± 0.33 <sup>b</sup>
	0.1 %	15.17 ± 0.13 <sup>c</sup>	18.95 ± 1.50 <sup>d</sup>	31.60 ± 4.75 <sup>e</sup>
	0.2 %	11.40 ± 0.17 <sup>b,c</sup>	12.52 ± 0.57 <sup>b,c</sup>	18.75 ± 1.18 <sup>d</sup>
SOD	Kontrola	33.82 ± 0.08 <sup>a</sup>	25.90 ± 1.91 <sup>b</sup>	11.37 ± 0.68 <sup>f</sup>
	0.1 %	23.64 ± 0.78 <sup>b,c</sup>	51.18 ± 0.43 <sup>d</sup>	21.70 ± 1.00 <sup>c</sup>
	0.2 %	28.37 ± 0.34 <sup>b</sup>	10.21 ± 0.75 <sup>f</sup>	15.05 ± 0.81 <sup>e</sup>
GPx	Kontrola	(1.37 ± 0.09)·10 <sup>3 a</sup>	(1.40 ± 0.11)·10 <sup>3 a</sup>	(1.91 ± 0.14)·10 <sup>3 b</sup>
	0.1 %	(1.49 ± 0.09)·10 <sup>3 a,b</sup>	(1.95 ± 0.14)·10 <sup>3 c</sup>	(1.03 ± 0.01)·10 <sup>3 d</sup>
	0.2 %	(1.57 ± 0.04)·10 <sup>3 a,b</sup>	(1.63 ± 0.52)·10 <sup>3 a,b,c</sup>	(1.79 ± 0.15)·10 <sup>3 b,c</sup>
PPx	Kontrola	(1.30 ± 0.02)·10 <sup>3 a</sup>	(1.34 ± 0.02)·10 <sup>3 a</sup>	(1.33 ± 0.05)·10 <sup>3 a</sup>
	0.1 %	(1.40 ± 0.04)·10 <sup>3 a</sup>	(1.95 ± 0.04)·10 <sup>3 b</sup>	(1.35 ± 0.07)·10 <sup>3 a</sup>
	0.2 %	(1.43 ± 0.05)·10 <sup>3 a</sup>	(1.40 ± 0.07)·10 <sup>3 a</sup>	(2.05 ± 0.08)·10 <sup>3 b</sup>
LP	Kontrola	2.38 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.37 ± 0.07 <sup>d</sup>	1.84 ± 0.03 <sup>b</sup>
	0.1 %	2.48 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.87 ± 0.08 <sup>e</sup>	3.36 ± 0.13 <sup>d</sup>
	0.2 %	2.98 ± 0.06 <sup>c</sup>	2.54 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.93 ± 0.14 <sup>c</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-h</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u  $\text{nmol mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthifolium* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenu tatule.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	72.04 ± 6.75 <sup>a,b</sup>	80.45 ± 1.33 <sup>a,d</sup>	74.92 ± 5.55 <sup>a</sup>
	0.1 %	63.29 ± 5.35 <sup>a,b</sup>	43.52 ± 5.09 <sup>c</sup>	55.89 ± 3.67 <sup>b</sup>
	0.2 %	89.82 ± 2.22 <sup>d</sup>	72.15 ± 10.25 <sup>a,b</sup>	52.98 ± 1.48 <sup>c</sup>
SOD	Kontrola	27.07 ± 1.02 <sup>a</sup>	32.51 ± 0.15 <sup>b</sup>	31.96 ± 0.43 <sup>b</sup>
	0.1 %	37.71 ± 0.43 <sup>d</sup>	44.51 ± 0.65 <sup>e</sup>	39.06 ± 0.86 <sup>d</sup>
	0.2 %	35.17 ± 1.23 <sup>c</sup>	32.60 ± 0.79 <sup>b</sup>	33.35 ± 0.66 <sup>b,c</sup>
GPx	Kontrola	(7.62 ± 0.37)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(8.03 ± 0.93)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(14.25 ± 0.93)·10 <sup>2</sup> <sup>b,c</sup>
	0.1 %	(11.53 ± 0.52)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	(14.49 ± 1.14)·10 <sup>2</sup> <sup>c</sup>	(22.81 ± 1.15)·10 <sup>2</sup> <sup>e</sup>
	0.2 %	(12.79 ± 0.16)·10 <sup>2</sup> <sup>b,c</sup>	(18.84 ± 1.60)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>	(18.18 ± 0.49)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>
PPx	Kontrola	(6.47 ± 0.60)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(9.18 ± 0.77)·10 <sup>2</sup> <sup>a,b,c</sup>	(6.79 ± 0.58)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>
	0.1 %	(8.35 ± 0.42)·10 <sup>2</sup> <sup>a,b</sup>	(18.13 ± 2.62)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>	(8.81 ± 0.50)·10 <sup>2</sup> <sup>a,b,c</sup>
	0.2 %	(7.52 ± 0.61)·10 <sup>2</sup> <sup>a,b</sup>	(11.92 ± 0.43)·10 <sup>2</sup> <sup>c</sup>	(10.95 ± 0.90)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>
LP	Kontrola	6.90 ± 1.57 <sup>a</sup>	11.24 ± 2.08 <sup>a</sup>	6.33 ± 0.09 <sup>a</sup>
	0.1 %	6.07 ± 1.13 <sup>a</sup>	8.51 ± 1.65 <sup>a</sup>	9.85 ± 3.48 <sup>a</sup>
	0.2 %	6.24 ± 0.21 <sup>a</sup>	9.37 ± 0.84 <sup>a</sup>	6.86 ± 0.20 <sup>a</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	23.64 ± 2.58 <sup>a,b</sup>	21.93 ± 1.81 <sup>a</sup>	17.86 ± 2.83 <sup>a</sup>
	0.1 %	33.75 ± 3.37 <sup>a,b</sup>	84.21 ± 3.15 <sup>c</sup>	62.85 ± 3.42 <sup>c</sup>
	0.2 %	27.95 ± 1.09 <sup>a,b</sup>	84.90 ± 19.90 <sup>c</sup>	46.83 ± 6.99 <sup>b</sup>
SOD	Kontrola	68.79 ± 3.22 <sup>a,b</sup>	57.16 ± 4.09 <sup>a</sup>	96.37 ± 0.83 <sup>b</sup>
	0.1 %	66.07 ± 8.28 <sup>a,b</sup>	109.98 ± 16.66 <sup>c,d</sup>	190.08 ± 14.38 <sup>e</sup>
	0.2 %	88.61 ± 2.71 <sup>a,b,c</sup>	103.16 ± 17.66 <sup>c</sup>	138.84 ± 7.99 <sup>d</sup>
GPx	Kontrola	(4.58 ± 0.25)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(5.60 ± 0.27)·10 <sup>3</sup> <sup>a,c</sup>	(6.76 ± 0.27)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
	0.1 %	(3.01 ± 0.23)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(6.26 ± 0.21)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(10.17 ± 0.35)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.2 %	(6.53 ± 0.28)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(4.30 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(6.53 ± 1.22)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
PPx	Kontrola	(4.36 ± 0.34)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(5.61 ± 0.28)·10 <sup>3</sup> <sup>b,c</sup>	(3.77 ± 0.24)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
	0.1 %	(2.83 ± 0.40)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(5.15 ± 0.20)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(5.72 ± 0.44)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
	0.2 %	(5.39 ± 0.38)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(4.11 ± 0.16)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(2.68 ± 0.12)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
LP	Kontrola	8.22 ± 1.09 <sup>a,b</sup>	8.15 ± 0.03 <sup>a,b</sup>	7.36 ± 0.27 <sup>a</sup>
	0.1 %	6.17 ± 0.11 <sup>a</sup>	24.34 ± 3.61 <sup>d</sup>	14.16 ± 0.32 <sup>c</sup>
	0.2 %	7.73 ± 1.18 <sup>a,b</sup>	14.39 ± 0.66 <sup>c</sup>	11.83 ± 0.04 <sup>b</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-c</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u nmol  $\text{mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthifolium* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenju klasače.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	15.33 ± 1.66 <sup>a,b</sup>	20.53 ± 1.74 <sup>a</sup>	8.94 ± 0.37 <sup>b</sup>
	0.1 %	12.22 ± 0.74 <sup>a,b</sup>	11.21 ± 1.34 <sup>a,b</sup>	13.03 ± 0.97 <sup>a,b</sup>
	0.2 %	27.43 ± 2.89 <sup>c</sup>	11.65 ± 0.65 <sup>a,b</sup>	21.76 ± 8.72 <sup>a,c</sup>
SOD	Kontrola	36.14 ± 2.35 <sup>a</sup>	1.87 ± 0.21 <sup>e</sup>	1.59 ± 0.19 <sup>e</sup>
	0.1 %	23.12 ± 1.80 <sup>b,c</sup>	16.79 ± 1.91 <sup>c,d</sup>	15.44 ± 0.99 <sup>c</sup>
	0.2 %	25.92 ± 6.00 <sup>b</sup>	13.23 ± 1.10 <sup>d</sup>	28.08 ± 2.73 <sup>b</sup>
GPx	Kontrola	(4.01 ± 0.09)·10 <sup>2 a,c</sup>	(3.56 ± 0.32)·10 <sup>2 c</sup>	(5.17 ± 0.18)·10 <sup>2 a,b,c</sup>
	0.1 %	(5.60 ± 0.33)·10 <sup>2 a,b</sup>	(6.69 ± 0.51)·10 <sup>2 b</sup>	(5.56 ± 1.17)·10 <sup>2 a,b</sup>
	0.2 %	(4.06 ± 0.17)·10 <sup>2 a,c</sup>	(6.59 ± 0.43)·10 <sup>2 b</sup>	(4.14 ± 0.42)·10 <sup>2 a</sup>
PPx	Kontrola	(3.87 ± 0.18)·10 <sup>2 a,b</sup>	(3.51 ± 0.10)·10 <sup>2 a,b,c</sup>	(3.41 ± 0.37)·10 <sup>2 a,c</sup>
	0.1 %	(4.14 ± 0.16)·10 <sup>2 a,b</sup>	(4.37 ± 0.36)·10 <sup>2 b</sup>	(3.38 ± 0.18)·10 <sup>2 a</sup>
	0.2 %	(2.92 ± 0.21)·10 <sup>2 c</sup>	(4.01 ± 0.26)·10 <sup>2 a,b</sup>	(4.30 ± 0.24)·10 <sup>2 b</sup>
LP	Kontrola	3.83 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.26 ± 0.15 <sup>c</sup>	5.48 ± 0.07 <sup>e</sup>
	0.1 %	3.98 ± 0.07 <sup>a,b</sup>	4.76 ± 0.04 <sup>d</sup>	4.24 ± 0.07 <sup>b</sup>
	0.2 %	4.22 ± 0.13 <sup>b</sup>	4.83 ± 0.15 <sup>d</sup>	5.45 ± 0.09 <sup>e</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	4.13 ± 0.20 <sup>a,b</sup>	3.27 ± 0.86 <sup>a</sup>	5.03 ± 0.67 <sup>a,b</sup>
	0.1 %	7.69 ± 0.23 <sup>b</sup>	19.63 ± 3.19 <sup>d</sup>	11.15 ± 0.81 <sup>b,c</sup>
	0.2 %	13.01 ± 0.94 <sup>c</sup>	19.90 ± 1.23 <sup>d</sup>	10.44 ± 0.44 <sup>b,c</sup>
SOD	Kontrola	29.35 ± 6.04 <sup>a,b</sup>	10.24 ± 2.24 <sup>c</sup>	18.85 ± 1.94 <sup>d</sup>
	0.1 %	13.95 ± 2.27 <sup>a,c</sup>	28.81 ± 3.91 <sup>a</sup>	51.10 ± 0.74 <sup>e</sup>
	0.2 %	40.31 ± 12.14 <sup>b</sup>	28.69 ± 3.04 <sup>a</sup>	19.26 ± 0.12 <sup>a,c,d</sup>
GPx	Kontrola	(20.96 ± 2.15)·10 <sup>2 a</sup>	(15.69 ± 0.51)·10 <sup>2 b</sup>	(10.31 ± 0.40)·10 <sup>2 b</sup>
	0.1 %	(10.11 ± 0.27)·10 <sup>2 b</sup>	(5.18 ± 0.49)·10 <sup>2 c</sup>	(5.31 ± 0.08)·10 <sup>2 c</sup>
	0.2 %	(6.20 ± 0.82)·10 <sup>2 c</sup>	(3.95 ± 0.23)·10 <sup>2 c</sup>	(4.63 ± 0.71)·10 <sup>2 c</sup>
PPx	Kontrola	(17.51 ± 0.28)·10 <sup>2 a</sup>	(5.36 ± 0.24)·10 <sup>2 c,d</sup>	(9.47 ± 1.60)·10 <sup>2 b</sup>
	0.1 %	(10.70 ± 0.42)·10 <sup>2 b</sup>	(7.17 ± 0.48)·10 <sup>2 c</sup>	(4.91 ± 0.43)·10 <sup>2 e</sup>
	0.2 %	(10.28 ± 0.57)·10 <sup>2 b</sup>	(5.03 ± 0.15)·10 <sup>2 d</sup>	(2.98 ± 0.27)·10 <sup>2 b,c</sup>
LP	Kontrola	1.66 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.52 ± 0.13 <sup>a</sup>	2.85 ± 1.36 <sup>a</sup>
	0.1 %	1.72 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.73 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.79 ± 0.04 <sup>a</sup>
	0.2 %	1.72 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.56 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.55 ± 0.04 <sup>a</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-e</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u  $\text{nmol mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthifolium* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenju paprike.*

Vreme		24h	72h	120h
<b>List</b>				
CAT	Kontrola	18.32 ± 0.47 <sup>a</sup>	16.84 ± 0.53 <sup>a</sup>	17.87 ± 0.77 <sup>a</sup>
	0.1 %	22.09 ± 0.57 <sup>b</sup>	21.77 ± 0.78 <sup>b</sup>	24.01 ± 1.38 <sup>b</sup>
	0.2 %	23.41 ± 0.90 <sup>b</sup>	16.19 ± 0.57 <sup>a</sup>	31.88 ± 1.51 <sup>c</sup>
SOD	Kontrola	11.23 ± 0.06 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.04 <sup>e</sup>	5.96 ± 0.28 <sup>h</sup>
	0.1 %	9.07 ± 0.14 <sup>c</sup>	8.03 ± 0.09 <sup>d</sup>	6.21 ± 0.05 <sup>g</sup>
	0.2 %	10.19 ± 0.08 <sup>b</sup>	6.30 ± 0.14 <sup>f</sup>	9.28 ± 0.18 <sup>c</sup>
GPx	Kontrola	(5.44 ± 0.10)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(4.86 ± 0.18)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	(5.53 ± 0.22)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>
	0.1 %	(3.71 ± 0.18)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>	(3.25 ± 0.11)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>	(6.08 ± 0.11)·10 <sup>2</sup> <sup>c</sup>
	0.2 %	(2.65 ± 0.16)·10 <sup>2</sup> <sup>f</sup>	(5.37 ± 0.27)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(7.60 ± 0.08)·10 <sup>2</sup> <sup>e</sup>
PPx	Kontrola	(5.86 ± 0.07)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(7.07 ± 0.24)·10 <sup>2</sup> <sup>c</sup>	(7.83 ± 0.06)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>
	0.1 %	(4.91 ± 0.04)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	(5.63 ± 0.26)·10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	(8.83 ± 0.13)·10 <sup>2</sup> <sup>e</sup>
	0.2 %	(4.64 ± 0.12)·10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	(7.97 ± 0.18)·10 <sup>2</sup> <sup>d</sup>	(9.83 ± 0.05)·10 <sup>2</sup> <sup>f</sup>
LP	Kontrola	2.56 ± 0.13 <sup>a</sup>	3.02 ± 0.11 <sup>b,c</sup>	3.29 ± 0.07 <sup>c</sup>
	0.1 %	2.96 ± 0.16 <sup>b</sup>	2.83 ± 0.04 <sup>a,b</sup>	3.01 ± 0.10 <sup>b,c</sup>
	0.2 %	2.52 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.95 ± 0.06 <sup>d</sup>	3.90 ± 0.18 <sup>d</sup>
<b>Koren</b>				
CAT	Kontrola	22.93 ± 0.67 <sup>a</sup>	20.40 ± 0.72 <sup>b</sup>	10.56 ± 0.21 <sup>e</sup>
	0.1 %	18.32 ± 0.44 <sup>b,c</sup>	18.35 ± 0.81 <sup>c,b</sup>	22.39 ± 0.79 <sup>a,b</sup>
	0.2 %	17.27 ± 1.35 <sup>c</sup>	12.22 ± 0.72 <sup>e</sup>	14.79 ± 0.48 <sup>d</sup>
SOD	Kontrola	7.27 ± 0.15 <sup>a</sup>	7.99 ± 0.07 <sup>b</sup>	9.34 ± 0.21 <sup>e</sup>
	0.1 %	5.05 ± 0.22 <sup>c</sup>	13.17 ± 0.03 <sup>h</sup>	10.61 ± 0.03 <sup>g</sup>
	0.2 %	8.31 ± 0.18 <sup>b</sup>	9.92 ± 0.10 <sup>f</sup>	3.25 ± 0.09 <sup>d</sup>
GPx	Kontrola	(3.24 ± 0.27)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(3.58 ± 0.14)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(3.34 ± 0.15)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
	0.1 %	(3.77 ± 0.15)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(3.16 ± 0.15)·10 <sup>3</sup> <sup>a,c</sup>	(4.34 ± 0.07)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>
	0.2 %	(2.12 ± 0.12)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>	(2.80 ± 0.06)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>	(3.67 ± 0.07)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>
PPx	Kontrola	(2.62 ± 0.02)·10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	(2.47 ± 0.08)·10 <sup>3</sup> <sup>a,b</sup>	(1.95 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>d</sup>
	0.1 %	(2.37 ± 0.12)·10 <sup>3</sup> <sup>b</sup>	(2.24 ± 0.07)·10 <sup>3</sup> <sup>c,b</sup>	(2.06 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>c,d</sup>
	0.2 %	(1.58 ± 0.04)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>	(1.40 ± 0.05)·10 <sup>3</sup> <sup>e</sup>	(2.16 ± 0.07)·10 <sup>3</sup> <sup>c</sup>
LP	Kontrola	2.50 ± 0.13 <sup>a,b</sup>	2.96 ± 0.07 <sup>c,b</sup>	2.38 ± 0.07 <sup>a</sup>
	0.1 %	3.88 ± 0.25 <sup>d</sup>	3.13 ± 0.23 <sup>c</sup>	2.87 ± 0.13 <sup>b</sup>
	0.2 %	2.45 ± 0.10 <sup>a,b</sup>	4.17 ± 0.14 <sup>d</sup>	4.72 ± 0.11 <sup>e</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-h</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u  $\text{nmol mg}^{-1}$  proteina.

*Uticaj vodenog ekstrakta *C. menthifolium* (0,1 % i 0,2 %) na aktivnost enzima antioksidativne zaštite CAT, SOD, GPx i PPx i na sadržaj MDA u listu i korenju soje.*

		Vreme	24h	72h	120h
List					
CAT	Kontrola		11.96 ± 0.65 <sup>a,b</sup>	9.95 ± 0.34 <sup>a,b,c</sup>	12.39 ± 0.12 <sup>a</sup>
	0.1 %		11.39 ± 0.15 <sup>a,b</sup>	9.22 ± 0.90 <sup>b</sup>	12.46 ± 0.16 <sup>a</sup>
	0.2 %		11.76 ± 1.87 <sup>a,b</sup>	8.06 ± 1.09 <sup>c</sup>	11.43 ± 1.92 <sup>a,b</sup>
SOD	Kontrola		12.88 ± 0.14 <sup>a</sup>	18.29 ± 0.17 <sup>d</sup>	17.75 ± 0.23 <sup>c,d</sup>
	0.1 %		14.32 ± 0.02 <sup>b</sup>	20.16 ± 0.04 <sup>e</sup>	17.42 ± 0.45 <sup>c</sup>
	0.2 %		14.62 ± 0.07 <sup>b</sup>	17.14 ± 0.03 <sup>c</sup>	17.70 ± 0.06 <sup>c</sup>
GPx	Kontrola		(2.31 ± 0.08)·10 <sup>2 a,b</sup>	(2.58 ± 0.20)·10 <sup>2 b</sup>	(2.93 ± 0.08)·10 <sup>2 b,c</sup>
	0.1 %		(2.48 ± 0.17)·10 <sup>2 a,b</sup>	(3.31 ± 0.27)·10 <sup>2 c</sup>	(3.77 ± 0.07)·10 <sup>2 d</sup>
	0.2 %		(1.94 ± 0.14)·10 <sup>2 a</sup>	(2.56 ± 0.12)·10 <sup>2 a,b</sup>	(3.40 ± 0.37)·10 <sup>2 c,d</sup>
PPx	Kontrola		(3.90 ± 0.12)·10 <sup>2 a</sup>	(5.46 ± 0.49)·10 <sup>2 b</sup>	(4.42 ± 0.91)·10 <sup>2 a,b</sup>
	0.1 %		(4.92 ± 0.45)·10 <sup>2 a,b</sup>	(5.77 ± 0.41)·10 <sup>2 b</sup>	(6.04 ± 0.38)·10 <sup>2 b</sup>
	0.2 %		(3.31 ± 0.20)·10 <sup>2 a</sup>	(4.91 ± 0.48)·10 <sup>2 a,b</sup>	(6.00 ± 0.71)·10 <sup>2 b</sup>
LP	Kontrola		3.38 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.64 ± 0.08 <sup>b</sup>	4.49 ± 0.12 <sup>d,e</sup>
	0.1 %		3.66 ± 0.00 <sup>b</sup>	4.63 ± 0.06 <sup>d</sup>	4.34 ± 0.01 <sup>e</sup>
	0.2 %		3.30 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.96 ± 0.05 <sup>c</sup>	4.60 ± 0.09 <sup>d</sup>
Koren					
CAT	Kontrola		4.47 ± 0.50 <sup>a</sup>	3.58 ± 0.32 <sup>a</sup>	9.48 ± 0.99 <sup>a,b</sup>
	0.1 %		3.04 ± 0.43 <sup>a</sup>	6.61 ± 1.01 <sup>a,b</sup>	18.74 ± 7.63 <sup>c</sup>
	0.2 %		3.30 ± 0.67 <sup>a</sup>	5.50 ± 0.33 <sup>a,b</sup>	13.71 ± 1.35 <sup>b</sup>
SOD	Kontrola		20.84 ± 3.73 <sup>a,b,c</sup>	15.55 ± 3.25 <sup>c</sup>	19.99 ± 1.11 <sup>a,b,c</sup>
	0.1 %		23.30 ± 1.47 <sup>a,c</sup>	17.25 ± 2.72 <sup>c</sup>	28.30 ± 3.56 <sup>a</sup>
	0.2 %		14.35 ± 3.08 <sup>b</sup>	26.13 ± 1.95 <sup>a</sup>	7.79 ± 1.68 <sup>d</sup>
GPx	Kontrola		(4.96 ± 0.62)·10 <sup>3 a,b,c</sup>	(4.24 ± 0.17)·10 <sup>3 a,b</sup>	(9.37 ± 0.14)·10 <sup>3 e</sup>
	0.1 %		(4.69 ± 0.54)·10 <sup>3 a,b</sup>	(3.45 ± 0.36)·10 <sup>3 a</sup>	(5.58 ± 0.53)·10 <sup>3 b,c</sup>
	0.2 %		(3.54 ± 0.20)·10 <sup>3 a</sup>	(5.38 ± 0.72)·10 <sup>3 b</sup>	(6.54 ± 0.83)·10 <sup>3 c</sup>
PPx	Kontrola		(2.54 ± 0.15)·10 <sup>3 a,b</sup>	(2.13 ± 0.14)·10 <sup>3 a,b</sup>	(5.21 ± 0.20)·10 <sup>3 d</sup>
	0.1 %		(2.04 ± 0.34)·10 <sup>3 a,c</sup>	(2.74 ± 0.11)·10 <sup>3 b</sup>	(5.74 ± 0.09)·10 <sup>3 d</sup>
	0.2 %		(1.70 ± 0.15)·10 <sup>3 c</sup>	(2.64 ± 0.21)·10 <sup>3 b</sup>	(4.46 ± 0.11)·10 <sup>3 e</sup>
LP	Kontrola		2.40 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.23 ± 0.12 <sup>c</sup>	5.92 ± 0.13 <sup>e</sup>
	0.1 %		2.47 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.79 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.71 ± 0.10 <sup>d</sup>
	0.2 %		2.10 ± 0.05 <sup>a,b</sup>	2.10 ± 0.01 <sup>a,b</sup>	7.21 ± 0.43 <sup>f</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-c</sup> tretmani označeni različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ ). Aktivnosti CAT, SOD, GPx, PPx su izražene u  $\text{U mg}^{-1}$  proteina. Intenzitet LP je izražen u  $\text{nmol mg}^{-1}$  proteina.

### 8.3. Ispitivanje insekticidnog dejstva vodenih ekstrakata i etarskih ulja odabranih biljnih vrsta familije Lamiaceae

#### 8.3.1. Insekticidno dejstvo vodenih ekstrakata *S. montana*, *S. sclarea* i *C. menthifolium* na žitnog kukuljičara

*Smrtnost odraslih insekata žitnog kukuljičara tretiranih vodenim ekstraktima poznatih koncentracija (0,5 %, 1 % i 2 %) nakon 24 h i 48 h kontaktne ekspozicije.*

	Vodeni ekstrakti (%)	Smrtnost (%) <sup>2</sup>	
		24h	48h
Kontrola		3.3 ± 0.3 <sup>h</sup>	3.4 ± 0.3 <sup>h</sup>
<i>S. montana</i>	0.5	16.7 ± 0.75 <sup>f</sup>	33.3 ± 0.51 <sup>b</sup>
	1.0	20.0 ± 2.0 <sup>e</sup>	30.0 ± 2.0 <sup>b</sup>
	2.0	33.3 ± 0.35 <sup>c</sup>	33.3 ± 0.51 <sup>b</sup>
<i>S. sclarea</i>	0.5	30.0 ± 1.0 <sup>d</sup>	100.0 ± 0.58 <sup>a</sup>
	1.0	96.3 ± 1.53 <sup>b</sup>	100.0 ± 0.58 <sup>a</sup>
	2.0	100.0 ± 1.0 <sup>a</sup>	100.0 ± 0.58 <sup>a</sup>
<i>C. menthifolium</i>	0.5	3.3 ± 0.3 <sup>h</sup>	20.0 ± 1.0 <sup>d</sup>
	1.0	3.3 ± 0.3 <sup>h</sup>	23.3 ± 0.3 <sup>c</sup>
	2.0	10.0 ± 1.0 <sup>g</sup>	33.3 ± 1.01 <sup>b</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-h</sup> vrednosti označene različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ )

Smrtnost odraslih insekata žitnog kukuljičara tretiranih vodenim ekstraktima poznatih koncentracija (0,5 %, 1 % i 2 %) nakon 48 h, 72 h i 7 dana kontaktno-digestivne ekspozicije.

	Vodeni ekstrakti (%)	Smrtnost (%) <sup>2</sup>		
		48h	72h	7 dana
Kontrola		2,7 ± 0,63 <sup>i</sup>	2,7 ± 0,63 <sup>i</sup>	2,7 ± 0,63 <sup>i</sup>
<i>S. montana</i>	0.5	28,4 ± 0,35 <sup>f</sup>	57,5 ± 2,0 <sup>d</sup>	91,6 ± 0,51 <sup>d</sup>
	1.0	38,4 ± 0,51 <sup>e</sup>	62,5 ± 0,5 <sup>d</sup>	93,3 ± 0,3 <sup>c</sup>
	2.0	41,7 ± 11,56 <sup>d</sup>	63,5 ± 1,0 <sup>d</sup>	98,4 ± 0,51 <sup>a</sup>
<i>S. sclarea</i>	0.5	58,3 ± 0,3 <sup>c</sup>	68,5 ± 0,5 <sup>c</sup>	86,5 ± 0,5 <sup>f</sup>
	1.0	80,2 ± 1,0 <sup>b</sup>	80,2 ± 0,6 <sup>b</sup>	95,0 ± 1,0 <sup>b</sup>
	2.0	85,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	88,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	98,5 ± 0,5 <sup>a</sup>
<i>C. menthifolium</i>	0.5	5,5 ± 1,0 <sup>h</sup>	46,5 ± 1,1 <sup>e</sup>	88,8 ± 0,2 <sup>e</sup>
	1.0	5,0 ± 1,0 <sup>h</sup>	45,5 ± 0,5 <sup>e</sup>	88,5 ± 0,5 <sup>e</sup>
	2.0	15,0 ± 1,0 <sup>g</sup>	63,5 ± 0,5 <sup>d</sup>	91,6 ± 0,5 <sup>d</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-i</sup> vrednosti označene različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ )

Konzumirana hrana nakon 7 dana zavisno od primenjenih vodenih ekstrakata poznatih koncentracija (0,5 %, 1 % i 2 %).

	Vodeni ekstrakti (%)	7 dana	
		Konzumirana hrana (%)	
Kontrola		5,1 <sup>a</sup>	
<i>S. montana</i>	0.5	2,3 <sup>b</sup>	
	1.0	2,3 <sup>b</sup>	
	2.0	2,6 <sup>b</sup>	
<i>S. sclarea</i>	0.5	4,5 <sup>a</sup>	
	1.0	4,2 <sup>a</sup>	
	2.0	4,4 <sup>a</sup>	
<i>C. menthifolium</i>	0.5	4,8 <sup>a</sup>	
	1.0	4,5 <sup>a</sup>	
	2.0	4,3 <sup>a</sup>	

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-b</sup> vrednosti označene različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ )

8.3.2. Insekticidno dejstvo vodenih ekstrakata *S. montana*, *S. sclarea* i *C. menthifolium* na belu leptirastu vaš

*Smrtnost odraslih insekata bele leptiraste vaši tretiranih vodenim ekstraktima odabranih biljaka poznatih koncentracija (0,1 %, 0,2 %).*

	Vodeni ekstrakti(%)	Smrtnost(%) <sup>2</sup>		
		24h	48h	96h
Kontrola		8.33 <sup>c</sup>	10.00 <sup>c</sup>	16.66 <sup>bc</sup>
<i>S. montana</i>	0.1	1.6 <sup>d</sup>	8.33 <sup>b</sup>	41.66 <sup>ab</sup>
	0.2	3.33 <sup>d</sup>	41.66 <sup>a</sup>	68.33 <sup>a</sup>
<i>S. sclarea</i>	0.1	6.66 <sup>cd</sup>	40.00 <sup>a</sup>	56.66 <sup>a</sup>
	0.2	11.66 <sup>c</sup>	41.66 <sup>a</sup>	55.00 <sup>a</sup>
<i>C. menthifolium</i>	0.1	23.33 <sup>b</sup>	38.33 <sup>ab</sup>	50.00 <sup>a</sup>
	0.2	10.00 <sup>c</sup>	21.66 <sup>b</sup>	33.33 <sup>ab</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-d</sup> vrednosti označene različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ )

8.3.3. Insekticidno dejstvo etarskih ulja *S. montana*, *S. sclarea* i *C. menthifolium* na kestenjastog brašnara i pirinčanog žiška

Smrtnost odraslih insekata kestenjastog brašnara hranjenih 4 dana na poznatim koncentracijama (1,1 %, 0,02 %) etarskih ulja odabralih biljnih vrsta.

	Egarsko ulje (%)	Smrtnost (%) <sup>2</sup>		
		24h	48h	96h
Kontrola		0.00	0.00	0.00
<i>S. montana</i>	1.1	0.00	0.00	0.00
	0.02	0.00	0.00	0.00
<i>S. sclarea</i>	1.1	0.00	0.00	0.00
	0.02	0.00	0.00	0.00
<i>C. menthifolium</i>	1.1	56.67 <sup>c</sup>	83.33 <sup>b</sup>	96.67 <sup>a</sup>
	0.02	0.00	0.00	0.00

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-c</sup> vrednosti označene različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ )

Smrtnost odraslih insekata pirinčanog žiška hranjenih 4 dana na poznatim koncentracijama (1,0 %, 1,5 %, 2,5 %) etarskih ulja odabralih biljnih vrsta.

	Egarsko ulje (%)	Smrtnost (%) <sup>2</sup>		
		24h	48h	96h
Kontrola		0.00	2.5 <sup>d</sup>	5 <sup>d</sup>
<i>S. montana</i>	1.0	17.50 <sup>d</sup>	35.00 <sup>bc</sup>	52.50 <sup>b</sup>
	1.5	90.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>
	2.5	90.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>
<i>S. sclarea</i>	1.0	5.00 <sup>d</sup>	20.00 <sup>cd</sup>	20.00 <sup>cd</sup>
	1.5	7.50 <sup>d</sup>	32.50 <sup>c</sup>	42.50 <sup>b</sup>
	2.5	35.00 <sup>bc</sup>	45.00 <sup>b</sup>	82.50 <sup>a</sup>
<i>C. menthifolium</i>	1.0	17.50 <sup>d</sup>	42.50 <sup>b</sup>	65.00 <sup>b</sup>
	1.5	85.00 <sup>c</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>
	2.5	70.00 <sup>a</sup>	97.50 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>

Srednja vrednost ± koeficijent varijacije. <sup>a-d</sup> vrednosti označene različitim malim slovom statistički se značajno razlikuju ( $P>0.05$ )

### ***Kratka biografija***



Jovana Šućur je rođena 10.02.1987. godine u Novom Sadu. Završila je osnovnu školu „Đura Jakšić“ u Kaću, a zatim i gimnaziju „Svetozar Marković“ u Novom Sadu.

Nakon završene gimnazije, 2006. godine upisuje diplomske akademske studije na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu, odsek za hemiju, smer biohemija. Master rad pod nazivom „Citotoksični efekat 6-keto-D-homo-androstanskih derivata na tumorske ćelije“ odbranila je 2011. godine.

Nakon odbranjenog master rada, 2011. godine upisuje doktorske akademske studije, odsek hemija, smer doktor biohemijskih nauka, na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu.

Od 2012. godine kontinuirano je bila angažovana na izvodenju vežbi iz predmeta Hemija i Biohemija na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu.

Autor je i koautor tri rada objavljenih u međunarodnim časopisima. Autor je tri, i koautor jednog saopštenja međunarodnog karaktera.

**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj:  
RBR

Identifikacioni broj:  
IBR

Tip dokumentacije:  
TD

Tip zapisa:  
TZ

Vrsta rada (dipl., mag., dokt.):  
VR

Ime i prezime autora:  
AU

Mentor (titula, ime, prezime, zvanje):  
MN

Dr Dejan Orčić, docent PMF-a u Novom Sadu

Dr Dejan Prvulović, docent Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu

Naslov rada:  
NR

Biopesticidna aktivnost ekstrakata odabranih biljnih vrsta familije  
Lamiaceae

Jezik publikacije:  
JP

Jezik izvoda:  
JI

Zemlja publikovanja:  
ZP

Uže geografsko područje:  
UGP

Godina:  
GO

Izdavač:  
IZ

Mesto i adresa:  
MA

Fizički opis rada: FO	broj poglavlja/stranica/slika/grafikona/referenci/priloga 8/178/32/12/235/26
Naučna oblast: NO	Hemija
Naučna disciplina: ND	Ekološka biohemija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	<i>Satureja montana</i> L., <i>Salvia sclarea</i> L., <i>Clinopodium menthifolium</i> Host, biljni fenoli, etarska ulja, lipidna peroksidacija, alelopatija, alelohemikalije, insekticidno delovanje
UDK	
Čuva se: ČU	Biblioteka Departmana za hemiju, PMF Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3
Važna napomena: VN	Nema
Izvod: IZ	Ispitivan je hemijski sastav etarskih ulja i vodenih ekstrakata tri vrste samoniklih biljaka familije Lamiaceae: <i>Satureja montana</i> L., <i>Salvia sclarea</i> L., <i>Clinopodium menthifolium</i> Host. Pored toga, ispitano je delovanje vodenih ekstrakata na korovske i ratarsko-povrtarske biljke, insekte i mikroorganizme, kao i etarskih ulja na insekte. Potvrđeno je da ispitivane vrste imaju insekticidno dejstvo i da nemaju uticaj na rast korisnih mikroorganizama prisutnih u zemljištu.
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	25. 06. 2015.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: dr Milan Popović, red. profesor Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu član: dr Dejan Orčić, docent PMF u Novom Sadu, mentor član: dr Dejan Prvulović, docent Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu, mentor član: dr Đorđe Malenčić, red. profesor Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu član: dr Neda Mimica-Dukić red. profesor PMF u Novom Sadu

UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF SCIENCES  
KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type:

DT

Monograph type

Type of record:

TR

Printed text

Contents code:

CC

PhD Thesis

Author:

AU

Jovana Šućur

Mentor:

MN

Assistant Professor Dr Dejan Orčić

Assistant Professor Dr Dejan Prvulović

Title:

TI

Biopesticide activity of the extracts of self-seeding plants of Lamiaceae family

Language of text:

LT

Serbian (Latin alphabet)

Language of abstract:

LA

Serbian

Country of publication:

CP

Serbia

Locality of publication:

LP

Vojvodina

Publication year:

PY

2015

Publisher:

PU

Author's reprint

Publication place:

PP

Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

Physical description:	(chapters/pages/ pictures/graphs/ literature/additional lists)
PD	8/178/32/12/235/26
Scientific field	Chemistry
SF	
Scientific discipline	Ecological biochemistry
SD	
Subject, Key words	<i>Satureja montana</i> L., <i>Salvia sclarea</i> L., <i>Clinopodium menthifolium</i>
SKW	Host, plant phenolics, essential oils, lipid peroxidation, allelopathy, allelochemicals, insecticidal activity
UC	
Holding data:	Library of Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental Protection,
HD	Faculty of Sciences, Trg Dositeja Obradovića 3, Novi Sad
Note:	None
N	
Abstract:	The chemical composition of essential oils and aqueous extracts of three types of self-seeding plants of the Lamiaceae family are examined. Apart from the composition, the effects of aqueous extracts on weed and vegetable plants, insects and microorganisms are examined. The effects of essential oils on insects are also examined. Insecticidal activity of examined plants is confirmed. It is also confirmed that the examined plants have no effect on the growth of useful microorganisms present in the soil.
AB	
Accepted on Senate on:	25. 06. 2015.
AS	
Defended:	
DE	
Thesis Defend Board:	president: dr Milan Popović, Professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad
DB	mentor dr Dejan Orčić, Assistant Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad
	mentor dr Dejan Prvulović, Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad
	member: dr Đorđe Malenčić, Professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad
	member: dr Neda Mimica-Dukić, Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad

