

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Датум: 02.11. 2016. године

Предмет: Извештај Комисије за оцену урађене докторске дисертације кандидата
дипл. инж. Ирене Међо

Одлуком Наставно-научног већа факултета бр. 33/11-4.1. од 26.09.2016. године, именовани смо у Комисију за оцену урађене докторске дисертације кандидата дипл. инж. Ирене Међо под насловом: „**Акарицидни и сублетални ефекти биопестицида на *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)**“. Комисија у саставу: др Радмила Петановић, редовни професор у пензији Пољопривредног факултета Универзитета у Београду; др Дејан Марчић, научни саветник Института за пестициде и заштиту животне средине, Београд; др Петар Кљајић, научни саветник Института за пестициде и заштиту животне средине, Београд; др Бојан Стојнић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду и др Славица Вуковић, доцент Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду, на основу прегледа докторске дисертације подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација дипл. инж. Ирене Међо написана је у складу са Упутством за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду, на 83 стране текста, укључујући 21 графикон и 25 табела, као и 190 литературних извора. Испред основног текста написан је резиме са кључним речима на српском и енглеском језику.

Докторска дисертација садржи седам поглавља: 1) **Увод** (стр. 1-2), 2) **Преглед литературе** (стр. 3-11), 3) **Материјал и методе** (стр. 12-18), 4) **Резултати** (стр. 19-54), 5) **Дискусија** (стр. 55-67), 6) **Закључак** (стр. 68-69) и 7) **Литература** (стр. 70-83). На крају текста дисертације налазе се **Прилози** (стр. 84-88) у којима се налазе биографија кандидата (стр. 84) и изјаве о ауторству (стр. 85), истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације (стр. 86) и коришћењу (стр. 87-88). Поглавља *Преглед литературе, Материјал и методе, Резултати* и *Дискусија* садрже више потпоглавља.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод. У уводном делу истакнут је економски значај обичне гриње паучинара, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), као полифагне и космополитске фитофагне врсте гриња, једне од најзначајнијих штетних врста у пластеницима и стакленицима. Указано је на резистентност *T. urticae* према синтетским пестицидима (акарицидима) као на глобални феномен, а такође и на значај развоја и увођења у примену биопестицида као алтернативног решења за сузбијање популација ове врсте. Полазећи од тога да су лабораторијски биотестови први корак у испитивању могућности примене нових производа, истакнута је потреба да се, поред основног биолошког профила токсичности за различите животне стадијуме, изврши и евалуација сублеталних ефеката на понашање, виталност и репродукцију преживелих јединки. За што потпунију евалуацију акарицидних својстава испитиваних биопестицида, неопходно је да се летални и сублетални ефекти оцене у контексту популационе биологије *T. urticae*.

Преглед литературе. У уводном делу овог поглавља дате су дефиниција и подела биопестицида и наведене компаративне предности биопестицида у односу на синтетска једињења, као и недостаци који ограничавају њихову ширу примену. Ово поглавље подељено је на три потпоглавља. У првом потпоглављу, Ботанички инсектициди и акарициди, наведени су и описани најзначајнији биопестициди биљног порекла који испољавају акарицидна својства. Највећи простор дат је азадирахтину, примарној активној материји у екстрактима из семена биљке *Azadirachta indica*, као најпознатијем ботаничком пестициду. У другом потпоглављу, Инсектициди и акарициди микробиолошког порекла, обрађени су биопестициди на бази секундарних метаболита актиномицета и конидија ентомопатогених гљива. Посебна пажња посвећена је спиносаду, метаболиту актиномицете *Saccharopolyspora spinosa* и биопестициду Naturalis-L формулисаном од конидија гљиве *Beauveria bassiana*. Треће потпоглавље, Сублетални ефекти и популациона токсикологија акарицида, разматра утицај акарицида на понашање (локомоторну активност, исхрану, овипозицију) и параметре животне историје тетранихида (фекундитет, брзину развића, дужину живота). Имајући у виду да је популациона стопа раста у еколошки релевантнија мера ефеката у односу на појединачне животне параметре, истакнут је значај конструисања табела живота као основе за израчунавање природне стопе раста популације и других демографских параметара. Указано је на све ширу примену демографско-токсиколошког приступа у евалуацији ефеката акарицида, али и на чињеницу да о ефектима биопестицида на популациони раст *T. urticae* има мало података.

Материјал и методе. Ово поглавље садржи три потпоглавља. У првом потпоглављу, Тест организам, описан је поступак гајења популације *T. urticae* у контролисаним условима. Друго потпоглавље, Биопестициди, даје основне податке о комерцијалним препаратима биопестицида коришћеним у огледима: Kingbo (активна материја: оксиматрин), NeemAzal-T/S (активна материја: азадирахтин), Laser 240 SC (активна материја: спиносад) и Naturalis-L (активна материја: конидије *B. bassiana*). У трећем потпоглављу, Биотестови, дати су подаци о условима извођења лабораторијских

биотестова и начину апликације биопестицида помоћу апарата Potter Precision Spray Tower, а поступци извођења детаљно су описани.

Акутна токсичност за различите животне стадијуме оцењена је извођењем пет сукцесивних биотестова у којима су јаја, јувенилни стадијуми (ларве, протонимфе, деутонимфе) или одрасле преовипозиционе женке третиране серијом симетрично распоређених концентрација у распону који покрива 10-90% смртности. Подаци концентрација-смртност обрађени су поступком пробит анализе помоћу софтвера Polo Plus и израчунате су LC_{50} и LC_{90} вредности. Значајност разлика између ових вредности, израчунатих посебно за сваки стадијум, утврђене су применом теста односа леталних доза. У огледима са женкама у којима је забележен и репелентни („run-off“) ефекат, пробит анализом обрађени су подаци концентрација-биолошки одговор, где је биолошки одговор збир смртности и репелентности, као и концентрација-репелентност.

Извођењем биотеста са могућношћу избора („two choice bioassay“) оцењена је репелентност и овипозициона детерентност тако што су пре-овипозиционе женке постављане на средину листа чија је једна половина третирана биопестицидом, док је друга половина остала нетретирана. На основу броја женки и положених јаја на једној и другој половини листа израчунати су индекси репелентности и детерентности, док је значајност разлика између средњих вредности дневних и кумулативних података утврђивана помоћу t -теста ($P \leq 0,05$).

Ефекти биопестицида на параметре животне историје оцењени су извођењем две варијанте биотеста у којима су током седам дана дневно утврђивани број положених јаја и број живих женки које су претходно третиране у стадијуму јајета старости до 24 часа (прва варијанта) или у преовипозиционом периоду (друга варијанта). На основу ових података израчунати су бруто фекундитет, нето фекундитет, просечна дужина живота женки, као и тренутна стопа популационог раста (r_t). Значајност разлика средњих вредности утврђивана је једнофакторијалном анализом варијансе (Fisher LSD test, $\alpha=0,05$) помоћу софтвера Statsoft Statistica 7.0.

Ефекти биопестицида на демографске параметре оцењени су извођењем биотестова у којима су конструисане табеле живота женки које су преживеле третирање у стадијуму јајета старости до 24 часа или у преовипозиционом периоду. На основу података о старости женки у време прве репродукције, старосно-специфичном преживљавању и старосно-специфичном фертилитету женки, израчунати су следећи демографски параметри: бруто стопа репродукције (GRR), нето стопа репродукције (R_0), природна стопа раста популације (r_m), коначна стопа раста популације (λ) и средње време генерације (T). Стандардне грешке средњих вредности демографских параметара процењене су применом *bootstrap* поступка са 100.000 понављања, а значајност разлика између третмана и контроле утврђивана је применом парног *bootstrap* теста, помоћу софтвера TWOSEX MSChart.

Резултати. Резултати истраживања, подељени у четири потпоглавља према испитиваним биопестидима, приказани су јасно уз коришћење прегледних табела и графикана, праћених одговарајућим текстуалним тумачењима. У првом потпоглављу, Акарицидни и сублетални ефекти биопестицида Kingbo, приказани су подаци о акутној токсичности препарата Kingbo за јаја, јувенилне стадијуме и одрасле женке *T. urticae*, његови репелентни и детерентни ефекти, као и утицај на животне параметре и

популациони раст. Утврђено је да је овај биопестицид слаб овицид и да је акарицидни ефекат након третирања јаја последица резидуалног деловања на испиљене ларве. Константовано је да су највеће LC_{50} и LC_{90} вредности биле далеко испод концентрације препоручене за примену овог биопестицида (2 ml/l). Утврђено је да су женке статистички значајно преферирале задржавање и полагање јаја на површини листа третираној биопестицидом у концентрацијама 500-2000 μ l/l, у поређењу са нетретираном површином. Забележена је значајна редукција нето фекундита, просечне дужине живота и r_i вредности код женки које су преживеле третирање у стадијуму јајета концентрацијама 25 и 50 μ l/l, док је третирање у периоду преовипозиције концентрацијама 50 и 100 μ l/l практично зауставило репродукцију преживелих јединки и узроковало негативне r_i вредности. Демографски биотест показао је да, осим редукције фекундитета и виталности, јединке које преживе третирање у стадијуму јајета концентрацијом 50 μ l/l имају и један дан дуже јувенилно развиће, што такође доприноси смањењу стопа популационог раста. Третирање овом концентрацијом преовипозиционих женки такође је узроковало негативан популациони раст. Друго потпоглавље, Акарицидни и сублетални ефекти азадирахтина, садржи податке о акутној токсичности овог биопестицида за јаја и јувенилне стадијуме *T. urticae*, уз констатацију о слабом овицидном деловању. Константовано је да су највише LC вредности биле ниже од концентрације препоручене за примену (50 mg/l). Примењен у концентрацијама 4,1-50 mg/l за директно третирање одраслих преовипозиционих женки азадирахтин је узроковао снажан репелентни („run-off“) ефекат. Статистички значајни репелентни и детерентни ефекти забележени су у биотесту у којем су женке имале могућност избора између нетретиране и површине листа третиране биопестицидом примењеним у концентрацијама 1,56-50 mg/l. Третирање јаја концентрацијама 3,5-15 mg/l и преовипозиционих женки концентрацијама 17,5-70 mg/l узроковало је значајну редукцију фекундитета, просечне дужине живота и r_i вредности. Као и у претходном случају, третирање јаја узроковало је продужење јувенилног развића за један дан, што је додатно допринело смањењу r_m вредности у третману. У трећем потпоглављу, Акарицидни и сублетални ефекти спиносада, приказан је биолошки профил акутне токсичности овог биопестицида за животне стадијуме *T. urticae*, уз запажање о слабом овицидном деловању и констатацију да су све LC вредности (осим LC_{50} за ларве и протонимфе) биле на нивоу или изнад концентрација препоручених за примену (60-300 mg/l). Третирање јаја и одраслих преовипозиционих женки концентрацијама 120 mg/l и 240 mg/l узроковало је малу, али ипак статистички значајну редукцију нето фекундитета, просечне дужине живота и r_i вредности. Демографски биотест са преовипозиционим женама потврдио је претходни налаз, док је демографски биотест у којем су јаја третирана концентрацијом 120 mg/l показао супротан ефекат тј. повећану репродукцију (стимулацију) у време максималне овипозиције што је узроковало статистички значајно повећање r_m и λ вредности у третману у односу на контролу, иако се R_0 вредности нису значајно разликовале. Потпоглавље Акарицидни и сублетални ефекти биопестицида Naturalis-L доноси податке о акутној токсичности овог биопестицида за животне стадијуме *T. urticae*, укључујући и налаз о слабом овицидном ефекту, карактеристичан и за остале биопестициде. Константовано је да су само LC вредности за ларве биле ниже од концентрације препоручене за примену овог

биопестицида (3 ml/l). Директно третирање одраслих преовипозиционих женки концентрацијама 0,16-10 ml/l узроковало је снажан репелентни („run-off“) ефекат. Примењен у концентрацијама 0,82-7 ml/l биопестицид је узроковао статистички значајне репелентне и детерентне ефекте. Третирање јаја и преовипозиционих женки концентрацијама 1,5-6 ml/l узроковало је статистички значајну редукцију нето фекундитета и r_i вредности, која је била израженија након у овој другој варијанти биотеста. Демографски биотестови у којима су јаја и преовипозиционе женке третиране концентрацијом 3 ml/l показали су да је биопестицид статистички значајно редуковао R_0 , r_m и λ вредности.

Дискусија. Ово поглавље подељено је на пет потпоглавља, од којих прва четири одговарају потпоглављима приликом излагања резултата. У првом потпоглављу, Акарицидни и сублетални ефекти биопестицида Kingbo, истакнуто је да ефекте овог биопестицида треба повезати са препаратом као комбинацијом две активне материје (оксиматрин и псорален). Резултати испитивања акутне токсичности упоређени са оскудним подацима других аутора, док је за ефекте на понашање, репродукцију и популациони раст констатовано да су то први подаци о сублеталним ефектима овог биопестицида на *T. urticae*. У другом потпоглављу, Акарицидни и сублетални ефекти азадирахтина, забележени летални и сублетални ефекти упоређени су са резултатима других аутора који су тестирали акарицидна својства различите производа на бази азадирахтина. Указано је на значај налаза о успоравању јувенилног развића утврђеног у демографском биотесту, што је први такав податак. Треће потпоглавље, Акарицидни и сублетални ефекти спиносада, бави се поређењем резултата добијених у биотестовима акутне токсичности са релативно малобројним подацима које су објавили други аутори. Констатовано је да су резултати евалуације сублеталних ефеката спиносада на нивоу популације први такви резултати за тетранихиде. Налаз из демографског биотеста о стимулацији репродукције дискутован је у контексту хормезе као новог концепта у токсикологији артропода, и указано је на потребу даљих истраживања сублеталних ефеката једињења из класе спиносина на *T. urticae*. У четвртном потпоглављу, Акарицидни и сублетални ефекти биопестицида Naturalis-L указано је да је реч о препарату формулисаном на бази суспензије конидија *B. bassiana* у биљном уљу, тако да акарицидна својства препарата треба повезати са комбинацијом оба агенса, а не само са акаропатогеним деловањем гљиве. Летални и сублетални ефекти овог биопестицида на *T. urticae* упоређени су са резултатима других аутора. Констатовано је да су репелентни ефекти на преовипозиционе женке, забележени након директног третирања и у биотесту са могућношћу избора, вероватно последица деловања уља соје, које чини око 93% садржине препарата. Истакнуто је да добијени резултати демографских биотестова представљају прве податке о популационим ефектима овог препарата. Пето потпоглавље, Примена испитиваних биопестицида за сузбијање *T. urticae*, разматра резултате посебно за сваки биопестицид у контексту популационе биологије *T. urticae* као колонизујуће врсте, уз истицање да добијене податке треба посматрати као полазну основу за даља истраживања у циљу унапређења програма одрживог управљања популацијама ове значајне фитофагне врсте.

Закључци. Последње поглавље садржи закључке који су правилно изведени и произилазе из добијених резултата.

Литература. Изабране су релевантне и актуелне референце у оквиру тематике дисертације. Све референце цитиране су на правилан начин.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација кандидата дипл. инж. Ирене Међо под насловом: „Акарицидни и сублетални ефекти биопестицида на *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)“ оригиналан је научни рад, израђен потпуно у сагласности са планом из прихваћене пријаве дисертације. Полазећи од економског значаја *T. urticae* и улоге биопестицида као алтернативног решења за сузбијање популација ове врсте, добијени резултати дају значајан допринос у области примењене акарологије и заштите биља. Прикупљени су подаци о акутној токсичности четири биопестицида за животне стадијуме и квантификовани њихови сублетални ефекти на понашање, параметре животне историје и популациони раст *T. urticae*, при чему многи од ових података представљају прве резултате за ову врсту. Имајући у виду све наведено, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата дипл. инж. Ирене Међо под насловом: „Акарицидни и сублетални ефекти биопестицида на *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да ову позитивну оцену усвоји и тиме омогући кандидату да пред истом Комисијом јавно брани докторску дисертацију.

Чланови Комисије:

др Радмила Петановић, редовни професор у пензији
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
дописни члан САНУ
(ентомологија и пољопривредна зоологија)

др Дејан Марчић, научни саветник
Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд
(фитофармација)

др Петар Кљајић, научни саветник
Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд
(фитофармација)

др Бојан Стојнић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(ентомологија и пољопривредна зоологија)

др Славица Вуковић, доцент
Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет
(фитофармација)

Прилог:

Објављен рад дипл. инж. Ирене Међо у научном часопису на SCI листи:

Marčić D., Međo I. 2014. Acaricidal activity and sublethal effects of an oxymatrine-based biopesticide on two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 64: 375-391.