



Univerzitet u Novom Sadu
Poljoprivredni fakultet



Potencijal horizontalnog prenosa
piriproksifena u suzbijanju kućnog komarca
(*Culex pipiens pipiens* biotip *molestus*)

Mr Dušan Marinković, dipl.inž.

Novi Sad, 2016

Univerzitet u Novom Sadu

Poljoprivredni fakultet

Ključna dokumentacijska informacija

<i>Redni broj:</i> <i>RBR</i>	
<i>Identifikacioni broj:</i> <i>IBR</i>	
<i>Tip dokumentacije:</i> <i>TD</i>	Monografska dokumentacija
<i>Tip zapisa:</i> <i>TZ</i>	Tekstualni štampani materijal
<i>Vrsta rada (dip., mag., dokt.):</i> <i>VR</i>	Doktorska disertacija
<i>Ime i prezime autora:</i> <i>AU</i>	Dušan Marinković
<i>Mentor (titula, ime, prezime, zvanje):</i> <i>MN</i>	Dr. Marija Zgomba, redovni profesor za u.n.o. Fitofarmacija
<i>Naslov rada:</i> <i>NR</i>	Potencijal horizontalnog prenosa piriproksifena u suzbijanju kućnog komarca (<i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i>)
<i>Jezik publikacije:</i> <i>JP</i>	Srpski
<i>Jezik izvoda:</i> <i>JI</i>	Srpski/engleski
<i>Zemlja publikovanja:</i> <i>ZP</i>	Srbija
<i>Uže geografsko područje:</i> <i>UGP</i>	AP Vojvodina
<i>Godina:</i> <i>GO</i>	2016
<i>Izdavač:</i> <i>IZ</i>	Autorski reprint
<i>Mesto i adresa:</i> <i>MA</i>	Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8, Novi Sad, Srbija; Departman za fitomedicinu i zaštitu životne sredine
<i>Fizički opis rada:</i> <i>FO</i>	(br.poglavlja/stranica/slika/grafikona/referenci/priloga) 11 poglavlja/152 strana/54 slika/66 tabela/141 referenci
<i>Naučna oblast:</i> <i>NO</i>	Fitomedicina
<i>Naučna disciplina:</i> <i>ND</i>	Fitofarmacija
<i>Predmetna odrednica, ključne reči:</i> <i>PO</i>	Komarci, larvicidi, piriproksifen, horizontalni transfer, <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i> , kućni komarac
<i>UDK</i>	597.771(043.3)

<p>Čuva se: ČU</p>	<p>Biblioteka Poljoprivrednog fakulteta Novi Sad</p>
<p>Važna napomena: VN</p>	<p>-</p>
<p>Izvod: IZ</p> <p>Piriproksifen je regulator rasta insekta (IGRs) koji ima veliku primenu u kontroli brojnosti komaraca (Diptera: Culicidae). Novija istraživanja potenciraju upotrebu piriproksifena kao larvicida koji se koristi u malim koncentracijama (1 ppb) s velikom efikasnošću na ciljane organizme. WHO se zalaže za njegovu primenu, jer koncentracije koje su dovoljne za inhibiciju razvoja larvi komaraca ne utiču na kvalitet pijaće vode čak i ako se nađu u njoj. Vrsta <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i> kod nas se često naziva i „kućni komarac“. Ova vrsta nije dominantna na našem području ali, sinonim njenog imena, kao i molestantsko delovanje te vektorski potencijal (virus Zapadnog Nila) ukazuju na potrebu poklanjanja sve veće pažnje vrsti <i>Cx. p. pipiens</i> biotip <i>molestus</i>.</p> <p>Labaratorijska istraživanja obavljena su u Labaratoriji za Medicinsku i Veterinarsku entomologiju, u svrhu dobijanja preliminarnih rezultata delovanja i efekta piriproksifena za vrstu <i>Cx. p. pipiens</i> biotip <i>molestus</i>. Eksponirane su larve (III i IV stupnja), lutke i jaja delovanju piriproksifena sa ispitivanim koncentracijama piriproksifena od 0.0001 ppm, 0.001 ppm, 0.002 ppm, 0.007 ppm, 0.01 ppm, 0.025 ppm, 0.05 ppm, 0.075 ppm, 0.1 ppm i 1 ppm. Koristile su se ženke komaraca u horizontalnom transferu piriproksifena sa podloge na kojoj je piriproksifen apliciran u koncentraciji od 1 ppm. U toku istraživanja urađeno je istraživanje uticaja piriproksifena na plodnost i fekunditet odraslih ženki.</p> <p>Rezultati istraživanja pokazuju da koncentracije piriproksifena od 0.0075 do 1 ppb ima najbolji efekta na mortalitet larvi komaraca. Dobijeni rezultati ukazuju da se koncentracije niže od 0.0075 ppm mogu koristiti u kontroli komaraca nižih larvenih stupnjeva. Povećanjem koncentracija piriproksifena, u vodenom rastvoru, redukovano je broj jaja u jajnom leglu. Koncentracija od 1 ppm je pokazala najbolji efekat na povećanje inhibicije piljenja larvi za vrstu <i>Cx. p. pipiens</i> biotip <i>molestus</i>. Utvrđena je razlika u prosečnom broju ispiljenih jaja ženki koje su nosile piriproksifen na svojim tarzusima u procesu horizontalnog transfera. Na osnovu toga, rezultati potvrđuju mogućnost i potencijal horizontalnog prenošenja piriproksifena u suzbijanju kućnog komarca <i>Cx. p. pipiens</i> biotip <i>molestus</i>.</p> <p>Rezultati potencijala horizontalnog prenosa piriproksifena u suzbijanju kućnog komarca <i>Cx. p. pipiens</i> biotip <i>molestus</i>, jesu preliminarni, ali s tendencijom jednostavnog implementiranja u programe kontrole i suzbijanja komaraca u urbanim zonama, sa naglaskom na područjima u kojima je nemoguće locirati svaki vodeni recipijent. Uvođenjem ovakvog načina suzbijanja značajno bi se smanjivao biološki potencijal komaraca kao molestanata i vektora različitih obolenja. Na ovaj način, primena regulatora rasta odnosno aktivne materije piriproksifen, direktno utiče na smanjenje broja tretmana u poređenju sa primenom konvencionalnih larvicida, pogotovo na mestima razvoja urbanih komaraca gde često usled povoljnih uslova razvoja dolazi do preklapanja više generacija.</p>	

<p><i>Datum prihvatanja teme od strane senata: DP</i></p>	<p>30.04.2010.</p>
<p><i>Datum odbrane: DO</i></p>	
<p><i>Članovi komisije: (ime i prezime /titula/zvanje/naziv organizacije/status) KO</i></p>	<p>Prof. Dr. Marija Zgomba, redovni profesor za užu n.o. Fitofarmacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Departman za Fitomedicina i zaštitu životne sredine</p> <p>_____</p> <p>Prof. Dr. Dušan Petrić, redovni profesor za užu n.o. Entomologija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Departman za Fitomedicina i zaštitu životne sredine</p> <p>_____</p> <p>Dr.sc. Petar Kljajić, naučni savetnik za užu n.o. Fitofarmacija, Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Zemun</p> <p>_____</p>

University of Novi Sad
Faculty of Agriculture
Key word documentation

<i>Accession number:</i> ANO	
<i>Identification number:</i> INO	
<i>Document type:</i> DT	Monograph documentation
<i>Type of record:</i> TR	Textual printed material
<i>Content code:</i> CC	Phd thesis
<i>Author:</i> AU	Dušan Marinković
<i>Mentor:</i> MN	Dr. Marija Zgomba, Full professor, Faculty of Agriculture Novi Sad
<i>Title:</i> TI	The potential of horizontal distribution of pyriproxyfen in control of mosquitos <i>Culex pipiens</i> biotype <i>molestus</i>
<i>Language of text:</i> LT	Serbian (Latin letter)
<i>Language of abstract:</i> LA	Eng/srp
<i>Country of publication:</i> CP	Serbia
<i>Locality of publication:</i> LP	AP Vojvodina
<i>Publication year:</i> PY	2016.
<i>Publisher:</i> P	Author's reprint
<i>Publication place:</i> PP	Faculty of Agriculture Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8, Novi Sad, Srbija; Department of Environmental and Plant Protection
<i>Physical description:</i> PD	11 Chapters (Including appendixes and biography)/152 pages in total/54 pictures/66 tables/ 141 references
<i>Scientific field:</i> SF	Phytomedicine
<i>Scientific discipline:</i> SD	Phytopharmacy
<i>Subject, Key words:</i> SKW	Mosquito, larvicide, pyriproxyfen, <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i>
UC	597.771(043.3)
<i>Holding data:</i> HD	Faculty of Agriculture Novi Sad Library
<i>Note:</i> N	-

Abstract:
AB

Pyriproxyfen is an insect growth regulator which has a broad application in the control of mosquito number (Diptera: Culicidae). The recent studies emphasize the use of pyriproxyfen as a larvicide which is used in low concentrations (1ppb) with a great efficiency on target organisms. The WHO supports its application as the concentrations which are sufficient for the inhibition of mosquito larvae development do not affect the quality of drinking water even when they are present in it. The species *Culex pipiens* biotype *molestus* is, with us, known as an "ordinary mosquito". This species is not predominant in our region but the synonym of its name as well as its molesting activity and its vector potential (virus of the Western Nile) point at the necessity of a greater attention to be paid to the species *Cx. p. pipiens* biotype *molestus*.

The laboratory research work was performed at the Laboratory for Medical and Veterinary Entomology with the aim of obtaining the preliminary results of pyriproxyfen activity and effect on the *Cx. p. pipiens* species, biotype *molestus*. The larvae (III and IV stage) pupae and eggs were exposed to the activity of pyriproxyfen with the studied concentrations of pyriproxyfen of 0.0001 ppm, 0.001 ppm, 0.002 ppm, 0.007 ppm, 0.01 ppm, 0.025 ppm, 0.05 ppm, 0.075 ppm, 0.1 ppm and 1.0 ppm. Mosquito females were used in the horizontal transfer of pyriproxyfen from the base where pyroxyfen was applied in the concentration of 1.0 ppm. During the studies the influence of pyriproxyfen on the fertility and fecundity of grown females was investigated.

The study results show that pyroproxyfen concentrations of 0.0075 to 1.0 ppb have the best effect on mortality of mosquito larvae. The obtained results indicate that the concentrations lower than 0.0075 ppm can be used in mosquito control at lower larvae stages. By increasing the concentration of pyroproxyfen in water solution the number of eggs in an egg hatch was reduced. The concentration of 1ppm showed the best effect on the inhibition increase of larvae hatch for the species *Cx.p.pipiens* biotype *molestus*. The difference in the average number of hatched eggs of females which had pyriproxyfen on their tarsuses in the process of horizontal tranfer was determined. Based on those facts the results confirm the possibility and the potential of horizontal transfer of pyriproxyfen in the control of mosquitos *Cx.p.pipiens* biotype *molestus*.

The results of the potential of pyroproxyfen horizontal transef in the control of mosquitos *Cx.p.pipiens* biotype *molestus* are preliminary but with the tendency of simple implementation in the programme of mosquito control in urban zones with the emphasis on the regions in which it is impossible to locate each aquatic recipient. By introducing such a mode of control the biological potential of mosquitos as molesters and vectors of various diseases would be reduced to a great extent. In this way the application of growth regulator i.e. the active substance pyriproxyfen directly affects the reduction of the number of treatments in comparison with the application of convetiional larvicides particularly at places where urban mosquitos apper and frequently, due to the favourable development conditions, several generations overlap.

<p><i>Accepted on Senate on:</i> AS</p>	<p>30.04.2010.</p>
<p><i>Defended:</i> DE</p>	
<p><i>Thesis Defend Board:</i> DB</p>	<p>PhD Marija Zgomba, full profesor, scientific field Phytopharmacy, Department of Environmental and Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad</p> <hr/> <p>PhD Dušan Petrić, full profesor, scientific field Entomology, Department of Environmental and Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad</p> <hr/> <p>PhD Petar Kljajić, Principal Research Fellow, scientific field, Phytopharmacy, Institute of Pesticides and Environmental Protection, Zemun</p> <hr/>

ZAHVALNICA

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	4
1.2. HIPOTEZE	5
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	6
2.1. TAKSONOMIJA VRSTE <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i>	6
2.2. MORFOLOGIJA VRSTE <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i>	7
2.2.1. Odrasli	7
2.2.2. Jaja.....	11
2.2.3. Larva.....	12
2.2.4. Lutka.....	13
2.3. ŽIVOTNI CIKLUS VRSTE <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i>	15
3. KONTROLA KOMARACA.....	22
4. INSEKTICIDI	26
4.1. LARVICIDI.....	27
4.1.1. Juvenilni hormon (JH) i analozi juvenilnih hormona (JHA).....	28
5. PIRIPROKSIFEN (PPF)	30
5.1. PIRIPROKSIFEN U ŽIVOTNOJ SREDINI	31
5.2. PIRIPROKSIFEN U KONTROLI KOMARACA	32
6. MATERIJAL I METODE.....	36
6.1. KOLONIJA KOMARACA VRSTE <i>Cx. p. pipiens</i> biotip <i>molestus</i>	36
6.2. PIRIPROKSIFEN	37
6.3. EKSPERIMENTALNI DEO	38
6.3.1. Ekspozicija larvi (III i IV stupnja) i lutki delovanju piriproksifena.....	38
6.3.2. Efekat piriproksifena na jaja.....	39
6.3.3. Horizontalni transfer piriproksifena	40
6.3.4. Efekat piriproksifena na plodnost i fekunditet odraslih ženki	41
6.4. OBRADA PODATAKA.....	42
7. REZULTATI	44

7.1.	EFEKAT PIRIPROKSIFENA NA DINAMIKU UGINJAVANJA LARVI.....	44
7.2.	ANALIZA EFEKTA RAZLIČITIH KONCENTRACIJA PIRIPROKSIFENA NA LARVE KOMARACA.....	102
7.3.	ANALIZA EFEKTA PIRIPROKSIFENA NA JAJA	116
7.4.	HORIZONTALNI TRANSFER PIRIPROKSIFENA.....	120
7.5.	ANALIZA EFEKTA PIRIPROKSIFENA NA PLODNOST I FEKUNDITET ŽENKI	124
8.	DISKUSIJA	129
9.	ZAKLJUČCI	138
10.	LITERATURA	140
11.	BIOGRAFIJA	152

1. UVOD

Komarci (Diptera, Culicidae) su jedna od najrasprostranjenijih grupa insekata u svetu sa oko 3538 vrsta (Harbach, 2014). Njihovo kosmopolitsko rasprostranjenje izaziva pažnju i proučavanje na svim kontinentima. Komarci naseljavaju sve delove sveta od tropskih prašuma, savana pa sve do subpolarnih predela, a jedino nisu registrovani u konstantno zamrznutim predelima zemljine kugle. Larve komaraca nalažene su u najrazličitijim vodenim biotopima. Njihovo prisustvo takođe se registruje u veoma malim recipijentima vode kao što su otvori u stablima, odbačenim konzervama i u vazama za cveće.

Do sada su na teritoriji Srbije registrovano 40 vrsta komaraca od čega su u Vojvodini zabeležene 32 vrste komaraca (Srđić i sar., 1986). Vrste iz rodova *Aedes/Ochlerotatus*, *Anopheles* i *Culex* su najbrojnije. Smatra se da su vrste roda *Culex* najrasprostranjenije u svetu (Al-Sarar i sar., 2011). Prenosioci su mnogih patogenih obolenja (filarije, West Nile virusa i dr.) kako za čoveka, tako i za životinje (Omer, 1996; Turell i sar., 2001; CDC, 2002; Cui i sar., 2006.; Kasai i sar., 2008).

Komarci se izdvajaju kao najvažnija grupa hematofagnih insekata koji se hrane na čoveku, drugim sisarima, pticama i gmizavcima (Harwood i James, 1979). Proučavanje komaraca značajno je zbog remećenja normalnih životnih aktivnosti čoveka, te zbog njihove medicinske i veterinarske važnosti kao vektora opasnih bolesti (malarije, filarijoze i brojnih arbovirusa čoveka, divljih i domaćih životinja). Prva istraživanja komaraca bila su vezana isključivo za njihovo suzbijanje. Da bi se postigla veća efikasnost, a i maksimalna ekonomičnost suzbijanja neophodno je dobro poznavanje biologije komaraca.

Velika reproduktivna moć, sposobnost migracije i adaptibilnost komaraca, široka mogućnost odabira mesta za razviće, čini borbu protiv ovih insekata veoma teškom. Ogromne vodene površine koje predstavljaju izvorišta velikom broju vrsta komaraca nemoguće je pokriti insekticidima. Izbor metoda suzbijanja komaraca evoluirao je tokom godina. Korišćene su različite strategije suzbijanja ovih insekata sa manje ili više uspeha.

Stalno smanjenje efikasnosti primenjenih mera borbe uslovljeno je takođe relativno brzim formiranjem rezistentnosti na najčešće korišćene grupe hemijskih jedinjenja.

Koncept integralnog suzbijanja komaraca (IMC) bazira se na integralnom suzbijanju štetočina (IPM) i predstavlja uravnoteženo korišćenje fizičkih, bioloških i hemijskih mera borbe, kao i uvođenje novih proizvoda i tehnika aplikacije u cilju smanjenja negativnih uticaja na prirodnu sredinu (Connelly i sar., 2009). Međutim, i pored mera koje se koriste u borbi protiv različitih stadijuma razvoja komaraca, često dolazi do razvoja velikog broja odraslih komaraca.

Najefikasnija mera za kontrolu brojnosti komaraca je aplikacija insekticida, koji se primenjuju za kontrolu larvi (larvicidi) i za kontrolu odraslih formi komaraca (adulticidi). Pod larvicidima se podrazumeva grupa hemijskih ili bioloških jedinjenja koji deluju na razvojni stadijum larve.

Larvicidi se mogu podeliti na konvencionalne, biološke i regulatore rasta. Trećoj grupi pripadaju larvicidi koji ometaju metabolizam i rast insekata i nazivaju se regulatori rasta (IGRs). Preparati iz grupe regulatora rasta insekata utiču na metabolizam, sprečavaju presvlačenje, a pored svega deluju i na njihovo ponašanje. Visoku aktivnost i efikasnost regulatora rasta na različite vrste komaraca i mogućnost primene u različitim staništima zabeležili su mnogi autori (Mulla i sar., 1989; Iwanaga & Kanda, 1998). U ovu grupu spadaju aktivne materije kao što su diflurbenzuron, metopren, triflumuron i piriproksifen.

Piriproksifen je larvicid koji ne deluje toksično na larvu, nego sprečava normalan proces razvoja larve, što rezultira uginućem larvi. Ovaj larvicid, osim na komarce (Estrada i Mulla, 1986; Mulla i sar., 1986; Schaefer i sar., 1988) deluje i na bubašvabe (Chow i Yang, 1990), buve (Palma i Meola, 1990) i ce-ce muve (Langley i sar., 1990). Istraživanja u kojima je korišćen piriproksifen pokazala su njegovu visoku efikasnost na larve komaraca vrsta *Aedes/Ochlerotatus*, *Culex* i *Psorophora* (Mulla i sar., 1989; Schaefer i sar., 1988). Piriproksifen ima visok stepen aktivacije i efikasnosti na kontrolu velikog broja vrsta komaraca na različitim tipovima staništa (Lee, 2001), a sa druge strane utvrđen je minimalni uticaj na korisnu entomofaunu (Iwanaga & Kanda, 1998).

Pozitivni efekti delovanja piriproksifena na vrste komaraca uticali su na razvijanje različitih metoda aplikacije u vodene medije. Metodom horizontalnog transfera piriproksifean uz pomoć ženki komaraca ostvarena je značajna efikasnost pri suzbijanju jaja/larvi/lutki komaraca u manjim i teško dostupnim recipijentima (Devine i sar., 2009; Mbare i sar., 2014). Pod pojmom horizontalnog transfera podrazumeva se korišćenje gravidnih ženki kao auto-prenosioca piriproksifena do vedelih medija, u kojima se nalaze juvenilni stadijumi komaraca na koje će prenešeni piriproksifen delovati. Tokom ovakvog načina prenosa gravidne ženke služe samo za transport, i na njih piriproksifen ne deluje. Ovakve nove metode aplikacije larvicida u mesta razvoja larvi imaju za cilj značajno smanjenje troškova i povećanje efikasnosti kontrole komaraca (Devine & Killeen, 2010; Fillinger & Lindsay, 2011).

U Evropskim uslovima, u biotopima razvoja larvi komaraca, koji imaju izražen medicinski značaj poput *Culex*, *Aedes* i *Anopheles* pristup suzbijanju larvi ovih vektora mora biti od posebnog značaja. U svetlu ovog aspekta, vrste koje ranije nisu bile prisutne na ovom području šire svoj areal rasprostiranja i tipično pripadaju grupi invazivnih vrsta, kao što je to *Aedes albopictus* poznat kao azijski tigar, i mogu da budu vektori prouzrokovaca opasnih bolesti za čoveka (Dauphin i sar., 2005). Strategije programa kontrole i suzbijanja komaraca bi u budućnosti, trebalo da se baziraju na preparatima koji obezbeđuju dugotrajnije delovanje u vodenoj sredini i omogućavaju smanjenje broja tretmana. Veliki broj slučajeva pojave virusa Zapadnog Nila (WNV) u našem regionu, ukazuje na neophodnost kvalitetnijeg i efikasnijeg načina suzbijanja komaraca iz roda *Culex*, pogotovo na nedostupnim mestima razvoja urbanih komaraca, na kojima se najčešće nalazi vrsta *Culex pipiens pipiens* biotip *molestus* (Petrović i sar, 2015). Primenom navedenih strategija značajno bi se smanjio vektorski i molestantski potencijal komaraca kako iz navedenog roda tako i iz drugih rodova našeg podneblja.

1.1. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Budući da je trenutno nemoguće predvideti dugoročne posledice izloženosti čoveka različitim sintetičkim jedinjenjima, uključujući tu i sredstva koja se koriste u programima kontrole i suzbijanja komaraca, neophodno je kreirati strategije koja će u značajnoj meri smanjiti broj aplikacija larvicida i ekotoksikološki efekat.

Pravovremenom aplikacijom i mogućnošću horizontalnog transfera aktivne materije piriproksifena iz grupe regulatora rasta, značajno bi se redukovala upotreba konvencionalnih larvicida. Dakle, na taj način bi se brojnost komaraca svela na tolerantni nivo, smanjila bi se kontaminacija životne sredine, u velikoj meri očuvala korisna entomofana i podigao kvalitet života ljudi.

Sprovedena istraživanja treba da utvrde:

- efekat piriproksifena na treći/četvrti larveni stupanj i stadijum lutke vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*
- najefikasniju koncentraciju piriproksifena koja će imati najbolji efekat na prestanak presvlačenja larvi i onemogućavanje formiranja stadijuma odraslih (mortalitet)
- postojanje uticaja piriproksifena na inhibiciju piljenja larvi iz jaja, koje su položile ženke vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, izložene uticaju piriproksifena
- koncentraciju piriproksifena koja ima najbolji efekat na povećanje inhibicije piljenja larvi iz jaja
- potencijal korišćenja odraslih ženki *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* u horizontalnom transferu, kao prenosioca piriproksifena na mesta razvoja larvi
- količinu piriproksifena u horizontalnom transferu pomoću ženki vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* sa podloge na kojoj je apliciran piriproksifen

1.2. HIPOTEZE

Osnovne hipoteze koje će se pokušati dokazati su:

- Povećanje koncentracije piriproksifena uzrokuje veći mortalitet larvi komaraca u kraćem vremenskom periodu
- Koncentracija piriproksifena od 1 ppm ostvariće najbolji efekat na mortalitet larvi
- Povećanjem koncentracije piriproksifena sa kojom je gravidna ženka bila u kontaktu doći će do povećanja broja neeklodiranih jaja u jajnom leglu
- Koncentracija piriproksifena od 1 ppm imaće najbolji efekat na povećanje inhibicije piljenja larvi iz jaja koje su položile ženke vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* koje su bile izložene delovanju navedene koncentracije piriproksifena
- Razlike u prosečnim količinama prenešenog piriproksifena u horizontalnom transferu sa vlažne i suve podloge značajno se razlikuju

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. TAKSONOMIJA VRSTE *Culex pipiens pipiens* biotip *molestus*

Linnaeus je 1758. godine prvi opisao komarca vrste *Cx. pipiens*, dok je u Egiptu Forskål 1775. godine opisao komarca kojem je dao ime *Culex molestus*. U to vreme, naučnici su se složili da su ove dve vrste komaraca po morfološkim karakteristikama slične.

Taksonomija komaraca u Atlasu komaraca Sveta (Knight, 1978) navodi četiri vrste komaraca koje čine Culex Pipens Complex: *Cx. pipiens*, *Cx. quiquefasciatus*, *Cx. australicus* i *Cx. globocoxitus*. Kompleks se obično definiše kao skup evolutivno srodnih vrsta koje se često teško mogu odvojiti po morfološkim karakteristikama (Collins i Paskewitz, 1996). Ova taksonomska podela još uvek nije konačna zbog istorijske zavisnosti taksonomije o morfološkim razlikama, koje je teško uočiti na jedinkama iz Culex Pipens Complex (Zhao i Lu, 1999; Vinogradova, 2000). Prepoznavanje i determinacija vrsta unutar Culex Pipens Complex odvijala se pre uvođenja molekularnih metoda na osnovu morfoloških karakteristika nogu, krila i abdomena (Becker i sar., 2010).

Culex pipiens ima dve podvrste *Cx. pipiens pipiens* i *Cx. pipiens pallens*. Jedinke podvrste *Cx. pipiens pipiens* rasprostranjene su od severne Evrope do visoravni Južne Afrike (Harbach i sar., 1985), dok su jedinke vrste *Cx. pipiens pallens* rasprostranjene istočno od Urala kroz umereni Azijski pojas (Fonseca i sar., 2009). Osim što *Cx. pipiens* ima dve podvrste i podvrsta *Cx. pipiens pipiens* ima dva biotipa "*pipiens*" i "*molestus*", koji se razlikuju značajno u ekologiji. Jedinke vrste *Cx. pipiens pipiens* slučajno su introdukovane na područje Severne i Južne Amerike (Fonseca i sar., 2004) dok su jedinke vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* na isti način introdukovane u gradove u Japanu, Južnoj Koreji i Australiji (Vinogradova, 2000).

U Evropi, Ficalbi (1890) je opisao po prvi put dva različita oblika *Cx. p. pipiens* koji se razlikuju prema načinu ishrane. Naučnici, de Boissezon (1929) i Huff (1929) trideset godina posle, navode preciziniju razliku između dva biotipa *Cx. p. pipiens*. Prvi biotip, *Cx. p. pipiens* biotip *pipiens* roji se isključivo na otvorenom staništu; ženke ovog oblika zahtevaju obavezno krvni obrok za razvoj jaja; potencijalni domaćini za uzimanje krvnog

obroka su im u većini slučajeva ptice; najčešće se odrasle forme ovog biotipa zadržavaju u nižim slojevima vegetacije; tokom zime hiberniraju. Drugi biotip, *Cx.p.pipiens* biotip *molestus* može se pariti u malim kavezima i za razvoj prvog jajnog legla nije im potreban krvni obrok. Nakon polaganja prvog jajnog legla, ženke navedenog biotipa, uzimaju krvni obrok od čoveka samo da bi povećale broj jaja po jajnom leglu; ne hiberniraju tokom zime; odrasle forme najčešće se nalaze u prizemnim slojevima vegetacije. Ženke ovog biotipa imaju dobru rezervu hranjivih nutritijenata, da bi mogle razvijati nove generacije. Zbog toga, ženke *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, koje su autogene, imaju veću masu tela od ženki koje su anautogene (Becker i sar., 1999).

Spielman (1964) je pretpostavio da su razlike između *Cx. p.pipiens* biotip *pipiens* i *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* značajno izražene. Njegov zaključak zasnivao se na tome da autogene ženke produkuju autogene ćerke i da autogene ćerke produkuju isključivo autogene ćerke i da se taj proces ciklički ponavlja. Međutim, Barr (1982) navodi pretpostavku da je moguć protok gena između navedenih biotipova komaraca, uprkos njihovom ograničenom protoku gena.

S obzirom da se ne može jasno objasniti protok gena i uticaj životne sredine na ove biotipove, postoje mnogi pokušaji u istraživanjima morfoloških karakteristika ovih biotipova, kako bi se lakše odvojile jedinice vrste *Cx. p.pipiens* biotip *pipiens* od jedinki *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* (Marshall, 1938).

2.2. MORFOLOGIJA VRSTE *Culex pipiens pipiens* biotip *molestus*

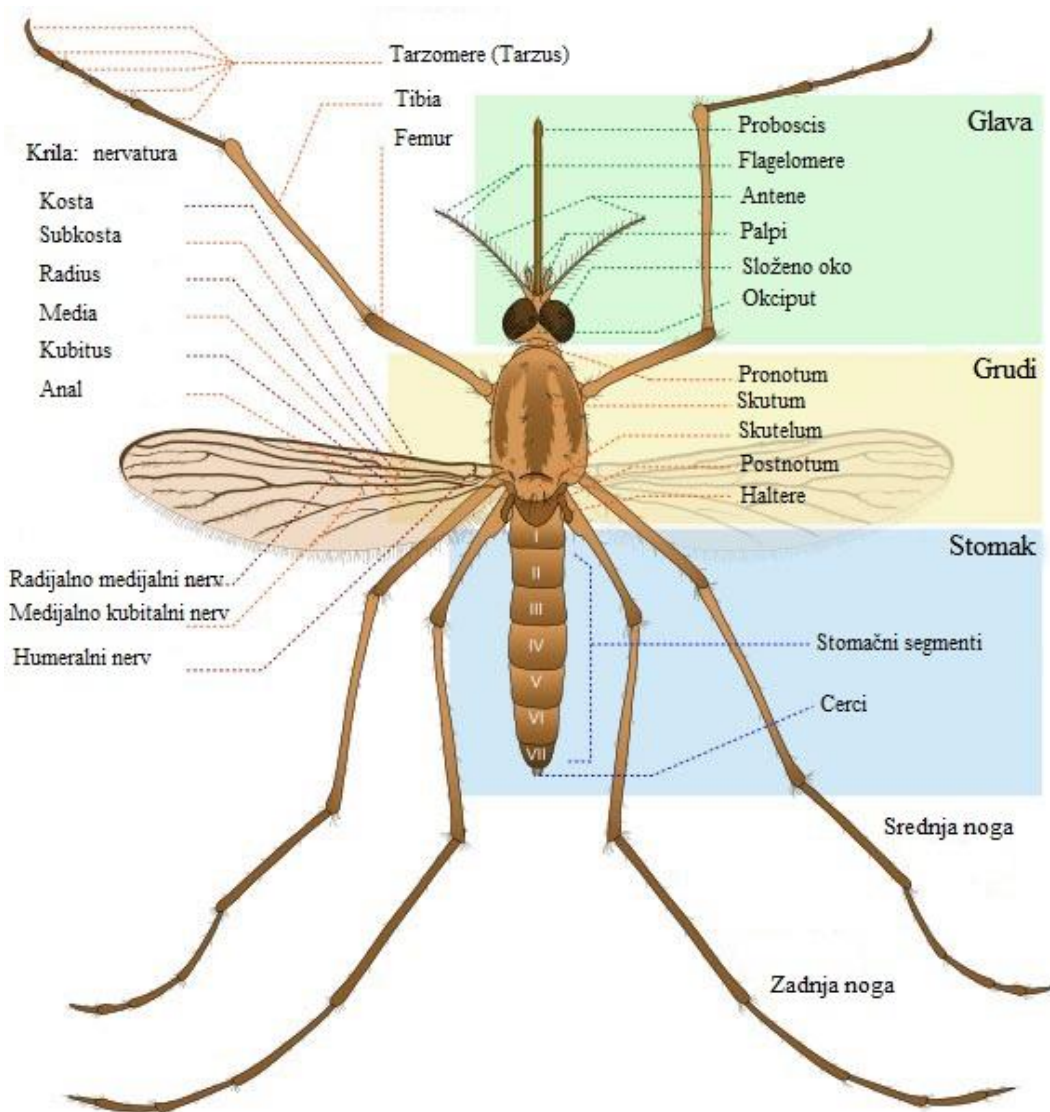
2.2.1. Odrasli

Odrasle forme komaraca vrste *Cx. pipiens* najčešće su oko 3-6 mm dužine. Kao i kod drugih insekata telo ima tri glavna dela, glavu (*caput*), grudi (*thorax*) i stomak (*abdomen*). Na glavi se nalaze sastavljene oči, antene i usni aparat. Antene kao parni čulni organi sastoje se od 13 flagelomera spojenih na pedicelus, koji ima oblik okrugle petlje koja u sebi ima džonstonov organ. Džonstonov organ funkcioniše kao organ sluha. U morfologiji antena komaraca uočava se polni dimorfizam. Antene kod ženki su dužine oko 1,5 mm, sa

dužinom pojedinog segmenta u rasponu od 90 μm do 160 μm . Antene mužjaka su duže, oko 2,2 mm, dok su poslednja dva terminalna segmenta blago povećana (između 380 μm i 200 μm) (Van den Broek, 2000). Polni dimorfizam između mužjaka i ženki najbolje se uočava u perastom tipu antena, koje su kod mužjaka puno duže i jasno izraženije nego kod ženki. Rasperjanije antene mužjacima pomažu u lakšem pronalaženju nektara, koja im je osnovna hrana, i prilikom rojenja. Neposredno iznad svake antene nalaze se palpi koji mogu biti kratki ili dugački, a kod nekih vrsta i prošireni, te njihov oblik i veličina variraju između vrsta. Između palpi nalazi se izduženi proboscis, na kojem se kod ženkin komaraca nalazi usni aparat za bodenje, dok mužjaci imaju usnu aparat za lizanje i srkanje (sl.1.). Postoje dve jasno vidljive morfološke razlike između *Cx. p.pipiens* biotip *pipiens* i *Cx. p.pipiens* biotip *molestus*. Prva je u dužini IV palpomere, koja je kod *molestusa* 1.5 puta duža nego kod *pipiens*. Druga morfološka značajna razlika je u prosečnoj dužini antenarnih seta u poređenju sa prosečnom dužinom antena izraženom kroz antenarni indeks. Ovaj indeks je 3.5 kod *pipiens*, dok se kod *molestusa* kreće između 4.1-4.4 (Becker i sar., 2010).

Između glave i toraksa nalazi se membrana koja ih povezuje i naziva se vrat (*cervix*). Toraks je prekriven, dorzalno i lateralno, ljuspicama koje mogu biti mat ili sjajne, bele, braon, crne ili čak ne moraju imati boju. Postavljene su na dorzalnoj strani toraksa te zbog svog različitog oblika i boje, kod mnogobrojnih vrsta stvaraju različiti uzorak tj. izgled obojenosti toraksa. Toraks se sastoji od tri segmenta (*prothorax*, *mesothorax* i *metatorax*), na svakom segmentu nalazi se po jedan par nogu. Noge kod komaraca su duge i tanke, te prekrivene ljuspicama koje su najčešće braon, crne ili bele, i obično su raspoređene na način da stvaraju obojene prstenove oko članaka. Noge su građene od pet segmenata: *coxa*, *trochanter*, *femura*, *tibia* i *tarsusa*. Poslednji segment noge (*tarsus*) sastoji se od od 5 tarzomera prekrivenih dlačicama. Tarzomere su međusobno povezane fleksibilnom membranom koja im omogućava pojedinačno pomeranje. Srednji segment (*mesothorax*) toraksa obično je i najveći segment i na njemu se nalaze krila. Krila su duga i uska, broj i položaj nerava na krilima različit je među vrstama. Krila su kao i većina tela komarca prekrivena ljuspicama koje stvaraju karakterističnu obojenost kod svake vrste.

Abdomen je zadnji deo tela komarca. Sastoji se od deset segmenata, od kojih se samo sedam ili osam segmenata vidi, i terminalnih genitalnih struktura uključenih u reprodukciju. Na abdomenu komarca nalazi se veliki broj dlačica (*setae*) i ljuspica (*scales*) koje imaju važnu ulogu prilikom determinacije odraslih formi komaraca. Zbog prisustva velikog broja dlačica i ljuspica, telo komarca je različito obojeno. Ljuspice na abdomenu su najčešće tamne ili svetle. Tamni tonovi ljuspi mogu varirati od crvenkasto braon do crne u zavisnosti od vrste i u manjoj meri od starosti jedinke. Neke vrste komarca imaju ljuspice metalik boje koje se prelevaju u plavu, zelenu, plavocrvenu ili ljubičastu pod različitim izvorima svetla. Svetle boje ljuspica variraju od bele, srebrne, žute do zlatne. Sam izgled i položaj ljuspica na abdomenu komarca varira od širokih i ravnih, uskih i zakrivljenih do uspravnih i kosih. Kod komaraca *Cx. p.pipiens* biotip *pipiens* i *Cx. p.pipiens* biotip *molestus* svetle ljuspice na abdominalnom segmentu formiraju uski pojas koji prekriva manje od polovine svakog tergita (Becker i sar., 2010).



Slika 1. Spoljašnji izgled odrasle forme komarca vrste *Culex pipens* (foto://www.wikiwand.com/)

Obojenost, sete i ljuske na glavi, toraksu, abdomenu, krilima i nogama kod *Cx. p. pipiens* bili su početno stanovište od kojeg se prema nabrojanim morfološkim karakteristikama pokušao odvojiti biotip *molestus* od *pipiens*. Determinisane su dve ključne morfološke razlike između navedenih biotipova. Prva razlika je u dužini palpomenere IV, gde se uočava pouzdana razlika u dužini palpa kod *molestusa* koji je 1,5 puta duži nego palpi IV kod *pipensa* (Olejniček & Zoulova, 1994). Druga pouzdana razlika

utvrđena je u dužini antenalnog indeksa koji se definiše kao prosečna dužina antenalne sete upoređena s prosečnom dužinom antene. Antenalni indeks od 3,5 utvrđen je za biotip *pipens*, dok je kod biotipa *molestus* između 4,1 i 4,4 (Becker i sar., 2003).

2.2.2. Jaja

Jaja komaraca obično su veličine oko 1 mm. Ljuska (*chorion*) jajeta izgrađena je iz dva sloja (spoljašnjeg i unutrašnjeg). Spoljašnji sloj ljuske je bezbojan dok je unutrašnji sloj bele boje kod ispiljenih jaja, ali boja tokom nekoliko sati po piljenju postupno postaje tamno smeđa. Jaja sklerifikuju. Ženke roda *Culex* polažu nekoliko stotina međusobno povezanih jaja u jajna legla, koje imaju oblik čunića. Tokom ovipozicije ženke stoje na površini vode s položajem zadnjih nogu u obliku slova V. Jaja se ispuštaju kroz genitalni otvor između zadnjih nogu formirajući leglo od pojedinačnih jaja u obliku lađice. Jaja su postavljena vetikalno u odnosu na telo ženke, te su međusobno povezana horionskim izbočinama (Clements, 1992). Donja strana svakog jajeta ima krunicu sa hidrofilnom površinom koja naleže na površinu vode. Unutrašnja površina krunice je hidrofobna, što omogućava održavanje položaja jajeta i njegovo plutanje na površini vode. (sl.2.)

Kod biotipa *molestus* oblik jajnog legla razlikuje se pa oblici jaja u leglu mogu biti različiti (zaobljenih, kvadratnih, trouglastih, duguljastih, izduženih i drugih oblika). Broj jaja u leglu retko je veći od 110. Za razliku od *molestusa*, *pipiens* ima simetričnu strukturu jaja u leglu i u većini slučajeva se broj jaja kreće između 150-300 (Vinogradova, 2000).



Slika 2. Izgled jajnog legla "čunića" (foto:[http:// www. flickr.com/](http://www.flickr.com/))

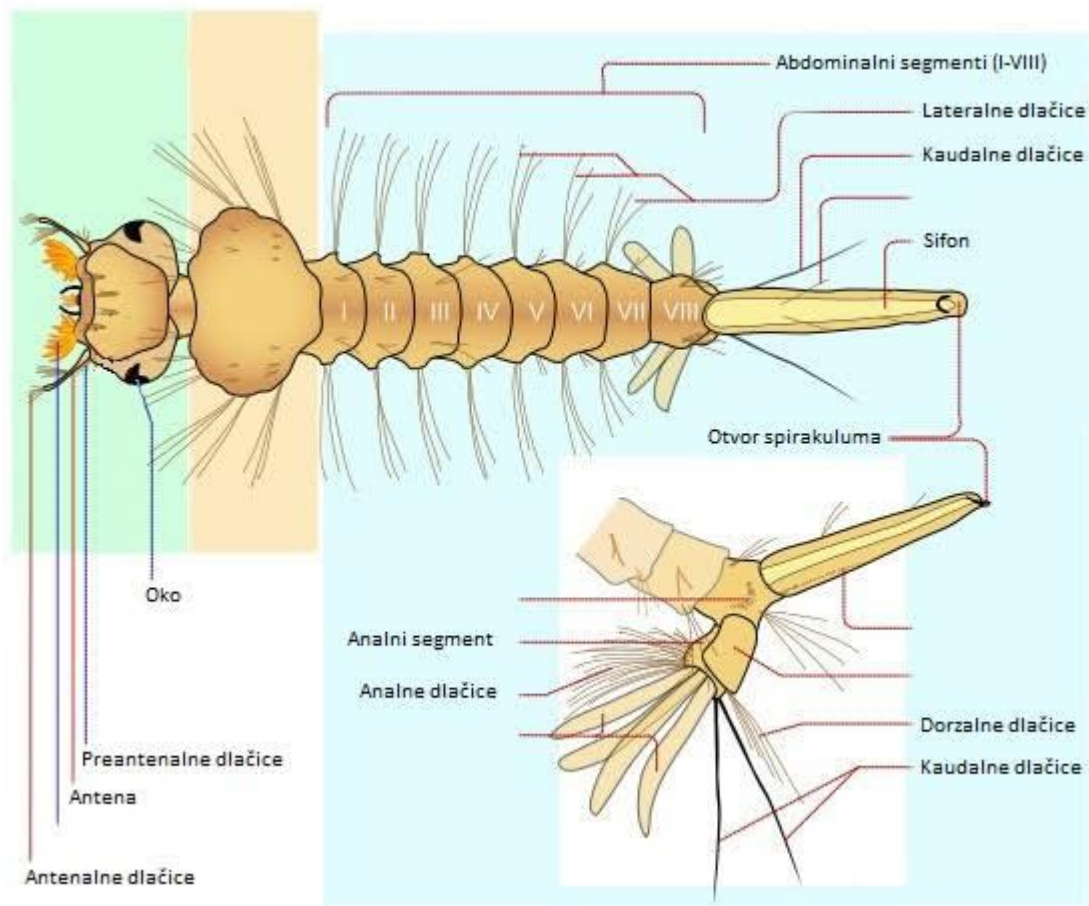
2.2.3. Larva

Larva komarca ima ista tri sastavna dela kao i odrasle forme što znači da je larva izgrađena od glave (*caput*), grudi (*thorax*) i stomaka (*abdomen*) koji na sebi nose brojne dlačice (*setae*) koje imaju značajnu ulogu prilikom klasifikacije i determinacije. Glava je sklerotizirana kapsula (*cranium*) na kojoj se nalazi usni aparat, oči i antene. Međusobno je povezana sa toraksom uz pomoć membrane koja predstavlja vrat (*cervix*). Grudi se sastoje od *prothoraxa*, *mesothoraxa* i *metathoraxa*, koji se odlikuju nizom bilateralno parnih kružno raspoređenih seta (dlačica). Abdomen se sastoji od deset segmenta koji su međusobno povezani, pri kraju abdomena dolazi do njegovog blagog sužavanja. Na VIII abdominalnom segmentu nalazi se leđni (dorzalni) sifon na kojem se nalazi apikalni ventilarni aparat koji završava sa otvorom (*stigma*). S dorzalne strane na VIII segmentu nalazi se analni segment na čijem kraju se nalaze analne škrge i analni češljčić. Područje VIII abdominalnog segmenta, koje se nalazi između sifona i analnog segmenta naziva se *comb* (češljčić), te se na njemu nalaze ljuskice, koje su isto tako značajne za determinaciju

Determinacija larvi komaraca u velikoj meri zavisi od rasporeda i broja grana (čuperaka) na setama (*chaetotaxy*). Ukupno se na telu larvi nalazi oko 193 para simetrično raspoređenih seta (tu se ne ubrajaju one iz usta i oko usnog aparata) (Clements,1992). Set od šest seta pojavljuje se na antenama, maksimalno 19 parova nalaze se na lobanji, 15 na *prothoraxu*, 14 na *mesothoraxu*, 13 na *metathoraxu*, 12 se nalazi na prvom abdominalnom segmentu, 15 na abdominalnim segmentima II-VII, sedam na abdominalnom segmentu VIII, 13 na sifonu. Prilikom determinacije najčešće se koristi broj i izgled seta na glavi i terminalnim abdominalnim segmentima (VIII i IX) te sifonu (sl.3).

Prilikom determinacije larvi IV stupnja komaraca *Cx. pipiens* potrebno je voditi računa o pojedinim karakteristikama koje su svojstvene određenim biotipovima kako bi sa sigurnošću mogli determinisati biotip *molestus*. Antenalni index je kod biotipa *molestus* manji od 4,5, dok je kod *pipiens* veći od 4,5 (Gutsevich i sar., 1970). Prosečan broj čuperaka na sifonalnim resama (ventral tufts) iznosi oko 2,2-2,6. Prosečan broj ljuski na češlju (*comb*) je 20, analne papile su duže nego sedlo na analnom segmentu. Nabrojane karakteristike su za biotip *pipiens*, dok je kod biotipa *molestus* prosečan broj čuperaka na

sifonalnim resama oko 2,2 - 3,9. Broj ljuspica na combu je 22, i analne papile nisu duže od analnog sedla (Kruppa, 1988).



Slika 3. Spolašnji izgled larve komarca *Culex pipens* (foto:[http:// www.wikiwand.com/](http://www.wikiwand.com/))

2.2.4. Lutka

Za razliku od lutki drugih insekata, lutka komarca je posebno aktivna i vrlo pokretna u vodenoj sredini. Telo lutke ne podseća na telo odrasle forme komarca jer su glava i grudni koš međusobno povezani izduženim privescima u oblik koji se naziva cefalotoraks (*cephalotorax*). Cefalotoraks nosi par dorzolateralnih dodataka poznatih kao truba. Svaka truba sadrži otvor za disanje (*mesothorax*), koji osigurava plutanje lutke ispod površine vode. Abdomen lutke zadržao je od stadijuma larve dobru muskulaturu koja

predstavlja bazu za pokretljivost lutke. Abdomen se sastoji od devet segmenata, koji završavaju parnim spljoštenim segmentom, koji imaju oblik vesla, te služe za pokretanje lutke. Tokom metamorfoze organizam koji je nastao tokom IV larvenog stupnja u potpunosti se menja u stadijumu lutke. Ova završna faza metamorfoze može se pri povoljnim uslovima sredine, odvijati za jedan ili dva dana. Kada je odrastao komarac potpuno formiran unutar kutikule lutke, izlazi iz kutikule i stoji na površini vode na kojoj se odmara, i započinje gutanje vazduha (Clements, 1992).



Slika 4. Spoljašnji izgled lutke komarca *Culex pipens*
(foto:<http://www.influentialpoints.com/>)

2.3. ŽIVOTNI CIKLUS VRSTE *Culex pipiens pipiens* biotip *molestus*

Modeli ponašanja različitih vrsta komaraca pokazuju da su vreme potrebno za pronalazak krvnog obroka (T), relativna veličina jajnog legla (P), te potencijalno preživljavanje prilikom uzimanja krvnog obroka (S) imaju veliku ulogu na veličinu populacije razvijenih jedinki. Autogene ženke su u prednosti ukoliko su T i P veći, te istovremeno dok je S manji; uslovi u kojima dolazi do razvoja larvi te visok stepen mortaliteta larvi smanjuje prednost autogenih ženki nad anautogenim, dok visok stepen mortaliteta odraslih nema prednost kod anautogenih ženki (Vinogradova, 2000).

Cx. pipiens je sinantropna vrsta komaraca široko rasprostranjena u umerenom toplotnom pojasu (Vinogradova, 2000). Ova vrsta komaraca javlja se u dve biološke forme, pod imenom *molestus* i *pipiens*, koje pokazuju značajne razlike u fiziologiji i ponašanju. Forma *pipiens* je eurigamna (za rojenje joj je potreban veliki prostor, otvoreno stanište), anautogamna (pre ovipozicije potreban im je krvni obrok), heterodinamna (tokom zimskog perioda nalazi se u stanju dijapauze) i ornitofilna (domaćini su pretežno ptice) (Harbach i sar., 1984; Harbach i sar., 1985). Nasuprot tome, forma *molestus* je stenogamna (roji se na malom prostoru, <0,1 m³ (Clements, 1999), autogamna (razvija i polaže jaja bez prethodno uzetog krvnog obroka), homodinamna (ostaje aktivna tokom zimskog perioda/nema pravu dijapauzu) i mamofilna (preferira sisare kao domaćine, uključujući i čoveka) (Gomes i sar., 2013).

Parenje se kod vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* događa bez rojenja. Parenje se može dogoditi i u periodu kada se ženka i mužjak nalazi u fazi homodinamnosti (Tamarina & Fedorova, 1983). Mužjak komarca ne predaje spermu ženki tokom kopulacije u vidu tečnosti sa slobodno plivajućim spermatozoidima, već sperma sadrži kapsule (*spermatophore*) u kojima se nalaze spermatozoidi. Tokom polnog odnosa, mužjak preko polnog organa (*aedegusa*) izbacuje spermatofore u neparni jajovod (*uterus*) ženke. Oplodnja je kod vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* u većini slučajeva 100% efikasna, ukoliko se događa kada su ženke stare šest sati (Olejniček, 1990). Za vrstu *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* koja je autogena, neposredno nakon parenja, ženka polaže jaja.

Spoljašnji uslovi (smanjena dnevna količina svetla, niža temperatura vazduha i vode) utiču nepovoljno na normalno funkcionisanje odraslih ženki *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, koje su zbog toga prinuđene da uđu u fazu homodinamnosti (Eldridge 1987). Tokom faze homodinamnosti ženke imaju mogućnost razgradnje nagomilane masti u telu (Schaefer & Washino, 1970), sintetizuju hormone koji pomažu prilikom očuvanja folikula (Spielman & Wong 1973, Skultab & Eldridge 1985, Reisen i sar., 1986). Krajem septembra ili tokom oktobra, zavisno od temperature vazduha i dužine fotoperioda, koji su najznačajniji preduslovi, ženke roda *Culex* će u tom periodu ući u fazu homodinamnosti. Ženke izlaze iz faze homodinamnosti tokom ranih prolećnih meseci, njihov broj je relativno mali, pošto je smrtnost preživljavajućih ženki vrlo visoka, u proseku iznad 81% (Petrić i sar., 1986).

Obe vrste *Cx. p. pipiens* biotip *pipiens* i *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* stvaraju legla međusobno povezanih jaja u oblik čunića, međutim jedinke vrste *Cx. p.* biotip *pipiens* imaju potrebu za prvim krvnim obrokom pre ovipozicije, što ima veliki uticaj na broj jaja u lađici. Zbog toga, ženke *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* (koji se hrane nektarom) u proseku imaju oko 78.9 ± 7.0 (SE, n=13) jaja po lađici prvog jajnog legla, dok je prosečan broj jaja za vrstu *Cx.p. pipiens* biotip *pipiens* 190.7 ± 7.7 (SE, n=3) (Takken & Knols, 2010). Uporedo sa digestijom nektara kod vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, u abdomenu, razvijaju se jaja koja polako ispunjavaju oslobođen prostor i abdomen dobija beličastu boju u zadnjem delu i tamno crvenu u prednjem. U ovoj fazi, ženka se smatra polu-gravidnom. Kada potpuno razvijena jaja ispune abdomen koji usled toga poprima beličastu boju, ženka je gravidna te pronalazi pogodno mesto za ovipoziciju. Ženke vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* polažu jaja na površini vode i pile se odmah nakon razvoja embriona (sl.5). Vrste koje polažu jaja na ovakav način produkuju po nekoliko generacija svake godine. Njihove jedinke u raznim stadijumima razvoja mogu se naći u stalnim vodama, gde jedna generacija smenjuje drugu tokom sezone. Broj generacija zavisi od dužine trajanja sezone, kao i biotičkih i abiotičkih faktora, od kojih najvažniji uticaj ima temperatura.

Parametri koji utiču na izbor mesta za polaganje jaja kod ženki koje ih polažu na površinu vode, još uvek su nepoznati za mnoge vrste. Ključnu ulogu svakako imaju kvalitet vode, prisustvo svetlosti, prisustvo već položenih jaja, dostupna hrana i lokalna vegetacija.

Za *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* poznato da sadržaj organskih materija u vodi igra važnu ulogu prilikom izbora mesta za ovipoziciju od strane ženki. Gasovite substance kao što su amonijak, metan ili ugljen-dioksid, koji se oslobodaju prilikom dekompozicije organske materije, imaju efekat atraktanta za gravidne ženke *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, koje na taj način detektuju da takvo mesto poseduje odgovarajuću hranu za razvoj larvi (Vinogradova, 2000).

Prosperitet i distribucija komaraca *Culex Pipiens Complex* usko je povezana sa antropogenim delovanjem na prirodu i razvoj novih teritorija, koje imaju veliku ulogu na izmenu uslova u životnoj sredini. Promene hidrološkog režima jednog lokaliteta, navodnjavanje i isušivanje terena, izgradnja kanala, poljoprivredno navodnjavanje, različite industrijske aktivnosti te urbani razvoj, snažno utiče na faunu komaraca (Artamoshin & Khodakova, 1996; Vinogradova, 2000). Komarci vrste *Cx. pipiens* imaju veliku sposobnost brzog prilagođavanja na nova staništa, koja su nastala delovanjem ljudske aktivnosti. Relevantna literatura ukazuje kako se u ovom trenutku komarci vrste *Cx. pipiens* mogu razviti u skoro svakoj poznatoj vrsti prirodnog i veštačkog staništa. Larve se brzo razvijaju u različitim prirodnim i veštačkim akumulacijama sa visokim stepenom organskog i industrijskog zagađenja, dok se odrasli lako prilagođavaju na nove domaćine. U urbanim sredinama, *Cx. pipiens* takođe vrlo lako menja svoje prirodno sklonište, koristeći u tu svrhu antropogeno napravljena skloništa poput podruma, prostorija u koje se retko ulazi, ulaza, u kojima je povoljnija mikroklima nego u prirodnim skloništima. U oblastima umerene klimatske zone kojoj pripada i naša zemlja, autogena, stenogamna i homodinamna vrsta *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* ponaša se u izvesnoj meri kao preadaptacijska vrsta u urbanim uslovima, te na osnovu toga mogu uspešno da nastanjuju različite podzemne biotipove ograničene u prostoru i dostupnosti domaćina (Urbanelli i sar., 1980).

Larve komaraca prolaze kroz četiri razvojna stupnja. Rast larve kontinuirano se nastavlja prelaskom iz jednog u drugi larveni stupanj, koji se uočava povećanjem mase tela koje je obloženo tankom kutikularnom opnom. Delovi larve koji nisu prekriveni čvrstim skeletom rastu u većini slučajeva izometrički (Clements, 1992).

Posmatrajući strukturno larvu komarca, ona predstavlja kombinaciju funkcionalnih organa larve i početni ili spori razvoj odraslih (zrelih) organa. Organi u telu larve rastu na

različite načine. Neki organi, kao što su organi nervnog sistema i masno tkivo, rastu na način da dolazi do multiplikacije ćelija usled kojeg ne dolazi do velikog rasta samih ćelija, a sa druge strane, organi kao što su pljuvačne žlezde, Malpigijeve cevčice, rectum, analne papile rastu i povećavaju se tokom celog perioda rasta larve.

Presvlačenje kutikule, koja se događa tokom rasta larvi, ima značajnu ulogu tokom razvoja larvi. Svako presvlačenje larvi predstavlja nastajanje nove larve određenog stupnja. Presvlačenje predstavlja odvajanje epidermisa od kutike i naziva se apoliza. Na taj način dolazi do stvaranja nove kutikule, dok stara kutikula biva resorbovana. Kutikula je kod larvi izgrađena od tri sloja: epikutikule, egzokutikule i endokutikule. Kod larve epidermis se odvaja od kutikule, dolazi do stvaranja nove kutikule i čekinjastih privesaka duž trahealnog epitela, te uporedo dolazi do uvlačenja trahealne obloge i stvaranja nove kutikule oko njih (Clements, 1992). Nakon toga dolazi do razdvajanja prethodno izražene dorzalne egdizalne linije, koja je raspoređena kružno oko glave larve. Pomeranjem glave larve, dolazi do probijanja stare kutikule i larva je u mogućnosti da izvuče svoje telo. Vrlo često, samo navedeni proces traje manje od minuta. Ubrzo nakon hranjenja larvi, dolazi do otvrdnjavanja nove kutikule i istih procesa rasta i sazrevanja larvenog stupnja nakon čega dolazi do presvlačenja u novi stupanj/stadijum (sl.5).

Tokom života larva se ne hrani samo u periodu kada dolazi do presvlačenja. Larve *Culex Pipiens Complex* uzimaju hranu filtracijom kroz vodeni profil (Dahl i sar., 1988, Merritt i sar., 1992). Filtracija vode obavlja se uz pomoć lateralnih četkica, koje se nalaze ispred preoralne duplje. Prolaskom vode kroz četkice, dolazi do zadržavanja mineralnih i organskih materija koje larva kasnije lako usvaja (Dahl i sar., 1988).

Nakon četvrtog stupnja larve dolazi do formiranja lutke. Lutke se ne hrane. U ovom stadijumu dolazi do procesa metamorfoze, tokom koje se dešava razgradnja larvenih organa, dok se telo odraslog komarca formira kroz razviće imaginalnih diskova (ćelije ili grupa ćelija koje ostaju u stanju mirovanja u telu larve do stadijuma lutke). Masno tkivo koje se nalazi u larvi komarca se prebacuje u stadijum odraslog komarca i koristi se kao izvor vitelogenina za formiranje jaja kod autogenih formi komaraca. Stadijum lutke

predstavlja poslednji juvenilni stadijum koji se završava u toku jednog do dva dana ukoliko su temperature vode pogodne.

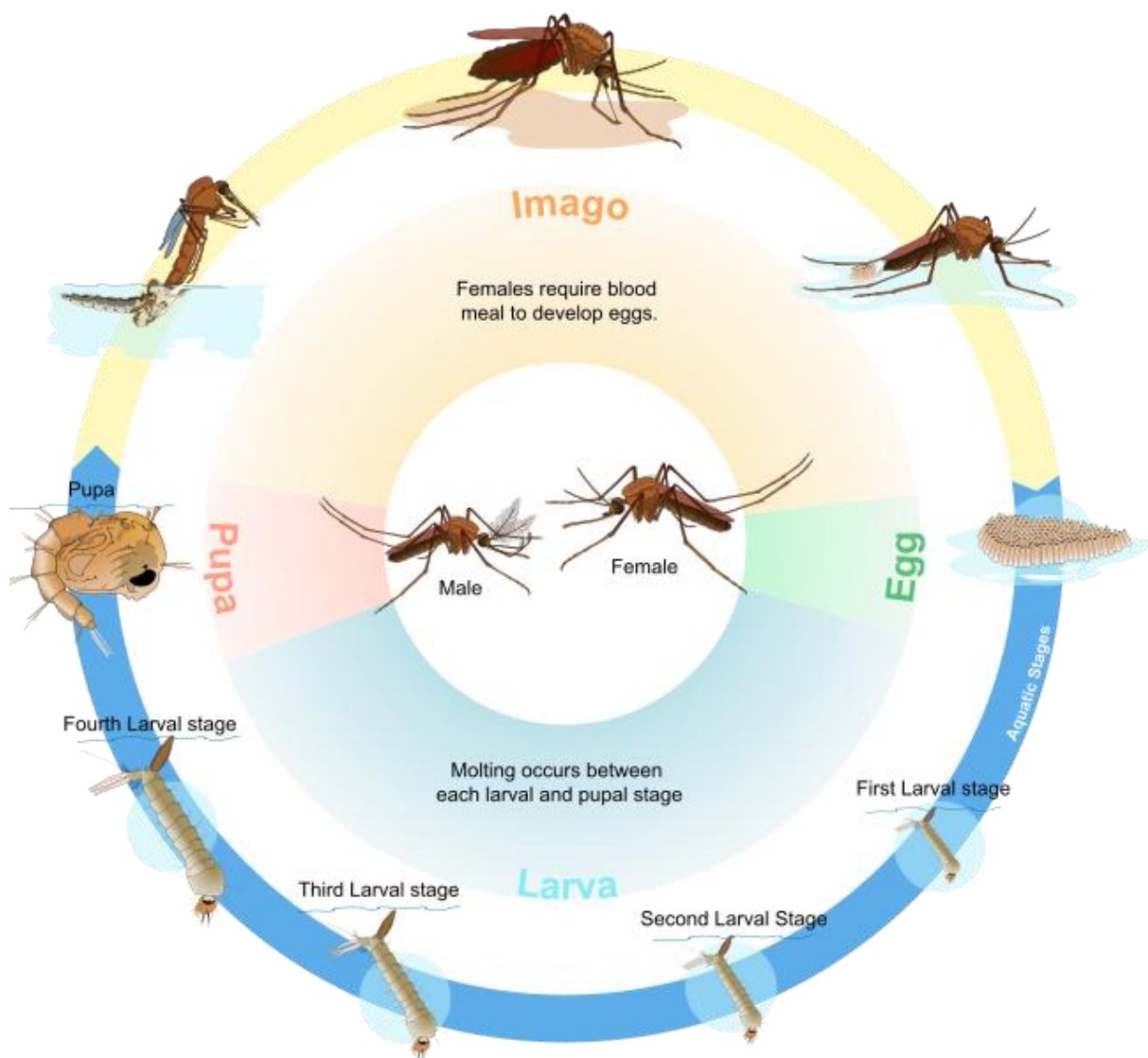
Presvlačenje koji se dešava između larve IV stupnja i lutke dovodi do nastanka novih respiratornih cevi i ogranaka čekinja ispod kutikule. Nakon presvlačenja kod lutke dolazi do srašćivanja glave i toraksa u zajedničku celinu, oko njih se formira oklop, unutar kojega se zadržava određeni volumen vazduha. Kada je poslednja faza metamorfoze gotova, vazduh ulazi između lutke i novo nastale kutikule odrasle jedinke. Lutka postavlja abdomen u horizontalnu poziciju, dolazi do gutanja vazduha, koji povećava prisutnost unutrašnjeg pritiska, usled čega dolazi do pucanja egdizijalne linije lutke i odrasla jedinka polako izlazi iz lutkine košuljice i stoji na površini vode (sl.5.). Nakon toga, u telu odraslog komaraca, dolazi do povećanja hemolinfnog pritiska, koji uzrokuje postavljanje nogu i krila u pravilan položaj. Nakon nekoliko sekundi, dolazi do otvrdnjavanja kutikule i odrasla jedinka spremna je za let (Becker i sar., 2003).

Presvlačenje i rast komaraca potpomognuti su i kontrolisani delovanjem endokrinih žlezda koje čine neurosekretorne ćelije mozga, *corpora cardiaca*, *corpora allata*, protorakalne žlezde i dr. Neurosekretorne ćelije mozga su male agregacije nervnih ćelija koje su locirane kao dve ili četiri grupe na lateralnim stranama protocerebruma. Sekreti ovih ćelija se transportuju duž aksona do *corpora cardiaca*. *Corpora cardiaca* je parna žlezda koja je nervima napred povezana za neurosekretorne ćelije mozga, a pozadi za *corpora allata*. Ima dve osnovne funkcije: sakupljanje sekreta moždanih neurosekretornih ćelija, a njen žlezdani deo luči hormon koji reguliše rad srca. Moždani hormon iz *corpora cardiaca* deluje na rad protorakalne žlezde, koja luči hormon presvlačenja, egdizon.. *Corpora allata* parna žlezda koja se nalazi iznad jednjaka uz *corpora cardiaca*, luči juvenilni hormon (JH), koji se još naziva i hormon rasta, larvalni ili hormon mladosti. U zavisnosti od nivoa titra juvenilnog hormona insekt se razvija, odnosno presvlači. Najviši nivo titra juvenilnog hormona zabeležen je u stadijumu larve u toku stadijuma lutke ga nema, a zatim se neznatni pojavljuje u stadijumu odraslog insekta, kada utiče na razvoj gonada, funkcionisanje nervnog i ekskretornog sistema (Clements, 1992). Juvenilni hormon se tokom razvoja larvenih stadijuma izlučuje u najvećim količinama sredinom razvoja svakog stupnja, a krajem se lučenje smanjuje, tako da egdizonovo delovanje preovlađuje i

larve se presvlače iz jednog u drugi stupanj. Protorakalne žlezde predstavljaju neurosekretorne ćelije koje su povezane za protorakalnu ili podždrelnu gangliju. Razvijene su dobro kod larvi insekata i luče hormon presvlačenja egdizon. Intenzitet lučenja egdizona je pod kontrolom moždanih sekretornih ćelija. Egdizon u pripremi za presvlačenje larvi iz jednog stupnja u drugi deluje prvo na ćelije epidermisa, koje izazivaju pucanje kutikule po egdizalnoj liniji. Nakon ovoga njegova aktivnost opada, a pojačava se aktivnost juvenilnog hormona, kojeg luči *corpora allata*.

Presvlačenje insekata kontrolisano je međusobnim odnosom nivoa titra u hemolimfi hormona presvlačenja egdizona i juvenilnog hormona. Njihov međusobni odnos dovodi do presvlačenja insekta u novi larveni stupanj ili novi stadijum razvoja insekta. Visoke koncentracije JH i niske koncentracije hormona presvlačenja uzrokuju presvlačenje larvi i nastavak rasta po larvenim stupnjevima. Prisustvom hormona za presvlačenje u kombinaciji sa odsustvom JH u insektu dovodi do transformacije larvi u lutku ili odraslog insekta. Juvenialni hormon održava "mladalački karakter" insekta te sprečava razvoj i odrastanje jedinke pre nego što su sve funkcije organizma završile svoj razvoj. Abnormalne količine JH često rezultiraju i smrću larve (Matolcsy i sar., 1988).

Na osnovi svega navedenog, jasno je zbog čega se vrsta *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* naziva „obični ili kućni komarac“, te joj se na osnovi toga poklanja velika pažnja i uvažavanje u smislu njezinog molestantskog delovanja na čoveka te njezine biološke kontrole.



Slika 5. Životni ciklus komarca roda *Culex* (foto:<http://www.infectionlandscapes.org/>)

3. KONTROLA KOMARACA

Borba, odnosno sukob između čoveka i štetnih insekata traje duže od 4000 godina (Conway, 1976). Svaka od zaraćenih strana pokazala je tokom vekova da ima svoje prednosti i mane, a tek u poslednjoj polovini XX veka, zahvaljujući boljem poznavanju fundamentalnih karakteristika protivnika, čovek polako stiče prednost.

Prva sredstva korišćena u borbi protiv štetnih insekata bili su neorganski materijali u sirovom stanju, koje je čovek nalazio u prirodi. Tako su Sumeri 2500 godina p.n.e. koristili sumpor koji su nalazili u prirodi za suzbijanje insekata, dok su Kinezi 1200 godine p.n.e. koristili živu i arsen (Retnakaran i sar., 1985). Prvi pisani podaci o metodama koje su se koristile za suzbijanje štetnih insekata u Staroj Grčkoj zabeleženi su u knjizi *Historia Naturalis* koju je napisao Plinije Stariji 70 godina p.n.e. (Becker i sar., 2003).

Brojne epidemije smrtonosnih bolesti koje su pogađale tadašnju populaciju i velike ekonomske štete nastale usled velike ekspanzije insekata, uticale su na podizanje svesti ljudi o potrebi pronalaženja i otkrivanja mnogo sofisticiranijih metoda suzbijanja u odnosu na do tada korišćene. Postoje pisani tragovi da su neka kavkaska plemena u 16. veku imali spoznaju o insekticidnim svojstvima nekih biljaka kao što su *Pyrethrum carneum* i *P. roseum* (Ruigt, 1985). Početkom XVIII veka najzastupljeniji primenjivani insekticidi bili su: piretrin, kreč, nikotin i sumpor.

Organizovano, naučno zasnovano suzbijanje komaraca na teritoriji Vojvodine započeto je 1976. godine (Zgomba & Petrić, 1986). Prvi punktovi na teritoriji pokrajine sa klopama za sakupljanje odraslih formi komaraca utvrđeni su 1994. godine. Monitoring broja i vrsta odraslih formi komaraca pomoću klopki sa suvim ledom je kratkoročno i dugoročno najpouzdanija metoda za registrovanje promena u lokalnoj populaciji komaraca i ocenjivanje uspeha u borbi protiv ovih hematofagnih insekata (Becker & Ludwig, 1983). Rezultati ovakvog načina evaluacije lokalnih populacija familije Culicidae mogu, ukoliko se dobro interpretiraju, poslužiti u kreiranju novih strategija suzbijanja ili služe kao osnovni parametar za opravdanje metoda za suzbijanje ovih insekata, tako da zbog svih pogodnosti

koje pružaju klopke sa suvim ledom u vodećim Evropskim zemljama, postaju osnova programa kontrole brojnosti komaraca (Rettich, 2004).

U zavisnosti od brojnosti i specifičnosti sakupljenih vrsta utvrđuju se, odnosno, lociraju moguća izvorišta, vreme i najpogodnija tehnika aplikacije preparata namenjenih za suzbijanje komaraca. Mnogobrojni literaturni podaci ukazuju da se od 1980. godine na teritoriji Vojvodine u programima suzbijanja komaraca počinje se sa ispitivanjima i uvođenjem bakterijskih preparata (Zgomba, 1987). Bilo da se radi o prevenciji širenja zaraznih obolenja ili jednostavno smanjenja brojnosti populacije ispod kritičnog nivoa, praćenje brojnosti komaraca je esencijalno za planiranje, izvođenje tretmana i evaluaciju svakog efikasnog programa suzbijanja (Aranda i sar., 2004).

Nove tehnologije koje omogućavaju precizno praćenje aplikacionih tehnika primene pesticida moguće je koristiti zahvaljujući Geografskim Informacionim Sistemima (GIS) i uređajima za pozicioniranje (GPS). Ovim tehnologijama ostvarena je mogućnost kompletnog pregleda i analize objekta/biotopa na kojima se nalaze mesta za intervenciju, brojnosti insekata u zonama pojave i kontrola uređaja iz kojih se vrše tretmani (Vigier i sar., 2000). Na osnovu dobijenih podataka moguće je napraviti strategiju suzbijanja ciljanih organizama uz značajne uštede materijala, vremena potrebnog za aplikaciju kao i uticaja na životnu sredinu (Sirola & Syrjarinne, 2002). Uvođenjem ovih elementa u programe primene preparata namenjenih suzbijanju komaraca obezbeđuje se značajno podizanje nivoa efikasnosti aplikacije kako larvicida tako i adulticida (Grimm i sar., 2000).

U okviru mera koje se sprovode u cilju saniranja brojnosti komaraca na području Vojvodine pokazala se potreba preciznijeg markiranja izvorišta komaraca, određivanja površina koje treba da se tretiraju bilo larvicidima ili adulticidima i naročito utvrđivanja primenjene količine insekticida. Ovi ključni parametri najznačajniji su elementi postizanja efikasnosti apliciranog preparata. Tokom višegodišnjih aktivnosti koje prate tretmane larvicida i adulticida rađena su istraživanja vezana za izbor najprikladnije formulacije preparata, izbor metode tretiranja i kalibracija uređaja iz kojih se apliciraju preparati. Svi ovi segmenti u značajnoj meri doprinose visokom stepenu efikasnosti primenjenih insekticida (Hay, 1997).

U klimatskim uslovima našeg podneblja, uz prihvatanje činjenice globalnog zagrevanja, promene srednjih godišnjih temperatura i hidro režima kako reka tako i atmosferskih padavina, dolazi do pomeranja rasprostranjena pojedinih vrsta komaraca koji su nekada bili vezani isključivo za tropska područja ili regione manjih geografskih širina na severnije amplitude, tako da je ekološka niša naročito komaraca koji su od medicinske i veterinarske važnosti značajno proširena (Gratz, 2003).

U Vojvodini je do sada registrovano sedam rodova koji obuhvataju 32 vrste i dve podvrste komaraca. Najzastupljeniji je rod *Aedes* sa 16 vrsta, *Anopheles* sa 6, *Culex* sa 5 vrsta i jednom podvrstom, *Culiseta* sa dve vrste i jednom podvrstom, i tri roda sa po jednom vrstom *Cocquillettidia*, *Uranotaenia* i *Orthopodomyia* (Srđić i sar., 1986). Rod *Culex* nije najbrojniji vrstama na teritoriji Vojvodine, ali se vrsta roda *Culex*, *Cx. pipiens* često naziva „obični komarac“ ili „kućni komarac“ i determiniše kao jedna od dominantnih vrsta prisutna u čovekovojoj okolini.

Osim svog molestantskog delovanja na čoveka *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* i biotip *pipiens* su vektori virusa Zapadnog Nila i Usutu virusa koji imaju veliki broj zabeleženih slučajeva na Evropskom kontinentu (Zeller & Schuffenecker, 2004; Calzolari i sar., 2010; Petrović i sar., 2015). Zbog toga, potrebno je koristiti inteligentna sredstva kojima će borba protiv našeg kućnog komarca biti što uspešnija i koja će na taj način držati komarce pod kontrolom kako ne bi ugrožavali čovekovu svakodnevnicu.

U novije vreme, mnoge razvijene zemlje, poklanjaju veliku pažnju kontroli komaraca upotrebom larvicida tako da bi sprečilo prenošenje mnogih vektorskih bolesti (Walker & Lynch, 2007; White i sar., 2011; Tusting i sar., 2013). Međutim, primena larvicida zahteva dobro poznavanje samog programa kontrole komaraca, područja na kojem se komarci nalaze i osigurana sredstva koja će omogućiti realizaciju programa (Fillinger i sar., 2008). Osim dobrog efekta u borbi protiv komaraca, potrebno je da se strategija kontrole provede sa što minimalnijim uložnim naporima te uz što manje troškove (Devine & Killeen, 2010; Fillinger & Lindsay, 2011). U korist navedenog, novija istraživanja sve se više baziraju na korišćenju gravidnih ženki komaraca koje služe kao prenosna sredstva

larvicida, od kojih se velika pažnja poklanja piriproksifenu koji će putem ženki biti prenesen do potencijalnih izvorišta larvi (Mbare i sar., 2014).

4. INSEKTICIDI

Grupa hemijskih ili bioloških jedinjenja namenjenih suzbijanju štetnih insekata naziva se insekticidima. Istorijski posmatrano, insekticidi koji su se koristili za suzbijanje komaraca pripadaju različitim hemijskim grupama, od koji su prvo uvedeni u primenu hlorovani ugljovodonici, organofosfatna jedinjenja, karbamati i piretroidi. Kao posebne grupe insekticida, koje se još nazivaju i insekticidi III generacije izdvajaju se regulatori rasta insekata (IGRs).

U poslednjoj dekadi prošlog veka insekticidi bazirani na inaktiviranim toksinima bakterija postaju sve zastupljeniji u programima kontrole vektora transmisionih bolesti. Zajednički naziv za preparate iz ove grupe su biološki larvicidi. Najvažnije karakteristike bioloških larvicida su visoka efikasnost za ciljane organizme, visoka selektivnost i znatno smanjena ekotoksičnost.

Hlorovani ugljovodonici se odlikuju hemijskom stabilnošću, slabom rastvorljivošću u vodi i umerenom rastvorljivošću u organskim rastvaračima. Stabilnost i nerastvorljivost omogućavaju preparatima iz ove grupe veliku perzistentnost što dovodi do dugoročne kontaminacije životne sredine, bioakumulacije i biomagnifikacije insekticida u lancima ishrane.

Organofosfatna jedinjenja imaju manju hemijsku stabilnost i uspešno su, u jednom periodu primene, zamenila perzistentna organohlorna jedinjenja. Hemijska jedinjenja iz grupe organofosfata su toksičnija za kičmenjake u poređenju sa organohlornim jedinjenjima. Šira, frekventna primena preparata iz ove grupe jedinjenja ubrzo je dovela do (pojave) rezistentnosti, kod velikog broja insekata štetnih u poljoprivredi i u oblasti javne higijene.

Osim Propoksura i Bendiokarba ostala jedinjenja iz grupe karbamata, za razliku od prethodne dve grupe nisu našli široku primenu u domenu suzbijanja komaraca.

Piretroidi su sintetizovana jedinjenja zasnovana na insekticidnim svojstvima prirodnih piretrina. Piretroidi su mnogo stabilniji u poređenju sa piretrinima. Koriste se u

dozama koje su od 10-100 puta manje u odnosu na do tada korišćena konvencionalna sredstva te se smatralo da ne predstavljaju opasnost po čovekovu okolinu. Veliku prednost piretroida u odnosu na druge grupe insekticida predstavljala je mala toksičnost u odnosu na sisare, tako da su brzo našli svoju primenu u suzbijanju sinantropnih insekta. Ipak, piretroidi su izuzetno toksični za ribe i druge organizme koji žive u vodi. I pored svoje visoke toksičnosti za vodene kičmenjake i crustacee, pojedini piretroidi su u odgovarajućim koncentracijama korišćeni za suzbijanje larvi komaraca (Mulla i sar., 1978). Međutim, brza pojava rezistentnosti i visok stepen toksičnosti za neciljane organizme uticale su na razvoj istraživanja u pravcu kreiranja novih jedinjenja, koja bi se odlikovala visokom selektivnošću i smanjenjem kontaminacije životne sredine. Ideja je bila da se istraživanja usmere na fiziološke procese i metabolizam insekata kako bi se novim jedinjenjima moglo delovati na procese metamorfoze. Ponuđena rešenja koja datiraju od sedamdesetih godina prošlog veka otvaraju mogućnost delovanja na metabolizam, sprečavanje presvlačenja ili utiču na ponašanje insekta. Zajednički naziv za sve insekticide koji ometaju metabolizam i rast insekata je **regulatori rasta** (IGRs).

U odnosu na stadijum insekata koji suzbijaju, insekticidi se mogu podeliti na ovicide, larvicide i adulticide. Ovicidi su grupa hemijskih jedinjenja namenjena za sprečavanje embriogeneze, odnosno suzbijanje jaja insekata. Hemijska jedinjenja ove grupe ne koriste se u programima suzbijanja komaraca i neće biti dalje obrađivana.

Prema načinu delovanja insekticide možemo podeliti na kontaktne, digestivne, inhalacione. U slučaju regulatora rasta insekata prodiranje insekticida odvija se digestivno.

4.1. LARVICIDI

Pod larvicidima se podrazumeva grupa hemijskih (konvencionalnih) ili bioloških jedinjenja koji deluju na razvojni stadijum larve. Grupu konvencionalnih čine larvicidi na bazi hlorspirifosa, hlorspirifos metila, diazinona, fenitrotona, fentiona, permetrina i temefosa. Glavna karakteristika preparata koji pripadaju navedenim aktivnim materijama iz ove grupe je brzo delovanje na larve komaraca i neselektivnost prema ostalim akvatičnim organizmima.

U poslednjoj dekadi prošlog veka larvicidi bazirani na inaktiviranim toksinima bakterija postaju sve zastupljeniji u programima kontrole vektora transmisivnih bolesti. Zajednički naziv za preparate iz ove grupe su biološki larvicidi. Pod biološkim larvicidima podrazumevamo preparate koji kao aktivnu materije sadrže produkte sporulacije (neaktivna forma toksina) različitih tipova entomopatogenih bakterija. Aktivacija toksina čiji se kristali vezuju za receptore na zidovima epitela creva, obavlja se zahvaljujući alkalnoj sredini crevnog trakta. Najvažnije karakteristike bioloških larvicida su visoka efikasnost za ciljane organizme, visoka selektivnost i znatno smanjena ekotoksičnost.

Regulatori rasta insekata (IGRs) spadaju u grupu larvicida koji ometaju metabolizam i rast insekata. Njihove aktivne materije su diflurbenzuron, metopren, piriproksifen i triflumuron. U odnosu na biološke larvicide, regulatore rasta insekata karakteriše perzistentnost na mastima primene istih. Regulatore rasta u zavisnosti od mehanizma delovanja možemo podeliti na supstance koje sprečavaju sintezu hitina i na taj način utiču na presvlačenje insekata, i supstance koje supstituišu prirodne juvenilne hormone. Ova jedinjenja su poznata kao analozi juvenilnih hormona ili juvenoidi.

4.1.1. Juvenilni hormon (JH) i analozi juvenilnih hormona (JHA)

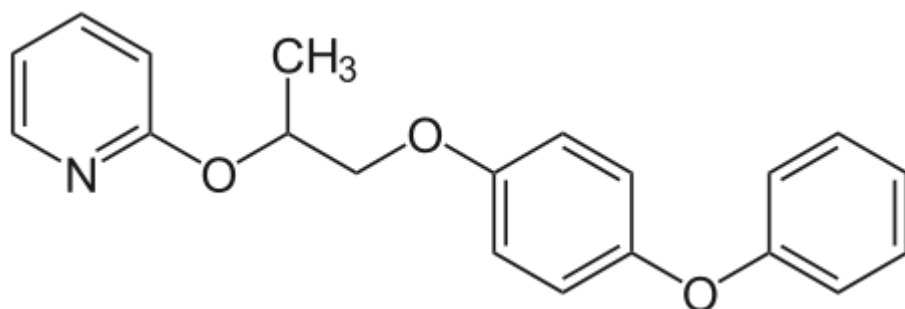
Juvenilni hormoni spadaju u grupu acikličnih seskvi-terpenoida koji utiču na regulisanje velikog broja fizioloških procesa kod insekata. Metamorfoza kod insekata događa se pod uticajem hormonske kontrole, usled koje dolazi do značajnih promena tokom metamorfoze, koja je kontrolisana neurosekretima iz mozga (Richards, 1981). Titar juvenilnog hormona u hemolimfi visok je u ranim larvenim stupnjevima, naglo opada tokom poslednjeg larvenog stupnja, nakon čega je praktično odsutan tokom stadijuma lutke, da bi se ponovo pojavio u stadijumu odrasle forme komarca (Akamatsu i sar., 1975). Dokazano je da povećanje nivoa titra juvenilnog hormona, u ključnim periodima životnog ciklusa, utiče na metamorfozu (Retnakaran i sar., 1985 u Becker i sar., 2010). Ovaj fenomen u fiziologiji insekata iskorišćen je za uključivanje juvenoida u programe suzbijanja juvenilnih stadijuma razvića komaraca. Aplikacijom juvenoida u kasnim larvenim stupnjevima kada je nivo titra juvenilnih hormona manji i njime se zameni nivo titra JHA tokom metamorfoze, često dolazi do prekidanja u normalnom razvoju. Morfogenetički efekat JHA jedinjenja najbolje se uočava tokom razvoja i prelaska iz larva-

lutka stadijuma, i može rezultirati različitim stepenima nezavršene metamorfoze. S druge strane, u nekim slučajevima indukcija titra juvenilnog hormona može imati domino efekat i poremetiti neku drugu hormonsku aktivnosti, a samim tim i procese tokom metamorfoze (Becker i sar., 2003).

Pogodnost primene JHA prilikom kontrole komaraca jeste u njegovoj hemijskoj strukturi (terpenoid) koja mu omogućava lako prodiranje kroz kutikulu komarca. Ekotoksikološki efekat JHA pomno je istraživao. Toksičnost JHA na vertebrate (kičmenjake) je značajno niska; oralna doza LD₅₀ za metopren kod pacova iznosi preko 34500 mg/kg (Siddall, 1976). Međutim, nepoželjan efekat može se očekivati kod neciljanih organizama koji se u vreme aplikacije ovog jedinjenja u akvatičnu sredinu nalaze u fazi razvoja koja je osetljiva na promenu titra juvenilnih hormona. Dakle, za akvatične insekte u fazi pred presvlačenje u stadijum lutke, doze koje odgovaraju količini prirodnog juvenilnog hormona karakteristične za rane larvene stupnjeve usloviće da do pada nivoa JH ne dođe, odnosno da se kao i kod larvi komaraca proces presvlačenja u lutku ili imago zaustavi. Najpoznatiji analozi juvenilnog hormona koji se koriste u programima suzbijanja komaraca su metopren i piriproksifen.

5. PIRIPROKSIFEN (PPF)

Piriproksifen je analog juvenilnog hormona i relativno stabilano aromatično jedinjenje 2-[1-metil-2-(4-fen-oksifenoksi)etoksi]piridin, molekulske formule $C_{20}H_{29}NO_3$ (sl. 6.). Insekticidna (larvicidna) svojstva se ispoljavaju kao posledica delovanja hormona koji se aplikacijom ovog juvenoida u larvenom stadijumu znatno uvećavaju, u odnosu na redovne fiziološke promene u ovom stadijumu razvića insekata, zbog visokog titra u hemolimfi tretiranih individua. (Glancey i sar., 1990). Još pre više od 20 godina utvrđeno je da piriproksifen kao analog JH imitira delovanje JH u brojnim fiziološkim procesima, pa se smatra potentnim inhibitorom embriogeneze, metamorfoze i formiranja odraslih formi komaraca (Ishaaya & Horovitz, 1992).



Slika 6. Hemijska struktura piriproksifena

(foto: <http://www.comons.wikimedia.org/>)

Piriproksifen kao JHA deluje na isti način kao i JH, ali ima mnogo stabilniji hemijski sastav. Piriproksifen kao i fenoksikarb iz grupe karbamata, su derivati JHA čiji su delovi alifatičkog lanca zamenjeni sa piridil oksietilenom. Iako ova aktivna jedinjenja JHA malo liče na JH, njihova visoka stabilnost im omogućava dugotrajno delovanje na fiziološke procese (Riddiford 1994).

5.1. PIRIPROKSIFEN U ŽIVOTNOJ SREDINI

Vazduh: Pritisak pare i Henrijev zakon ukazuju na tendenciju blagog isparavanja iz vodenog rastvora u atmosferu.

Zemljište: Istraživanja mobilnosti i perzistentnosti piriproksifena sprovedena su u različitim profilima zemljišta. Primenjena je koncentracija piriproksifena od 100g/l koja je sadržala 715g/ha aktivne materije. Uzorci zemlje uzeti su u profilu zemljišta do 92 cm neposredno pre i posle primene. Prosečna koncentracija piriproksifena u sloju debljine 0-15cm iznosi 0.34 ppm tokom prvog dana merenja, dok je njegova koncentracija nakon 181. dana primene iznosila 0.012 ppm. U sloju od 15-30cm pronađene su prosečne koncentracije ostataka od 0.027 ppm do 31. dan posle aplikacije, dok je posle 31. dana koncentracija u navedenom sloju zemlje bila ispod nivoa kvantifikacije (0.010 ppm). U slojevima zemlje koja su dublja od 30 cm nisu pronađene kvantifikovane koncentracije piriproksifena (Jacobson & Gresham, 1995). Piriproksifen degradira brzo u zemljištu pod aerobnim uslovima, sa vremenom poluraspada od 6.4 do 9.0 dana (Fathulla, 1994).

Voda: Stabilnost je ispitivana u vodama različite pH vrednosti. Vreme poluraspada piriproksifena u vodi na pH=5,0 je bila 147.8-604.6 dana pri pH=7 je 241.2-1292,5 dana i 161.4-511.4 dana na pH=9.0. Na osnovu ovih rezultata (Katagi & Takahashi, 1994) demonstrirano je da je piriproksifen hidrološki stabilan u navedenim uslovima testiranja. Tokom istraživanja o perzistentnosti PP preko sukcesivnog vremenskog praćenja koncentracija u poljskim uslovima dobijeni su rezultati (tretiranjem bare od 37m² s dozom piriproksifena od 45.35 g/ha) pada koncentracije za 50% u toku 24 sata (Schaefer i sar., 1988; Schaefer & Miura, 1990). Perzistentnost piriproksifena povećava se ukoliko je manje organske materije zastupljeno u vodi te je niža temperatura vode kao i manja izloženost sunčevim zracima (Schaefer i sar., 1987). Vreme poluraspada za piriproksifen u aerobnom metabolizmu tla iznosi 12.4 dana; u aerobnom vodenom metabolizmu iznosi 23.1 dana, dok je najduže vreme poluraspada zabeleženo u procesu anaerobnog vodenog metabolizma 346.5 dana (Fathulla & Ohno, 1993).

Životinje: Istraživanja su pokazala da su rakovi i larve vodenih insekata osetljivi na piriproksifen (Sullivan, 2000). U terenskim uslovima kada se piriproksifen koristi u koncentraciji od 6-28 g/ha, njegova primena ne pokazuje nikakav značajan efekat na larve insekata Ephemeroptera, Odonata i druge vrste akvatičnih organizama (Ishaaya & Horowitz, 1992).

5.2. PIRIPROKSIFEN U KONTROLI KOMARACA

Stalno smanjenje efikasnosti primenjenih mera borbe uslovljeno je relativno brzim formiranjem rezistentnosti na najčešće korišćene grupe hemijskih jedinjenja. Upravo ova okolnost opredeljuje da se borba protiv komaraca odvija na više načina i to prvenstveno kombinovanjem fizičkih, bioloških i hemijskih mera, koje su do sada dale najznačajnije rezultate u suzbijanju komaraca. Postoji potreba uvođenja drugačijih pristupa suzbijanja komaraca i integrisanje različitih larvicida čime bi se povećao nivo kontrole njihove brojnosti. Juvenilni stadijumi komaraca su vezani za akvatičnu sredinu koja je po površini višekratno manja od prostora u kojem žive odrasle forme komaraca. Upravo ova činjenica ukazuje da upotreba larvicida treba da predstavlja osnovu programa kontrole i suzbijanja komaraca posebno u urbanim sredinama, gde je produkcija larvi uslovljena permanentnim polaganjem jaja tokom sezone.

Novija istraživanja potenciraju upotrebu piriproksifena kao larvicida koji se koristi u malim koncentracijama s velikom efikasnošću na ciljane organizme. Primenjena koncentracija koja je dovoljna da inhibira pojavu odraslih insekata roda *Aedes* bila je manja od 1 ppb (Satho i sar., 2003; Devine i sar., 2009; Mbare i sar., 2014). Pored toga WHO se zalaže za njegovu primenu, jer koncentracije koje su dovoljne za inhibiciju razvoja larvi komaraca ne utiču na kvalitet pijaće vode čak i ako se nađu u njoj (WHO, 2004). Osim toga, istraživanja pokazuju da ženke koje su bile izložene uticaju piriproksifena, koji je bio apliciran na kontaktnoj površini, mogu da posluže kao prenosioci larvicida na mesta polaganja jaja, odnosno razvoja larvi (horizontalni transfer). Navedeni literarurni podaci ukazuju da bi prirodna populacija komaraca koja je bila izložena delovanju piriproksifena, mogla preneti letalnu dozu ovog larvicida do svih izvorosnih zona u akvatičnim biotopima pogodnim za polaganje jaja. U većini slučajeva izvorišne zone su teško pristupačne pa

upravo mogućnost autoaplikacije larvicida treba da predstavlja osnovu novih trendova u suzbijanju komaraca.

Mogućnost transporta perzistentnog regulatora rasta insekata (IGR) putem odraslih ženki na mesto razvoja larvi u velikoj meri otvorilo bi mogućnost suzbijanja komaraca kako u ruralnim tako i u urbanim sredinama. Prilikom horizontalnog transfera, ženke koje na tarsusima nose larvicid prenose ga na vodene površine u kojima će potencijalno doći do delovanja biocida na juvenilne stadijume razvoja komaraca. Tarsusi komaraca po morfološkim karakteristikama (tarsomere prekrivene velikim brojem dlačica) omogućavaju kontaktno vezivanje molekula larvicida, te otvaraju mogućnost njegovog horizontalnog prenosa. Aktivna materija koja se želi preneti u procesu horizontalnog transfera nalazi se aplicirana na kontaktnoj površini (čvrsta) ili supstratu, koji će ženkama poslužiti kao pogodno mesto za odmor pre ovipozicije, te će s njega poneti na tarsusima određuju količinu aktivne materije do vodenih površina pogodnih za polaganje jaja.

Pojedini literaturni podaci navode da su za istraživanje novog načina suzbijanja, u smislu horizontalnog transfera, korišćene gravidne ženke komaraca *Cx. quinquefasciatus* i *An. gambiae*, koji svoja jajna legla polažu na površinu vode (Mbare i sar., 2014). Ženke su sa čvrste podloge na kojoj se nalazila određena ispitivana koncentracija piriproksifena na svojim tarsusima ponele određenu dozu piriproksifena i nosile je do vodenih površina u kojima će obaviti proces ovipozicije. Istraživanja na ovim vrstama u toku procesa horizontalnog transfera, bazirala su se i na utvrđivanju razlike u efektu delovanja piriproksifena na potencijal ovipozicije, kojim su ženke bile eksponirane pre ili nakon uzimanja krvnog obroka. Rezultati ukazuju da ženke polažu malo jaja, ako su prethodno bile izložene uticaju piriproksifena 4 dana pre uzimanja krvnog obroka. Značajno povećanje broja položenih jaja zabeleženo je ako su ženke bile izložene uticaju piriproksifena 3 dana nakon krvnog obroka (Moh Seng i sar., 2006). Lutke koje su potomstvo ženki a bile su u kontaktu sa piriproksifenom 4 dana pre uzimanja krvnog obroka ostvarena je inhibicija pojave odraslih komaraca od 23,3% (Dell Chism & Apperson, 2003). Iz jaja koje su položile ženke izložene piriproksifenu 3 dana nakon krvnog obroka, svega 5% odraslih komaraca je uspelo da završi kompletan razvoj. Grupa od 5 do 20 ženki *Ae. aegypti* nakon krvnog obroka može sa površine na koju je nanesen

piriproksifen (3 mg/m²) preneti dovoljnu količini aktivne materije da inhibira ekloziju 80% lutki. Navedena istraživanja potvrđuju delovanje piriproksifena kroz efekat sterilizacije na vrste komaraca koje polažu jaja na vodenim površinama, ukoliko su bile eksponirane delovanju piriproksifena 24 časa pre ili nakon uzimanja krvog obroka (Mbare i sar., 2014). Međutim, istraživanja pokazuju da ženke moraju biti gravidne pre kontakta s piriproksifenom, te da vreme hranjenja ženki ne igra značajnu ulogu u procesu horizontalnog transfera. Ukoliko su na ovaj način ženke izložene delovanju piriproksifena, utvrđeno je da gravidne ženke mogu preneti letalnu dozu piriproksifena do mesta za ovipoziciju (Mbare i sar., 2014). Navedeni različiti rezultati mnogih autora o delovanju piriproksifena u procesu horizontalnog transfera mogu se objasniti različitim ispitivanim koncentracijama koje su korišćene u toku eksperimenata, različitim čvrstim površinama na kojima se aplicirao piriproksifen i biologiji komaraca koja je karakteristična za svaku vrstu.

Piriproksifen koji se koristi u procesu horizontalnog transfera nema uticaja na ponašanje odraslih formi komaraca, jer nema repelentno i letalno delovanje. Prilikom ovipozicije dolazi do kontaminacije vodenih recipijenata pa se proces horizontalnog transfera može koristiti za vrste komarca koji jaja polažu na površinu vode. Na osnovu navedenog, proces horizontalnog transfera bi u značajnoj meri mogao poboljšati efikasnost larvicidnih mera suzbijanja i smanjiti nepotrebno trošenje skupih insekticida i humane ljudskih resursa koji se koriste za tretiranje nepristupačnih vodenih recipijenata (Devine i sar., 2009).

Više od polovine svetske populacije živi pod stalnom pretnjom moguće zaraze od patogena koje prenose komarci, a istraživanja Svetske zdravstvene organizacije (WHO) pokazuju da više miliona ljudi godišnje oboli od bolesti čije prenošenje su omogućili komarci (WHO, 1993). U klimatskim uslovima našeg podneblja, uz prihvatanje činjenice globalnog zagrevanja, promene srednjih godišnjih temperatura i hidro režima kako reka tako i atmosferskih padavina, dolazi do pomeranja rasprostranjenja pojedinih vrsta komaraca koji su nekada bili vezani isključivo za tropska područja ili regione manjih geografskih širina na severnije amplitude, tako da je ekološka niša komaraca, koji su od medicinske i veterinarske važnosti značajno proširena (Gratz, 2003). Poslednjih godina, sve veća pažnja se poklanja komarcima iz roda *Aedes* pogotovo vrstama *Ae. aegypti* i *Ae.*

albopictus (Sihunincha i sar., 2005; Ponlawat i sar., 2013; Ohba i sar., 2013; Suman i sar., 2014). Veliki vektorski kapacitet ovih vrsta i njihov način života koji je baziran na neprekidnom prilagođavanju na zatečene uslove životne sredine, predstavlja ozbiljnu opasnost po zdravlje ljudi. Mogućnost razvoja ovih vrsta u malim vodenim recipientima, koji su sposobni da zadrže vodu po nekoliko dana, a koji su često neuočljivi ili nepristupačni, otežava mogućnost suzbijanja ovih vrsta u razvojnom stadijumu larve kada bi njihovo suzbijanje trebalo da bude najefikasnije i finansiski najisplativije.

Pored utvrđenog nivoa efikasnosti neophodno je dodatno utvrditi tačnu koncentraciju preparata koja bi u horizontalnom transferu bila dovoljna za inhibiciju razvoja larvi-lutki. Efekat piriproksifena, odnosno stepen biološke efikasnosti koji se reperkutuje u konačnom ishodu na udeo formiranih odraslih formi u odnosu na tretiranu populaciju larvi ne može se određivati samo količinom ili brojnošću uginulih larvi i lutki nego i brojem odraslih komaraca koji su u potpunosti završili svoj životni ciklus. Osim toga, dalja istraživanja treba da utvrde/potvrde efekat piriproksifena na plodnost i fekunditet odraslih ženki. Nakon provere svih aspekata primene piriproksifena može se utvrditi njegov uticaj na celokupan razvojni ciklus komaraca.

6. MATERIJAL I METODE

6.1. KOLONIJA KOMARACA VRSTE *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*

Odrasli komarci koji su korišćeni za formiranje kolonije, prikupljeni su pomoću klopke domaće proizvodnje, tip NS-2. Klopke su postavljene na kanalu u Vrbasu (45°35'04,88", 19°37'16,14") i na reci Krivaji (45°33'35", 19°49'45,53"). Sakupljeni komarci koristili su se da bi se formirala kolonija komaraca, koja se koristila za eksperimentalna istraživanja.

Kolonija komaraca *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* uspostavljena je i kontinuirano se održava više od pet godina u Laboratoriji za medicinsku i veterinarsku entomologiju, Poljoprivrednog fakultetu u Novom Sadu. Komarci iz ove kolonije korišćeni su za sva eksperimentalna istraživanja. Komarci su predstavljali stablinu koloniju, izolovanu od potencijanog kontakta sa biološkim ili hemijskim agensima koji bi mogli uticati na dobijanje realnih rezultata o efektu piriprosifena na mortalitet komaraca.

Ženke su svakodnevno polagale jaja na vodenu površinu u metalnim kavezima 30x30x30 cm, koji su služili za održavanje kolonije. U prostoriji s kavezima konstantna temperaturi iznosila je 25±2°C, relativna vlažnost bila je 80±2% i fotoperiod od 14:10 (L:D). Kao izvor hrane, u kavezima se nalazila natopljena papirna vata sa 10% vodenim rastvorom šećera. Jajna legla su registrovana na dnevnom nivou. Mesta za polaganje jaja u kavezima su plastične posude dimenzija 18x12x6cm u kojima se nalazilo 150ml vode koja se pre sipanja u posudu kondicionirala na sobnoj temperaturi. Temperatura vode se kretala u rasponu od 20±2°C. Larve su hranjenje ribljom hranom TetraMin u koncentraciji od 0,25g/l do ulutkavanja. Nakon ulutkavanja lutke su prebačene u nove plastične posude sa vodom koje su stavljane u navedene metalne kaveze. Ispiljene larve/lutke odgajane su u prostoriji pod istim uslovima (temperatura vazduha 25±2°C, relativna vlažnost 80±2%) kao i odrasli komarci.

Nekoliko dana nakon pojavljivanja odraslih komaraca novim jedinkama ponuđen je krvni obrok. Ženke su hranjene ljudskom krvlju (čovjek-dobrovoljac) na način izlaganja čovekove podlakticu u periodu od 10 minuta. Na taj način ženke bi uzele dovoljnu količinu

krvnog obroka za dalje obavljanje funkcija životnog ciklusa. U velikom broju slučajeva ženke su završavale sa ishranom pre predviđenog vremena (10min) jer su u kraćem vremenskom periodu uspele da zadovolje svoje potreba za hranom (<10min). Nahranjenim ženkama bilo je potrebno pet do sedam dana kako bi preradile krvni obrok i nakon toga bile spremne za polaganje jaja.

6.2. PIRIPROKSIFEN

Tokom bioloških istraživanja korišćen je analitički standardni piriproksifen, čistoće 99.5% (Bayer) u formulaciji prašiva. Hidrofobnost aktivne materije inicirala je kreiranje osnovnog rastvora piriproksifena u acetonu koji bi omogućio aplikaciju delovanje ispitivane materije u vodenoj sredini. Osnovni (stok) rastvor masene koncentracije 0.594 mg/ml dobijen je rastvaranjem 15 mg analitičkog standarda piriproksifena u 25 ml acetona. Radni rastvor masene koncentracije 10 ± 0.1 $\mu\text{g/mL}$ dobijen je razblaživanjem stok rastvora dejonizovanom vodom. Stok i radni rastvori su čuvani u skladu sa SANCO/12571/2013 dokumentom u zamrzivaču na -10 °C, odnosno, frižideru na 5 °C. Prilikom dokazivanja teze o potencijalu horizontalnog prenosa piriproksifena u suzbijanju kućnog komarca bilo je potrebno da radni rastvor prođe kroz određene hromatografske tehnike.

Tečna hromatografija visoke efikasnosti (HPLC) je veoma pogodna za razdvajanje neisparljivih i termalno labilnih jedinjenja. Insekticidi sintetisani u skorije vreme kao i njihovi proizvodi degradacije su pogodni za HPLC razdvajanje zbog njihove srednje do izuzetno polarne prirode, termolabilnosti i slabe isparljivosti. Ova činjenica, kao i mogućnost da pokrije širok opseg fizičko-hemijskih osobina insekticida uključujući i one koji nisu pogodni za analizu gasnom hromatografijom, čine tečnu hromatografiju glavnom metodom u analizi ostataka insekticida (Vuković, 2012).

Za analizu ostataka ovako niskih koncentracija piriproksifena u vodi, najpogodniji način analize je MS/MS spektrometrija. Uzimajući u obzir veoma niske koncentracione nivoe piriproksifena kod tretiranja komaraca (0.0001 $\mu\text{g/ml}$), pogotovo njihovih larvi u vodi, a na osnovu validacionih parametara LC-MS/MS metoda postiže veoma niske LOD i LOQ u poređenju sa metodom HPLC-DAD (<0.001 $\mu\text{g/mL}$), tako da se veoma niske

koncentracije primene priroksifena ne mogu detektovati ovom metodom. Koeficijenti korelacije prave kod provere linearnosti, su veoma slični kod obe metode ($R^2 = 0.9984$ za HPLC-DAD i 0.9983 za LC-MS/MS). Principijelne prednosti LC-MS/MS u poređenju sa HPLC su bolja rezolucija, oštriji pikovi, viša rezolucija odnosa signala i šuma, te bolja konformacija ciljanog insekticida. Jedina prednost HPLC-DAD je brzina same analize sa retencionim vremenom piriproksifena od 1.37 min, čime se smanjuje „run time“.

6.3. EKSPERIMENTALNI DEO

6.3.1. Ekspozicija larvi (III i IV stupnja) i lutki delovanju piriproksifena

U eksperimentu su korišćene larve trećeg i četvrtog larvenog stupnja i lutke *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*. Larve III stupnja su najaktivnije i najintenzivnije se hrane pa je ovaj stupanj optimalan za ispitivanje efekta delovanja piriproksifena. Za razliku od larvi III stupnja, larve IV stupnja se manje hrane, ali se delovanje piriproksifena na njihov razvoj odvija preko integumenta (kontaktno) i prati kako bi se dobio kompletan uvid u delovanje piriproksifena, kao što je slučaj i kod lutki koje se ne hrane. Praćenjem nevedenih stadijuma optimalni je pokazatelji delovanja piriproksifena na celokupan razvoj komaraca.

U plastične posude zapremine 250ml odmereno je 200ml vode koja je kondicionirana pet dana pre nego je korišćena za eksperiment. U svaku posudu stavljeno je 0,01 g hrane za ribice (TetraMin) kako bi larve koje se nalaze u posudama imale optimalne uslove za rast i razvoj. U svaku posudu prebačeno je 20 larvi, koje su boravile 24 sata u posudama sa vodom i rastvorom hrane kako bi se privikle na uslove sredine. Na taj način se eliminišu neželjene pojave koje nastaju prilikom manipulacije transfera larvi. Ovakvim postupkom se sprečava potencijano negativni efekat na larve i omogućava utvrđivanje stepena delovanja piriproksifena na život lutki/larvi, a ne delovanja drugih faktora okoline, koji potencijalno mogu da utiču na mortalitet larvi/lutke.

Nakon 24 časa u posude su dodate različite koncentracije piriproksifena. Osnovni rastvor piriproksifena pripremljen je na već opisan način u poglavlju 6.2. Od osnovnog

rastvora piriproksifena ostale koncentracije dobijene su rastvaranjem u destilovanoj vodi. Ukupno je ispitivano deset različitih koncentracija piriproksifena u deset ponavljanja, koje su bile postavljene istovremeno. Koncentracije piriproksifena korišćene tokom ovog eksperimenta su: 0.0001 ppm, 0.001 ppm, 0.002 ppm, 0.007 ppm, 0.01 ppm, 0.025 ppm, 0.05 ppm, 0.075 ppm, 0.1 ppm i 1 ppm. Istovremeno je postavljeno deset navedenih koncentracija u deset ponavljanja gde se u svakoj posudi nalazilo 20 larvi komaraca, postavljeno je 10 kontrolnih posude sa 20 larvi komaraca u 4 ponavljanja, u kojima larve nisu bile eksponirane dejstvu piriproksifena, a koje su postavljene istovremeno kao i navedene koncentracije i ponavljanja.

Nakon 24 časa od eksponiranja larvi različitim koncentracijama piriproksifena, kontrolisano je stanje larvi i lutki. Očekivane promene su bile presvlačenje u naredni larveni stupanj/stadijum lutke ili uginuće eksponiranih larvi/lutki. Svakodnevno su se registrovale i uklanjale uginule larve/lutke. Dužina trajanja eksperimenta bila je opredeljena mortalitetom svih ispitivanih jedinki ili eventualnom pojavom odraslih jedinki

6.3.2. Efekat piriproksifena na jaja

Pažljivim odabirom jajnih legala dobijenih iz kolonije (poglavlje 6.1.) određivao se efekat delovanja različitih koncentracija piriproksifena na jaja. Reprezentativna jajna legla (oko 30-60 jaja po jednom leglu) pažljivo su prebačena u plastične posude sa 200 ml kondicionirane vode i različitim koncentracijama piriproksifena.

Koncentracije piriproksifena korišćene tokom ovog eksperimenta su bile, kao i kod utvrđivanja delovanja na larve/lutke: 0.0001 ppm, 0.001 ppm, 0.002 ppm, 0.007 ppm, 0.01 ppm, 0.025 ppm, 0.05 ppm, 0.075 ppm, 0.1 ppm i 1 ppm. Navedene koncentracije ispitivale su se kroz četiri ponavljanja za istu koncentraciju piriproksifena i postavljene su istovremeno, kao i četiri posude s jajnim leglima, koje su služile kao kontrolni uzorci, jer se u njihovom vodenom mediju nije nalazio piriproksifen. Ovako postavljen eksperiment ponovljen je tri puta, iz razloga jer nismo bili u mogućnosti osigurati dovoljan broj jajnih legala u istom vremenskom periodu.

Posmatranje eksponiranih jajnih legala obavljeno je u periodu od tri dana. Nakon trećeg dana jajna legla su prebačena na filter hartiju, a zatim je pod binokularnom lupom utvrđen tačan broj eklodiranih, odnosno neekoldiranih jaja u svakom jajnom leglu.

6.3.3. Horizontalni transfer piriproksifena

a. Transfer piriproksifena sa vlažne podloge

U kavez (30x30x30 cm) je uneta 1 odrasla ženka *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, koja se nije uznemiravala 24 sata i nije prethodno bila nahranjena krvlju. Izvor hrane je bio 10% rastvor šećera. Nakon isteka navedenog perioda ženka je prebačena u WHO kaveze.

WHO kavezi koriste se tokom istraživanja biološke efikasnosti insekticida (WHO, 1993). Kavez se sastoji od metalnog žičanog cilindra dužine 20 cm i širine 5 cm. Na gornji deo žičanog cilindra postavlja se plastični cilindar dužine 13 cm i širine 5 cm koji služi za prebacivanje i čuvanje komaraca nakon ekspozicije insekticidu odnosno, sklanjanja jedinki iz kontaminiranog područja.

U WHO kavezu nalazila se vlažna filter hartija natopljena rastvorom piriproksifena u koncentraciji od 1 ppm. Ženka je u WHO kavezu provela 10 minuta na vlažnoj filter hartiji, a zatim je prebačena u kavez (30x30x30 cm) u kojem se nalazila posuda sa 100 ml čiste vode (koja je služila kao potencijalno mesto za polaganje jaja i transfer piriproksifena) i posuda sa 10% rastvorom šećera (hrana). Nakon toga, očekivala se ovipozicija i transfer piriproksifena na vodenu površinu navedene zapremine. Kada je ženka položila jajno leglo, jaja iz legla su registrovana uz pomoć binokularne lupe i uzet je uzorak vode, koji je dalje obrađen pomoću HPLC-DAD metode, kako bi se utvrdilo prisustvo piriproksifena. Po istom principu, eksperiment je ponovljen sa 50 ženki pojedinačno za svaku, kako bi se što tačnije mogla odrediti koncentracija prenesenog piriproksifena sa vlažne podloge u horizontalnom transferu.

b. Transfer piriproksifena sa suve podloge

U kavez (30x30x30 cm) je uneta 1 odrasla ženka *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, koja se nije uznemiravala 24 sata i nije prethodno bila nahranjena krvlju. Izvor hrane je bio 10% rastvor šećera. Nakon isteka navedenog perioda ženka je prebačena u WHO kaveze.

U WHO kavezu nalazila se suva filter hartija natopljena rastvorom piriproksifena u koncentraciji od 1 ppm. Filter hartija je pre postavljana u WHO kavez, natopljena rastvorom piriproksifena određene koncentracije te ostavljena da se suši na sobnoj temperaturi 24 časa. Osušena filter hartija postavlja se u WHO kavez, nakon čega se u njega prebacuje ženka. Ženka je u WHO kavezu provela 10 minuta, a zatim je prebačena u kavez (30x30x30 cm) u kojem se nalazila posuda sa 100 ml čiste vode (koja je služila kao potencijalno mesto za polaganje jaja i transfer piriproksifena) i posuda sa 10% rastvorom šećera (hrana). Nakon toga, očekivala se ovipozicija i transfer piriproksifena na ponuđenu vodenu površinu u posudi. Kada je ženka položila jajno leglo, jaja iz legla su prebrojana uz pomoć binokularne lupe i uzet je uzorak vode, koji je dalje obrađen pomoću HPLC-DAD metode, kako bi se utvrdilo prisustvo piriproksifena. Po istom principu, eksperiment je ponovljen sa 50 ženki pojedinačno za svaku, kako bi se što tačnije mogla odrediti koncentracija prenesenog piriproksifena sa suve podloge u horizontalnom transferu.

6.3.4. Efekat piriproksifena na plodnost i fekunditet odraslih ženki

Jaja dobijena iz eksperimenta opisanog u poglavlju 6.3.3. u kojima su se koristile odrasle ženke kao potencijalni prenosioci piriproksifena na mesta razvoja larvi, upotrebljena su tokom ovog istraživanja radi utvrđivanja efekta piriproksifena na plodnost i fekunditet odraslih ženki.

Vremenski period utvrđivanja efekta piriproksifena određen je praćenjem eklozije jaja, registrovanjem ispiljenih larvi, utvrđivanjem brojnosti larvi i praćenjem njihovog razvoja sve do ulutkavanja ili mogućeg mortaliteta. Posude sa jajnim leglima, u kojima nakon tri dana nije bilo ispilelih larvi dalje se nisu analizirale.

6.4. OBRADA PODATAKA

KOREKCIJA MORTALITETA PO ABOTOVOJ FORMULI

Abotova formula (1925) koristi se prilikom korekcije mortaliteta u ispitivanim i kontrolnim uzorcima kako bi utvrdilo nepostojanje dodatnog delovanja nekog faktora na ispitivanu vrstu, osim delovanja aplicirane aktivne materije za koju se u toku eksperimenta utvrđivala biološka efikasnost. Prilikom ispitivanja biološke efikasnosti piriproksifena dobijena stopa mortaliteta u kontrolnim uzorcima iznosila je 3.75%, ali zbog eliminacije nekontrolisanih faktora u kontrolnim i ispitivanim uzorcima urađena je korekcija mortaliteta po abotovoj formuli:

$$\text{korekcija mortaliteta} = \left(1 - \frac{(Na \times Nb)}{(Nc \times Nd)}\right) \times 100$$

Gde je: *Na*- ukupan broja komaraca u kontrolnom uzorku; *Nb*-broj komaraca u uzorku nakon tretmana; *Nc*- broj komaraca u kontrolnom uzorku nakon tretmana; *Nd*- ukupan broj komaraca u ispitivanom uzorku pre tretmana

STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Dobijeni eksperimentalni rezultati zahtevali su potvrdu kroz različite statističke metode. Kao najadekvatnije i najpreciznije za potvrdu efikasnosti i horizontalnog transfera piriproksifena pokazale su se metode deskriptivne i inferencijalne statistike. Za anлізу i sagledavanje osnovnih karakteristika posmatranih pojava izračunati su različiti deskriptivni statistički pokazatelji (aritmetička sredina, medijan, minimalna i maksimalna vrednost, raspon varijacije, donji i gornji kvartil, interkvartil, standardna devijacija i koeficijent varijacije). Takođe je napravljena analiza frekvencija unutar koje su pored apsolutnih frekvencija determinisani relativni brojevi strukture, kao i njihove kumulativne vrednosti. Analizirane varijable su u radu prikazane stubastim i linijskim grafikonima a zbog upečatljivije prezentacije, sa ciljem vizualizacije, konstruisani su i grafikoni koji kombinuju te dve vrste prikaza. Za identifikaciju mogućih netipičnih i ekstremnih vrednosti korišćeni su Box and Whisker Plot dijagrami kojima je bilo moguće sagledati delovanje piriproksifena

preko kretanja broja uginulih larvi po danima preko dodatih pripadajućih eksponencijalnih funkcija temeljenih na vrednostima medijana.

Podaci o broju uginulih larvi komaraca tokom perioda sprovođenja eksperimenta izraženi su u analizi pomoću funkcije eksponencijalnog rasta/pada. Za svaku od analiziranih koncentracija piriproksifena utvrđena je jednačina modela te su izračunati koeficijenti determinacije i korelacije. Osim toga, za svaki model navedene su opažene, predviđene i rezidualne vrednosti. Podaci o broju uginulih larvi s obzirom na različite koncentracije piriproksifena prikazani su linijskim grafikonima sa pripadajućim funkcijama eksponencijalnog rasta/pada. Kako bi se ispitaio efekat piriproksifena na larve komaraca sprovedena je logaritamska regresijska analiza unutar koje su determinisane tablice analize varijance (ANOVA) s empirijskim F -odnosima i pripadajućim nivoima signifikantnosti. U tom su delu analize izračunati osnovni pokazatelji regresijskog modela, kao i procenti varijacija protumačeni modelom te koeficijenti korelacija. I u okviru logaritamske regresijske analize navedene su opažene, predviđene i rezidualne vrednosti. Broj uginulih larvi komaraca u zavisnosti od koncentracije piriproksifena prikazan je dijagramima rasipanja sa pripadajućim logaritamskim funkcijama. Na isti način je prikazan efekat piriproksifena na jaja izražen linearnom funkcijom.

U okviru inferencijalne statističke analize determinisani su intervali procena aritmetičkih sredina. Uzimajući u obzir zadovoljenje pretpostavki testiranja, sa ciljem ispitivanja statističkih značajnih razlika u analizi su korišćeni odgovarajući parametarski i neparametarski testovi. Za ispitivanje razlika u broju uginulih larvi komaraca s obzirom na koncentraciju piriproksifena primenjen je neparametarski Kruskal-Wallisov test te su napravljene višestruka poređenja prosečnih rangova. Da bi se proverilo, da li je efekat piriproksifena na broj uginulih larvi u odnosu na kontrolne uzorke statistički značajan upotrebljen je neparametarski Mann-Whitneyev test. Sa ciljem ispitivanja međusobne zavisnosti dva elementa osnovnog skupa korišćen je hi-kvadrat test. U analizi su takođe primenjeni t -test te su testirane hipoteze o jednakosti proporcija dvaju osnovnih skupova. Statistička značajnost je postavljena na nivou $p < 0.05$.

Podaci su obrađeni pomoću statističkih paketa *SPSS* i *Statistica*. Osim statističkog paketa *Statistica*, u izradi grafičkih prikaza korišćena je aplikacija *Microsoft Excel 2010*.

7. REZULTATI

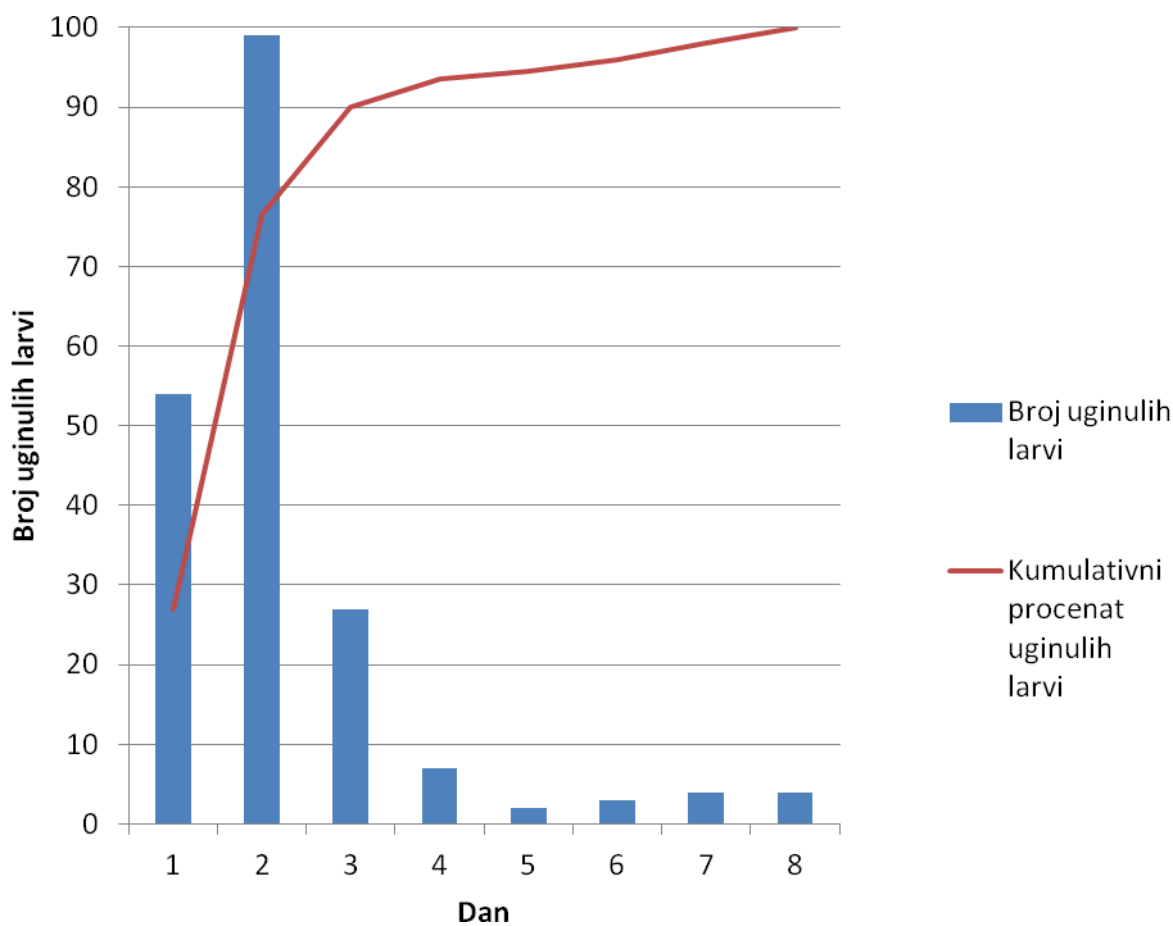
7.1. EFEKAT PIRIPROKSIFENA NA DINAMIKU UGINJAVANJA LARVI

U toku ovog eksperimenta ukupno je ispitivano deset različitih koncentracija piriproksifena u deset ponavljanja, koje su bile postavljene istovremeno. Koncentracije piriproksifena korišćene tokom ovog eksperimenta su: 0.0001 ppm, 0.001 ppm, 0.002 ppm, 0.007 ppm, 0.01 ppm, 0.025 ppm, 0.05 ppm, 0.075 ppm, 0.1 ppm i 1 ppm. Istovremeno je postavljeno deset navedenih koncentracija u deset ponavljanja, gde se u svakoj posudi nalazilo 20 larvi komaraca, postavljeno je 10 kontrolnih posude sa 20 larvi komaraca u 4 ponavljanja, u kojima larve nisu bile eksponirane dejstvu piriproksifena, a koje su postavljene istovremeno kao i navedene koncentracije i ponavljanja. Nakon 24 časa od eksponiranja larvi različitim koncentracijama piriproksifena, kontrolisano je stanje larvi i lutki.

Analiza efekata PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 0.0001 ppm

Tabela 1. Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.0001 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	3	14	0	1	0	0	0	2	20
II	5	5	4	2	0	2	1	1	20
III	5	10	4	0	0	0	1	-	20
IV	4	12	2	1	0	0	0	1	20
V	6	9	4	0	0	0	1	-	20
VI	6	13	1	-	-	-	-	-	20
VII	8	9	3	-	-	-	-	-	20
VIII	8	10	2	-	-	-	-	-	20
IX	4	8	4	1	1	1	1	-	20
X	5	9	3	2	1	0	-	-	20
Ukupno	54	99	27	7	2	3	4	4	200



Slika 7. Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.0001 ppm)

Tabela 2. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.0001 ppm)

Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	25.00
Medijan	5.50
Minimalna vrednost	2.00
Maksimalna vrednost	99.00
Standardna devijacija	34.93

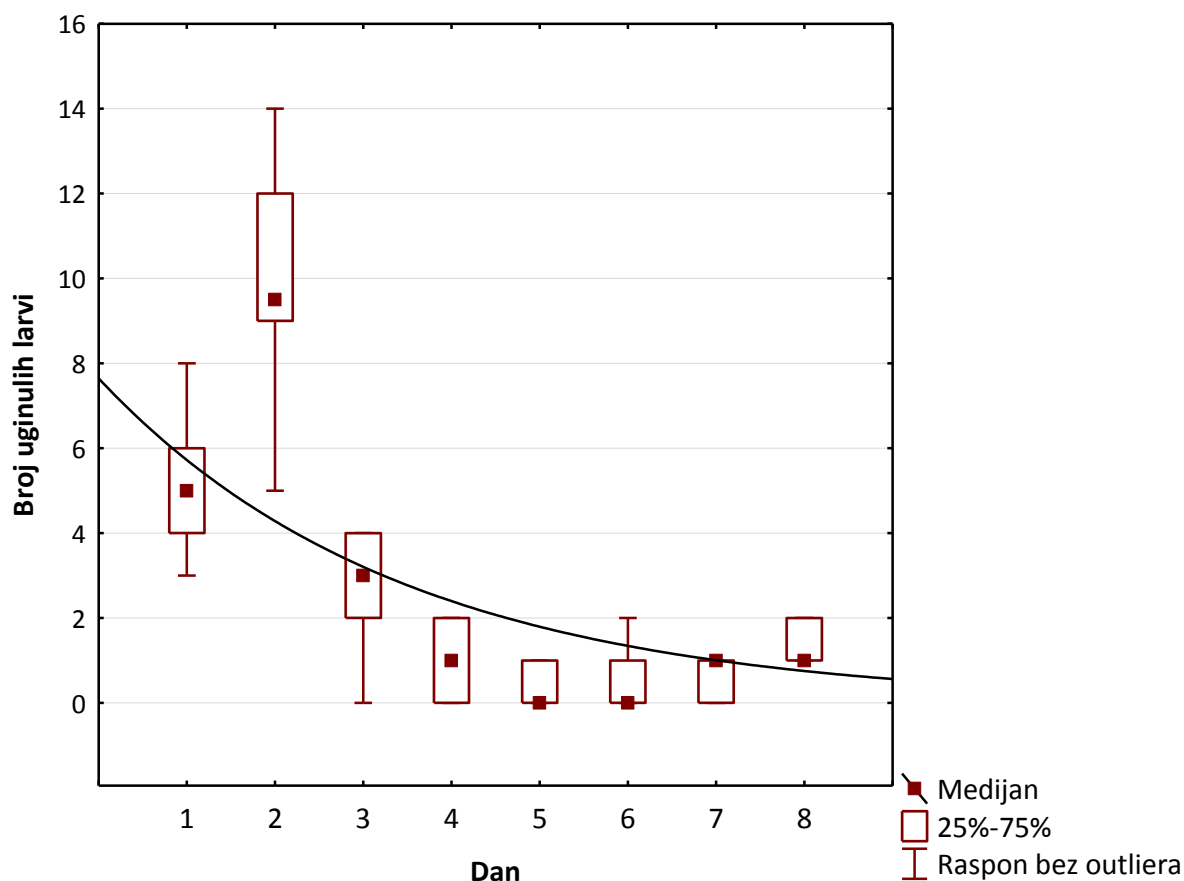
Tokom svih osam dana prosečno dnevno je uginulo 25 larvi komaraca, sa standardnom devijacijom 34.93. Prema medijanu, tokom prve polovine dana uginulo je 5.5 larvi ili manje, a tokom druge polovine 5.5 larvi ili više. U jednom danu najmanje je uginulo 2, a najviše 99 komaraca.

Tabela 3. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.0001 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	5.40	5.00	3.00	8.00	1.65
2	9.90	9.50	5.00	14.00	2.60
3	2.70	3.00	0.00	4.00	1.42
4	1.00	1.00	0.00	2.00	0.82
5	0.29	0.00	0.00	1.00	0.49
6	0.43	0.00	0.00	2.00	0.79
7	0.67	1.00	0.00	1.00	0.52
8	1.33	1.00	1.00	2.00	0.58

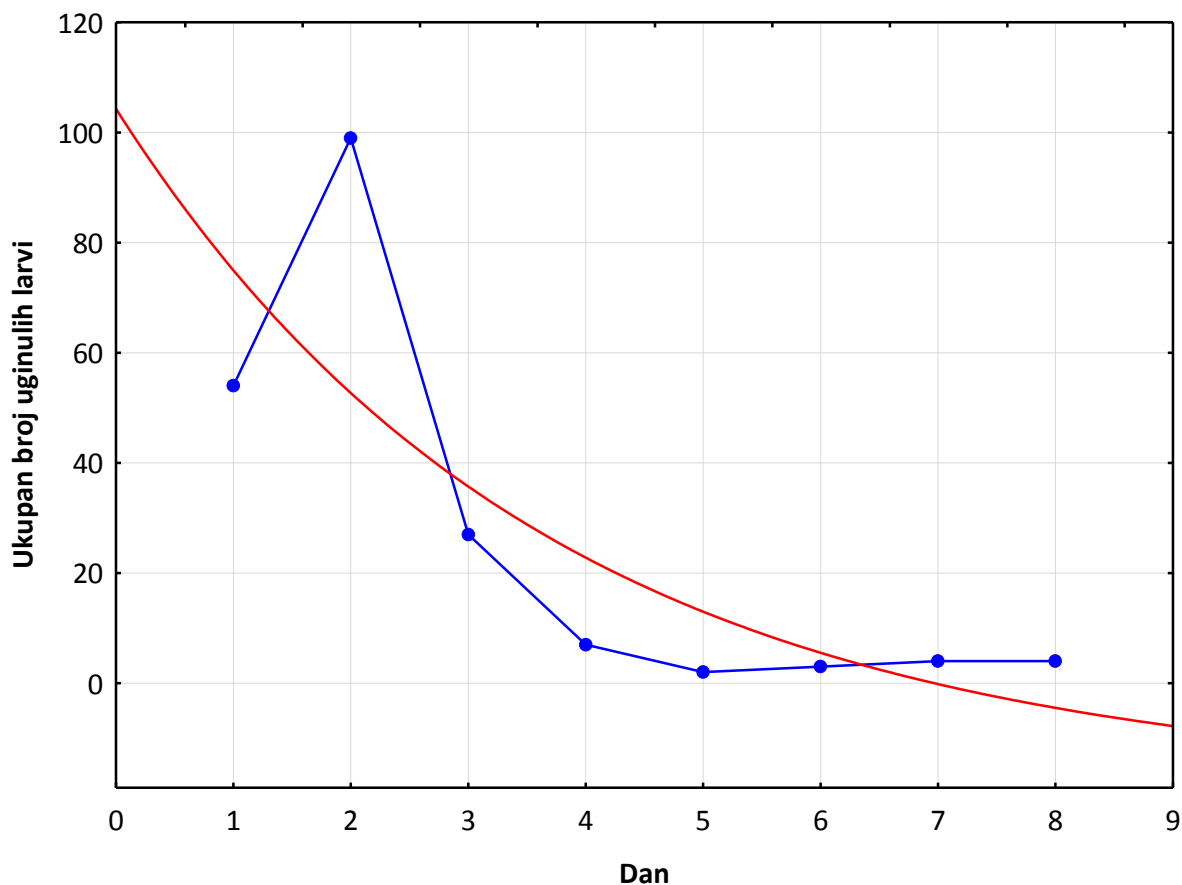
I na osnovu izračunatih srednjih vrednosti može se zaključiti da je najviše larvi komaraca uginulo tokom drugog dana, da bi se zatim broj uginulih larvi smanjivao. Naime, tokom drugog dana je u svim uzorcima zajedno bilo prosečno uginulo 9.9 larvi. Prema medijanu, u polovini uzoraka je uginulo 9.5 larvi ili manje, a u preostalih 50% je uginulo 9.5 larvi ili više. Tokom drugog dana je u jednom od uzoraka najmanje uginulo 5, a najviše 14 larvi. Prema standardnoj devijaciji, prosečno odstupanja broja uginulih larvi od njihovog prosečnog broja iznosi 2.6.

Slika 8 prikazuje Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena pri koncentraciji od 0.0001 ppm s pripadajućom eksponencijalnom funkcijom izračunatom na osnovu medijalnih vrednosti. Ni u jednom od osam promatranih dana nije zabeležena netipična ili ekstremna vrednost.



Slika 8. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.0001 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom

Sve su vrednosti broja uginulih larvi usled delovanja piriproksifena pri koncentraciji od 0.0001 ppm pozitivne. No, za pojedine koncentracije piriproksifena tokom određenih dana nije zabeležena ni jedna uginula larva, odnosno sve vrednosti nisu pozitivne. Zbog toga, s obzirom na karakter pojave i potrebe poređenja rezultata, podaci o broju uginulih larvi komaraca u ovoj su analizi izraženi pomoću funkcije eksponencijalnog pada oblika $y = c + e^{(b_0 + b_1 t)}$, gde t predstavlja vreme (dane). Funkcija je izračunata na temelju podataka o ukupnom broju uginulih larvi komaraca tokom svakog od osam dana sprovođenja eksperimenta.



Slika 9. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.0001 ppm) sa funkcijom eksponencijalnog pada

Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

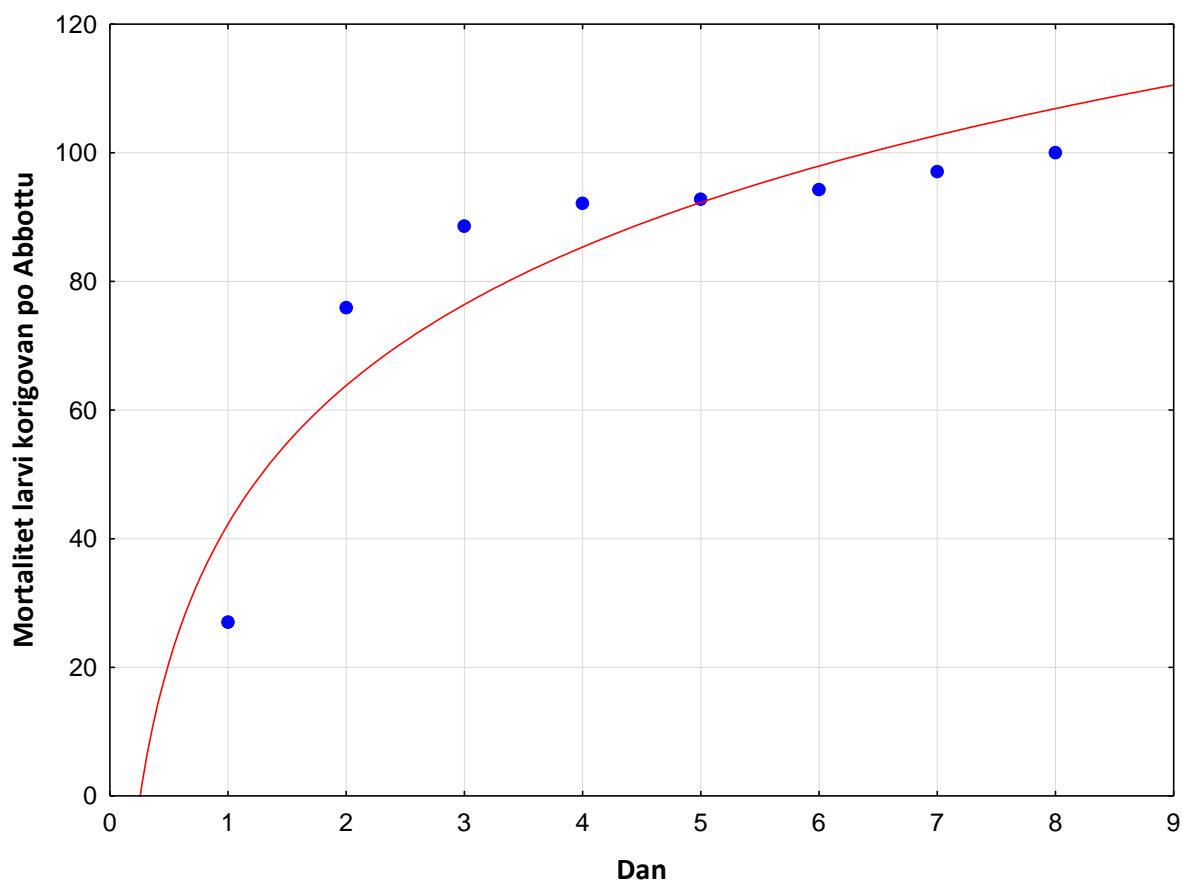
$$y = -18.235 + e^{(4.808 - 0.274t)}$$

Modelom je objašnjeno 63.37% varijacija u broju uginulih larvi komaraca, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.796.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 4. Korigovani broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.0001 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	15,00	84,62	82,86	87,88	86,89	85,71	85,19	100,00
II	25,00	48,72	65,71	75,76	73,77	85,71	92,59	100,00
III	25,00	74,36	94,29	93,94	93,44	92,86	100,00	100,00
IV	20,00	79,49	88,57	93,94	93,44	92,86	92,59	100,00
V	30,00	74,36	94,29	93,94	93,44	92,86	100,00	100,00
VI	30,00	94,87	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VII	40,00	84,62	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VIII	40,00	89,74	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IX	20,00	58,97	77,14	81,82	86,89	92,86	100,00	100,00
X	25,00	69,23	82,86	93,94	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	27,00	75,90	88,57	92,12	92,79	94,29	97,04	100,00



Slika 10. Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.0001 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Jednačina modela glasi:

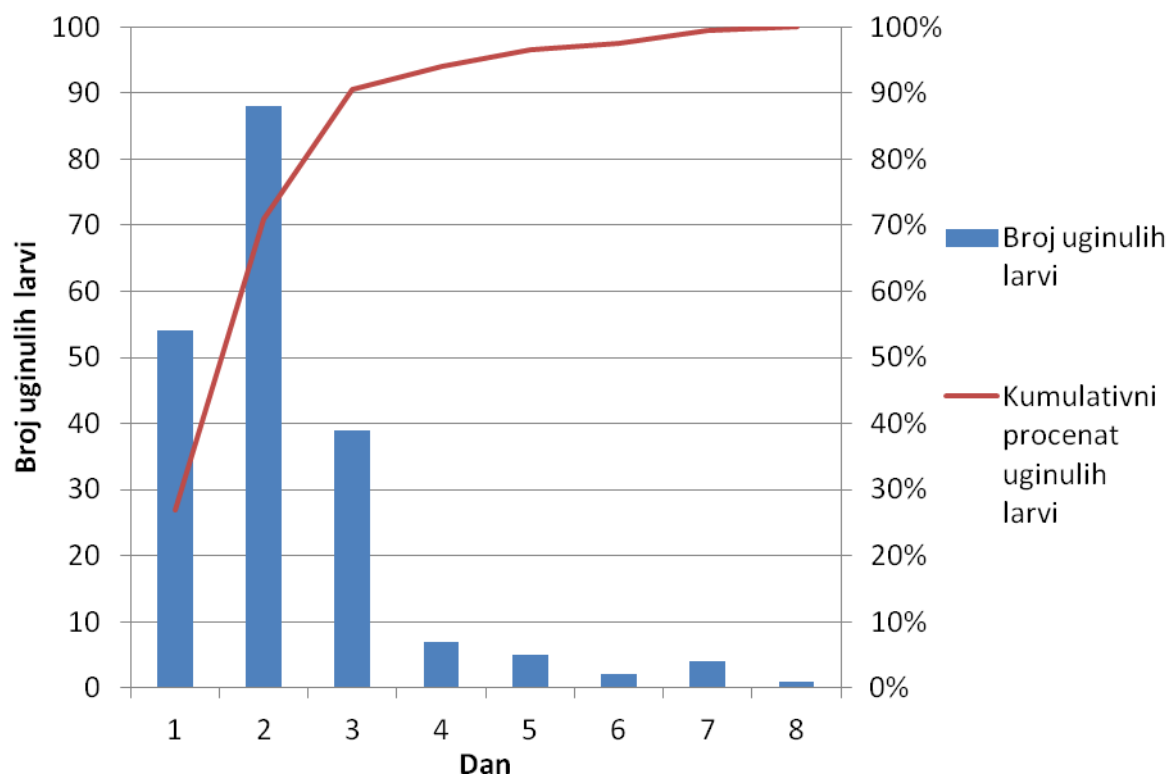
$$y = 42.288 + 31.062 \ln(x)$$

Modelom je objašnjeno 83.4% varijacija, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.913.

Analiza efekata PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 0.001 ppm

Tabela 5. Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.001 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	3	13	2	2	-	-	-	-	20
II	3	11	5	0	0	0	1	-	20
III	4	12	3	1	-	-	-	-	20
IV	7	7	2	1	1	1	1	-	20
V	8	7	2	0	1	0	1	1	20
VI	6	3	9	1	0	0	1	-	20
VII	6	9	4	0	1	-	-	-	20
VIII	6	9	5	-	-	-	-	-	20
IX	5	8	4	1	1	1	-	-	20
X	6	9	3	1	1	-	-	-	20
Ukupno	54	88	39	7	5	2	4	1	200



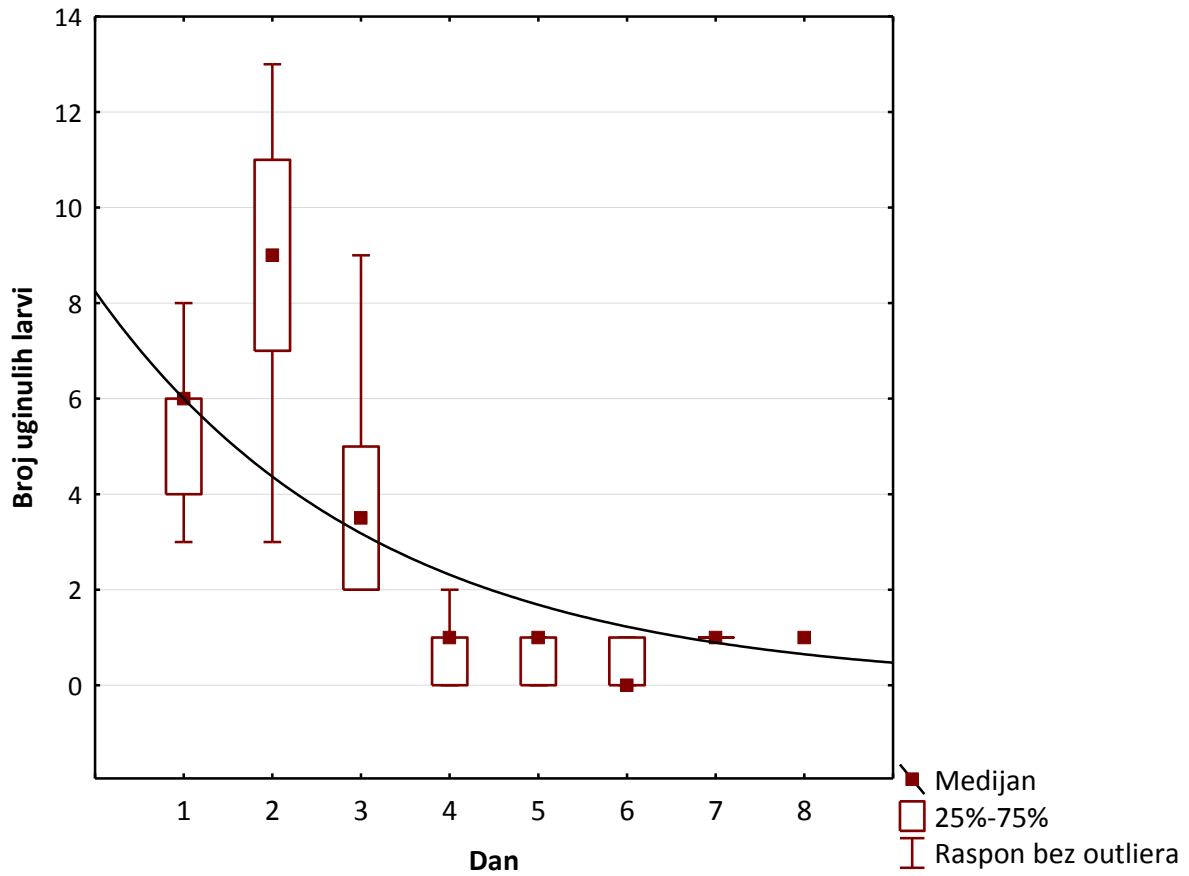
Slika 11. Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.001 ppm)

Tabela 6. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.001 ppm)

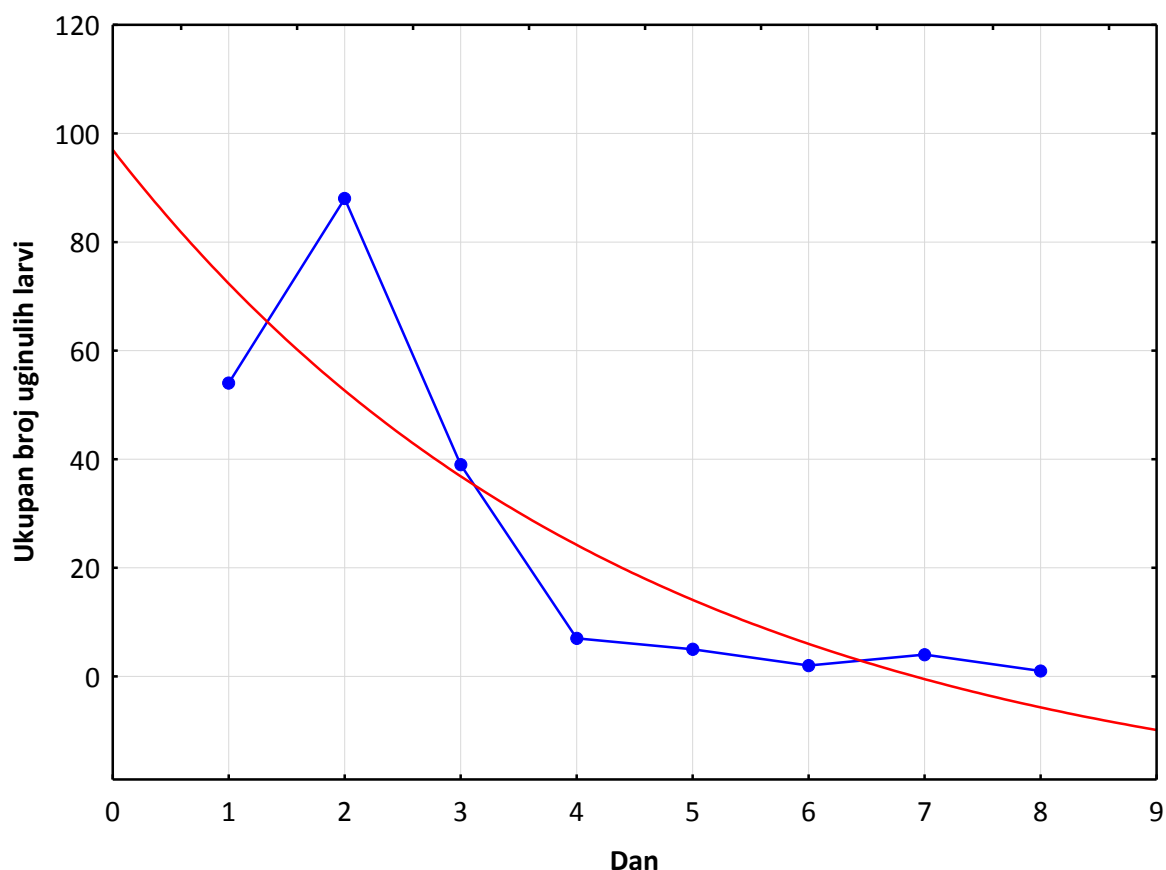
Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	25.00
Medijan	6.00
Minimalna vrednost	1.00
Maksimalna vrednost	88.00
Standardna devijacija	32.24

Tabela 7. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.001 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	5.40	6.00	3.00	8.00	1.65
2	8.80	9.00	3.00	13.00	2.86
3	3.90	3.50	2.00	9.00	2.13
4	0.78	1.00	0.00	2.00	0.67
5	0.71	1.00	0.00	1.00	0.49
6	0.40	0.00	0.00	1.00	0.55
7	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
8	1.00	1.00	1.00	1.00	-



Slika 12. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.001 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom



Slika 13. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.001 ppm) sa funkcijom eksponencijalnog pada

Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

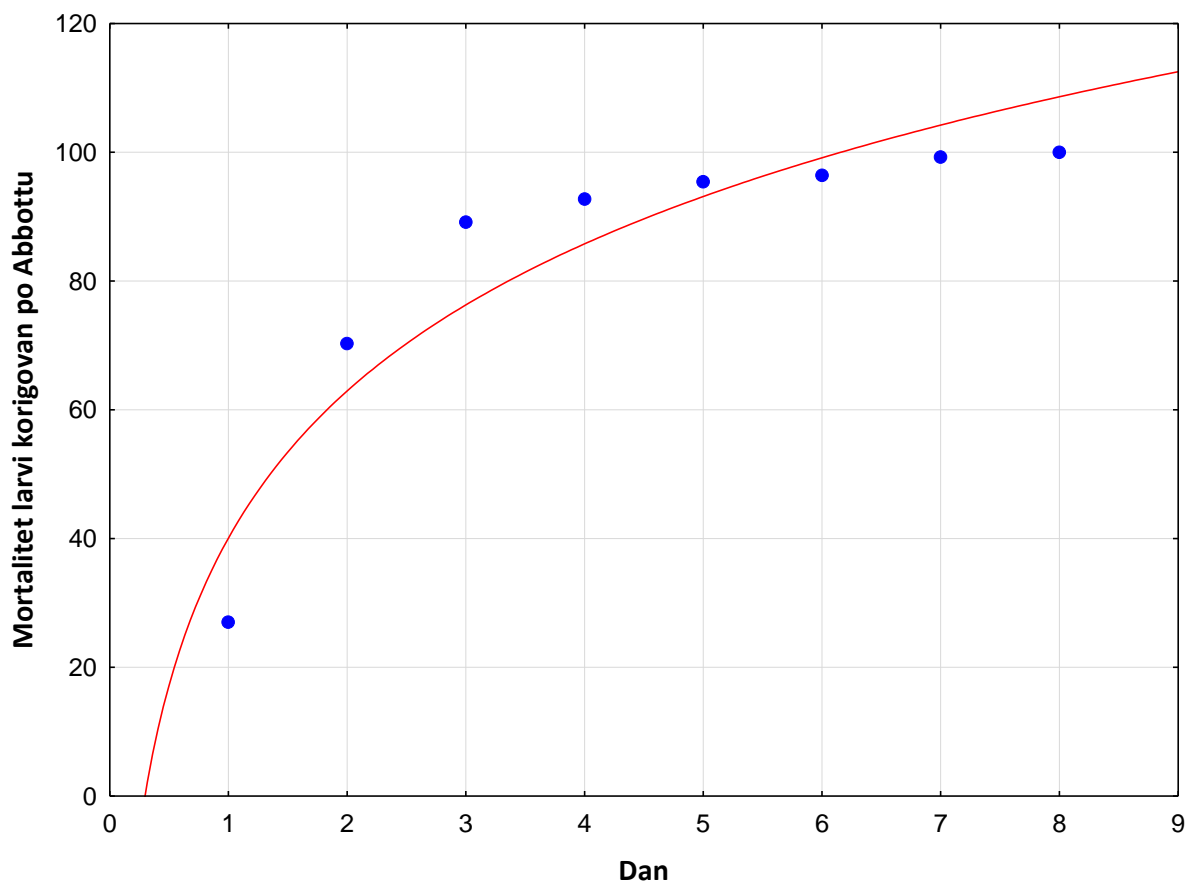
$$y = -26.633 + e^{(4.817 - 0.222t)}$$

Modelom je objašnjeno 71.8% varijacija u broju uginulih larvi komaraca, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.847.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 8. Korigovani broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.001 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	15,00	79,49	88,57	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
II	15,00	69,23	94,29	93,94	93,44	92,86	100,00	100,00
III	20,00	79,49	94,29	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IV	35,00	69,23	77,14	81,82	86,89	92,86	100,00	100,00
V	40,00	74,36	82,86	81,82	86,89	85,71	92,59	100,00
VI	30,00	43,59	88,57	93,94	93,44	92,86	100,00	100,00
VII	30,00	74,36	94,29	93,94	100,00	100,00	100,00	100,00
VIII	30,00	74,36	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IX	25,00	64,10	82,86	87,88	93,44	100,00	100,00	100,00
X	30,00	74,36	88,57	93,94	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	27,00	70,26	89,14	92,73	95,41	96,43	99,26	100,00



Slika 14. Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriprosifena (0.001 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Jednačina modela glasi:

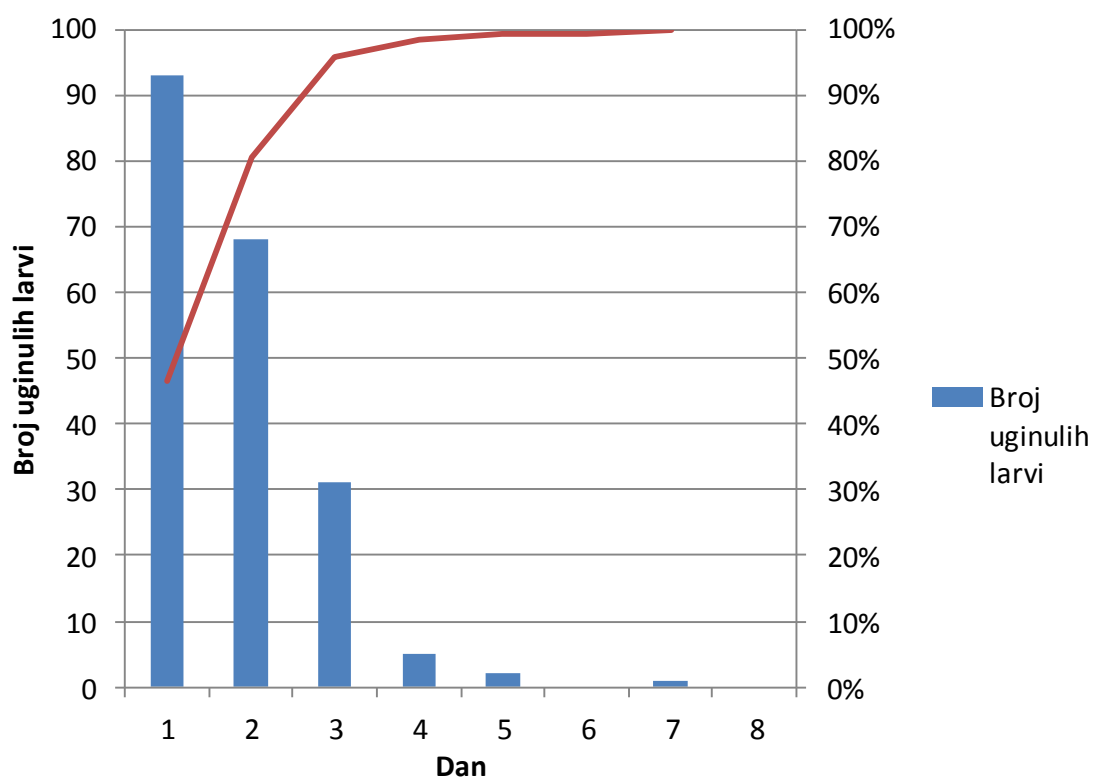
$$y = 40.079 + 32.966 \ln(x)$$

Modelom je objašnjeno 87.25% varijacija, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.934.

Analiza efekata PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 0.002 ppm

Tabela 9. Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.002 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	15	4	1	-	-	-	-	-	20
II	9	7	1	2	0	0	1	-	20
III	8	10	2	-	-	-	-	-	20
IV	10	6	3	0	1	-	-	-	20
V	7	9	4	-	-	-	-	-	20
VI	9	6	4	1	-	-	-	-	20
VII	9	7	4	-	-	-	-	-	20
VIII	9	4	6	1	-	-	-	-	20
IX	9	7	2	1	1	-	-	-	20
X	8	8	4	-	-	-	-	-	20
Ukupno	93	68	31	5	2	0	1	-	200



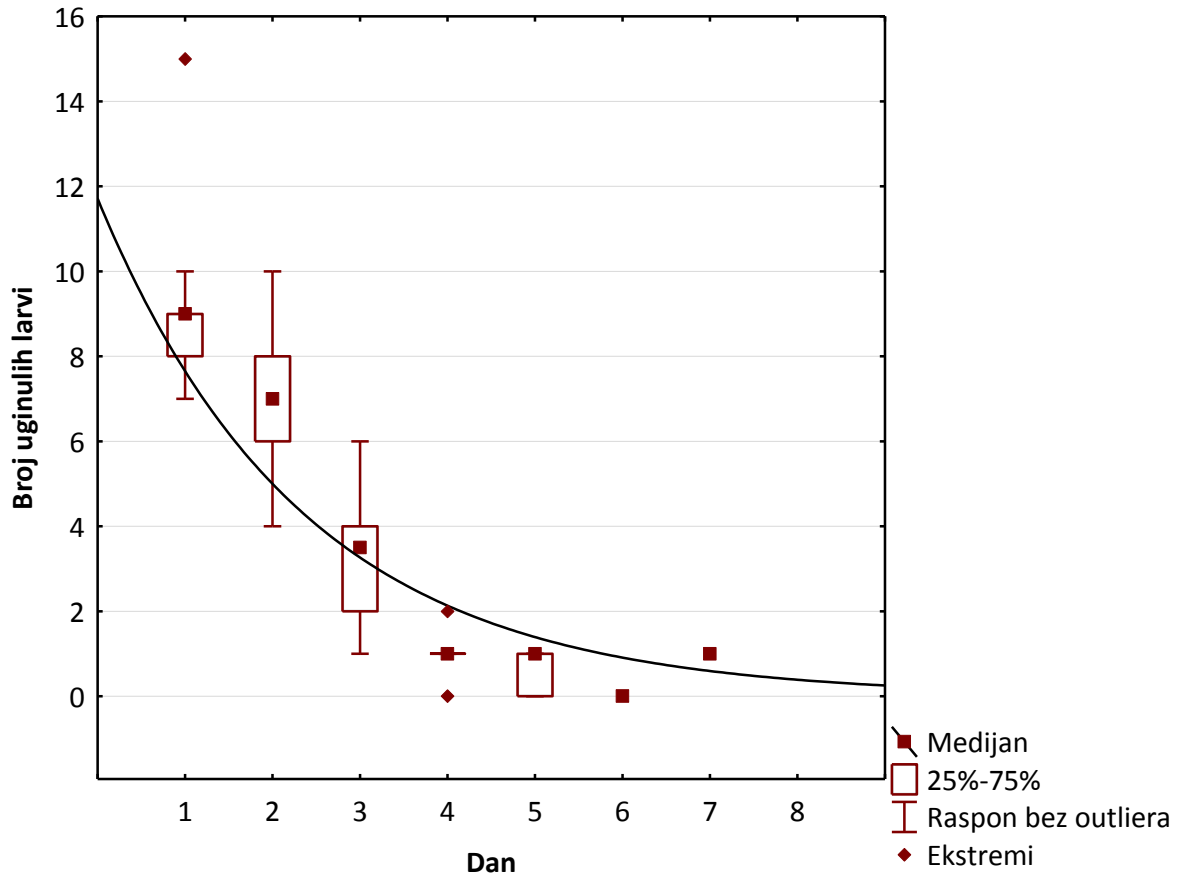
Slika 15. Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.002 ppm)

Tabela 10. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.002 ppm)

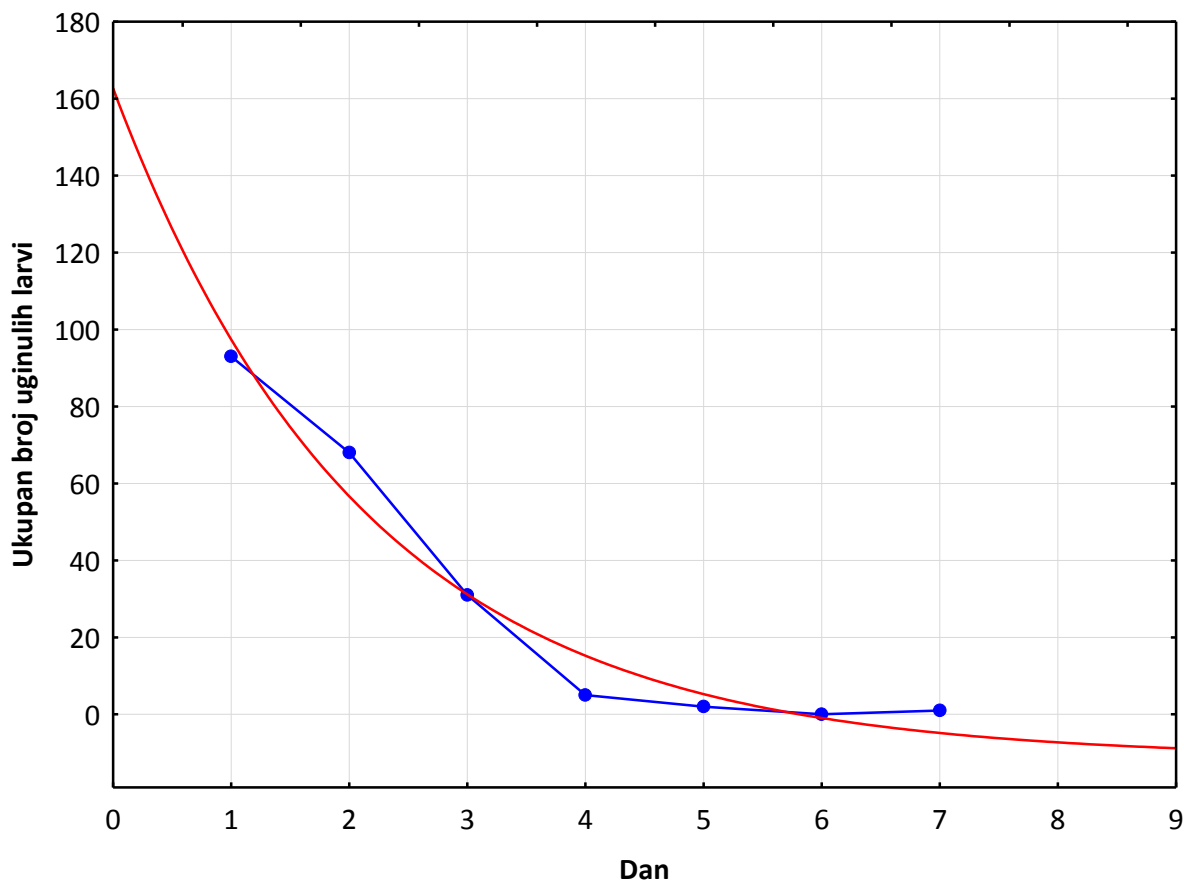
Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	28.57
Medijan	5.00
Minimalna vrednost	0.00
Maksimalna vrednost	93.00
Standardna devijacija	37.75

Tabela 11. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.002 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	9,30	9,00	7,00	15,00	2,16
2	6,80	7,00	4,00	10,00	1,93
3	3,10	3,50	1,00	6,00	1,60
4	1,00	1,00	0,00	2,00	0,71
5	0,67	1,00	0,00	1,00	0,58
6	0,00	0,00	0,00	0,00	-
7	1,00	1,00	1,00	1,00	-
8	-	-	-	-	-



Slika 16. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.002 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom



Slika 17. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.002 ppm) sa funkcijom eksponencijalnog pada

Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

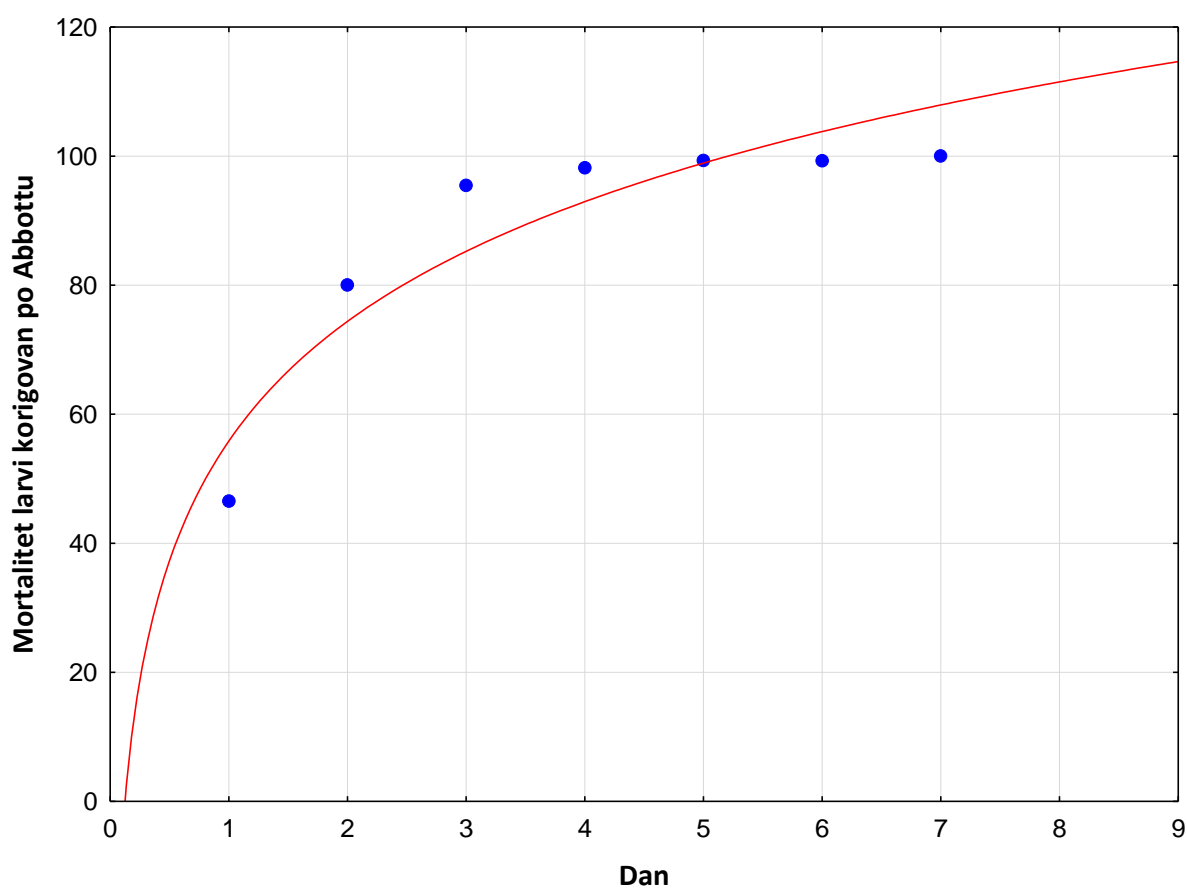
$$y = -11.34 + e^{(5.159 - 0.47t)}$$

Modelom je objašnjeno 96.5% varijacija u broju uginulih larvi komaraca, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.982.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 12. Korigovani broj uginulih larvi komaraca usled delovanja piriproksifena (0.002 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	75,00	94,87	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
II	45,00	79,49	82,86	93,94	93,44	92,86	100,00	100,00
III	40,00	89,74	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IV	50,00	79,49	94,29	93,94	100,00	100,00	100,00	100,00
V	35,00	79,49	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VI	45,00	74,36	94,29	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VII	45,00	79,49	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VIII	45,00	64,10	94,29	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IX	45,00	79,49	88,57	93,94	100,00	100,00	100,00	100,00
X	40,00	79,49	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	46,50	80,00	95,43	98,18	99,34	99,29	100,00	100,00



Slika 18. Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.002 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Jednačina modela glasi:

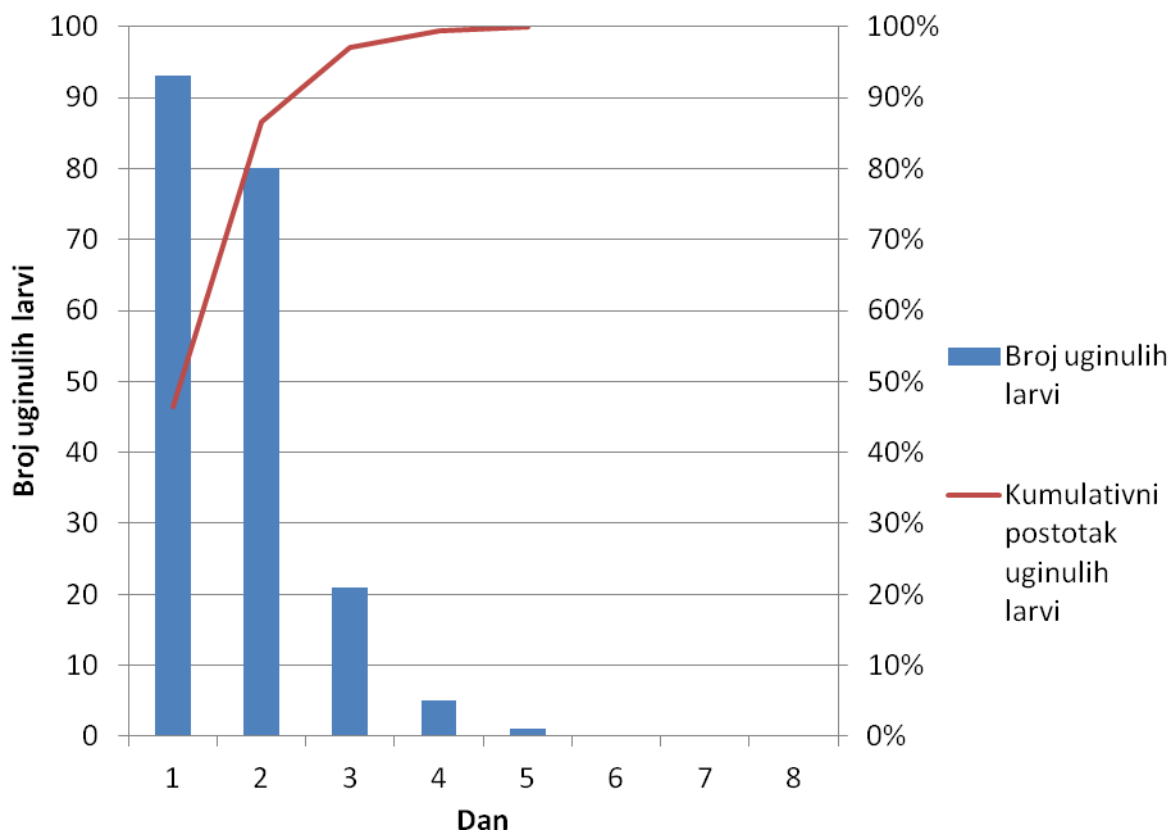
$$y = 55.833 + 26.773 \ln(x)$$

Modelom je objašnjeno 85.79% varijacija, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.926.

Analiza efekata PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 0.007 ppm

Tabela 13. Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.007 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	11	9	-	-	-	-	-	-	20
II	12	6	1	1	-	-	-	-	20
III	11	6	2	1	-	-	-	-	20
IV	5	11	4	-	-	-	-	-	20
V	9	8	3	-	-	-	-	-	20
VI	10	7	2	1	-	-	-	-	20
VII	9	8	3	-	-	-	-	-	20
VIII	9	10	1	-	-	-	-	-	20
IX	7	8	3	1	1	-	-	-	20
X	10	7	2	1	-	-	-	-	20
Ukupno	93	80	21	5	1	-	-	-	200



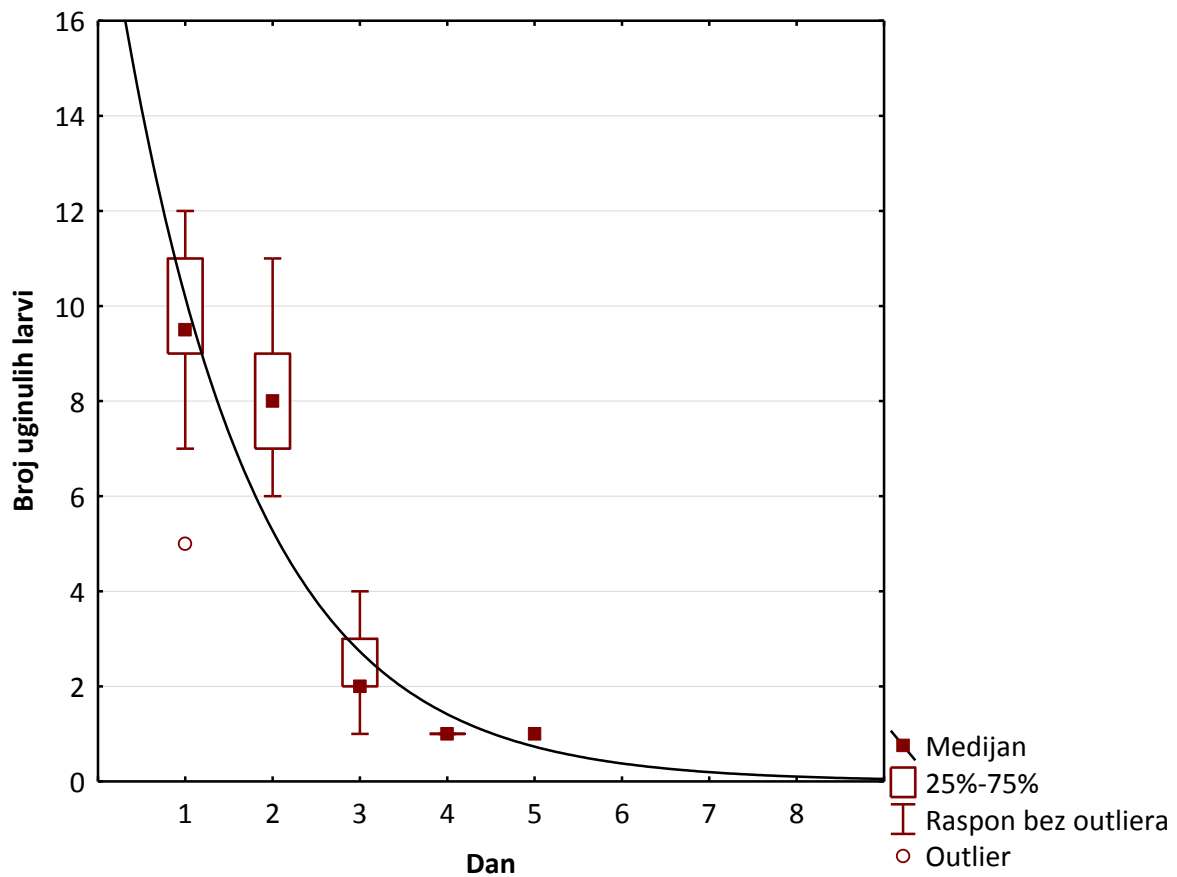
Slika 19. Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.007 ppm)

Tabela 14. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.007 ppm)

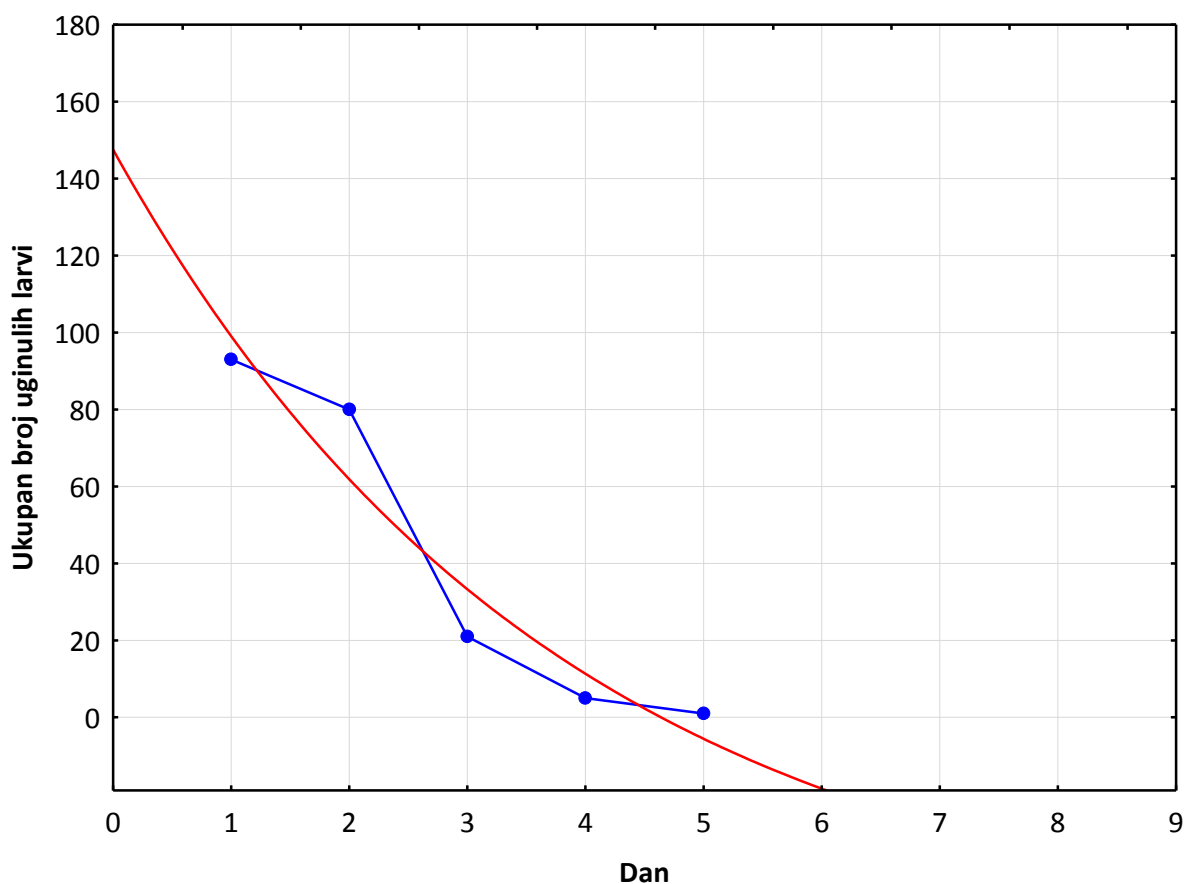
Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	40.00
Medijan	21.00
Minimalna vrednost	1.00
Maksimalna vrednost	93.00
Standardna devijacija	43.35

Tabela 15. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.007 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	9.30	9.50	5.00	12.00	2.06
2	8.00	8.00	6.00	11.00	1.63
3	2.33	2.00	1.00	4.00	1.00
4	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
5	1.00	1.00	1.00	1.00	-
6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-



Slika 20. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.007 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom



Slika 21. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.007 ppm) sa funkcijom eksponencijalnog pada

Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

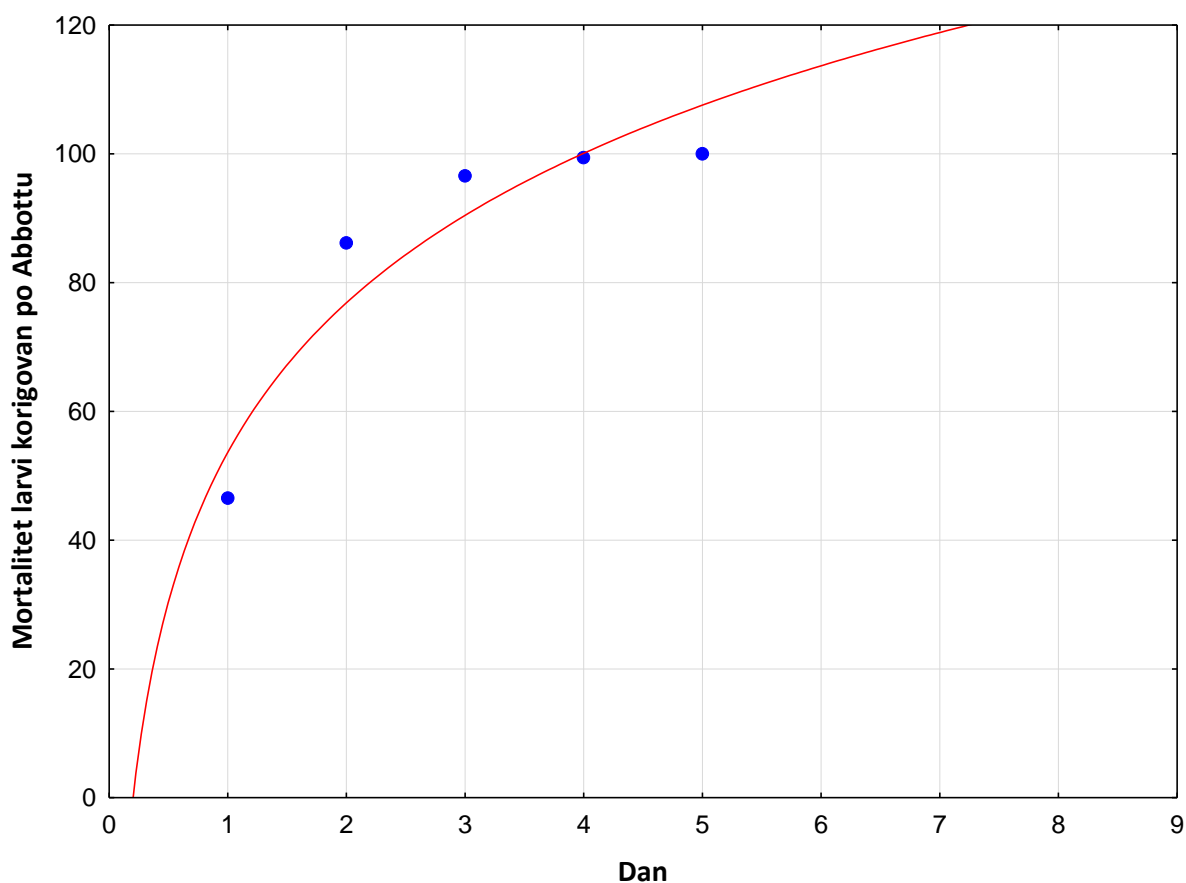
$$y = -61.48 + e^{(5.343 - 0.264t)}$$

Modelom je objašnjeno 92.02% varijacija u broju uginulih larvi komaraca, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.959.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 16. Korigovani broj uginulih larvi komaraca usled delovanja piriproksifena (0.007 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	55,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
II	60,00	89,74	94,29	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
III	55,00	84,62	94,29	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IV	25,00	79,49	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
V	45,00	84,62	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VI	50,00	84,62	94,29	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VII	45,00	84,62	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VIII	45,00	94,87	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IX	35,00	74,36	88,57	93,94	100,00	100,00	100,00	100,00
X	50,00	84,62	94,29	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	46,50	86,15	96,57	99,39	100,00	100,00	100,00	100,00



Slika 22. Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.007 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Jednačina modela glasi:

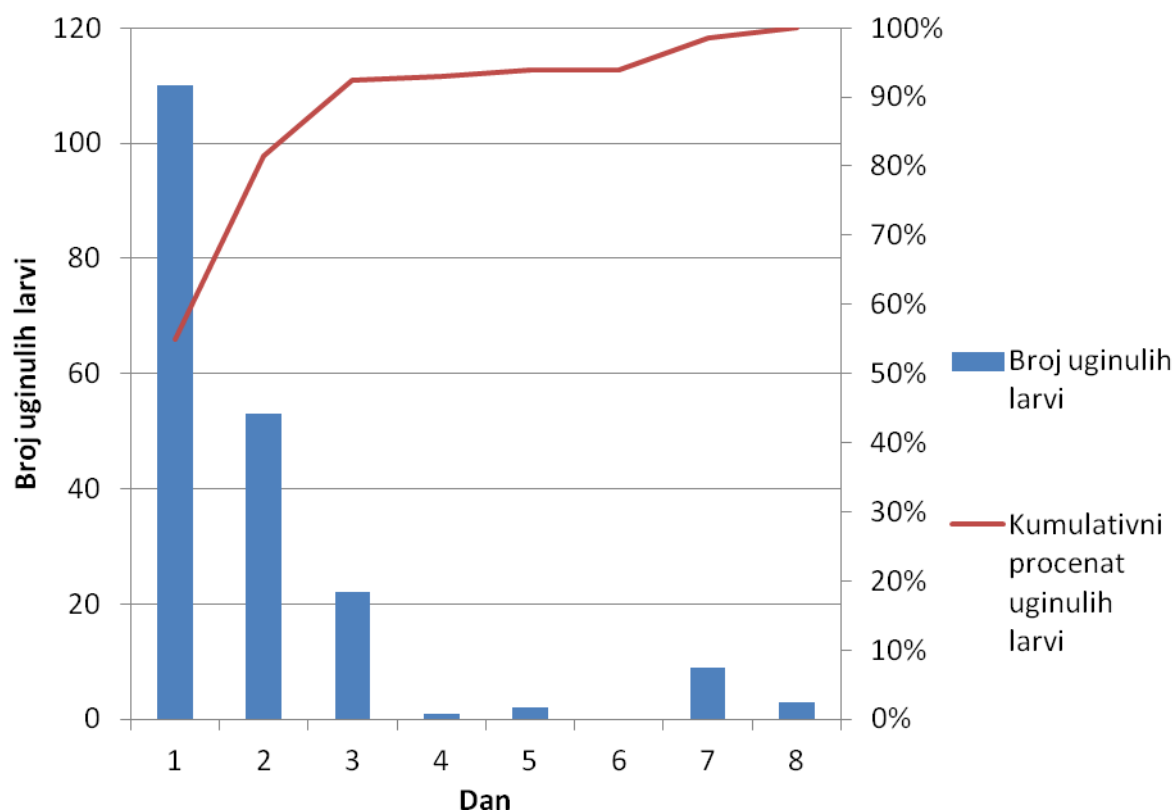
$$y = 53.632 + 33.514 \ln(x)$$

Modelom je objašnjeno 88.65% varijacija, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.942.

Analiza efekta PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 0.01 ppm

Tabela 17. Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.01 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	10	9	1	-	-	-	-	-	20
II	18	2	-	-	-	-	-	-	20
III	15	3	0	0	1	0	1	-	20
IV	14	4	1	0	0	0	1	-	20
V	5	2	7	0	0	0	4	2	20
VI	9	7	2	0	0	0	1	1	20
VII	9	8	3	-	-	-	-	-	20
VIII	8	9	1	0	0	0	2	-	20
IX	10	5	3	1	1	-	-	-	20
X	12	4	4	-	-	-	-	-	20
Ukupno	110	53	22	1	2	0	9	3	200



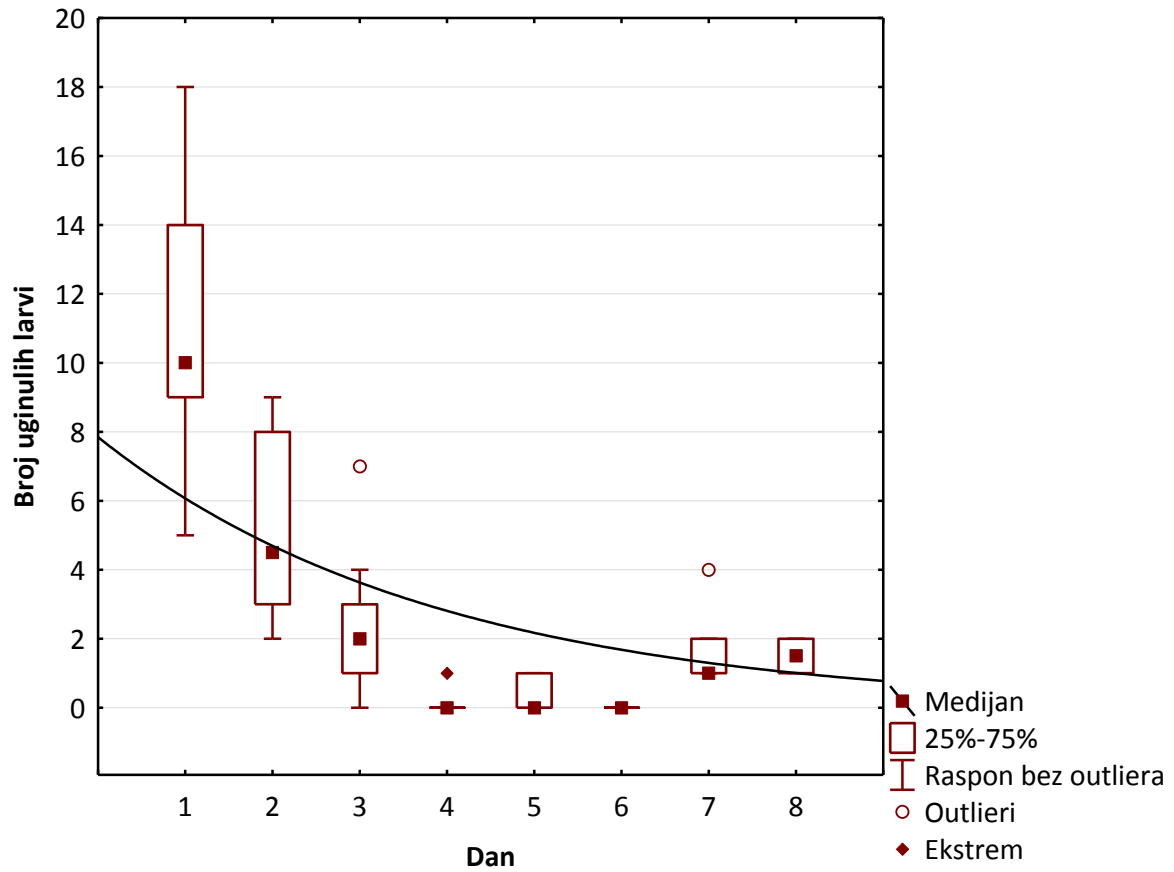
Slika 23. Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.01 ppm)

Tabela 18. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.01 ppm)

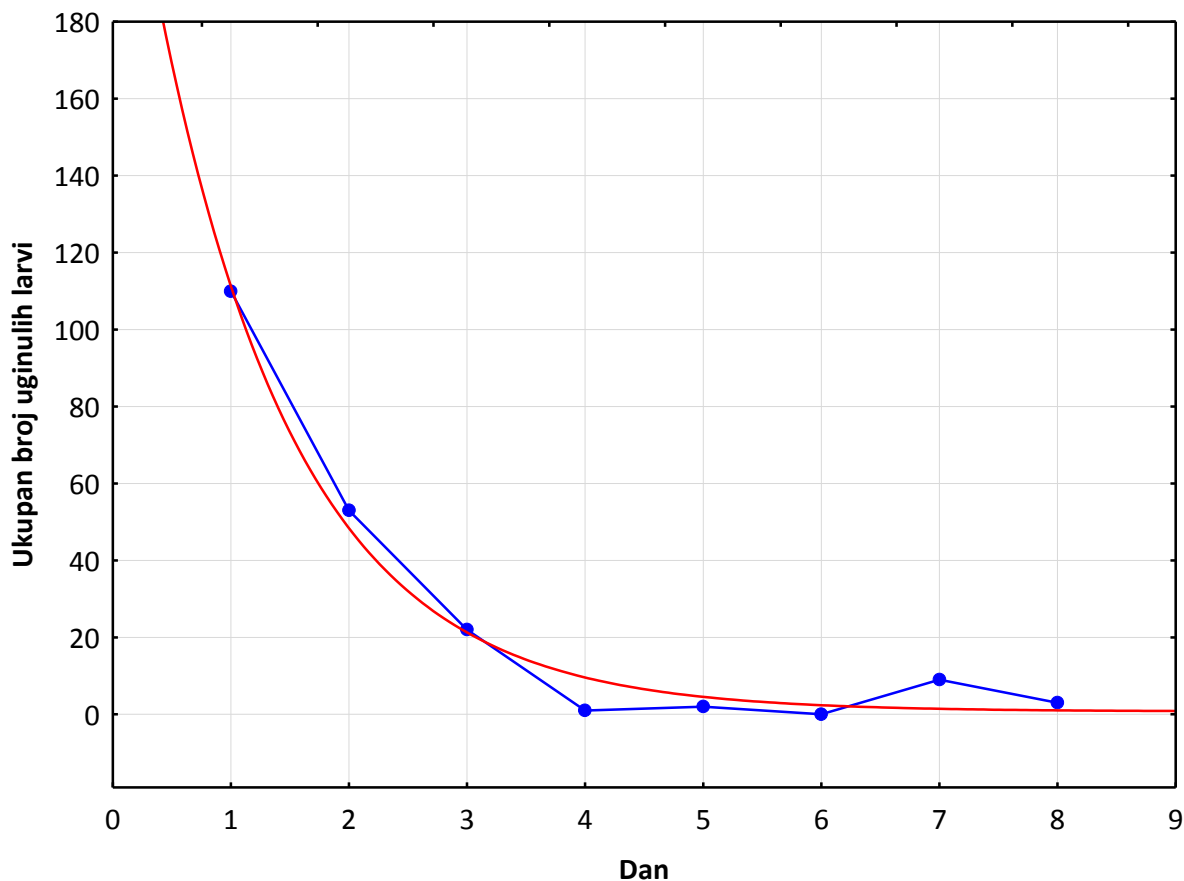
Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	25.00
Medijan	6.00
Minimalna vrednost	0.00
Maksimalna vrednost	110.00
Standardna devijacija	38.71

Tabela 19. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.01 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	11.00	10.00	5.00	18.00	3.80
2	5.30	4.50	2.00	9.00	2.75
3	2.44	2.00	0.00	7.00	2.13
4	0.17	0.00	0.00	1.00	0.41
5	0.33	0.00	0.00	1.00	0.52
6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7	1.80	1.00	1.00	4.00	1.30
8	1.50	1.50	1.00	2.00	0.71



Slika 24. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.01 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom



Slika 25. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.01 ppm) sa funkcijom eksponencijalnog pada

Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

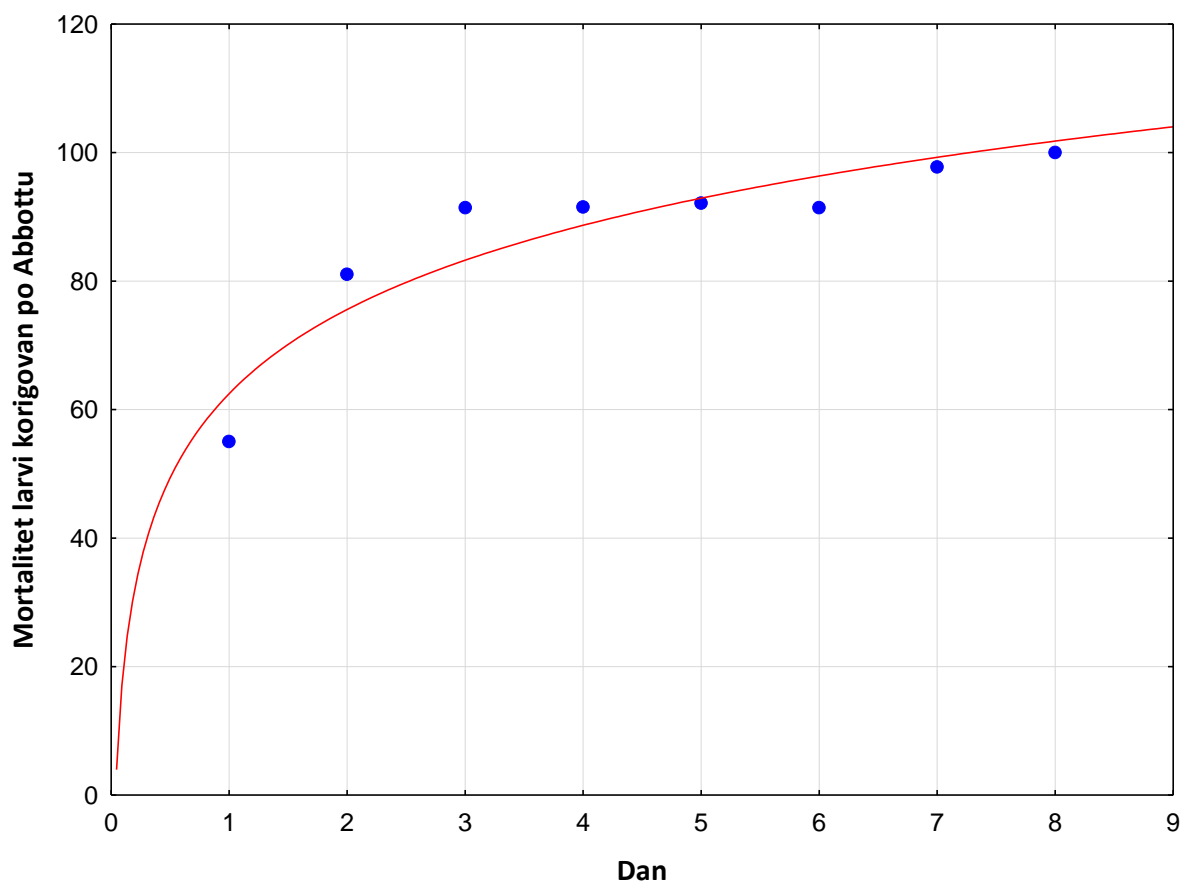
$$y = 0.733 + e^{(5.548 - 0.842t)}$$

Modelom je objašnjeno 98.38% varijacija u broju uginulih larvi komaraca, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.992.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 20. Korigovani broj uginulih larvi komaraca usled delovanja piriproksifena (0.01 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	50,00	94,87	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
II	90,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
III	75,00	89,74	88,57	87,88	93,44	92,86	100,00	100,00
IV	70,00	89,74	94,29	93,94	93,44	92,86	100,00	100,00
V	25,00	33,33	65,71	63,64	60,66	57,14	85,19	100,00
VI	45,00	79,49	88,57	87,88	86,89	85,71	92,59	100,00
VII	45,00	84,62	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VIII	40,00	84,62	88,57	87,88	86,89	85,71	100,00	100,00
IX	50,00	74,36	88,57	93,94	100,00	100,00	100,00	100,00
X	60,00	79,49	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	55,00	81,03	91,43	91,52	92,13	91,43	97,78	100,00



Slika 26. Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.01 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Jednadžba modela glasi:

$$y = 62.481 + 18.904 \ln(x)$$

Modelom je objašnjeno 86.64% varijacija, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.931.

Analiza efekta PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 0.025 ppm**Tabela 21.** Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.025 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	12	7	1	-	-	-	-	-	20
II	15	4	1	-	-	-	-	-	20
III	13	7	-	-	-	-	-	-	20
IV	15	5	-	-	-	-	-	-	20
V	11	6	1	0	0	0	2	-	20
VI	15	1	4	-	-	-	-	-	20
VII	13	4	2	0	0	0	1	-	20
VIII	14	3	2	0	0	1	-	-	20
IX	13	5	2	-	-	-	-	-	20
X	13	4	3	-	-	-	-	-	20
Ukupno	134	46	16	0	0	1	3	-	200

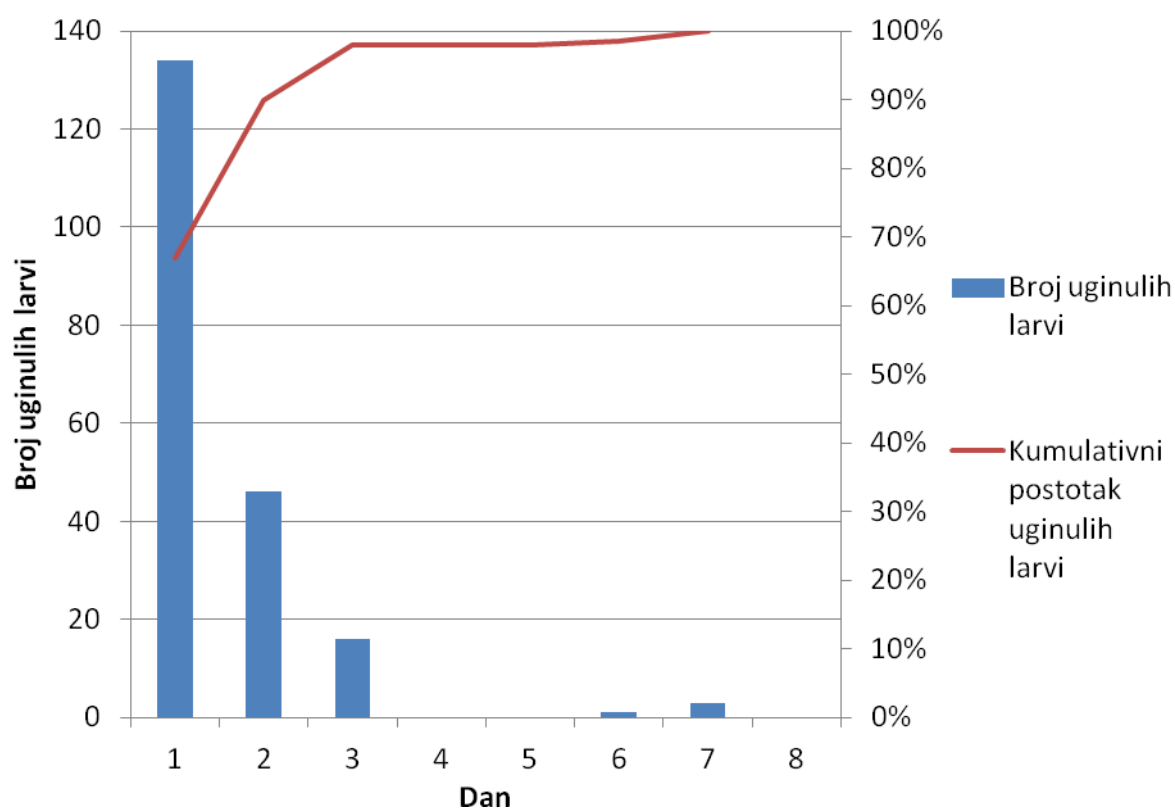
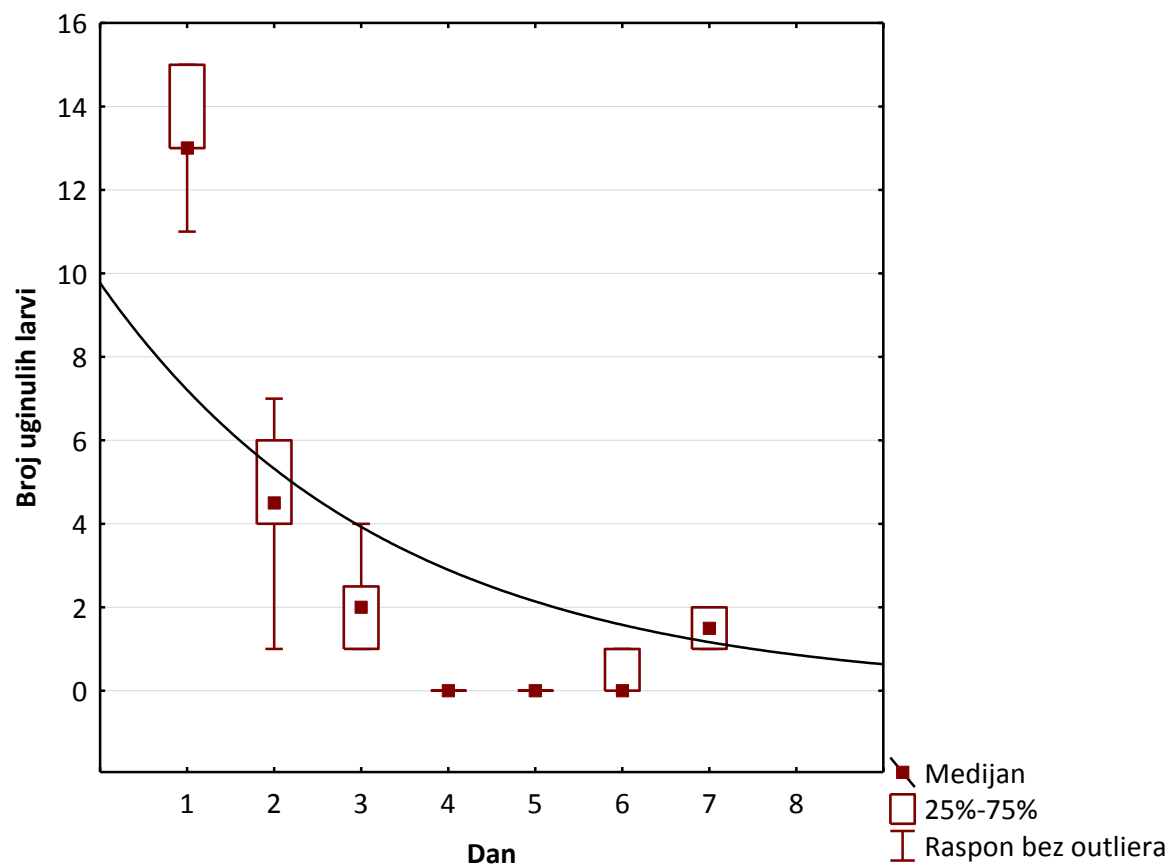
**Slika 27.** Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.025 ppm)

Tabela 22. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.025 ppm)

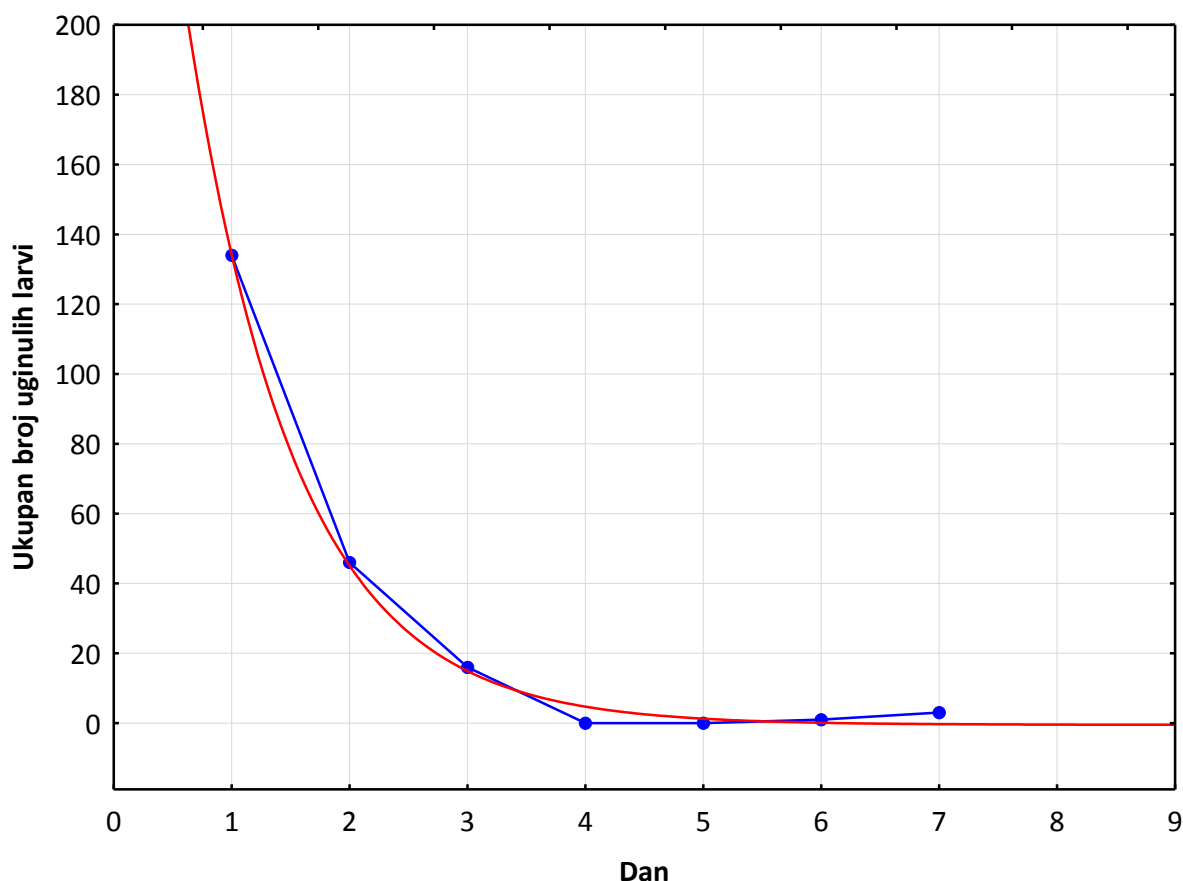
Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	28.57
Medijan	3.00
Minimalna vrednost	0.00
Maksimalna vrednost	134.00
Standardna devijacija	49.37

Tabela 23. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.025 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	13.40	13.00	11.00	15.00	1.35
2	4.60	4.50	1.00	7.00	1.84
3	2.00	2.00	1.00	4.00	1.07
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6	0.33	0.00	0.00	1.00	0.58
7	1.50	1.50	1.00	2.00	0.71
8	-	-	-	-	-



Slika 28. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.025 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom



Slika 29. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.025 ppm) sa funkcijom eksponencijalnog pada

Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

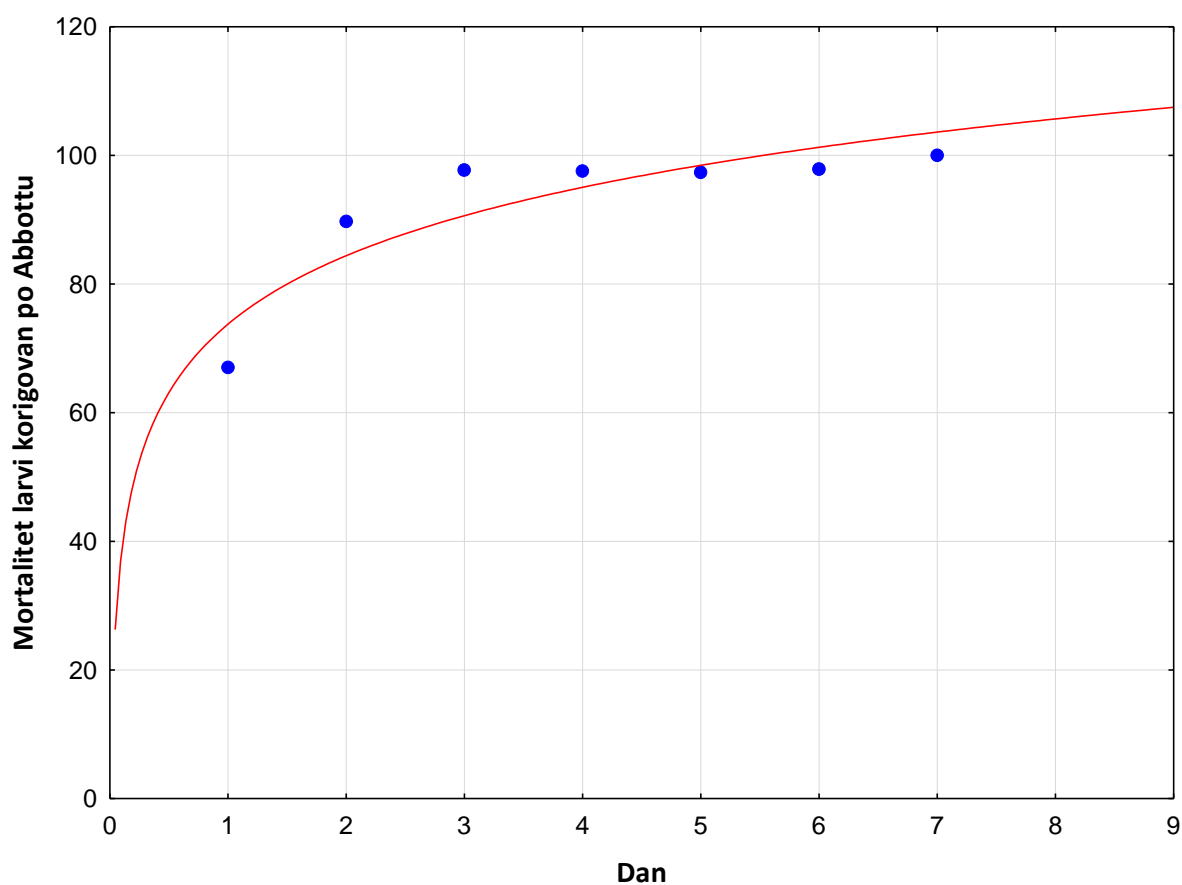
$$y = -0.502 + e^{(5.988 - 1.084t)}$$

Modelom je objašnjeno 99.74% varijacija u broju uginulih larvi komaraca, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.998.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 24. Korigovani broj uginulih larvi komaraca usled delovanja piriproksifena (0.025 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	60,00	94,87	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
II	75,00	94,87	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
III	65,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IV	75,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
V	55,00	84,62	88,57	87,88	86,89	85,71	100,00	100,00
VI	75,00	79,49	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VII	65,00	84,62	94,29	93,94	93,44	92,86	100,00	100,00
VIII	70,00	84,62	94,29	93,94	93,44	100,00	100,00	100,00
IX	65,00	89,74	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
X	65,00	84,62	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	67,00	89,74	97,71	97,58	97,38	97,86	100,00	100,00



Slika 30. Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.025 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Jednadžba modela glasi:

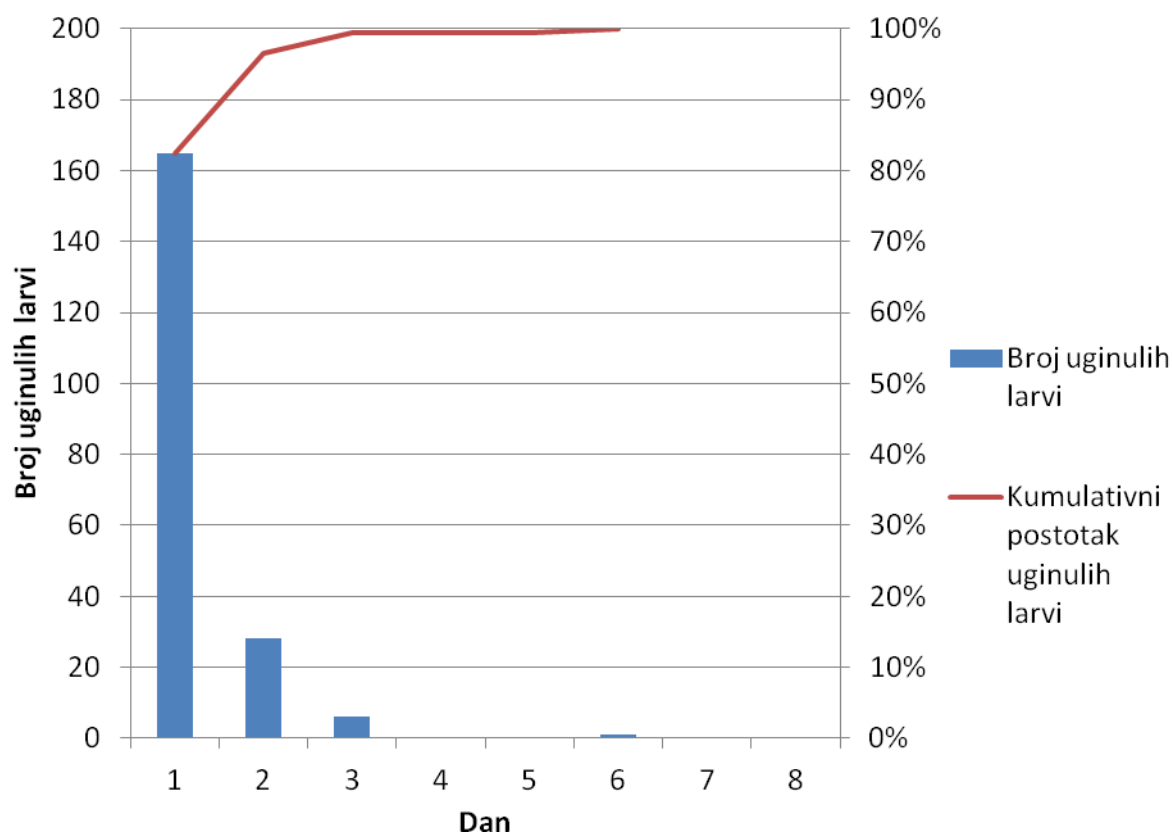
$$y = 73.776 + 15.347 \ln(x)$$

Modelom je objašnjeno 80.87% varijacija, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.899.

Analiza efekta PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 0.05 ppm

Tabela 25. Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.05 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	16	4	-	-	-	-	-	-	20
II	16	2	1	0	0	1	-	-	20
III	19	1	-	-	-	-	-	-	20
IV	16	1	3	-	-	-	-	-	20
V	16	2	2	-	-	-	-	-	20
VI	17	3	-	-	-	-	-	-	20
VII	16	4	-	-	-	-	-	-	20
VIII	16	4	-	-	-	-	-	-	20
IX	17	3	-	-	-	-	-	-	20
X	16	4	-	-	-	-	-	-	20
Ukupno	165	28	6	0	0	1	-	-	200



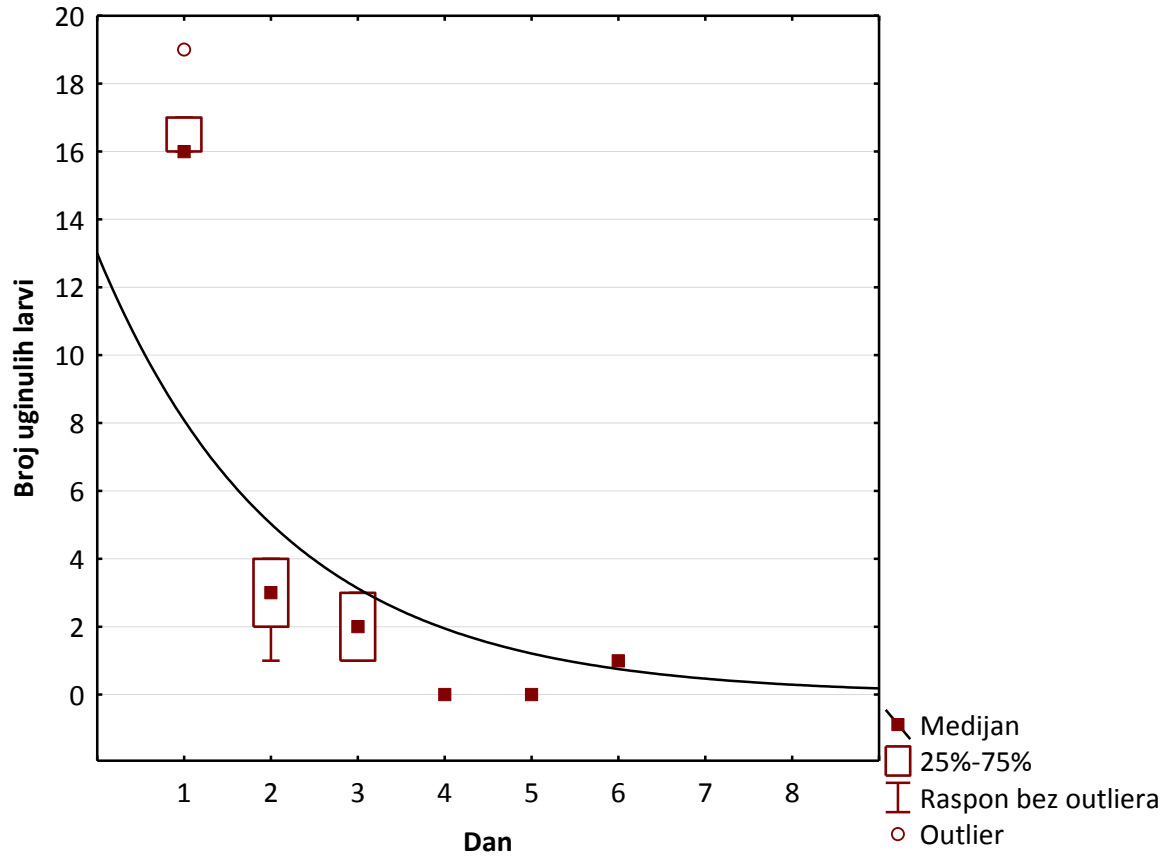
Slika 31. Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.05 ppm)

Tabela 26. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.05 ppm)

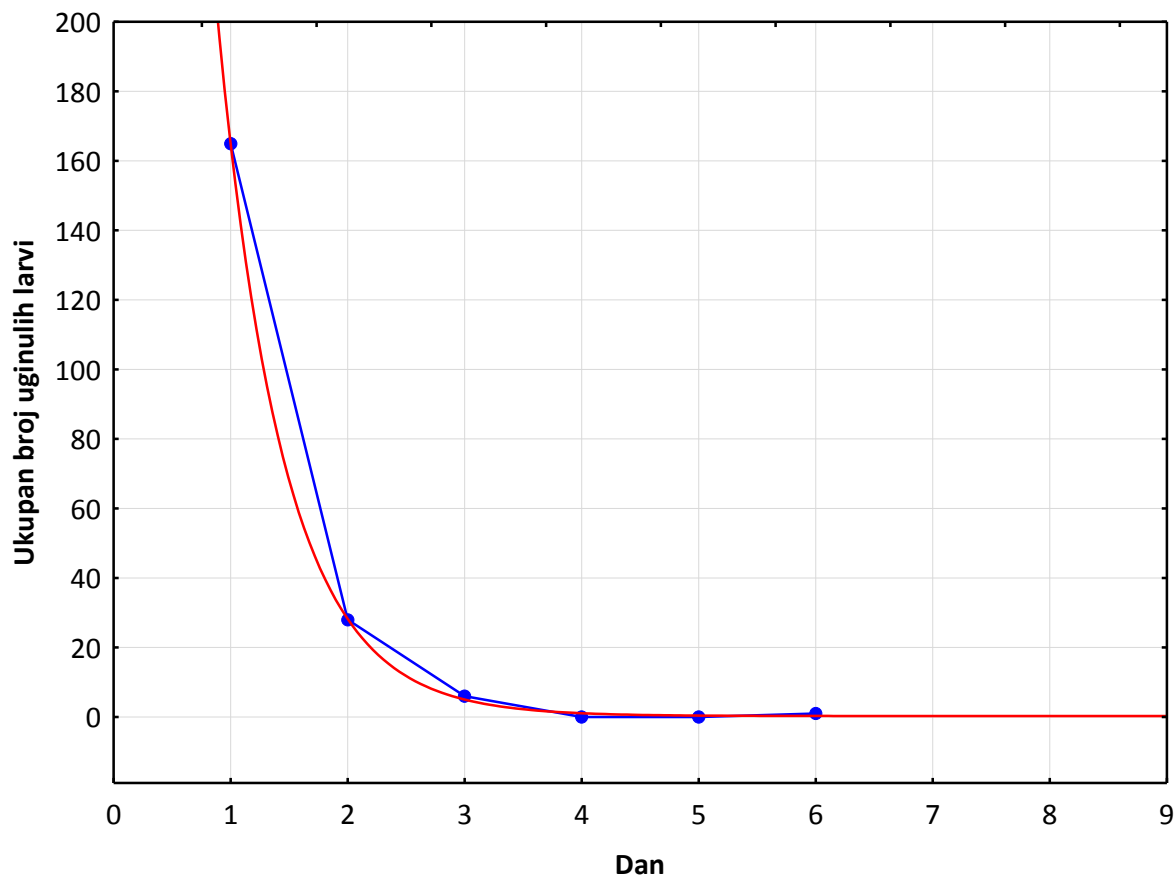
Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	33.33
Medijan	3.50
Minimalna vrednost	0.00
Maksimalna vrednost	165.00
Standardna devijacija	65.39

Tabela 27. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.05 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	16.50	16.00	16.00	19.00	0.97
2	2.80	3.00	1.00	4.00	1.23
3	2.00	2.00	1.00	3.00	1.00
4	0.00	0.00	0.00	0.00	-
5	0.00	0.00	0.00	0.00	-
6	1.00	1.00	1.00	1.00	-
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-



Slika 32. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.05 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom



Slika 33. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.05 ppm) sa funkcijom eksponencijalnog pada

Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

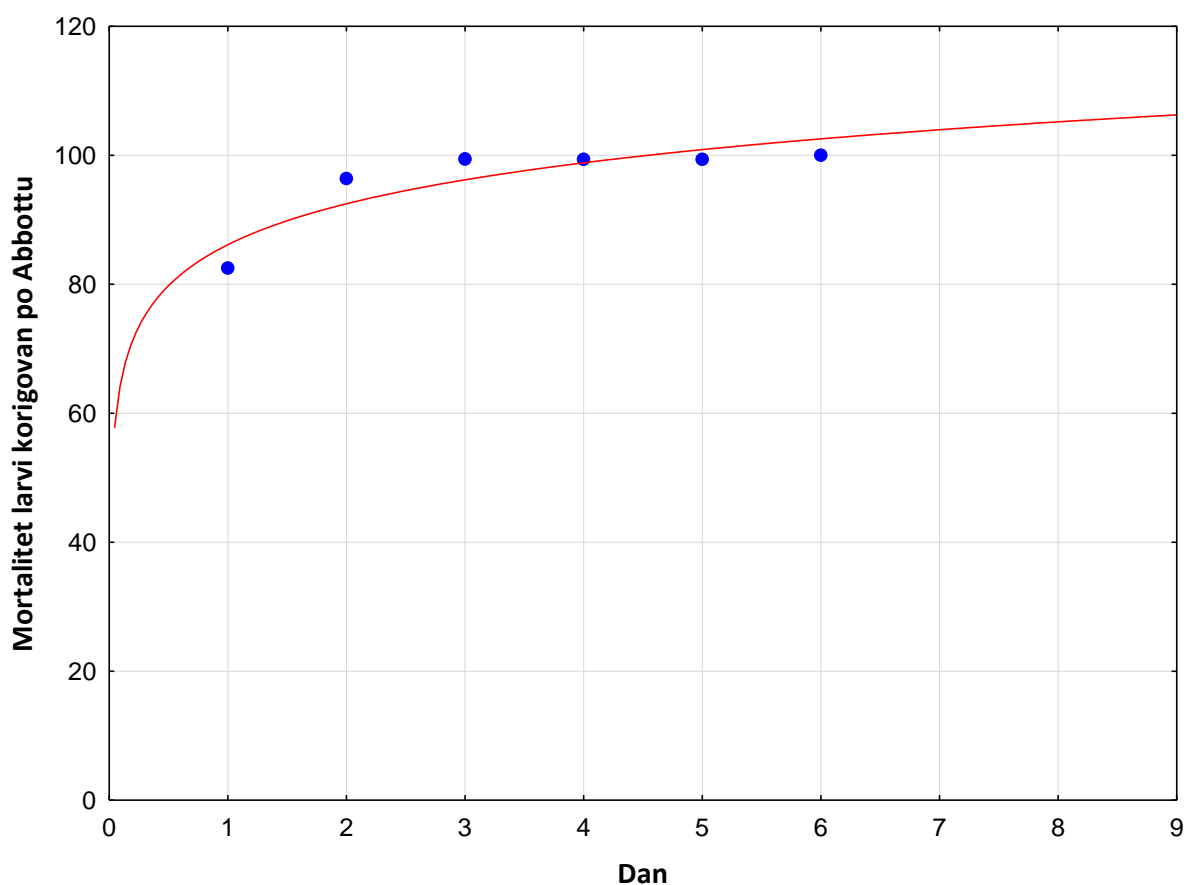
$$y = 0.266 + e^{(6.877 - 1.773t)}$$

Modelom je objašnjeno 99.99% varijacija u broju uginulih larvi komaraca, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.9999.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 28. Korigovani broj uginulih larvi komaraca usled delovanja piriproksifena (0.05 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
II	80,00	89,74	94,29	93,94	93,44	100,00	100,00	100,00
III	95,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IV	80,00	84,62	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
V	80,00	89,74	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VI	85,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VII	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VIII	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IX	85,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
X	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	82,50	96,41	99,43	99,39	99,34	100,00	100,00	100,00



Slika 34. Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.05 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Jednadžba modela glasi:

$$y = 86.129 + 9.165 \ln(x)$$

Modelom je objašnjeno 79.27% varijacija, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.89.

Analiza efekta PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 0.075 ppm**Tabela 29.** Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.075 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	18	2	-	-	-	-	-	-	20
II	19	1	-	-	-	-	-	-	20
III	15	5	-	-	-	-	-	-	20
IV	15	5	-	-	-	-	-	-	20
V	17	2	1	-	-	-	-	-	20
VI	16	4	-	-	-	-	-	-	20
VII	17	3	-	-	-	-	-	-	20
VIII	17	3	-	-	-	-	-	-	20
IX	17	3	-	-	-	-	-	-	20
X	16	4	-	-	-	-	-	-	20
Ukupno	167	32	1	-	-	-	-	-	200

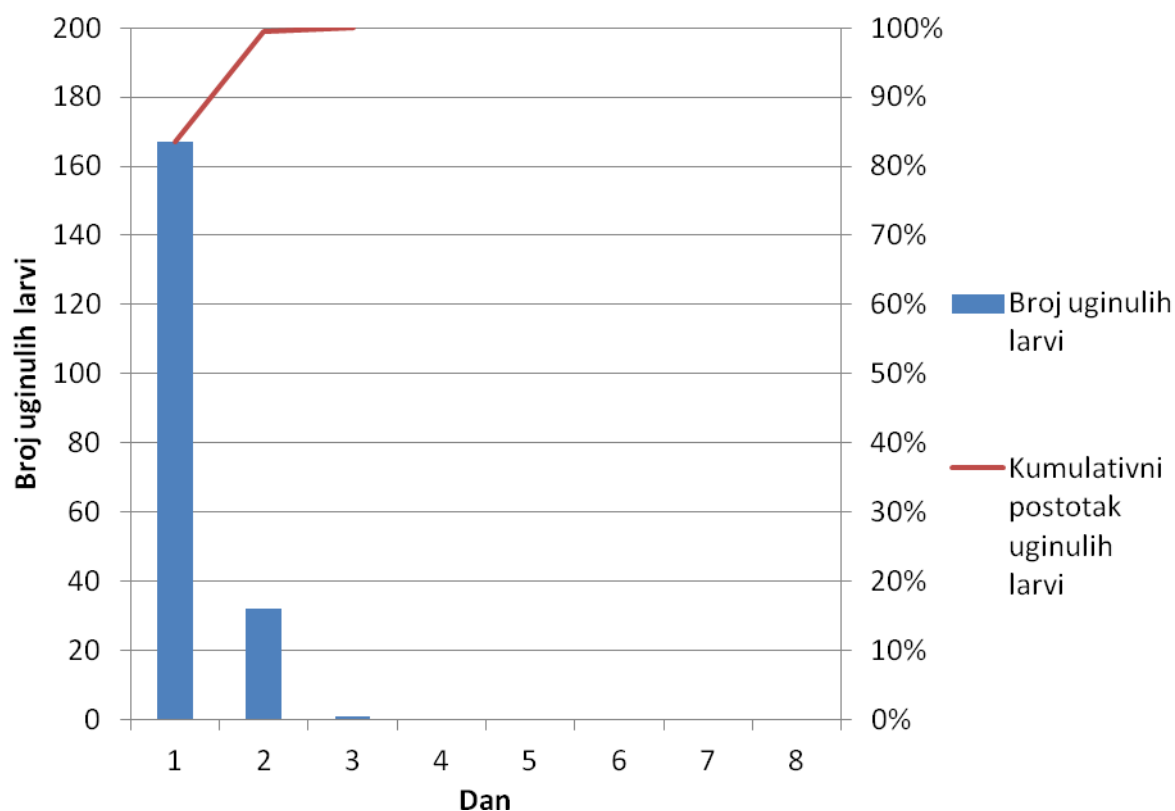
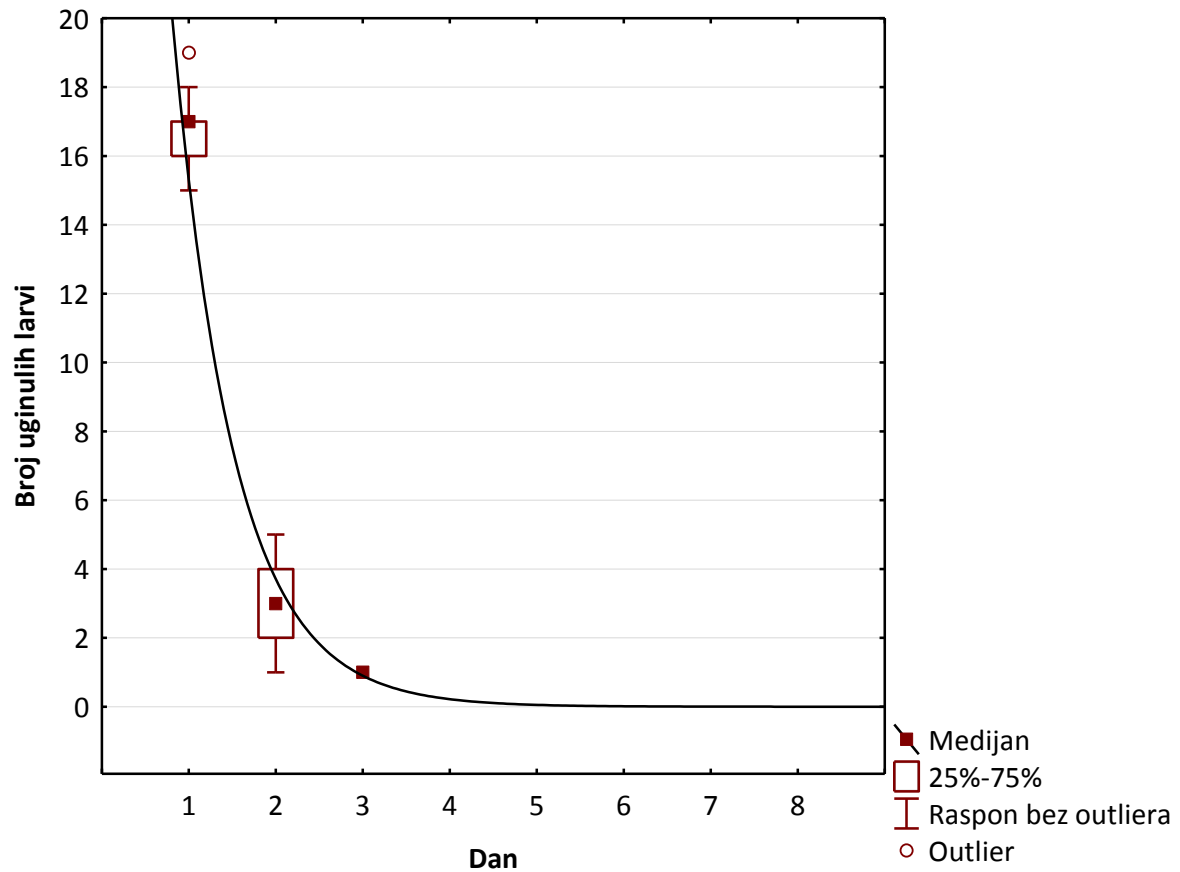
**Slika 35.** Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.075 ppm)

Tabela 30. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.075 ppm)

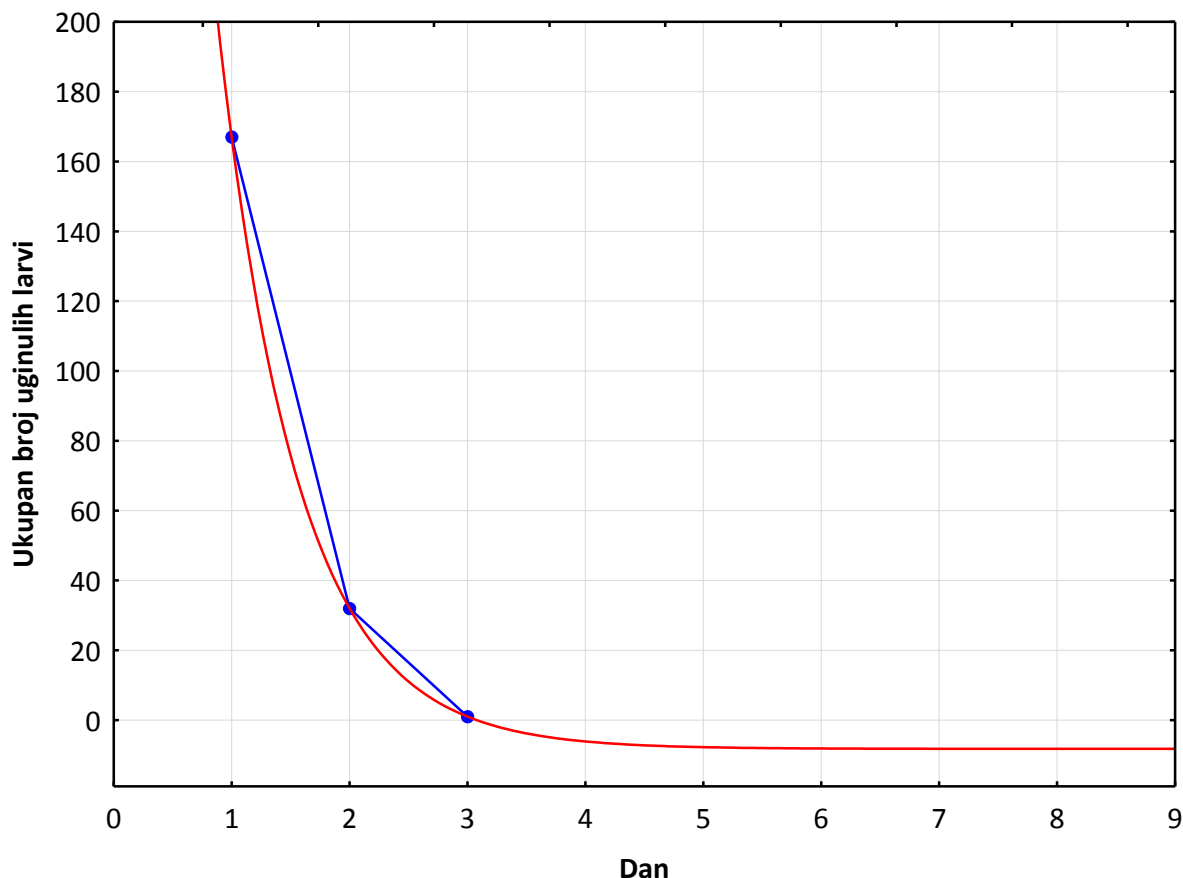
Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	66.67
Medijan	32.00
Minimalna vrednost	1.00
Maksimalna vrednost	167.00
Standardna devijacija	88.26

Tabela 31. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.075 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	16.70	17.00	15.00	19.00	1.25
2	3.20	3.00	1.00	5.00	1.32
3	1.00	1.00	1.00	1.00	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-



Slika 36. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.075 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom



Slika 37. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.075 ppm) sa funkcijom eksponencijalnog pada

Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

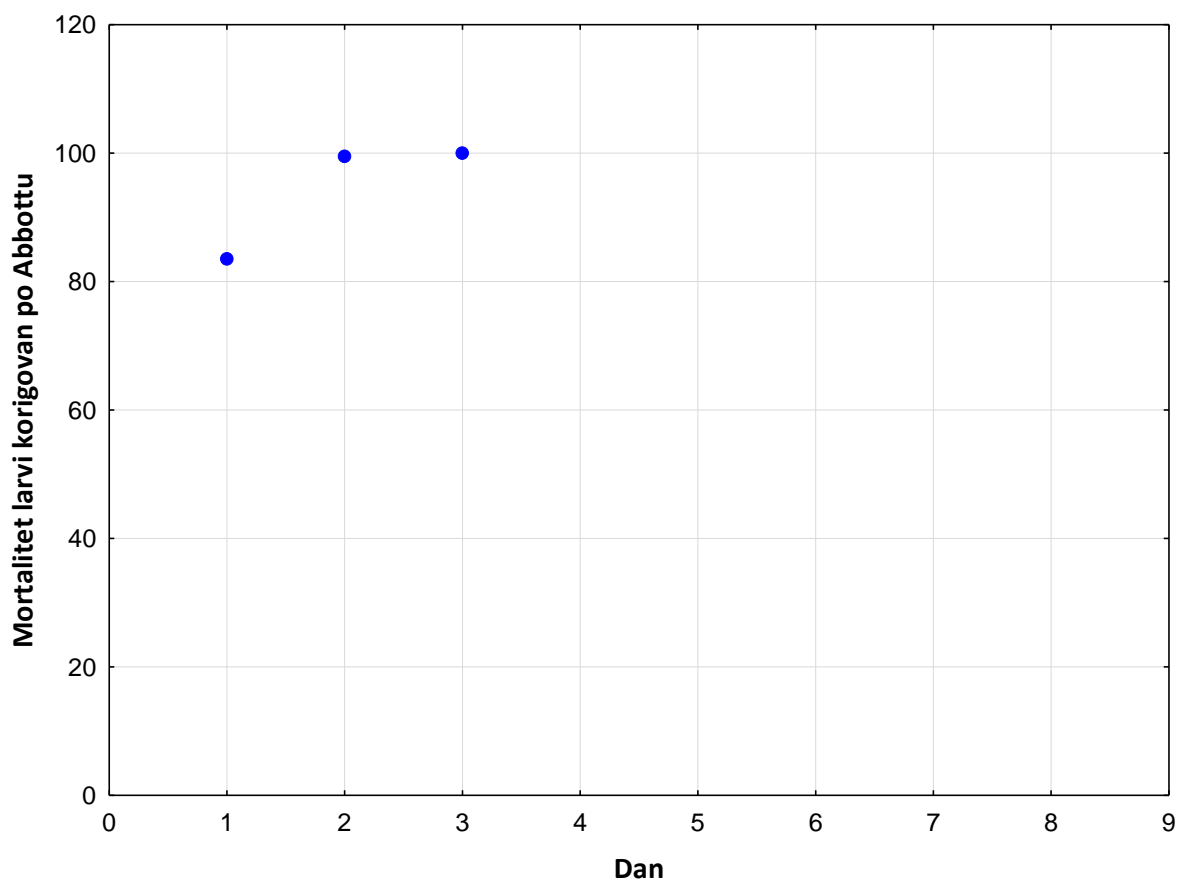
$$y = -8.24 + e^{(6.637 - 1.471t)}$$

Modelom je objašnjeno 100% varijacija u broju uginulih larvi komaraca, odnosno koeficijent korelacije iznosi 1.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 32. Korigovani broj uginulih larvi komaraca usled delovanja piriproksifena (0.075 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	90,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
II	95,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
III	75,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IV	75,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
V	85,00	94,87	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VI	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VII	85,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VIII	85,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IX	85,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
X	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	83,50	99,49	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00



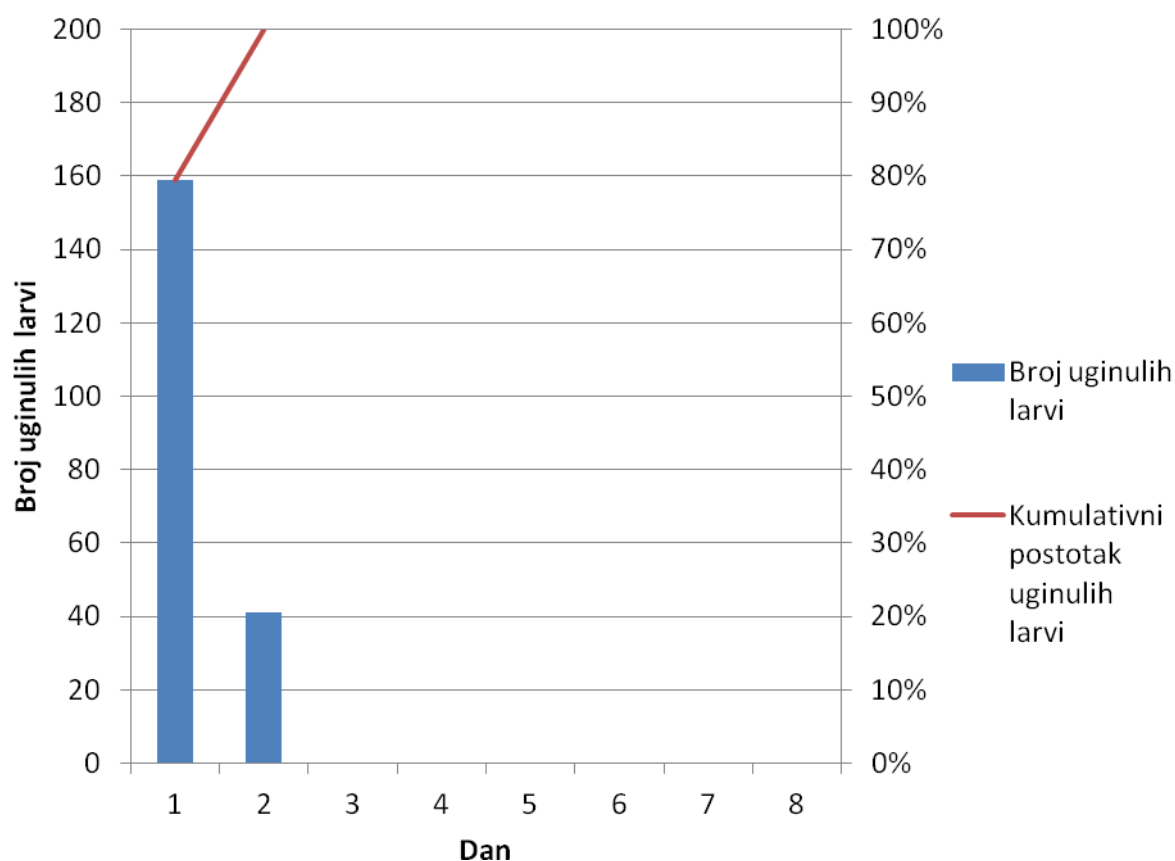
Slika 38. Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.075 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Zbog nedovoljnog broja podataka nije moguće determinisati jednačinu modela.

Analiza PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 0.1 ppm

Tabela 33. Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.1 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	14	6	-	-	-	-	-	-	20
II	14	6	-	-	-	-	-	-	20
III	20	-	-	-	-	-	-	-	20
IV	16	4	-	-	-	-	-	-	20
V	15	5	-	-	-	-	-	-	20
VI	15	5	-	-	-	-	-	-	20
VII	16	4	-	-	-	-	-	-	20
VIII	16	4	-	-	-	-	-	-	20
IX	16	4	-	-	-	-	-	-	20
X	17	3	-	-	-	-	-	-	20
Ukupno	159	41	-	-	-	-	-	-	200



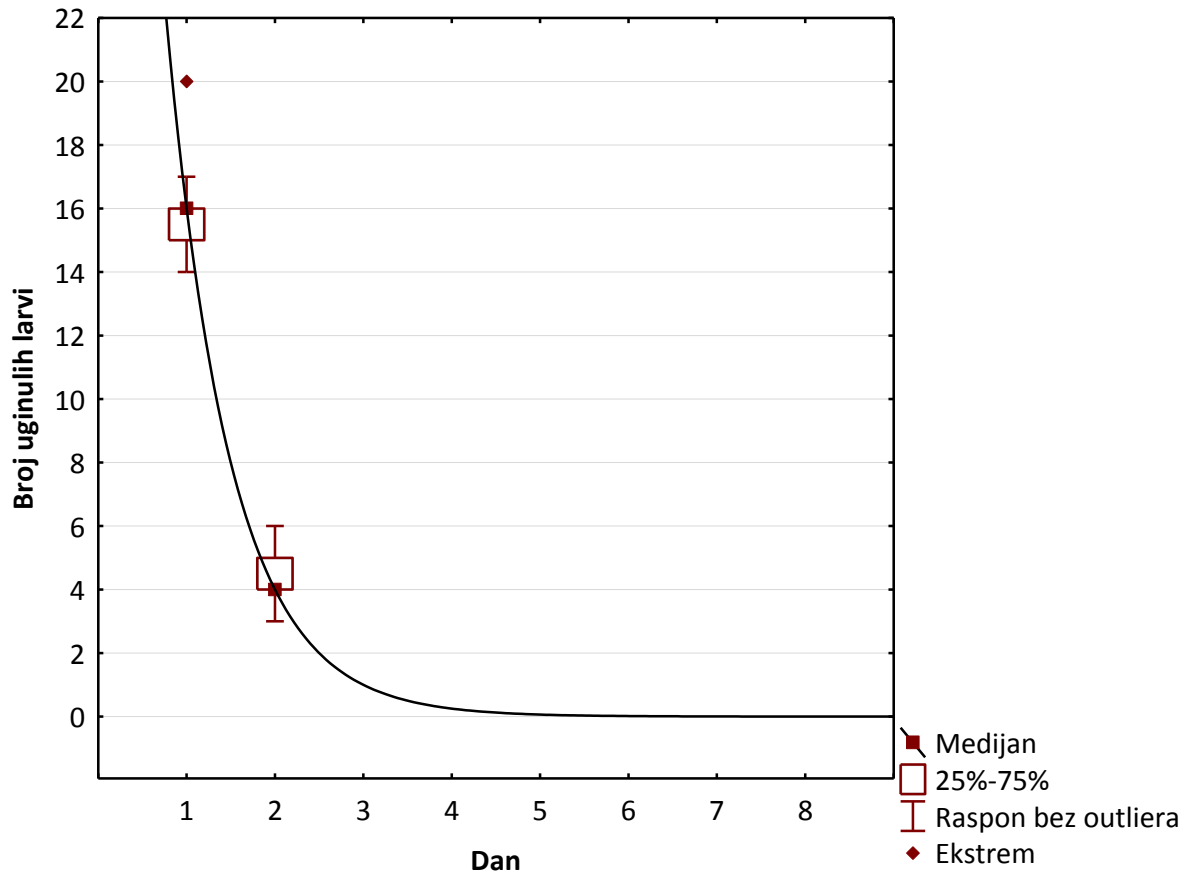
Slika 39. Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (0.1 ppm)

Tabela 34. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.1 ppm)

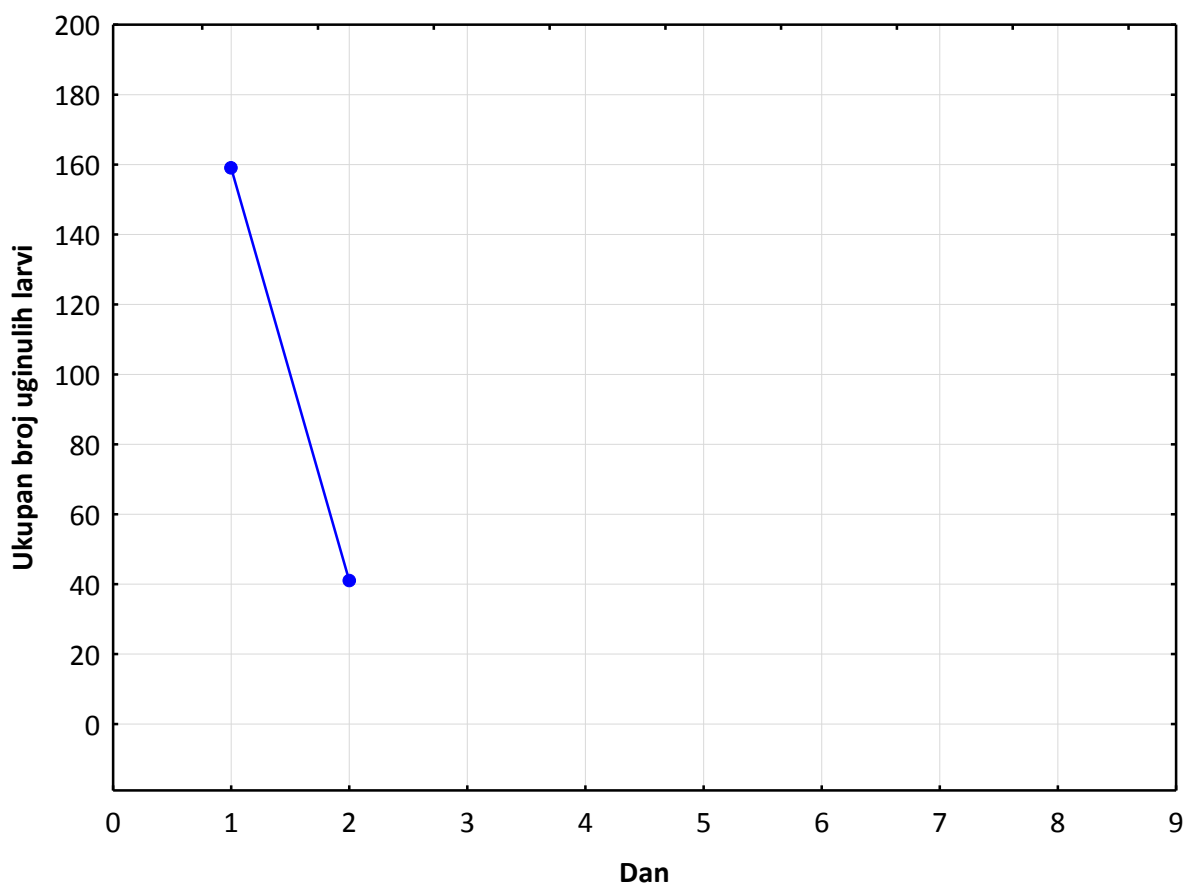
Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	66.67
Medijan	32.00
Minimalna vrednost	1.00
Maksimalna vrednost	167.00
Standardna devijacija	88.26

Tabela 35. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriprosifena (0.1 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	15.90	16.00	14.00	20.00	1.73
2	4.56	4.00	3.00	6.00	1.01
3	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-



Slika 40. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.1 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom



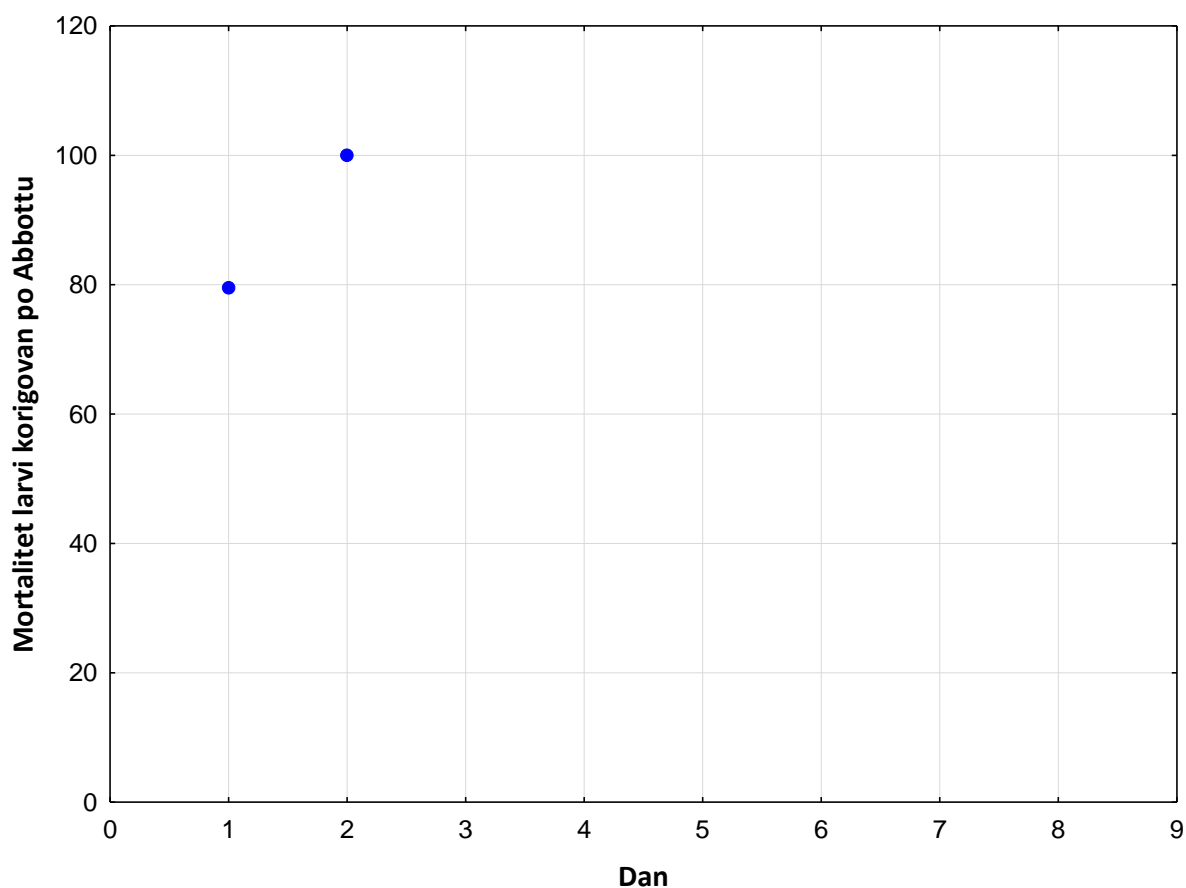
Slika 41. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (0.1 ppm)

Zbog nedovoljnog broja podataka nije moguće determinisati jednačinu modela.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 36. Korigovani broj uginulih larvi komaraca usled delovanja piriprosifena (0.1 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	70,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
II	70,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
III	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IV	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
V	75,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VI	75,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VII	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VIII	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IX	80,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
X	85,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	79,50	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

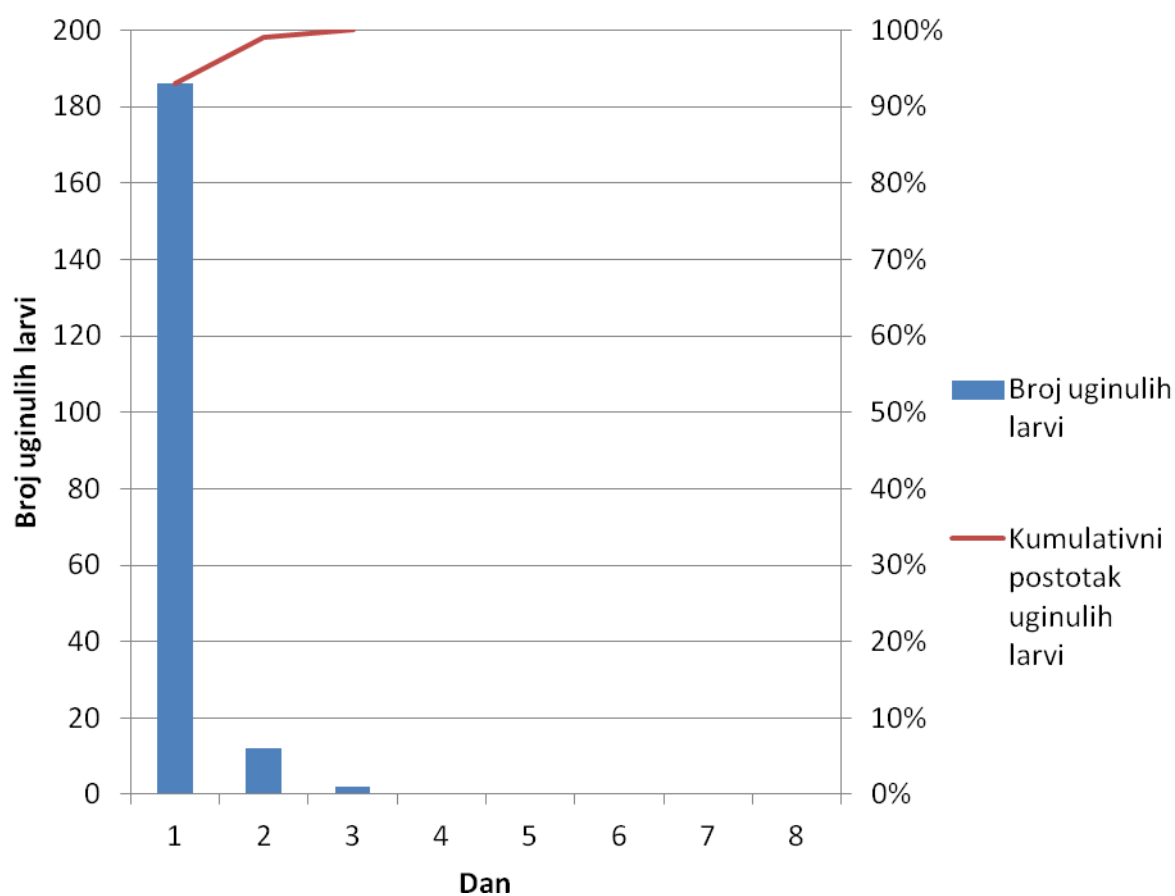
**Slika 42.** Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriprosifena (0.1 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Zbog nedovoljnog broja podataka nije moguće determinisati jednačinu modela.

Analiza efekta PPF na dinamiku uginjavanja larvi komaraca od 1 ppm

Tabela 37. Broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (1 ppm)

Uzorak	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I	20	-	-	-	-	-	-	-	20
II	20	-	-	-	-	-	-	-	20
III	17	2	1	-	-	-	-	-	20
IV	19	1	-	-	-	-	-	-	20
V	18	2	-	-	-	-	-	-	20
VI	18	1	1	-	-	-	-	-	20
VII	19	1	-	-	-	-	-	-	20
VIII	19	1	-	-	-	-	-	-	20
IX	18	2	-	-	-	-	-	-	20
X	18	2	-	-	-	-	-	-	20
Ukupno	186	12	2	-	-	-	-	-	200



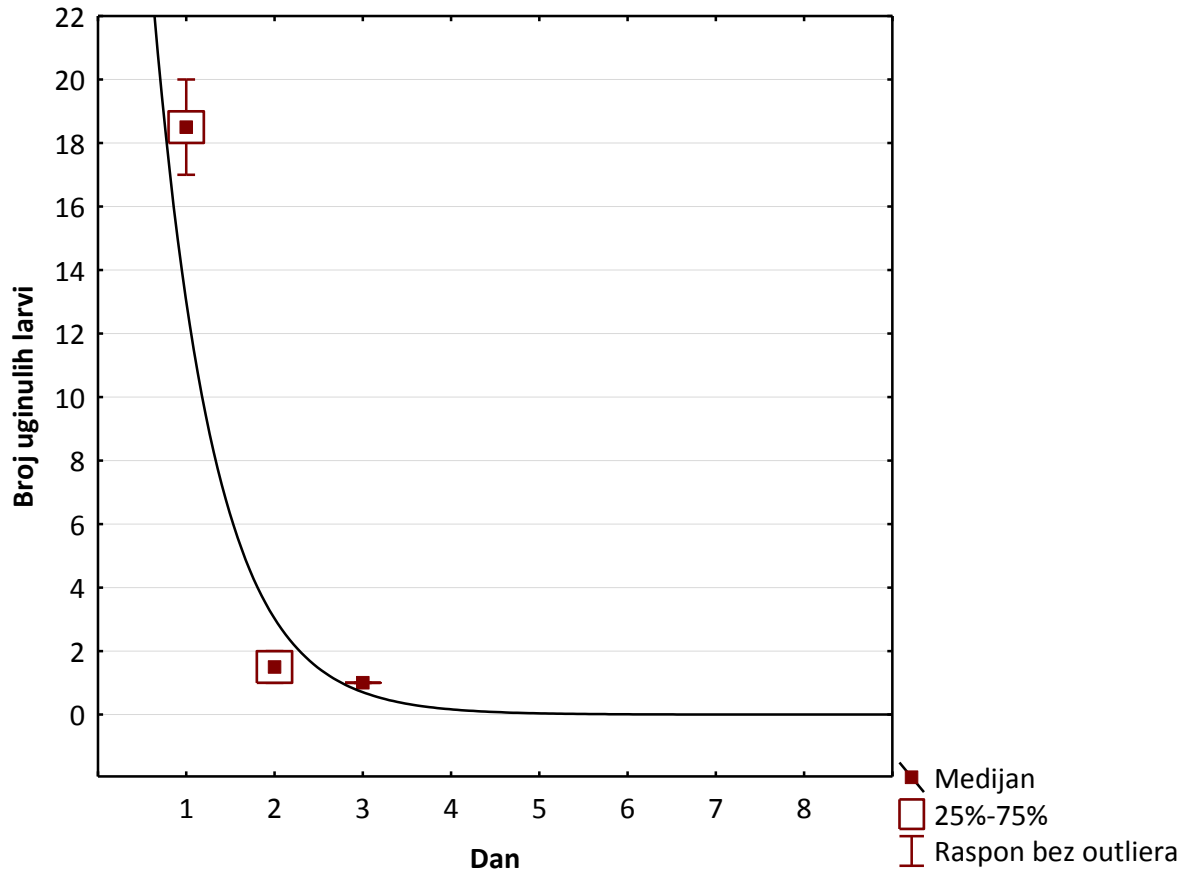
Slika 43. Broj i kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (1 ppm)

Tabela 38. Deskriptivni statistički pokazatelji za ukupan broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena (1 ppm)

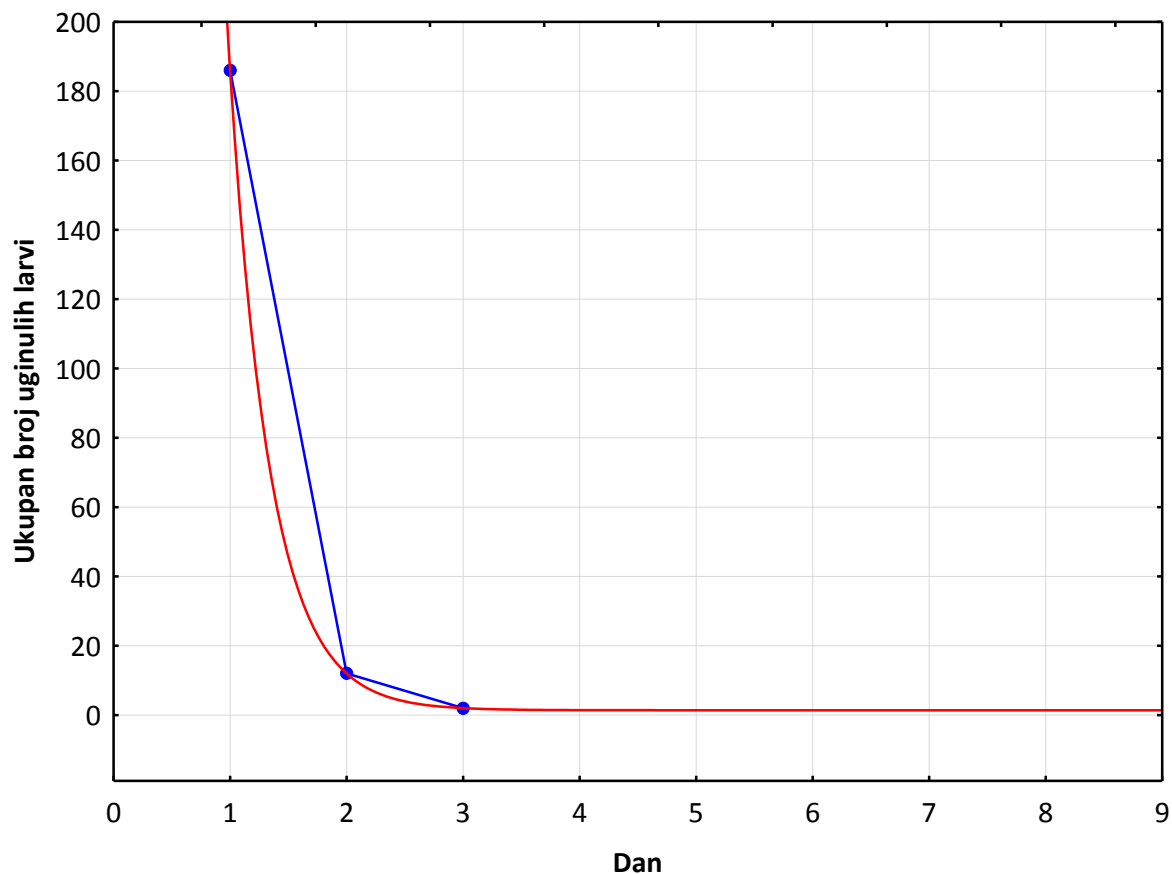
Statistički pokazatelj	Vrednost
Aritmetička sredina	66.67
Medijan	12.00
Minimalna vrednost	2.00
Maksimalna vrednost	186.00
Standardna devijacija	103.47

Tabela 39. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj uginulih larvi komaraca po danima usled delovanja piriproksifena pri (1 ppm)

Dan	Aritmetička sredina	Medijan	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Standardna devijacija
1	18.60	18.50	17.00	20.00	0.97
2	1.50	1.50	1.00	2.00	0.53
3	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-



Slika 44. Box and Whisker Plot dijagrami za broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (1 ppm) sa eksponencijalnom funkcijom



Slika 45. Broj uginulih larvi po danima usled delovanja piriproksifena (1 ppm) sa funkcijom eksponencijalnog pada

Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

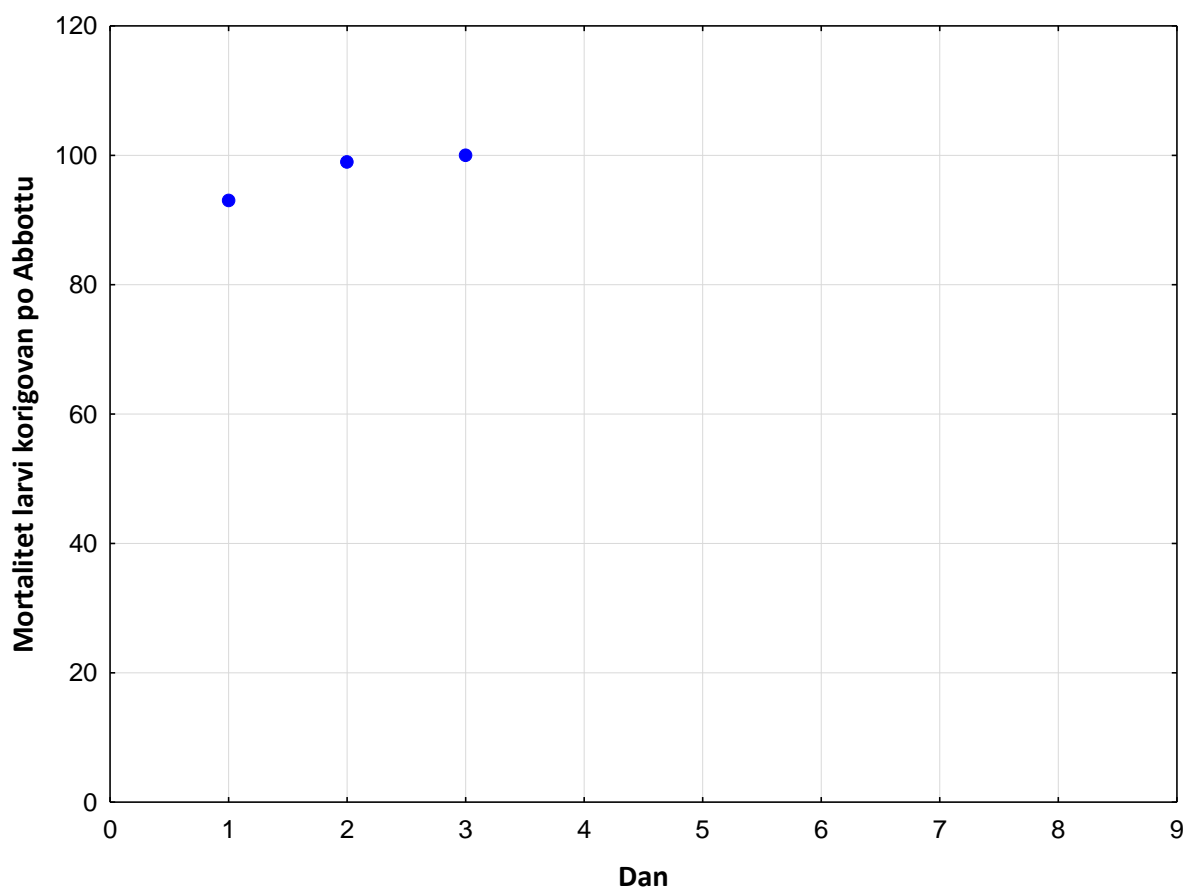
$$y = 1.39 + e^{(8.075 - 2.856t)}$$

Modelom je objašnjeno 100% varijacija u broju uginulih larvi komaraca, odnosno koeficijent korelacije iznosi 1.

Kako bi se potvrdila značajnost napravljenog modela, podaci su korigovani u odnosu na mortalitet u kontroli po Abotovoj formuli, da bi isključili potencijalni efekat drugih faktora, osim delovanja piriproksifena na mortalitet larvi.

Tabela 40. Korigovani broj uginulih larvi komaraca usled delovanja piriprosifena (1 ppm)

Uzorak	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
II	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
III	85,00	94,87	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IV	95,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
V	90,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VI	90,00	94,87	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VII	95,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
VIII	95,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
IX	90,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
X	90,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Ukupno	93,00	98,97	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

**Slika 46.** Korigovani mortalitet larvi po danima usled delovanja piriprosifena (1 ppm) sa logaritamskom funkcijom

Zbog nedovoljnog broja podataka nije moguće determinisati jednačinu modela.

7.2. ANALIZA EFEKTA RAZLIČITIH KONCENTRACIJA PIRIPROKSIFENA NA LARVE KOMARACA

Analiza efekta različitih koncentracija piriproksifena na larve komaraca rađena je na osnovu analize podataka dobijenih u poglavlju 7.1., gde je utvrđivan efekat različitih koncentracija piriproksifena na dinamiku uginjavanja larvi komaraca izloženih delovanju pojedinačnih koncentracija (0.0001 ppm, 0.001 ppm, 0.002 ppm, 0.007 ppm, 0.01 ppm, 0.025 ppm, 0.05 ppm, 0.075 ppm, 0.1 ppm i 1 ppm) piriproksifna. U ovom poglavlju dobijeni rezultati su međusobno upoređeni da bi se na najbolji način analizirala razlika u efikasnosti različitih koncentracija piriproksifena na mortalitet larvi komaraca vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*.

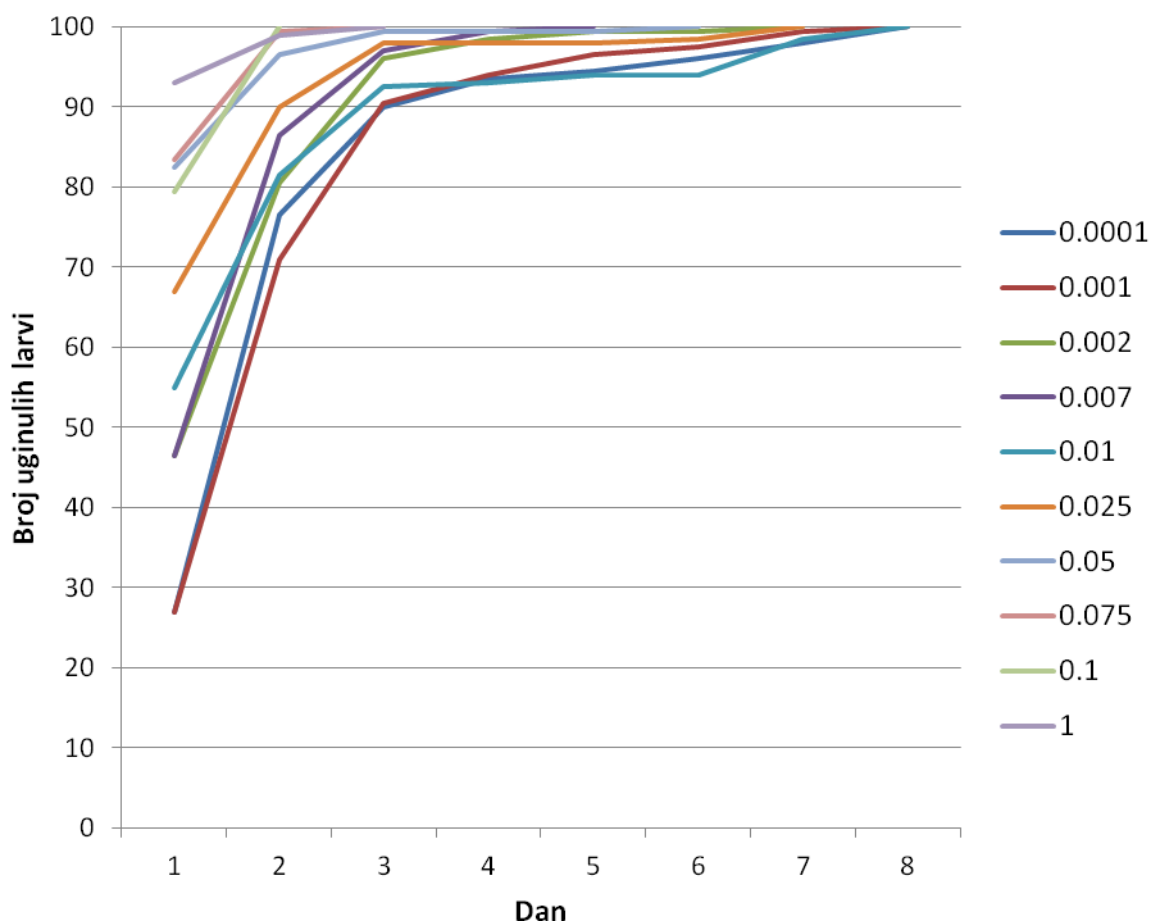
Tabela 41. Ukupan broj i procenat uginulih larvi komaraca po danima u uzorcima sa različitim koncentracijama piriproksifena

Koncentracija (ppm)	Dan								Ukupno
	1	2	3	4	5	6	7	8	
0.0001	54 (27.0%)	99 (49.5%)	27 (13.5%)	7 (3.5%)	2 (1.0%)	3 (1.5%)	4 (2.0%)	4 (2.0%)	200 (100.0%)
0.001	54 (27.0%)	88 (44.0%)	39 (19.5%)	7 (3.5%)	5 (2.5%)	2 (1.0%)	4 (2.0%)	1 (0.5%)	200 (100.0%)
0.002	93 (46.5%)	68 (34.0%)	31 (15.5%)	5 (2.5%)	2 (1.0%)	0 (0.0%)	1 (0.5%)	-	200 (100.0%)
0.007	93 (46.5%)	80 (40.0%)	21 (10.5%)	5 (2.5%)	1 (0.5%)	-	-	-	200 (100.0%)
0.01	110 (55.0%)	53 (26.5%)	22 (11.0%)	1 (0.5%)	2 (1.0%)	0 (0.0%)	9 (4.5%)	3 (1.5%)	200 (100.0%)
0.025	134 (67.0%)	46 (23.0%)	16 (8.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.5%)	3 (1.5%)	-	200 (100.0%)
0.05	165 (82.5%)	28 (14.0%)	6 (3.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.5%)	-	-	200 (100.0%)
0.075	167 (83.5%)	32 (16.0%)	1 (0.5%)	-	-	-	-	-	200 (100.0%)
0.1	159 (79.5%)	41 (20.5%)	-	-	-	-	-	-	200 (100.0%)
1	186 (93.0%)	12 (6.0%)	2 (1.0%)	-	-	-	-	-	200 (100.0%)
Ukupno	1215 (60.8%)	547 (27.4%)	165 (8.3%)	25 (1.3%)	12 (0.6%)	7 (0.4%)	21 (1.1%)	8 (0.4%)	2000 (100.0%)

Iz kumulativnih procenata navedenih u tabeli 42 proizlazi da nakon trećeg dana ni u jednom od uzoraka s različitim koncentracijama piriproksifena nije preostalo više od 10% larvi komaraca. Tri su uzorka sa najvećim koncentracijama piriproksifena u kojima nakon trećeg dana nije preostala ni jedna larva komaraca.

Tabela 42. Kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima u uzorcima sa različitim koncentracijama piriproksifena

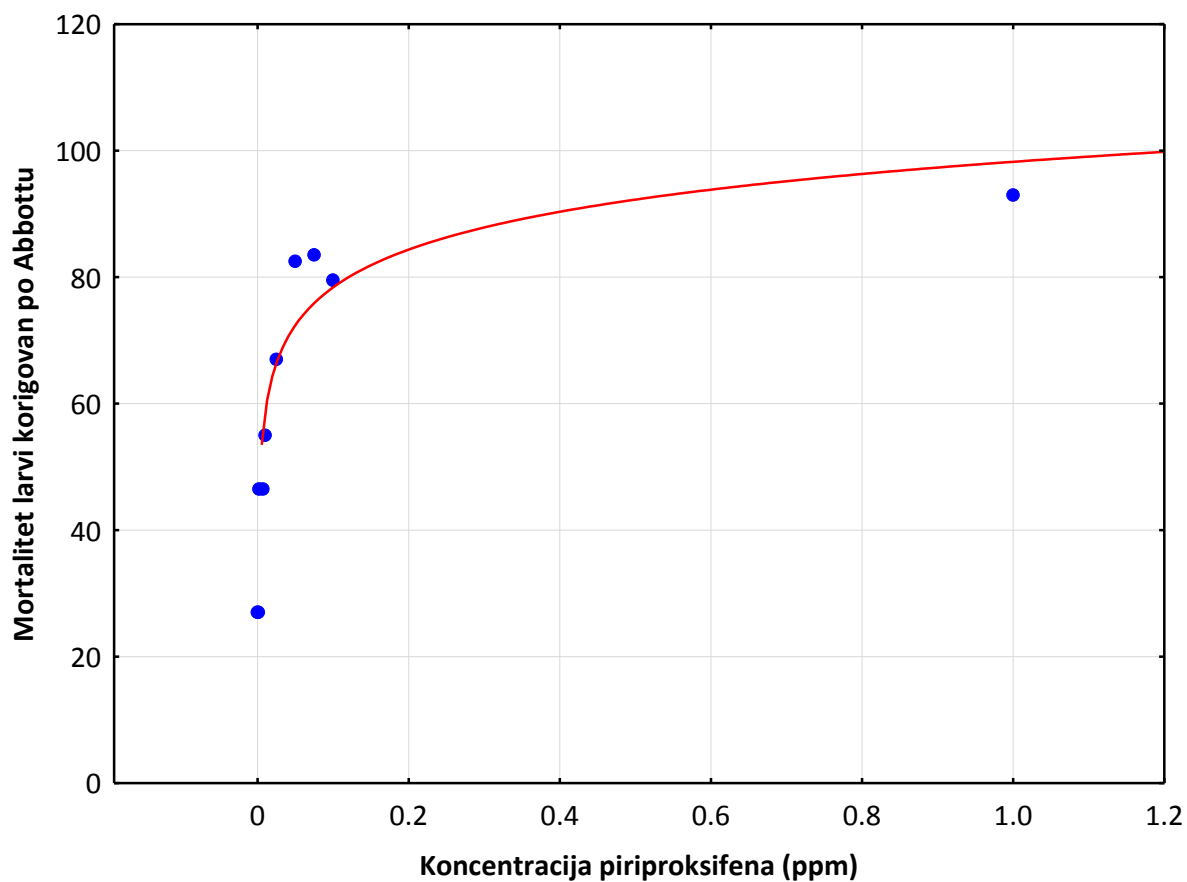
Koncentracija (ppm)	Dan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0.0001	27.0	76.5	90.0	93.5	94.5	96.0	98.0	100.0
0.001	27.0	71.0	90.5	94.0	96.5	97.5	99.5	100.0
0.002	46.5	80.5	96.0	98.5	99.5	99.5	100.0	-
0.007	46.5	86.5	97.0	99.5	100.0	-	-	-
0.01	55.0	81.5	92.5	93.0	94.0	94.0	98.5	100.0
0.025	67.0	90.0	98.0	98.0	98.0	98.5	100.0	-
0.05	82.5	96.5	99.5	99.5	99.5	100.0	-	-
0.075	83.5	99.5	100.0	-	-	-	-	-
0.1	79.5	100.0	-	-	-	-	-	-
1	93.0	99.0	100.0	-	-	-	-	-
Ukupno	60.75	88.10	96.35	97.60	98.20	98.55	99.60	100.00



Slika 47. Kumulativni procenat uginulih larvi komaraca po danima u uzorcima sa različitim koncentracijama piriproksifena

Tabela 43. Prosečan broj uginulih larvi komaraca po danima u uzorcima sa različitim koncentracijama piriproksifena (korigovano po Abotu)

Koncentracija (ppm)	Broj uginulih larvi nakon prvog dana	Broj uginulih larvi nakon prva dva dana	Broj uginulih larvi nakon prva tri dana
0.0001	27.00	75.90	88.57
0.001	27.00	70.26	89.14
0.002	46.50	80.00	95.43
0.007	46.50	86.15	96.57
0.01	55.00	81.03	91.43
0.025	67.00	89.74	97.71
0.05	82.50	96.41	99.43
0.075	83.50	99.49	100.00
0.1	79.50	100.00	100.00
1	93.00	98.97	100.00



Slika 48. Prosečan broj uginulih larvi komaraca korigovan po Abotu nakon prvog dana eksperimenta u zavisnosti o koncentraciji piriproksifena sa logaritamskom funkcijom

Tabela 44. Analize varijance (ANOVA) za determinisani model logaritamske regresije

Izvor varijacije	Zbroj kvadrata	Stepeni slobode	Sredine kvadrata	<i>F</i> -omer	<i>p</i>
Protumačen modelom	4650.783	1	4650.783	76.267	0.000
Rezidualna odstupanja	487.842	8	60.980		
Ukupno	5138.625	9			

Tabela 45. Osnovni pokazatelji regresijskog modela

	Nestandardni koeficijenti		Standardni koeficijent	<i>t</i>	<i>p</i>
	B	Standardna greška	β		
Konstanta	98.236	4.952		19.838	0.000
Koncentracija piriproksifena	8.622	0.987	0.951	8.733	0.000

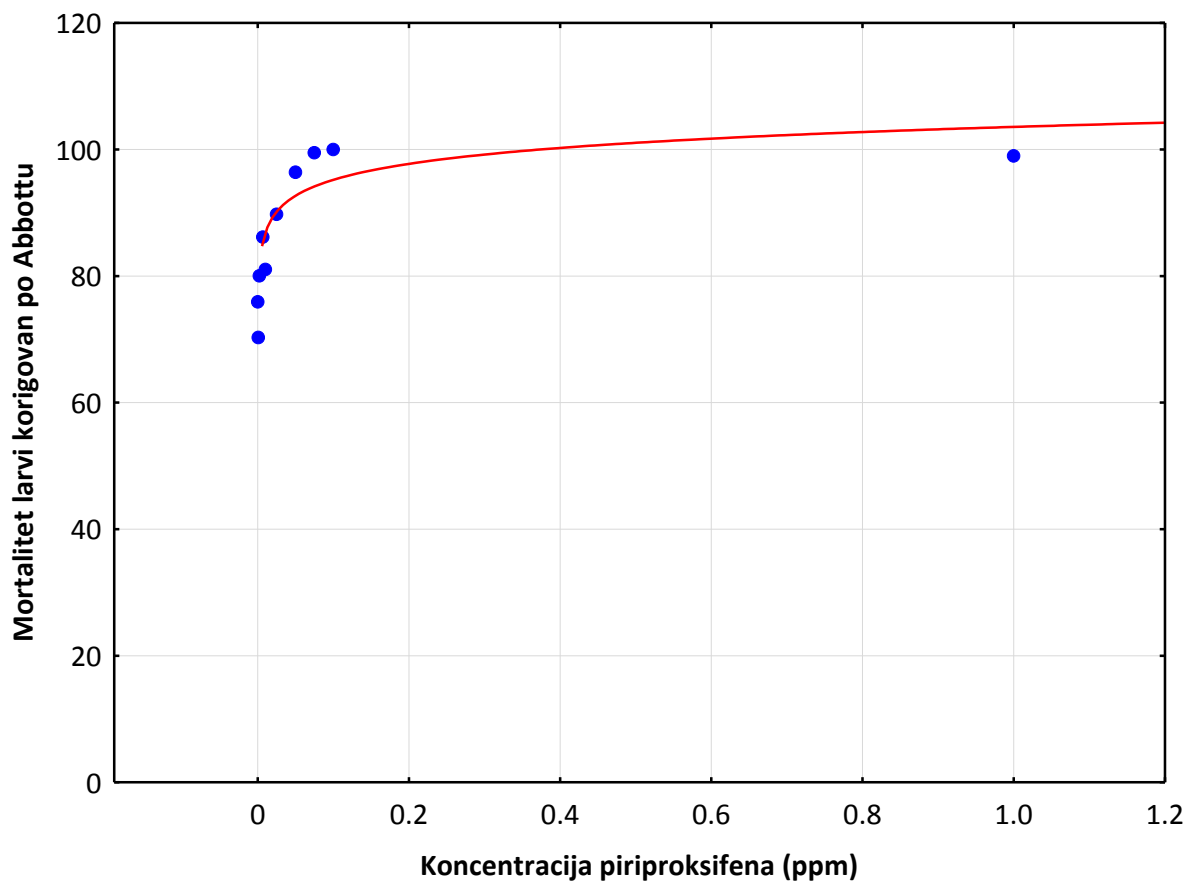
Koncentracija piriproksifena ima statistički značajan efekat na broj uginulih larvi komaraca ($p < 0.001$). Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

$$y = 98.236 + 8.622 \ln(x)$$

gde y predstavlja zavisnu varijablu (broj uginulih larvi nakon prvog dana), a x nezavisnu varijablu (koncentraciju piriproksifena). Dakle, nakon prvog dana broj uginulih larvi će se povećati za približno 9 ako se prirodni logaritam koncentracije piriproksifena poveća za 1. Iako veća koncentracija piriproksifena rezultira većim brojem uginulih larvi komaraca, u skladu s logaritamskom funkcijom, daljnje značajnije povećanje koncentracije piriproksifena neće se u tolikoj meri odraziti na broj uginulih larvi nakon prvog dana.

Modelom je objašnjeno 90.51% varijacija u broju uginulih larvi komaraca nakon prvog dana sprovođenja eksperimenta, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.951, što ukazuje na jaku povezanost broja uginulih larvi s koncentracijom piriproksifena.

Slika 49 prikazuje podatke o prosečnom broju uginulih larvi komaraca korigovanih po Abotu nakon prva dva dana izvođenja eksperimenta u zavisnosti o koncentraciji piriprosifena s pripadajućom logaritamskom funkcijom.



Slika 49. Prosečan broj uginulih larvi komaraca korigovan po Abotu nakon prva dva dana eksperimenta u zavisnosti o koncentraciji piriprosifena s logaritamskom funkcijom

Tabela 46. Analize varijance (ANOVA) za determinisani model logaritamske regresije

Izvor varijacije	Zbroj kvadrata	Stepeni slobode	Sredine kvadrata	F-omer	<i>p</i>
Protumačen modelom	824.095	1	824.095		
Rezidualna odstupanja	222.723	8	27.840	29.601	0.001
Ukupno	1046.817	9			

Statistički signifikantna vrednost empirijskog *F*-omera indicira da postoji barem jedna nezavisna varijabla koja je značajna za objašnjenje varijabiliteta zavisne varijable, odnosno da varijacije objašnjene modelom nisu slučajne.

Tabela 47. Osnovni pokazatelji regresijskog modela

	Nestandardni koeficijenti		Standardni koeficijent	<i>t</i>	<i>p</i>
	B	Standardna greška	β		
Konstanta	103.574	3.346		30.955	0.000
Koncentracija piriproksifena	3.629	0.667	0.887	5.441	0.001

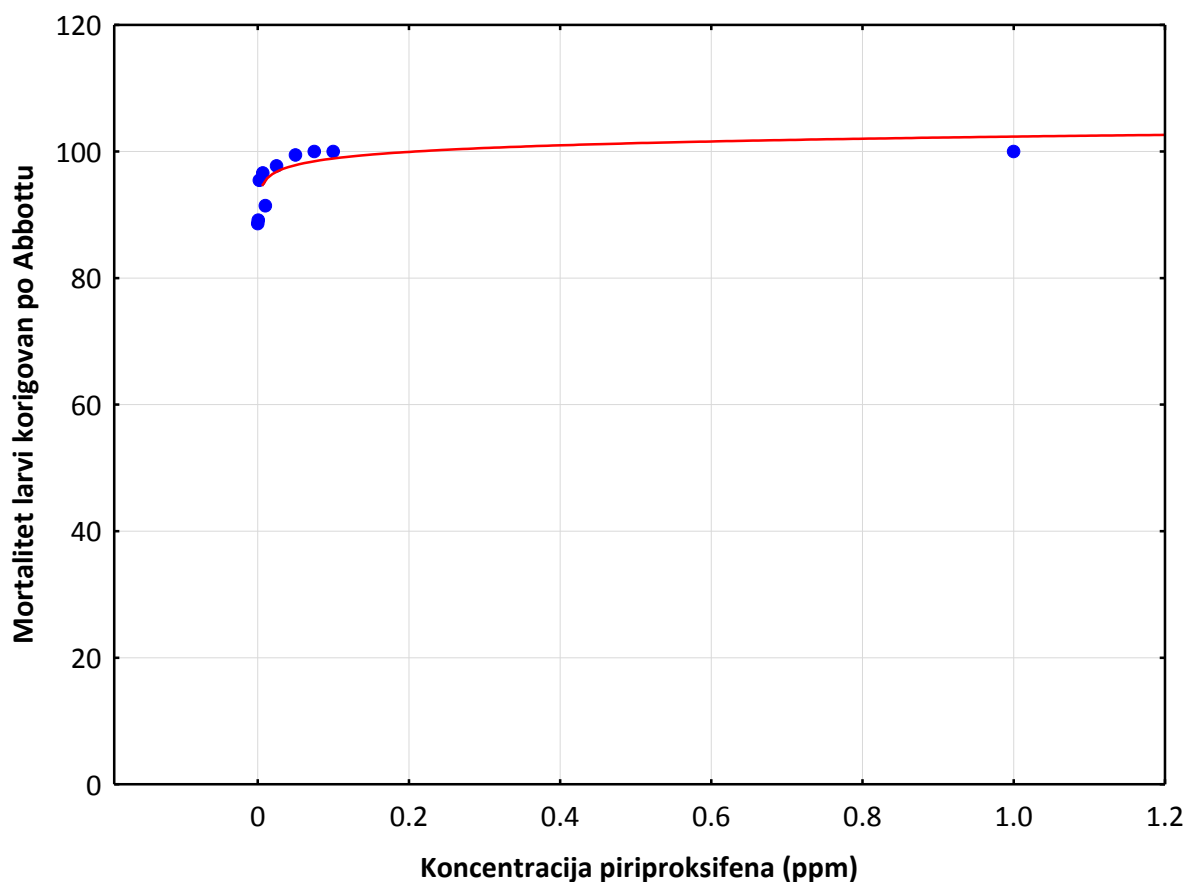
Koncentracija piriproksifena ima statistički značajan utjecaj na broj uginulih larvi komaraca ($p=0.001$). Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

$$y = 103.574 + 3.629 \ln(x)$$

gde y predstavlja zavisnu varijablu (broj uginulih larvi nakon prva dva dana), a x nezavisnu varijablu (koncentraciju piriproksifena). Dakle, nakon prva dva dana broj uginulih larvi će se povećati za približno 4 ako se prirodni logaritam koncentracije piriproksifena poveća za 1.

Modelom je objašnjeno 78.72% varijacija u broju uginulih larvi komaraca nakon prva dva dana sprovođenja eksperimenta, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.887, što ukazuje na jaku povezanost broja uginulih larvi s koncentracijom piriproksifena.

Slika 50 prikazuje podatke o prosečnom broju uginulih larvi komaraca korigovanih po Abottu nakon prva tri dana izvođenja eksperimenta u zavisnosti o koncentraciji piriprosifena s pripadajućom logaritamskom funkcijom.



Slika 50. Prosečan broj uginulih larvi komaraca korigovan po Abbottu nakon prva tri dana eksperimenta u zavisnosti o koncentraciji piriprosifena s logaritamskom funkcijom

Tabela 48. Analize varijance (ANOVA) za determinisani model logaritamske regresije

Izvor varijacije	Zbroj kvadrata	Stepeni slobode	Sredine kvadrata	<i>F</i> -omer	<i>p</i>
Protumačen modelom	141.073	1	141.073	25.013	0.001
Rezidualna odstupanja	45.119	8	5.640		
Ukupno	186.192	9			

Statistički signifikantna vrednost empirijskog *F*-omera indicira da postoji barem jedna nezavisna varijabla koja je značajna za objašnjenje varijabiliteta zavisne varijable, odnosno da varijacije objašnjene modelom nisu slučajne.

Tablica 49. Osnovni pokazatelji regresijskog modela

	Nestandardni koeficijenti		Standardni koeficijent	<i>t</i>	<i>p</i>
	B	Standardna greška	β		
Konstanta	102.357	1.506		67.966	0.000
Koncentracija piriproksifena	1.502	0.300	0.870	5.001	0.001

Koncentracija piriproksifena ima statistički značajan efekat na broj uginulih larvi komaraca ($p=0.001$). Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

$$y = 102.357 + 1.502 \ln(x)$$

gde y predstavlja zavisnu varijablu (broj uginulih larvi nakon prva tri dana), a x nezavisnu varijablu (koncentraciju piriproksifena). Dakle, nakon prva tri dana broj uginulih larvi će se povećati za približno 2 ako se prirodni logaritam koncentracije piriproksifena poveća za 1.

Modelom je objašnjeno 75.77% varijacija u broju uginulih larvi komaraca nakon prva dva dana provođenja eksperimenta, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.87, što ukazuje na jaku povezanost broja uginulih larvi s koncentracijom piriproksifena.

Tablica 50. Prosečni rangovi za kontrolnu skupinu i svaku koncentraciju piriproksifena izračunatu na osnovu podataka o broju uginulih larvi komaraca nakon prvog dana

Koncentracija (ppm)	Prosečni rangovi
Kontrolni uzorci	20.50
0.0001	52.05
0.001	52.50
0.002	73.25
0.007	74.20
0.01	83.10
0.025	93.05
0.05	116.40
0.075	118.05
0.1	110.05
1	132.35

Prosečni rangovi takođe indiciraju da je značajniji efekat piriproksifena ostvaren pri korišćenju većih koncentracija. Prema Kruskal-Wallisovom testu postoje najmanje dve koncentracije piriproksifena, uključujući kontrolne uzorke, koje se s obzirom na efekat (broj uginulih larvi komaraca nakon prvog dana eksperimenta) statistički značajno razlikuju ($H=131.675$, $p<0.001$). Kako bi se determinisale koncentracije između kojih postoji statistički značajna razlika izvedene su višestruke usporedbe prosečnih rangova. Tablica 51 sadrži izračunate vrednosti testovnih veličina i pripadajućeg nivoa signifikantnosti.

Tablica 51. Rezultati višestrukog poređenja prosečnih rangova između svih koncentracija

		Kon- trola	0.0001	0.001	0.002	0.007	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1	1
Kon- trola	<i>z</i>											
	<i>p</i>											
0.0001	<i>z</i>	2.200										
	<i>p</i>	1.000										
0.001	<i>z</i>	2.232	0.025									
	<i>p</i>	1.000	1.000									
0.002	<i>z</i>	3.679	1.169	1.144								
	<i>p</i>	0.013	1.000	1.000								
0.007	<i>z</i>	3.745	1.221	1.196	0.052							
	<i>p</i>	0.010	1.000	1.000	1.000							
0.01	<i>z</i>	4.366	1.712	1.687	0.543	0.491						
	<i>p</i>	0.001	1.000	1.000	1.000	1.000						
0.025	<i>z</i>	5.059	2.260	2.236	1.092	1.039	0.549					
	<i>p</i>	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000					
0.05	<i>z</i>	6.688	3.548	3.523	2.379	2.327	1.836	1.287				
	<i>p</i>	0.000	0.021	0.023	0.955	1.000	1.000	1.000				
0.075	<i>z</i>	6.803	3.639	3.614	2.470	2.418	1.927	1.378	0.091			
	<i>p</i>	0.000	0.015	0.017	0.743	0.859	1.000	1.000	1.000			
0.1	<i>z</i>	6.245	3.198	3.173	2.029	1.976	1.486	0.937	0.350	0.441		
	<i>p</i>	0.000	0.076	0.083	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000		
1	<i>z</i>	7.800	4.427	4.402	3.258	3.206	2.715	2.167	0.879	0.788	1.229	
	<i>p</i>	0.000	0.001	0.001	0.062	0.074	0.364	1.000	1.000	1.000	1.000	

Sivo su markirane vrednosti testovnih veličina i nivoa signifikantnosti su za parove koncentracija između kojih je potvrđeno postojanje statistički značajnih razlika s obzirom na efekat piriproksifena. U skladu sa ranijim zaključcima, vidljivo je da između nižih nivoa koncentracija, do uključujući 0.025 ppm, kao i između viših nivoa koncentracija nema značajnih razlika. No, statistički značajne razlike su u velikoj meri potvrđene između uzoraka

sa većim i manjim koncentracijama piriproksifena, kao i između kontrolnih uzoraka i uzoraka sa većim i manjim koncentracijama piriproksifena. Dakle, povećanje koncentracije piriproksifena iznad 0.05 ppm nije kao rezultat imalo značajno povećan mortalitet larvi komaraca nakon prvog dana sprovođenja eksperimenta.

Tabela 52. Prosečni rangovi za kontrolnu grupu i svaku koncentraciju piriproksifena izračunatu na osnovu podataka o broju uginulih larvi komaraca nakon prva dva dana

Koncentracija (ppm)	Prosečni rangovi
Kontrolni uzorci	20.50
0.0001	65.25
0.001	52.95
0.002	67.70
0.007	82.05
0.01	78.05
0.025	90.75
0.05	110.80
0.075	119.15
0.1	121.50
1	116.80

Prosečni rangovi izračunati na osnovu podataka o ukupnom broju uginulih larvi komaraca nakon dva dana eksperimenta takođe ukazuju da je značajniji efekat piriproksifena ostvaren pri korišćenju većih koncentracija. Prema Kruskal-Wallisovom testu postoje najmanje dve koncentracije piriproksifena, uključujući kontrolne uzorke, koje se s obzirom na efekat (ukupan broj uginulih larvi komaraca nakon dva dana eksperimenta) statistički značajno razlikuju ($H = 124.94$, $p < 0.001$).

Tabela 53. Rezultati višestrukog poređenja prosečnih rangova između svih koncentracija

		Kon- trola	0.0001	0.001	0.002	0.007	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1	1
Kon- trola	<i>z</i>											
	<i>p</i>											
0.0001	<i>z</i>	3.121										
	<i>p</i>	0.099										
0.001	<i>z</i>	2.263	0.678									
	<i>p</i>	1.000	1.000									
0.002	<i>z</i>	3.292	0.135	0.813								
	<i>p</i>	0.055	1.000	1.000								
0.007	<i>z</i>	4.292	0.926	1.604	0.791							
	<i>p</i>	0.001	1.000	1.000	1.000							
0.01	<i>z</i>	4.013	0.706	1.384	0.571	0.221						
	<i>p</i>	0.003	1.000	1.000	1.000	1.000						
0.025	<i>z</i>	4.899	1.406	2.084	1.271	0.480	0.700					
	<i>p</i>	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000					
0.05	<i>z</i>	6.297	2.511	3.189	2.376	1.585	1.806	1.105				
	<i>p</i>	0.000	0.662	0.078	0.962	1.000	1.000	1.000				
0.075	<i>z</i>	6.880	2.972	3.650	2.837	2.045	2.266	1.566	0.460			
	<i>p</i>	0.000	0.163	0.014	0.251	1.000	1.000	1.000	1.000			
0.1	<i>z</i>	7.043	3.101	3.779	2.966	2.175	2.395	1.695	0.590	0.130		
	<i>p</i>	0.000	0.106	0.009	0.166	1.000	0.913	1.000	1.000	1.000	1.000	
1	<i>z</i>	6.716	2.842	3.520	2.707	1.916	2.136	1.436	0.331	0.130	0.259	
	<i>p</i>	0.000	0.247	0.024	0.373	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Nakon drugog dana eksperimenta vidljivo je da između nižih nivoa koncentracija, do uključujući 0.05 ppm, kao i između viših nivoa koncentracija nema značajnih razlika, dok su one u velikoj meri potvrđene između uzoraka s većim i manjim koncentracijama piriprosifena.

Tabela 54. Prosečni rangovi za kontrolnu grupu i svaku koncentraciju piriproksifena izračunatu na osnovu podataka o broju uginulih larvi komaraca nakon prva tri dana

Koncentracija (ppm)	Prosečni rangovi
Kontrolni uzorci	20.50
0.0001	69.65
0.001	61.65
0.002	85.00
0.007	87.15
0.01	76.40
0.025	95.15
0.05	104.50
0.075	108.50
0.1	108.50
1	108.50

Prosečni rangovi ukazuju na smanjenje razlika u broju uginulih larvi u uzorcima s nižim i višim koncentracijama piriproksifena, što je i očekivano, budući da u uzorcima s većim koncentracijama piriproksifena već u prva dva dana uginule gotovo sve larve komaraca. Istovremeno je nastavljeno ugibanje larvi u uzorcima s manjim koncentracijama piriproksifena. Prema Kruskal-Wallisovom testu postoje najmanje dve koncentracije piriproksifena, uključujući kontrolne uzorke, koje se s obzirom na efekat (ukupan broj uginulih larvi komaraca nakon tri dana eksperimenta) statistički značajno razlikuju ($H=86.003$, $p<0.001$).

Tabela 55. Rezultati višestrukog poređenja prosečnih rangova između svih koncentracija

		Kon- trola	0.0001	0.001	0.002	0.007	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1	1
Kon- trola	<i>z</i>											
	<i>p</i>											
0.0001	<i>z</i>	3.428										
	<i>p</i>	0.033										
0.001	<i>z</i>	2.870	0.441									
	<i>p</i>	0.226	1.000									
0.002	<i>z</i>	4.498	0.846	1.287								
	<i>p</i>	0.000	1.000	1.000								
0.007	<i>z</i>	4.648	0.965	1.406	0.119							
	<i>p</i>	0.000	1.000	1.000	1.000							
0.01	<i>z</i>	3.898	0.372	0.813	0.474	0.593						
	<i>p</i>	0.005	1.000	1.000	1.000	1.000						
0.025	<i>z</i>	5.206	1.406	1.847	0.560	0.441	1.034					
	<i>p</i>	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000					
0.05	<i>z</i>	5.858	1.921	2.362	1.075	0.957	1.549	0.515				
	<i>p</i>	0.000	1.000	0.999	1.000	1.000	1.000	1.000				
0.075	<i>z</i>	6.137	2.142	2.583	1.296	1.177	1.770	0.736	0.221			
	<i>p</i>	0.000	1.000	0.539	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000		
0.1	<i>z</i>	6.137	2.142	2.583	1.296	1.177	1.770	0.736	0.221	0.000		
	<i>p</i>	0.000	1.000	0.539	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
1	<i>z</i>	6.137	2.142	2.583	1.296	1.177	1.770	0.736	0.221	0.000	0.000	
	<i>p</i>	0.000	1.000	0.539	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Nakon tri dana sprovođenja eksperimenta statistički su značajne razlike potvrđene jedino između kontrolnog uzoraka sa uzorcima svih ispitivanih koncentracija piriproksifena.

7.3. ANALIZA EFEKTA PIRIPROKSIFENA NA JAJA

Ispitivanje efekta piriproksifena na jaja rađeno je na reprezentativnim jajnim leglima (oko 30-60 jaja po jednom leglu) koje su položile nenahranjene ženke. Jaja su prebačena u plastične posude sa 200 ml kondicionirane vode i različitim koncentracijama piriproksifena. Koncentracije piriproksifena korišćene tokom ovog eksperimenta su bile, kao i kod utvrđivanja delovanja na larve/lutke: 0.0001 ppm, 0.001 ppm, 0.002 ppm, 0.007 ppm, 0.01 ppm, 0.025 ppm, 0.05 ppm, 0.075 ppm, 0.1 ppm i 1 ppm. Navedene koncentracije ispitivale su se kroz četiri ponavljanja za istu koncentraciju piriproksifena i postavljene su istovremeno, kao i četiri posude s jajnim leglima, koje su služile kao kontrolni uzorci, jer se u njihovom vodenom mediju nije nalazio piriproksifen. Ovako postavljen eksperiment ponavljen je tri puta. Posmatranje eksponiranih jajnih legala obavljeno je u periodu od tri dana. Nakon trećeg dana jajna legla su prebačena na filter hartiju, a zatim je pod binokularnom lupom utvrđen tačan broj eklodiranih, odnosno neekoldiranih jaja u svakom jajnom leglu.

Tabela 56. Efekat analiziranih koncentracija piriproksifena na jaja

Koncentracija (ppm)	Prvo ponavljanje			Drugo ponavljanje			Treće ponavljanje			Sva ponavljanja zajedno		
	Broj zatvorenih jaja	Broj otvorenih jaja	Ukupno	Broj zatvorenih jaja	Broj otvorenih jaja	Ukupno	Broj zatvorenih jaja	Broj otvorenih jaja	Ukupno	Broj zatvorenih jaja	Broj otvorenih jaja	Ukupno
0.0001	6	125	131	9	136	145	8	111	119	23	372	395
0.001	6	128	134	8	161	169	8	125	133	22	414	436
0.002	8	147	155	8	152	160	7	138	145	23	437	460
0.007	9	164	173	8	142	150	7	150	157	24	456	480
0.01	10	149	159	10	154	164	7	136	143	27	439	466
0.025	11	142	153	9	163	172	6	151	157	26	456	482
0.05	12	160	172	11	158	169	9	149	158	32	467	499
0.075	12	162	174	16	155	171	12	136	148	40	453	493
0.1	12	129	141	12	141	153	10	147	157	34	417	451
1	18	143	161	21	113	134	17	165	182	56	421	477
Kontrola	3	196	199	2	156	158	4	151	155	9	503	512

Primećuje se tendencija povećanja procenta zatvorenih jaja sa povećanjem koncentracije piriproksifena. Kako bi se ispitalo da li je koncentracija piriproksifena statistički značajno povezana sa brojem zatvorenih, odnosno otvorenih jaja primenjen je hi-kvadrat test. Prema hi-kvadrat testu između koncentracije piriproksifena i zastupljenosti zatvorenih, odnosno otvorenih jaja postoji statistički značajna zavisnost ($\chi^2 = 30.497, p < 0.001$).

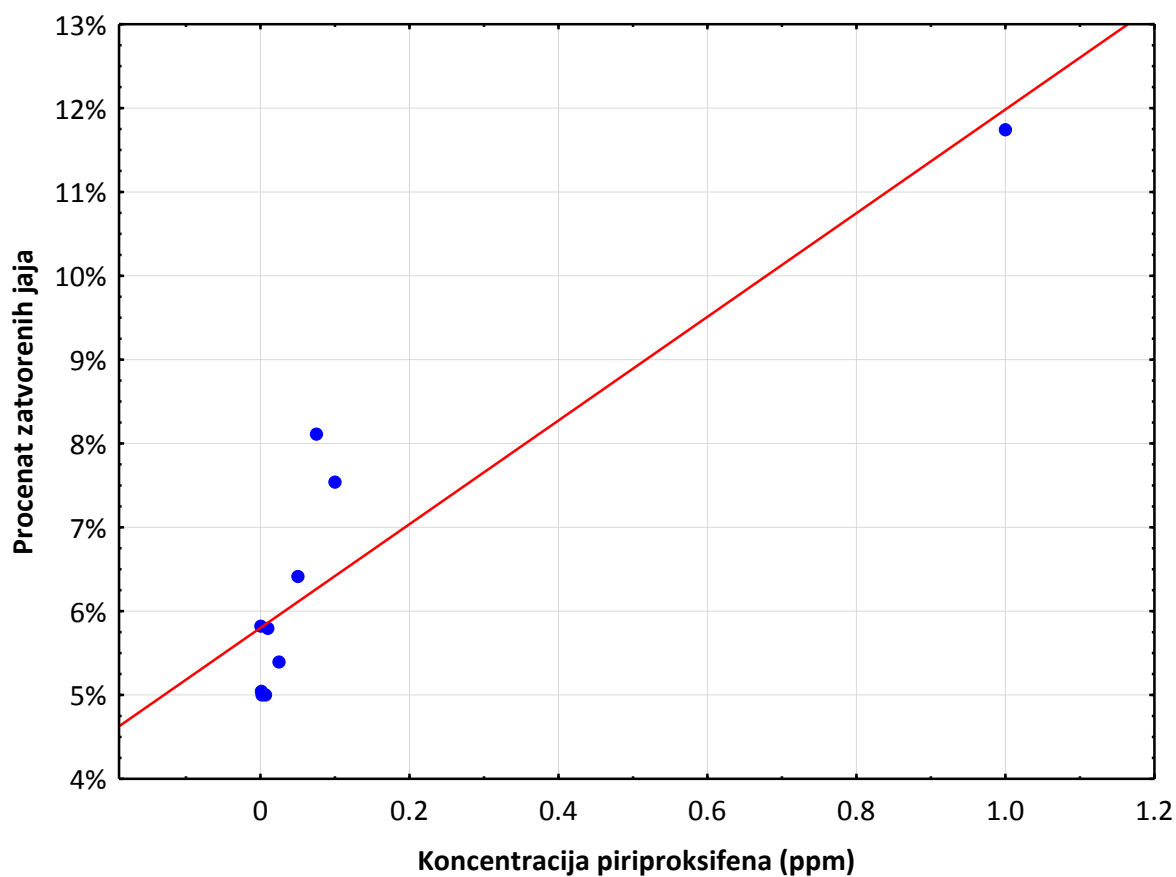
Da bi se utvrdio stepen statistički značajnih razlika između zatvorenih jaja u odnosu na primenjenu koncentraciju piriproksifene testirane su hipoteze o jednakosti proporcija dvaju osnovnih grupa. Rezultati testiranja navedeni su u tabeli 57.

Tabela 57. Analiza razlika u proporcijama zatvorenih jaja sa obzirom na koncentracije piriproksifena

		0.0001	0.001	0.002	0.007	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1	1
Kontrola	<i>z</i>	-3.759	-3.251	-3.246	-3.270	-3.844	-3.573	-4.317	-5.388	-4.979	-7.305
	<i>p</i>	0.000	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.0001	<i>z</i>										
	<i>p</i>										
0.001	<i>z</i>	-0.494									
	<i>p</i>	0.621									
0.002	<i>z</i>	-0.532	-0.031								
	<i>p</i>	0.595	0.975								
0.007	<i>z</i>	-0.537	-0.032	0.000							
	<i>p</i>	0.591	0.975	1.000							
0.01	<i>z</i>	-0.018	0.495	0.535	0.541						
	<i>p</i>	0.986	0.620	0.593	0.589						
0.025	<i>z</i>	-0.275	0.237	0.272	0.275	-0.268					
	<i>p</i>	0.783	0.813	0.785	0.783	0.789					
0.05	<i>z</i>	0.365	0.894	0.940	0.952	0.401	0.676				
	<i>p</i>	0.715	0.371	0.347	0.341	0.688	0.499				
0.075	<i>z</i>	1.321	1.870	1.933	1.959	1.408	1.690	1.032			
	<i>p</i>	0.186	0.062	0.053	0.050	0.159	0.091	0.302			
0.1	<i>z</i>	0.993	1.526	1.582	1.602	1.060	1.334	0.682	-0.328		
	<i>p</i>	0.321	0.127	0.114	0.109	0.289	0.182	0.495	0.743		
1	<i>z</i>	3.030	3.614	3.712	3.767	3.222	3.514	2.905	1.891	2.162	
	<i>p</i>	0.002	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.004	0.059	0.031	

Rezultati testiranja pokazuju da su sve razlike u proporcijama zatvorenih jaja bez delovanja piriproksifena i uz delovanje analiziranih koncentracija piriproksifena statistički značajne. Rezultati testiranja pokazuju da su, sa jednim izuzetkom, statistički značajne sve razlike u proporcijama zatvorenih jaja pri najvećoj analiziranoj koncentraciji u odnosu na manje koncentracije piriproksifena.

Da bi se ispitaio efekat piriproksifena na broj zatvorenih jaja provedena je linearna regresijska analiza. Slika 51 prikazuje podatke o procentu zatvorenih jaja u zavisnosti o koncentraciji piriproksifena sa pripadajućom linearnom funkcijom.



Slika 51. Procenat zatvorenih jaja u zavisnosti od koncentracije piriproksifena sa linearnom funkcijom

Tabela 58. Prikaz analize varijance (ANOVA) za determinisani model logaritamske regresije

Izvor varijacije	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredine kvadrata	<i>F</i> -odnos	<i>p</i>
Protumačen modelom	32.771	1	32.771	36.941	0.000
Rezidualna odstupanja	7.097	8	0.887		
Ukupno	39.868	9			

Statistički signifikantna vrednost empirijskog *F*-odnosa indicira da postoji barem jedna nezavisna varijabla koja je značajna za objašnjenje varijabiliteta zavisne varijable, odnosno da varijacije objašnjene modelom nisu slučajne.

Tabela 59. Osnovni pokazatelji regresijskog modela

	Nestandardni koeficijenti		Standardni koeficijent	<i>t</i>	<i>p</i>
	B	Standardna greška	β		
Konstanta	5.801	0.325		17.868	0.000
Koncentracija piriprosifena	6.182	1.017	0.907	6.078	0.000

Koncentracija piriprosifena ima statistički značajan efekat na broj zatvorenih jaja ($p < 0.001$). Jednačina modela u ovom slučaju glasi:

$$y = 5.801 + 6.182x,$$

gde *y* predstavlja zavisnu varijablu (procenat zatvorenih jaja), a *x* nezavisnu varijablu (koncentraciju piriprosifena). Dakle, povećanje koncentracija piriprosifena za 1 ppm rezultiraće porastom procenta zatvorenih jaja za 6.182.

Modelom je objašnjeno 82.2% varijacija u procentu zatvorenih jaja, odnosno koeficijent korelacije iznosi 0.907, što ukazuje na jaku povezanost procenta zatvorenih jaja sa koncentracijom piriprosifena.

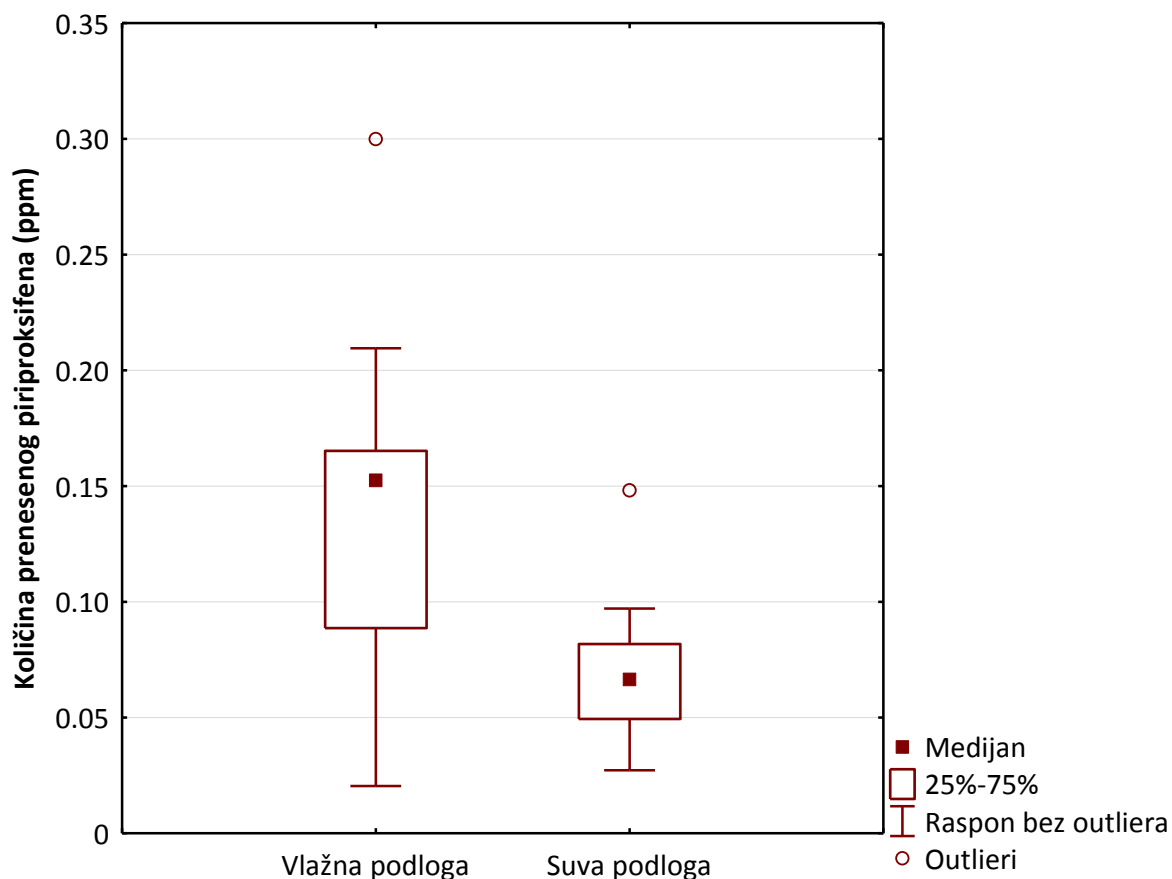
7.4. HORIZONTALNI TRANSFER PIRIPROKSIFENA

Horizontalni transfer piriproksifena radio se uz pomoć WHO kaveza u kojem se nalazila vlažna filter hartija natopljena rastvorom piriproksifena u koncentraciji od 1 ppm. Ženka je u WHO kavezu provela 10 minuta na vlažnoj filter hartiji, a zatim je prebačena u kavez (30x30x30 cm) u kojem se nalazila posuda sa 100 ml čiste vode (koja je služila kao potencijalno mesto za polaganje jaja i transfer piriproksifena) i posuda sa 10% rastvorom šećera (hrana). Nakon toga, očekivala se ovipozicija i transfer piriproksifena na vodenu površinu navedene zapremine. Kada je ženka položila jajno leglo, jaja iz legla su registrovana uz pomoć binokularne lupe i uzet je uzorak vode, koji je dalje obrađen pomoću HPLC-DAD metode, kako bi se utvrdilo prisustvo piriproksifena. Po istom principu, eksperiment je ponovljen sa 50 ženki pojedinačno za svaku, kako bi se što tačnije mogla odrediti koncentracija prenesenog piriproksifena sa vlažne podloge u horizontalnom transferu. Eksperiment je po istom principu napravljen i sa transportom piriproksifena sa suve filter hartije koja je prethodno bila potopljena u koncentraciju piriproksifena od 1 ppm, osušena i postavljena u WHO kavez odakle je služila kao suva podloga za horizontalni transfer piriproksifena.

Tabela 60. Deskriptivni statistički pokazatelji za količinu piriproksifena koju su prenele ženke komaraca sa vlažne i suve podloge natopljene sa 1 ppm piriproksifena

Statistički pokazatelj	Vlažna podloga	Suva podloga
Broj komaraca	50	50
Aritmetička sredina	0.13	0.07
Medijan	0.15	0.07
Minimalna vrednost	0.02	0.03
Maksimalna vrednost	0.30	0.15
Raspon varijacije	0.28	0.12
Donji kvartil	0.09	0.05
Gornji kvartil	0.17	0.08
Interkvartil	0.08	0.03
Standardna devijacija	0.06	0.02
Koeficijent varijacije	42.15	30.90

Po rezultatima analiza dobijenih nakon statističke obrade konstatovano je da su ženke komaraca sa vlažne podloge prosečno preneli 0.13 ppm piriproksifena, sa standardnom devijacijom 0.06 ppm. Sa suve podloge svi eksponirani adulti ovom tipu tretmana su prosečno preneli 0.07 ppm piriproksifena, sa standardnom devijacijom 0.02 ppm. Da bi se proverilo jesu li razlike u prosečnim količinama prenesenog piriproksifena sa vlažne i suve podloge statistički značajne primenjen je t-test. Prema t-testu prihvata se hipoteza da su razlike u prosečnim količinama prenesenog piriproksifena sa vlažne i suve podloge statistički značajne ($t=7.584$, $p < 0.001$). Kada su odrasle forme bile izložene vlažnoj podlozi, polovina komaraca je prenela 0.15 ppm piriproksifena ili manje, a druga polovina 0.15 ppm piriproksifena ili više. Medijan za grupu komaraca koji su prenosili piriproksifen sa suve podloge iznosi 0.07. Eksponirane ženke su sa vlažne podloge preneli najmanje 0.02, a najviše 0.3 ppm piriproksifena. Utvrđen aspon varijacije je 0.28 ppm. Eksponirane ženke komaraca su sa suve podloge prenele najmanje 0.03, a najviše 0.15 ppm piriproksifena. Na osnovu toga, raspon varijacije za tu grupu iznosi 0.12 ppm. Prema donjem kvartilu, 25% komaraca je sa vlažne podloge prenelo 0.09 ppm piriproksifena ili manje, dok je prema gornjem kvartilu 25% komaraca prenelo 0.17 ppm piriproksifena ili više. Dakle, vrednost interkvartila za tu grupu je 0.08 ppm. Donji i gornji kvartil kao i interkvartil u slučaju druge grupe iznose 0.05 ppm, 0.08 ppm i 0.03 ppm respektivno. Koeficijenti varijacije ukazuju na veću varijabilnost u količinama prenesenog piriproksifena sa vlažne podloge.



Slika 52. Box and Whisker Plot dijagrami za količinu prenesenog piriprosifena sa vlažne i suve podloge

Svaka od analiziranih distribucija ima po jednu ekstremnu vrednost.

Tabela 61 sadrži rezultate intervalnih procena aritmetičkih sredina za količine prenesenog piriprosifena sa vlažne i suve podloge koje su determinisane sa 95% pouzdanosti.

Tabela 61. Rezultati intervalnih procena aritmetičkih sredina za količine prenesenog piriproksifena sa vlažne i suve podloge

Podloga	Aritmetička sredina	Standardna greška procene	Interval procene	
			Donja granica	Gornja granica
Vlažna podloga	0.133	0.008	0.117	0.149
Suva podloga	0.068	0.003	0.062	0.074

Sa 95% pouzdanosti može se očekivati da će eksponirane ženke komaraca sa vlažne podloge natopljene sa 1 ppm piriproksifena preneti više od 0.117 ppm, a manje od 0.147 ppm piriproksifena. Sa istim nivoom poverenja, očekuje se da će eksponirane ženke komaraca komarci sa suve podloge natopljene s 1 ppm piriproksifena preneti više od 0.062 ppm, a manje od 0.074 ppm piriproksifena.

7.5. ANALIZA EFEKTA PIRIPROKSIFENA NA PLODNOST I FEKUNDITET ŽENKI

Od 50 ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj podlozi 17 je položilo jajna legla. Od 50 ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na suvoj podlozi 24 je položilo jajna legla. Svaka od ženki u obe grupe položila je po jedno autogeno jajno leglo, a zatim nisu dodatno hranjene. Svih 20 ženki iz kontrole položilo je po jedno autogeno jajno leglo.

Tabela 62. Ukupan broj i procenat ženki koje jesu i koje nisu položile jajna legla nakon što su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi, s podacima za ženke kontrole

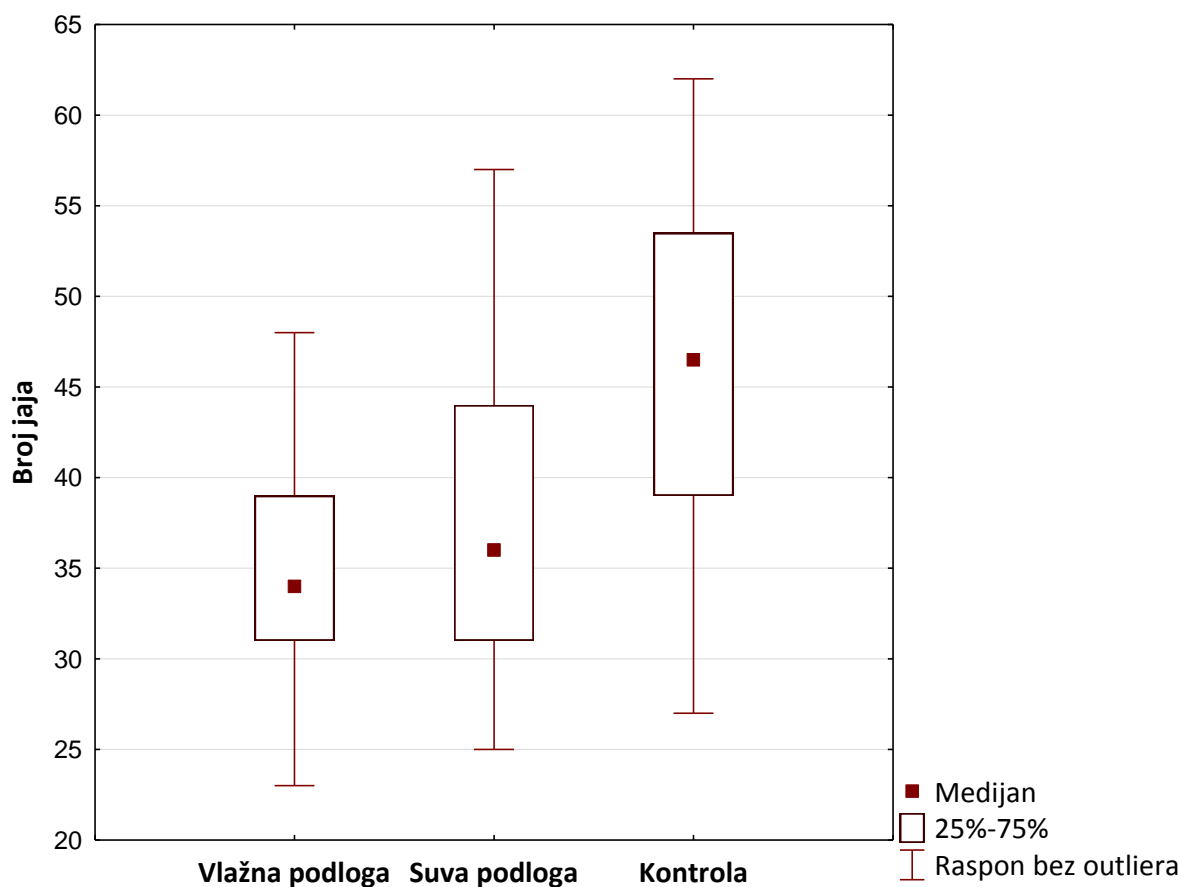
Koncentracija	Broj ženki koje su položile jajna legla	Broj ženki koje nisu položile jajna legla	Ukupno
Vlažna podloga	17 (34.0%)	33 (66.0%)	50 (100.0%)
Suva podloga	24 (48.0%)	26 (52.0%)	50 (100.0%)
Kontrola	20 (100.0%)	0 (0.0%)	20 (100.0%)

Prema hi-kvadrat testu između broja ženki koje su i koje nisu položile jajna legla te eksponiranosti koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi, odnosno ženki kontrole, utvrđeno je postojanje statistički značajne zavisnosti ($\chi^2 = 25.174$, $p < 0.001$).

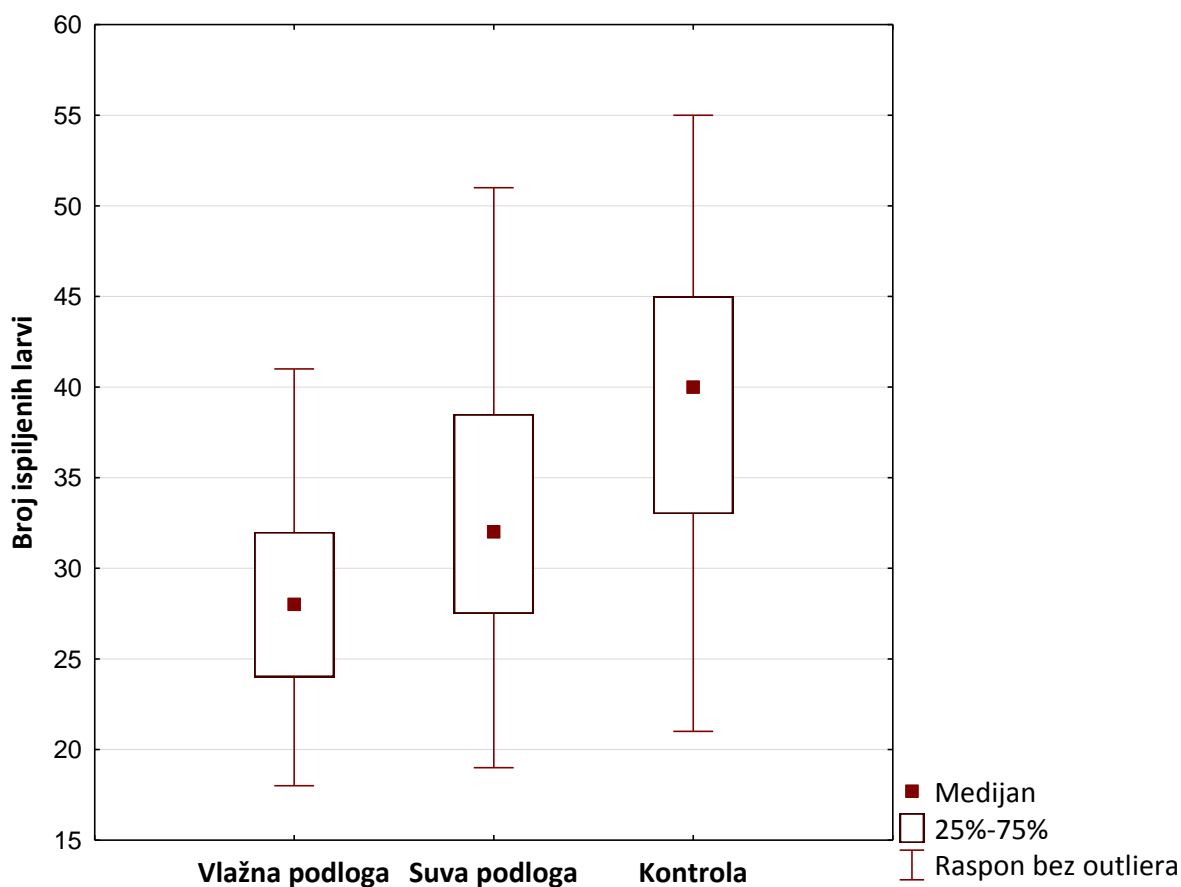
Tabela 63 sadrži deskriptivne statističke pokazatelje za broj jaja i broj ispiljenih larvi ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi, sa rezultatima za ženke iz kontrole.

Tabela 63. Deskriptivni statistički pokazatelji za broj jaja i broj ispiljenih larvi ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi, sa rezultatima za ženke iz kontrole

Statistički pokazatelj	Vlažna podloga		Suva podloga		Kontrola	
	Broj jaja	Broj ispiljenih larvi	Broj jaja	Broj ispiljenih larvi	Broj jaja	Broj ispiljenih larvi
Broj podataka	17	17	24	24	20	20
Aritmetička sredina	34.82	28.71	37.71	33.33	46.05	39.30
Medijan	34.00	28.00	36.00	32.00	46.50	40.00
Minimalna vrednost	23.00	18.00	25.00	19.00	27.00	21.00
Maksimalna vrednost	48.00	41.00	57.00	51.00	62.00	55.00
Raspon varijacije	25.00	23.00	32.00	32.00	35.00	34.00
Donji kvartil	31.00	24.00	31.00	27.50	39.00	33.00
Gornji kvartil	39.00	32.00	44.00	38.50	53.50	45.00
Interkvartil	8.00	8.00	13.00	11.00	14.50	12.00
Standardna devijacija	6.62	6.34	8.93	8.93	9.47	8.92
Koeficijent varijacije	19.00	22.09	23.69	26.80	20.57	22.70



Slika 53. Box and Whisker Plot dijagrami za broj jaja ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi, sa kontrolom



Slika 54. Box and Whisker Plot dijagrami za broj ispiljenih larvi ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi, sa kontrolom

U tabeli 64 navedeni su rezultati intervalnih procena aritmetičkih sredina za broj jaja i broj ispiljenih larvi iz jaja ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi, sa rezultatima za ženke kontrole. Intervali procene determinisani su sa 95% pouzdanosti.

Tabela 64. Rezultati intervalnih procena aritmetičkih sredina za broj jaja i ispiljenih larvi ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi, sa rezultatima za ženke kontrole

		Aritmetička sredina	Standardna greška procene	Interval procene	
				Donja granica	Gornja granica
Vlažna podloga	Broj jaja	34.824	1.605	31.422	38.225
	Broj ispiljenih larvi	28.706	1.538	25.445	31.967
Suva podloga	Broj jaja	37.708	1.823	33.937	41.480
	Broj ispiljenih larvi	33.333	1.823	29.561	37.105
Kontrola	Broj jaja	46.050	2.118	41.617	50.483
	Broj ispiljenih larvi	39.300	1.995	35.125	43.475

Da bi se proverilo jesu li razlike u prosečnom broju jaja i prosečnom broju ispiljenih larvi ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi, kao i kontrolne grupe, statistički značajne primenjen je t-test.

Tabela 65. Analiza razlika u prosečnom broju jaja (rezultati t-testa)

		Vlažna podloga	Suva podloga	Kontrola
Vlažna podloga	<i>t</i>			
	<i>p</i>			
Suva podloga	<i>t</i>	-1.129		
	<i>p</i>	0.266		
Kontrola	<i>t</i>	-4.105	-3.001	
	<i>p</i>	0.000	0.005	

Tabela 66. Analiza razlika u prosečnom broju ispiljenih larvi (rezultati t-testa)

		Vlažna podloga	Suva podloga	Kontrola
Vlažna podloga	<i>t</i>			
	<i>p</i>			
Suva podloga	<i>t</i>	-1.831		
	<i>p</i>	0.075		
Kontrola	<i>t</i>	-4.092	-2.207	
	<i>p</i>	0.000	0.033	

Ženke koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj podlozi položile su ukupno 592 jaja, a iz njih se ispililo 488 larvi (82.4%). Ženke koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na suhoj podlozi položile su ukupno 905 jaja, a iz njih se ispililo 800 larvi (88.4%). Rezultati testiranja pokazuju da su razlike u proporcijama ispiljenih larvi iz položenih jaja ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj i suvoj podlozi nisu statistički značajne ($z=-3.256$, $p=0.001$).

Ženke koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj podlozi položile su ukupno 592 jaja, a iz njih se ispililo 488 larvi (82.4%). Ženke iz kontrole su ukupno položile 921 jaja, a iz njih se ispililo 786 larvi (85.3%). Rezultati testiranja pokazuju da razlike u proporcijama ispiljenih larvi iz položenih jaja ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na vlažnoj podlozi i ženki iz kontrolne grupe nisu statistički značajne ($z=-1.514$, $p=0.130$).

Ženke koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na suvoj podlozi položile su ukupno 905 jaja, a iz njih se ispililo 800 larvi (88.4%). Ženke iz kontrole su ukupno položile 921 jaja, a iz njih se ispililo 786 larvi (85.3%). Rezultati testiranja pokazuju da razlike u proporcijama ispiljenih larvi iz položenih jaja ženki koje su bile eksponirane koncentraciji od 1 ppm piriproksifena na suvoj podlozi i ženki iz kontrolne skupine nisu statistički značajne ($z=1.932$, $p=0.053$).

8. DISKUSIJA

Velika prednost PPF naspram drugih larvicida ogleda se u ekstremno niskoj toksičnosti za ljude (WHO, 2002). Pri malim dozama (koncentracijama) PPF ima veliku efikasnost u kontroli larvi komaraca (Yapabandara i sar., 2001; Yapabandara i sar., 2002), a njegova perzistentnost u velikom broju različitih tipova vodenih staništa (Vythilingam i sar., 2005) predstavlja njegovu značajnu karakteristiku, koja dalje pruža mogućnost smanjenja broja tretmana u staništima larvi komaraca.

Analize istraživanja efekta PPF na larve vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, u okviru eksperimenata čiji su rezultati prezentirani u ovom radu, pokazala su da delovanjem niže koncentracije PPF na larve komaraca kao rezultat imaće mortalitet larvi u kroz duži vremeski period, za razliku od viših koncentracija PPF koje uzrokuju mortalitet larvi u vrlo kratkom vremenskom periodu. Zabeleženi mortalitet larvi komaraca u kontrolnim uzorcima je iznosio 3,75% ali da bi eliminisali uticaj drugih faktora na mortalitet larvi komaraca, osim delovanja piriproksifena, urađena je korekcija mortaliteta po Abotovoj formuli. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da koncentracije PPF od 0.0001, 0.001, 0.002, 0.007, 0.01, 0.025, 0.05 ppm deluju na potpuni mortalitet larvi u periodu od 5 do 8 dana. U tom periodu prosečno u jednom danu uginu od 12-20% od ukupnog broja tretiranih larvi. U većini ispitivanih koncentracija najveći mortalitet larvi bio je zabeležen tokom prvog i drugog dana. Za razliku od nižih koncentracija, više 0.075, 0.1 i 1 ppm deluju na potpuni mortalitet larvi u toku tri dana, u kojima tokom prvog dana dolazi do najvećeg mortaliteta tokom istraživanog perioda. Prosečan broj uginulih larvi u jednom danu pri navedenim koncentracijama je 33 %. Dobijeni rezultati mogu ukazivati na zaključke da se PPF nižih koncentracija u budućnosti koristi za kontrolu komaraca nižih larvenih stupnjeva, kada postoje vremenski uslovi koje dozvoljavaju duži vremeski period delovanja PPF, te obrnuto u kontroli nad starijim larvenim stupnjevima komaraca. Lee (2001) dokazuje visoku efikasnost piriproksifena (>95%) u svim korištenim koncentracijama (0.01, 0.05, 0.1, 0.5 ppm) pri tretiranju larvi tokom 9 dana trajanja eksperimenta, te njegovo delovanje od 61% na larve koje su promatrane tokom 70 dana. Satho i sar. (2003) svojim istraživanjem pokazuju da PPF u koncentraciji od 0.001 ppm uzrokuje mortalitet larvi od 58-86%, dok pri koncentraciji PPF od 0.00001 ppm mortalitet je 0-11%. Razlike u efikasnosti PPF u našem istraživanju i navedenim istraživanjima drugih autora mogu se tumačiti kroz različitosti između vrsta, biotipova unutar iste vrste, formulaciji

preparata i različitim eksperimentalnim uslovima, ali bez obzira na sve, i dalje se sa sigurnošću može tvrditi kako PPF sprečava presvlačenje larvi pri koncentraciji ≤ 0.001 ppm.

Laboratorijska istraživanja efekta PPF na larvama vrste *Ae. aegypti* nedvosmisleno ukazuju na činjenicu da je PPF jedan od najefektivnijih larvicida (Sihunincha i sar., 2005). Efekat PPF na larve komaraca veći je nekoliko stotina puta nego efekti drugih larvicida kao što su temefos ($LC_{50}=0.002-0.02$ ppm), prema navodima Pereira Lima i sar., (2003) i Bti ($LC_{50}=0.01-0.06$ ppm); prema Blanco i sar., (2002). Istraživanja efekta PPF na larve *Ae. aegypti* pri tri koncentracije PPF od 0.0001, 0.0003 i 0.0004 ppm utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika između navedenih vrednosti, sugerišući mogućnost pogrešnog odabira metodologije koja je po svemu sudeći bila robusna za ovakve tipove istraživanja (Sihunincha i sar., 2005).

Iz rezultata istraživanja efekta PPF različitih koncentracija na larve *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, u našim istraživanjima utvrđeno je da nakon trećeg dana ni u jednom od uzoraka sa različitom koncentracijom PPF nije preostalo više od 10% živih larvi komaraca. Eksperimenti sa najvišim koncentracijama PPF pokazali su da nakon trećeg dana nije preživela ni jedna larva komarca. Iz rezultata kontrolnih uzoraka posmatranih tokom istraživanja, može se zaključiti da je tokom prva dva dana izvođenja eksperimenta u kontrolnom uzorku bilo manje prosečno uginulih larvi komaraca, nego i u jednom uzorku sa PPF, što potvrđuje efekat PPF na larve *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*. Dobijeni rezultati o efikasnosti delovanja PPF na larve *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* pokazuju značajnu efikasnost delovanja aktivne matereije PPF u veoma kratkom vremenskom periodu, sa izraženim perzistentnim delovanjima, što predstavlja značajan doprinos u programima kontrole komaraca.

U skladu sa ranijim zaključcima naših istraživanja na larvama vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, vidljivo je da između nižih nivoa koncentracija, zaključno sa 0.025 ppm, kao i između viših nivoa koncentracija postoji značajna razlika u broju uginulih larvi. Statistički značajne razlike su u velikoj meri potvrđene između uzoraka s višim i nižim koncentracijama PPF. Dakle, povećanje koncentracije PPF iznad 0.05 ppm nije imalo kao rezultat značajno veći mortalitet larvi komaraca nakon prvog dana izvođenja eksperimenta u odnosu na ispitivane više koncentracije. Kako je tokom prvog dana u svim uzorcima koncentracija PPF, uginulo oko 90% ukupnog broja eksponiranih larvi komaraca, najbolji efekat na mortalitet larvi komaraca vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* obezbedila je koncentracija PPF od 0.05

ppm. Ovo istraživanje donosi prve rezultate delovanja PPF na larve vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* jer u dostupnim literaturnim podacima mnogih autora ne postoji podatak o delovanju PPF na larve vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*. Kada se radi o istraživanju efekta PPF, postoje samo podaci za osetljivost (EC_{50}) vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* na koncentraciju PPF između 0.00015 i 0.00067 ppm (Kono i sar., 1997), i podaci o inhibitornom delovanju PPF od 0.05 ppm koji je primenjen na vrstu *Cx. pipiens pallens* (Lee, 2002).

Al-Sarar i sar. (2011) upoređivali su *Bti*, temefos i PPF kao potencijalne larvicide u programima suzbijanja larvi komaraca roda *Culex*. Prilikom njihovog istraživanja u terenskim uslovima tretirali su vodene površine (dimenzije 1.2m x 1.2m x 0.5m) sa preporučenim dozama od 2.5 g/m³ za *Bti*, 1.8 g/m³ za temefos i najveću preporučena doza bila je za PPF od 6.0 g/m³. U slučaju PPF određena je LC_{50} koja je iznosila 0.000018-0.00042 ppm. Druga grupa istraživača, u eksperimentima ispitivanja biološke efikasnosti PPF dobila je rezultate za LC_{50} od 0.000021-0.000029 ppm (Kawada i sar., 1994; Schaefer i sar., 1988; EL-Shazly & Refaie, 2002). Vrednosti za LC_{50} kod *Bti* i temefosa su znatno manje za temefos 0.005 i 0.007 ppm, i za *Bti* 0.012-0.018 ppm u odnosu na Al-Sarar i sar. (2011). Istraživanjem na larvama vrste *Ae. togoi* preporučena je optimalna koncentracija od 0.05 do 0.1 ppm PPF za efektivnu kontrolu komaraca u njihovim prirodnim staništima. Lee, (2001) daje podatke za visok stepen efikasnosti primenjenog piriproksifena u formulaciji granula sa 0.5% aktivne materije tokom dvo- mesečnog perioda.

Nayar i sar. (2002) istraživali su efekat PPF u koncentraciji od 0.02 ppm i 0.05 ppm na larvama *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. taeniorhynchus*, *An. quadrimaculatus* i *Cx. nigripalpus*. Efekat PPF izražen preko mortaliteta larvi/odraslih prema navodima ovih autora bio je između 80-100% za testirane vrste. Kod svih vrsta, PPF indukovao je kompletnu inhibiciju eklozije odraslih i nakon nekoliko nedjelja posle aplikacije PPF-om, čak i pri koncentraciji PPF nižom od 0.02 ppm. Chism i sar. (2003) daju podatke za koncentraciju PPF od 0,02 ppm i 0,003 ppm koje su aplicirane na larve trećeg i četvrtog larvenog stupnja za vrste *Ae. albopictus* i *Oc. triseritatus*. Rezultati ovih autora ukazuju da postoji različiti stepen osetljivosti larvi navedenih vrsta. *Ae. albopictus* pokazuje viši stepen osetljivosti u odnosu na *Oc. triseritatus*. Visok stepen efikasnosti PPF na *Ae. albopictus* obezbeđen je pri koncentraciji od 0.02 ppm, a za postizanje istog stepena efikasnosti za larve vrste *Oc. triseritatus* neophodno je bilo povećanje koncentracije na 0.03 ppm.

Delovanjem različitih koncentracija PPF na larve i lutke komaraca dovodi do interesantnih razmišljanja na temu delovanja različitih koncentracija PPF i na jaja komaraca koja su sastavni deo životnog ciklusa komaraca koji je vezan za vodenu sredinu. Jaja komaraca tokom embrionalnog razvoja grade više horionskih slojeva, od kojih su neki čvrsti te pružaju mehaničku podršku i zaštitu, dok su drugi slojevi zaduženi za ishranu embriona (Clements, 1992). Morfologija, fizička struktura i hemijski sastav jajeta određuje njegovu sposobnost da se prilagodi i ima mogućnost veće tolerancije nepovoljnih spoljašnjih uslova, kao što je suša (Sota & Mogi, 1992; Jagadeeshan & Singh, 2007). Od uvođenja piriprosifena u hemijsku metodu suzbijanja štetnih insekata, rađene su studije da bi se utvrdilo delovanje na mnoge vrste komaraca, kako u laboratorijskim tako i u uslovima životne sredine (Charmillot i sar., 2001; Sihunincha i sar., 2005), dok se do podataka o delovanju PPF na jaja komaraca malo zna.

Rezultati istraživanja prikazanih u svrhu dokazivanja efekta različitih koncentracija PPF na jaja vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* promatrali su se s obzirom na broj ekloDIRanih i neekloDIRanih jaja po jajnom leglu, pretpostavljajući u tom slučaju da će efekat PPF na jaja kao rezultati imati veći broj neekloDIRanih jaja u leglu nego u kontrolnim uzorcima bez tretiranja PPF. Kao rezultati istraživanja primećuje se tendencija povećanja procenta neekloDIRanih jaja sa povećanjem koncentracije PPF. Ova tvrdnja potvrđena je hi-kvadrat testom, kojim se dokazuje statistički značajna zavisnost između koncentracije PPF i zastupljenosti neekloDIRanih, odnosno ekloDIRanih jaja ($\chi^2 = 30.497$, $p < 0.001$). Efekat različitih koncentracija PPF na jaja, utvrđivan je kroz analizu razlika u proporcijama neekloDIRanih jaja sa obzirom na koncentracije PPF, iz kojih se može zaključiti da je koncentracija od 1 ppm pokazala najbolji efekat na povećanje inhibicije piljenja larvi za vrstu *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*. Matematičkim modelom potvrđena je pretpostavka da koncentracija PPF ima statistički značajan efekat na broj neekloDIRanih jaja ($p < 0.001$). Na osnovu jednačine matematičkog modela ($y = 5.801 + 6.128x$) izračunata je potencijalna koncentracija PPF koja će kao rezultat imati 100% efekat na inhibiciju piljenja larvi iz jaja u leglu, te navedena koncentracija PPF iznosi 15,23 ppm. Dakle, kada bi jaja u leglu tretirali sa koncentracijom PPF od 15 ppm imali bi 100% efekat na inhibiciju piljenja larvi iz jaja u leglu za vrstu *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*. Ovakvi rezultati su preliminarni za vrstu *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* za koju ne postoje literaturni podaci drugih autora i zasnovani su na osnovu statističkih metoda.

U ovom radu uočava se velika razlika u koncentraciji PPF koja deluje na larve četvrtog larvenog stupnja (0.05 ppm) i potencijalne koncentracije PPF koja deluje na jaja u leglu, a izračunata je na osnovu matematičkog modela (15 ppm). Piriproksifen nema značajno delovanje na povećanu inhibiciju piljenja jaja (Sihuincha i sar., 2005). Vasuki (1990) je izložio jaja stara između 0-1 sata i jaja stara između 12-18 sati koncentraciji PPF od 0.00001 do 1 ppm. Kao rezultat navedenih istraživanja utvrđeno je da je koncentracija od 1 ppm uticala na inhibiciju jaja u jajnom leglu od 90%. U objašnjavanju ovakvih heterogenih rezultata može poslužiti istraživanje Sihuincha i sar. (2005) koji su istraživali efekat PPF na jajima vrste *Ae. aegypti*. Njihovi rezultati ukazuju da koncentracije PPF koje su pokazivale značajan efekat na larve četvrtog stupnja nisu imale efekta na povećanje inhibicije piljenja jaja. Tokom istraživanja koncentracije PPF koje su koristili kako bi utvrdili efekat PPF na piljenje larvi iz jaja bile su 0.25, 1.25, 6.25, 31.25 ppm, te između njih nisu uočili statistički značajnu razliku, što ide u prilog i rezultatima dobijenim u ovom istraživanju na osnovu matematičkog modela, jer čak ni velika koncentracija PPF od preko 30 ppm nije imala efekta na povećanje inhibicije piljenja larvi iz jaja.

Itoh i sar. (1994) krvlju su nahranili ženke *Ae. aegypti*, nakon čega su ih izložili uticaju PPF od 1 g/m² sa polietilenskog filma u toku 30 minuta. Posle izloženosti PPF ženkama je ponuđena vodeni medij u kojem su se nalazile larve četvrtog larvenog stupnja da bi polegle jaja na vodenu površinu, te na osnovu mortaliteta larvi utvrdili delovanje i potencijalni horizontalni transfer PPF. Inhibicija eklozije zavisila je od broja eksponiranih ženki. Rezultati su pokazali da je dovoljno samo pet ženki da prenesu potrebnu količinu piriproksifena na vodenu površinu zapremine od 100 ml da bi inhibicija eklozije bila 100%. Chism i sar. (2003) potvrđuju rezultatima prethodno navedeno istraživanje, jer zaključuju da gravidne ženke izložene površini koja je bila tretirana PPF u dozi od 2.0 do 4.0 g/m² u toku jednog sata, nakon čega su ostavljene da polože jaja u manji biotop larvi (100 ml kondicionirane vode), imaju potencijal prenosa PPF u dovoljnoj količini koja će pokazivati efekat na mortalitet larvi u biotopu. Istraživanje je pokazalo da 5 ženki može preneti dovoljnu količinu PPF koja će rezultirati sa ≈70% inhibicijom larvi. Nakon toga, Chism i sar. (2003), predlažu tretiranje mesta za odmor komaraca PPF, kako bi ga ženke prenele do mesta njihove ovipozicije i na taj način učinile potencijalni horizontalni transfer PPF.

Podaci za vrstu *Ae. aegypti* iznose 0.003 g/m² kada su ženke bile izložene 30 minuta na površini tretiranoj PPF (Sihuincha i sar., 2005). Količina PPF koja bi se ovakvim načinom transfera prenosila (koja je dovoljna da dođe do mortaliteta larvi na novom mestu za

ovipoziciju) ne zavisi od vremena izlaganja gravidnih ženki u prostoru koji je bio tretiran PPF (Sihunincha i sar., 2005).

Rezultati vezani za horizontalni transfer PPF prikazani u ovom radu daju analizu podataka koji su dobijeni kada su ženke komaraca *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* bile izložene delovanju ovog regulatora razvoja insekata na vlažnoj i suvoj podlozi. Prema rezultatima kada je primenjena statistička obrada u okviru t-testa prihvata se hipoteza da su razlike u prosečnim količinama prenesenog PPF sa vlažne i suve podloge statistički značajne ($t = 7.584$, $p < 0.001$). S obzirom na ovakav pokazatelj rezultata i obrade podataka ovom statističkom metodom možemo reći da će komarci eksponirani delovanju PPF u trajanju od 10 minuta s vlažne podloge tretirane sa 1 ppm PPF preneti između 0.117-0.0147 ppm, dok će sa suve podloge preneti između 0.062-0.0074 ppm ovog jedinjenja. Rezultati istraživanja Chism i sar. (2003), Sihuincha i sar. (2005) i naših istraživanja na ženkama *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* pokazuju da su količine PPF koje se prenose u horizontalnom transferu, na tarsusima različitih vrsta, dovoljne za inhibiciju piljenja larvi u malim vodenim recipientima ($\approx 70\%$). Određene količine prenesenog PPF i broj ženki koji je dovoljan da prenese količinu PPF u horizontalnom transferu u poređenju s količinama larvicida koje su korišćene jeste zanemariiv, ali istraživanja pokazuju da su te količine ipak dovoljne da onemoguće zarvoj larvi. Na osnovu toga, možemo tvditi da je mali broj ženki i mala količina prenetog PPF u horizontalnom tranferu ima značajnu ulogu u kontroli brojnosti ove vrste komaraca na teško dostupnim mestima u urbanim sredinama.

Itoh i sar. (1994) uočavaju kako dolazi do smanjenja broja jaja usled delovanja PPF, te se posebno uočava različiti efekat pri određenoj koncentraciji PPF na jaja (Ponlawat i sar., 2013). U prilog ovakvom stavu, idu i rezultati naših istraživanja koji se odnose na efekat PPF na plodnost i fekunditet ženki vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*. U toku ovog istraživanja prihvatila se hipoteza da razlike u prosečnom broju jaja ženki koje su bile eksponirane koncentraciji PPF od 1 ppm na vlažnoj i suvoj podlozi nisu statistički značajne ($t = -1.129$, $p = 0.266$). Iako se nije uočila statistički značajna razlika između podloga na kojima je bio nanesen PPF, statistički gledano, kada bi se broj ponavljanja (broj komaraca koji je korišćen u horizontalnom transferu) povećao i na jednoj i na drugoj podlozi, postoji realno očekivanje da bi se između podloga uočila statistički značajna razlika.

Istraživanja Schaefer & Mulligan (1991) pokazala su dobru efikasnost PPF u malim dozama na larve komaraca i na smanjenje broja jaja u generacijama koje su preživele tretman u larvenom obliku, a da pri tome ne pokazuju povećanje tolerantnosti na PPF. Ženke koje su bile izložene delovanju PPF pre ili nakon uzimanja krvnog obroka pokazuju da PPF deluje na smanjenja broja jaja u leglu prilikom ovipozicije, te isto tako deluje na smanjeni broj ispiljenih jaja iz legla (Itoh i sar., 1994). Frekvencija sletanja na vodu pre uzimanja krvnog obroka je mnogo manja nego kod posmatranih ženki koje su uzele krvni obrok. Jedan od razloga ovakvog ponašanja ženki može se potražiti u manjoj želji nenahranjenih ženki za ovipozicijom, dok nahranjene ženke imaju zrelija jaja i veću želju za njihovim polaganjem (Judson & Lumen, 1976; Bai i sar., 2011). Manja frekvencija tretiranih ženki PPF koje bi potencijalno služile u horizontalnom transferu PPF na vodenu površinu direktno utiče na manju količinu prenetog PPF (Itoh i sar., 1994). S druge strane, količina PPF koju ženke nose na svojim tarzusa može se smanjiti tokom vremena, zbog razgradnje ili otpadanja sa tarzusa, te jednim delom prodiranja PPF kroz kutikulu, što bi direktno imalo uticaja na manji transfer PPF na vodenu površinu.

HPLC hromatografija dokazuje da će rano izlaganje komaraca PPF uticati na gubitak veće količine larvicida pre nego što dođe do vremena za ovipoziciju (Itoh i sar., 1994). Na osnovu toga, može se zaključiti da će nenahranjene ženke koje su eksponirane PPF imati manji broj položenih jaja nakon krvnog obroka. Ukoliko se nahranjene ženke eksponiraju PPF imaju mogućnost horizontalnog transfera dovoljne količine PPF u vodeni medij, što dalje utiče na inhibiciju razvoja larvi.

Mbare i sar. (2014) u svojim istraživanja demonstriraju da gravidne ženke imaju mogućnost horizontalnog transfera letalne koncentracije PPF na potencijalna mesta za ovipoziciju, te da ženke moraju biti gravidne pre eksponiranja PPF kako bi prenele dovoljnu količinu PPF u vodeni medij. Polemike oko vremena eksponiranja ženki i njegovom efektu na smanjenje broja jaja u leglu vodili su mnogi autori sa dosta nedoslednosti (Itoh i sar., 1994; Harris i sar., 2013; Ohashi i sar., 2012). Varijabilnost u rezultatima o delovanju PPF mogu se objasniti korišćenjem različitih koncentracija/doza PPF na neujednačene veličine vodene površine i na različite razvojne stupnjeve larvi (Ohashi i sar., 2012; Masqueira i sar., 2010). Međutim, i pored različitih tumačenja rezultata uočava se jasno delovanje PPF na redukciju broja jaja i inhibiciju razvoja larvi. Istraživanja daju čvrste dokaze o efektu delovanja PPF na vektore kod rodova *Anopheles* i *Culex* koji doprinosi signifikantnoj redukciji njihovih populacija (Mbare i sar., 2014). Na osnovu dostupne literature, dobijeni rezultati iz ovog rada

predstavljaju prvo istraživanje o efektu PPF na larve i odrasle forme komaraca vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, te korišćenja gravidnih ženki u horizontalnom transferu PPF na potencijalna mesta ovipozicije u vodenom mediju, što bi rezultiralo inhibicijom odraslih formi komaraca *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, koji su poznati kao veliki molestanti. Naše istraživanje identifikovalo je PPF kao larvicid koji ima potencijala u razvoju novih mogućnosti suzbijanja populacija različitih vrsta komaraca, među kojima je i kućni komarac *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* koji je dominantna vrsta u našim domovima.

WHO (2001) navodi da piriproksifen kao hemijska supstanca ne predstavlja opasnost od kancerogenog delovanja na ljude, da nije genotoksičan i da predstavlja malu verovatnoću u izazivanju akutnog neželjenog delovanja u svakodnevnoj upotrebi. Sa aspekta delovanja na zdravlje, PPF se navodi kao izuzetno sigurno jedinjenje po organizam čoveka. Svetska zdravstvena organizacija (WHO, 2001) uvrštava ga kao jedinjenje koje se koristi u programima suzbijanja komaraca. Zbog svoje zanemarive toksičnosti na sisare, poljoprivredne proizvode i hranu FAO (2001) daje saglasnost za primenu ovog regulatora rasta insekata. u koncentraciji od 0.01 ppm Poređenja radi, navedena koncentracija mnogo je veća nego koncentracija koja je potrebna u kontroli komaraca vrste *Ae. aegypti*. Upoređujući rezultate dobijene u laboratoriji i terenskim uslovima, doza od 0.01 ppm ne pokazuje toksičan efekat na neciljane vodene organizme. Generalno, doza piriproksifena od 1 ppm je značajno efikasnija u kontroli komaraca, nego njegovo negativno delovanje i neželjeni efekti na druge organizme (Sihunincha i sar., 2005).

Smatra se da je optimalno delovanje PPF pri temperaturi od 23-28°C (Al- Sarar i sar., 2011). U ovakvim temperaturnim uslovima u staništima larvi, efikasnost traje duže od četiri nedelje (Jambulingam i sar., 2008). Prema Al-Sarar i sar., (2011) u suzbijanju larvi populacije vrsta roda *Culex* interval između kojeg je preporučeno da se ponovi tretman PPF je tri nedelje.

U suzbijanju komaraca vektora još uvek se najčešće upotrebljavaju adulticidi koji se apliciraju na potencijalnim mestima odmora komaraca, u okviru rezidualnih tretmana objekata. Larvicidi su tek na II mestu po obimu primene (Devine i sar., 2009). Prilikom određivanja implementacije efikasne metode prvenstveno se mora voditi računa o delovanju insekticida na životnu sredinu, zdravlje ljudi i ne manje važno ekonomske aspekte primene izabrane metode. Gustina populacije komaraca nekog područja, dužina njihovog života, mogućnost i način ishrane, neki su od ključnih odrednica vektorskog kapaciteta i prenošenja

bolesti. Mnoge korišćene metode pokazale su visoku efikasnost ali je njihova implementacija u životnu sredinu i staništa komaraca bila dosta ograničena (Fillinger i sar., 2004; Morrison i sar., 2008).

Dobijeni rezultati tokom naših istraživanja potencijala horizontalnog prenosa piriproksifena u suzbijanju kućnog komarca *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* ukazuju da bi implementacija PPF u programe kontrole i suzbijanja komaraca u urbanim zonama, kao i u ekološki značajnim staništima, bila opravdana. Uvođenjem ovakvog načina suzbijanja značajno bi se smanjivao biološki potencijal komaraca kako molestanata tako i vektora različitih obolenja. Primena PPF u programima kontrole brojnosti komaraca uticala bi u znatnoj meri i na cenu. Mera koje se sprovode u toku jedne sezone u okviru programa suzbijanja komaraca. PPF zbog dužine delovanja ispoljava visoku efikasnost i po nekoliko nedelja (Sihunincha i sar., 2005; Reiter, 2007). Ovo bi omogućilo smanjenje broja tretmana u poređenju sa primenom kako konvencionalnih tako i bioloških larvicida, pogotovo na mestima razvoja urbanih komaraca gde često usled trajnih izvorišta i povoljnih uslova razvoja (temperatura vode) dolazi do kontinuiranog polaganja jaja preklapanja i formiranja više generacija tokom sezone.

9. ZAKLJUČCI

Istraživanjem fenomena mogućeg prenošenja inhibitornih svojstva biocida, koji pripada skupini regulatora rasta insekata (aktivna materija piriprosifen), na juvenilne stadijume razvoja, preko odraslih ženki komaraca u okviru doktorske disertacije, rađeno je postupkom utvrđivanja stepena biološke efikasnosti na larve i preko ocene uspešnosti/stepena piljenja jaja vrste *Culex pipiens pipiens* biotip *molestus*.

Ženke komaraca zahvaljujući urođenom ponašanju dolaska na vodenu površinu zbog polaganja jaja, tarsusom ostvaruju kontakt sa površinom vode. U toku istraživanja, koja su predmet ove disertacije ženke komaraca su eksponirane delovanju piriprosifena koji je bio nanešen na čvrstu podlogu ca koje su komarci na svojim tarsusima kontaktno pokupili i preneli piriprosifen određene koncentracije do akvatičnih sredina koji su predstavljali izvorišta larvi. U daljem postupku, praćen je nivo /količina prenetog piriprosifena u vodi u kojoj se dalje registrovao i analizirao efekat delovanja horizontalnog transfera piriprosifena na larve i jaja koja su se nalazila u navedenim vodenim sredinama.

Iz istraživanja koje je dalo mogućnost utvrđivanja nivoa delovanja u okviru juvenilnih stadijuma i stepena efikasnosti na pojedine razvojne stadijume u akvatičnoj sredini mogu se isvesti sledeći zaključci:

- Povećanjem koncentracije piriprosifena ne dolazi do povećanja mortaliteta larvi, ali je pri višim koncentracijama zabeležen veći mortalitet u kraćem vremenskom periodu.
- Očekivalo se da će koncentracija od 1 ppm imati najbolji efekat na mortalitet larvi komaraca, dok su rezultati pokazali da su posmatrane koncentracije od 0.0075 i 0.1 ppm imale isti nivo efikasnost kao i najviša ispitivana koncentracija (1ppm).
- Ispitivane koncentracije PPF iznad 0.05 ppm nisu dale značajno veći mortalitet larvi komaraca. Najbolji efekat na mortalitet larvi komaraca vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* obezbedila je koncentracija PPF od 0.05 ppm.
- Hipoteza kojom je očekivano da će povećanjem koncentracije piriprosifena u vodenom rastvoru dovesti do smanjenog broja jaja u jajnom leglu, eksperimentalno i statistički je potvrđena. Rezultati ukazuju na tendenciju

povećanja procenta zatvorenih jaja sa povećanjem primenjene koncentracije piriproksifena.

- Koncentracija od 1 ppm nije pokazala značajnu zavisnost prilikom testiranja na efekat delovanja na mortalitet larvi, ali je pokazala najbolji efekat na povećanje inhibicije piljenja larvi za vrstu *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*.
- Na osnovu jednačine matematičkog modela izračunata je potencijalna koncentracija PPF koja će kao rezultat imati 100% efekat na inhibiciju piljenja larvi iz jaja u leglu. Vrednost za koncentraciju piriproksifena po ovom modelu je 15,23 ppm.
- Ženke komaraca eksponirane delovanju PPF u trajanju od 10 minuta s vlažne podloge tretirane sa 1 ppm PPF tokom horizontalnog transfersa preneće prosečno 0.13 ppm, dok će sa suve podloge preneti prosečno 0.06 ppm ovog jedinjenja
- Istraživanje je potvrdilo hipotezu da razlike u prosečnom broji ispiljenih jaja ženki koje su na svojim tarsusima pokupile molekule piriproksifena u koncentraciji od 1ppm sa vlažne odnosno suve podloge nisu bile statistički značajne.
- Aplikacijom larvicida u svaku izvorišnu zonu pomoću ženki komaraca kao prenosioca u procesu horizontalnog transfersa, mogla bi da predstavlja osnovu novih, savremenijih programa suzbijanja komaraca u urabanim i semi urbanim područjima.

10. LITERATURA

- Abbott WS (1925): A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18:256-257
- Akamatsu Y, Dunn PE, Kézdy J, Kremer KJ, Law JH, Rubenstein D & Sanburg LL (1975): Biochemical aspects of juvenile hormone actions in insects, u: Control Mechanisms in Insect Development. (Meints RH & Devis E, eds), Plenum Press, New York, pp.123-149.
- Al-Sarar AS, Al-Shahrani D, Bayoumi AE, Abobakr Y & Hussein HI (2011): Laboratory and field evaluation of some chemical and biological larvicides against *Culex spp.* (Diptera: Culicidae) immature stages. *Int. J. Agric. Biol.*, 13: 115–119.
- Aranda C, Eritja R & RoiznD (2004): First report of *Aedes albopictus* in Spain. 3rd EMCA Workshop, Osijek, Croatia.
- Artamoshin AS & Khodakova VI (1995): The effect of economic activities altering water resources on the parasitological situation. *Med Parazitol (Mosk)*;(2):51-7.
- Bai H, Gelman DB & Palli SR (2011): Mode of action of methoprene in affecting female reproduction in the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae*. *Pest Manag Sci.*, 66:936–943.
- Barr AR (1982): The *Culex pipines* Complex. in *Developments in the Genetics of Insect Disease Vectors*, Stipes Publishing Company, Champaign, IL, USA, pp 551-572.
- Becker N & Ludwig HW (1983): Mosquito control in West Germany. *Bull. Soc. Vector Ecol.* 8:85-93.
- Becker N, Jost A, Storch V & Weitzel T (1999): Exploring the biology of urban mosquitoes for their control. *Proceedings of the 3th International Conference on Urban Pests.*
- Becker N, Petrić D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C. & Kaiser A. (2003): *Mosquitoes and their control.* Springer Verlag, Heidelberg. Pp 498.
- Becker N, Petrić D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C. & Kaiser A. (2010): *Mosquitoes and their control.* Second Edition. Springer Verlag, Heidelberg ISBN 978-3-540-92873-7. pp579.
- Beshers SN & Fewell JH (2001): Models of division of labor in insect societies, *Annu. Rev. Entomol.* 46,413–430.
- Blanco MGM, Wong LJG, Padilla CR & H. Q. Martinez HQ (2002): Evaluation of polymer-based granular formulations of *Bacillus thuringiensis israelensis* against larval *Aedes aegypti* in the laboratory. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 18: 352-358.

- Bursić V (2011): Optimizacija hromatografskih metoda I određivanje ostataka fungicida u plodovima krastavca, Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet Novi Sad
- Calzolari M, Gaibani P, Bellini R, Defilippo F, Pierro A, Albieri A, Maioli G, Luppi A, Rossini G, Balzani A, Tamba M, Galletti G, Gelati A, Carrieri M, Poglayen G, Cavrini F, Natalini S, Dottori M, Sambri V, Angelini P & Bonilauri P (2012): Mosquito, bird and human surveillance of West Nile and usutu viruses in Emilia-Romagna region (Italy) in 2010. PLoS ONE., 7:e38058.
- Center for Disease Control CDC (2002). Provisional surveillance summary of the West Nile Virus epidemic- US, Morb. Mort. Week. Rep., 51: 1129–1133
- Charmillot PJ, Gourmelon A, Fabre AL & Pasquier D (2001): Ovicidal and larvicidal effectiveness of several insect growth inhibitors and regulators on the coding moth *Cydia pomonella* L. (Lep. Tortricidae). J. Appl. Entomol. 125, 147–153.
- Chism BD & Apperson CS (2003): Horizontal transfer of the insect growth regulator pyriproxyfen to larval microcosms by gravid *Aedes albopictus* and *Ochlerotatus triseriatus* mosquitoes in the laboratory. Med. Vet. Entomol. 17: 211-220.
- Chow YS & Yang HT (1990): The application of sex pheromones and juvenile hormone analogs on cockroaches (In Chinese). Kaohsiung J. Med. Sci. 6:389-401.
- Clements AN (1992): The biology of mosquitoes. Vol.1 Development, Nutrition and reproduction. Chapman and Hill, London, 509 pp.
- Clements AN (1999): The Biology of Mosquitoes. Sensory Reception and Behaviour Volume 2. Wallingford: CABI Publishing.
- Collins FH & Paskewitz SM (1996): A review of the use of ribosomal DNA (rDNA) to differentiate among cryptic *Anopheles* species. Insect Mol Biol., 5:1–9.
- Conway GR (1976): Man versus pests, in Theoretical ecology. (R.M.May, ed.), Blackwell Scientific Publicitacions, Oxford, pp. 257-281.
- Cui F, Lin LF, Qiao CL, Xu U, Marquine M, Weill M, & Raymond M (2006): Insecticide resistance in Chinese populations of the *Culex pipiens* complex through esterase overproduction. Entomol. Exp. Appl., 120: 211–220
- Dahl C, Widahl LE & Nilsson C (1988): Functional analysis of the suspension feeding system in mosquitoes (Diptera: Culicidae) Ann Entomol Soc Am., 81:105–127.
- Dauphin G, Zientara S, Zeller H & Murgue B (2005): West Nile: worldwide current situation in animals and humans. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 27: 343-355
- de Boissezon P (1929): Remarques sur les conditions de la reproduction chez *Culex pipiens* L. pendant la periode hivernale. Bull. Soc. Pathol. Exot. 22: 549-553.

- Dell Chism B & Apperson CS (2003): Horizontal transfer of the insect growth regulator pyriproxyfen to larval microcosms by gravid *Aedes albopictus* and *Ochlerotatus triseriatus* mosquitoes in the laboratory. *Med. Vet. Entomol.* 17, 211-220.
- Devine GJ, Perea EZ, Killeen GF, Stancil JD, Clark SJ & Morrison AC (2009): Using adult mosquitoes to transfer insecticides to *Aedes aegypti* larval habitats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 11530–11534.
- Devine GJ, Killeen GJ (2010): The potential of a new larviciding method for the control of malaria vectors. *Malar J.* 9:142.
- Eldridge B (1987): Diapause and related phenomena in *Culex* mosquitoes: their relation to arbovirus disease ecology. *Curr Top Vector Res.*, 4:1–28.
- EL-Shazly MM & Refaie BM (2002): Larvicidal effect of the juvenile hormone mimic pyriproxyfen on *Culex pipiens*. *J. American Mosq. Cont. Assoc.*, 18: 321–332
- Estrada JG & Mulla MS (1986): Evaluation of two new insect growth regulators against mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 2:57-60.
- Farajollahi A, Crans WJ, Bryant P, Wolf B, Burkhalter KL, Godsey MS, Aspen SE & Nasci RS (2005): Detection of West Nile viral RNA from an overwintering pool of *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) in New Jersey, 2003. *J Med Entomol.*, 42:490–494.
- Fathulla RN & Ohno N (1993): Determination of Degradation Rate Constants and Half-Lives of 4'-OH-Pyr and PYPAC, Sumitomo Chemical Company, Data Package Report No. 156629-N. DPR No. 52080-075).
- Fathulla RN (1994): Aerobic Soil Metabolism of 14C-Pyriproxyfen, Sumitomo Chemical Company, Data Package Report No. 156629-N. DPR No. 52080-030.
- Ficalbi E (1890): Quistioni zoologiche intorno al *Culex pipiens* e descrizione de una specie nuova (*Culex phytophagus*). *Bull.Soc. Entomol. Ital.* 21: 124-131.
- Fillinger U, Sonye G, Killeen GF, Knols BGJ & Becker N (2004): The practical importance of permanent and semipermanent habitats for controlling aquatic stages of *Anopheles gambiae* sensu lato mosquitoes: Operational observations from a rural town in western Kenya. *Trop Med Int Health* 9:1274–1289.
- Fillinger U, Kannady K, William G, Vanek MJ, Dongus S, Nyika D, Geissbuhler Y, Chaki PP, Govella NJ, Mathenge EM, Singer BH, Mshinda H, Lindsay SW, Tanner M, Mtasiwa D, de Castro MC & Killeen GF (2008): A tool box for operational mosquito larval control: preliminary results and early lessons from the Urban Malaria Control Programme in Dar es Salaam, Tanzania. *Malar J.*, 7:20.

- Fillinger U, Lindsay SW (2011): Larval source management for malaria control in Africa: myths and reality. *Malar J*, 10:353.
- Fonseca DM, Keyghobadi N, Malcolm CA, Mehmet C, Schaffner F, Mogi M, Fleischer RC & Wilkerson RC (2004): Emerging Vectors in the *Culex pipiens* Complex. *Science*, 303:1535–1538.
- Fonseca DM, Smith JL, Kim HC & Mogi M (2009): Population genetics of the mosquito *Culex pipiens pallens* reveals sex-linked asymmetric introgression by *Culex quinquefasciatus*. *Infect Genet Evol.*, 9:1197–1203.
- Food and Agricultural Organization FAO (2001): Pesticide residues in food 2001. Report of a joint Meeting of the FAO panel of experts on Pesticide Residues in Food and Environment and the WHO core Assessment Group on Pesticide Residues. Plant Production and Protection Paper, Rome, Italy.
- Glancey BM, Reimer N & Banks WA (1990): Effects of IGR Fenoxycarb and Sumitomo S-31183 on the queens of two myrmecine ant species. In: *Applied Myrmecology: A World Perspective*. Eds. Robert K. Vander Meer, Klaus Jaffe, and Aragua Cedeno. Boulder: Westview Press, 604-613.
- Gomes B, Sousa CA, Vicence JL, Pinho L, Calderon I, Arez E, Almeida APG, Donnelly M & Pinto J (2013): Feeding patterns of molestus and pipiens forms of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in a region of high hybridization. *Parasites & Vectors*, 6:93.
- Gratz N (2003): The vector-borne human infections of Europe, their distribution and burden on public health. WHO. 154 pp.
- Grimm NB, Grove JM, Pickett ST & Redman CL (2000). Integrated approaches to long term studies of urban ecological systems. *Bioscience*, 50:571–583.
- Gutsevich AV, Monchadsky, AS & Shtakelberg, AA (1970): Fauna of the USSR. Diptera. Mosquitoes of the Fam. Culicidae. 3(4):384 pp
- Harbach RE, Dahl C & White GB (1985): *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus (Diptera: Culicidae): concepts, type designations, and description. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*. 87:1–24.
- Harbach RE, Harrison BA & Gad AM (1984): *Culex (Culex) molestus* Forskål (Diptera, Culicidae) - neotype designation, description, variation, and taxonomic status. *Proc Entomol Soc Wash.*, 86:521–542.
- Harbach RE (2014): Mosquito Taxonomic Inventory (www.mosquito-taxonomic-inventory.info/)

- Harris C, Lweitoijera DW, Dongus S, Matowo NS, Lorenz LM, Devine GJ & Majambere S (2013): Sterilising effects of pyriproxyfen on *Anopheles arabiensis* and its potential use in malaria control. *Parasit Vectors.*, 6:144.
- Harwood R F & James MT (1979): *Entomology in Human and Animal Health*. Macmillan Publishing Co., New York, 548 pp
- Hay SI (1997): Remote sensing and disease control: past, present and future. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 91:105-6.
- Hernander F, Ibanez M, Sancho JV & Pozo OJ (2004): Comparison of different mass spectrometric techniques combined with liquid chromatography for confirmation of pesticides in environmental water based on the use of identification points. *Analytical Chemistry*, 76, 15, 4349-4357.
- Huff CG (1929): Ovulation requirements of *Culex pipiens* Linn. *Biol. Bull.* 65: 347-350.
- Ishaaya I & Horowitz AR (1992): Novel phenoxy hormone analog (pyriproxyfen) suppresses embryogenesis and adult emergence of sweet potato whitefly. *J. Econ. Entomol.* 85, 2113-2117.
- Itoh T, Kawada H, Abe A, Eshita Y, Rongsriyam Y & Igarashi A (1994): Utilization of bloodfed females of *Aedes aegypti* as a vehicle for the transfer of the insect growth regulator pyriproxyfen to larval habitats. *J Am Mosq Control Assoc.*,10:344–347.
- Iwanaga K & Kanda T (1988): The effects of a juvenile-hormone active oxime ether compound on the metamorphosis and reproduction of an anopheline vector, *Anopheles balabacensis* (Diptera, Culicidae) *Appl Entomol Zool* 23:186–193.
- Jacobson B & Gresham M (1995): *Terrestrial Field Dissipation of Pyriproxyfen in California*. Sumitomo Chemical Company, Data Package Report No. 156629-N. DPR No. 52080-039.
- Jagadeeshan S & Singh RS (2007): Rapid evolution of outer egg membrane proteins in the *Drosophila melanogaster* subgroup: a case of ecologically driven evolution of female reproductive traits. *Mol. Biol. Evol.* 24, 929–938.
- Jambulingam PC, Sadanandane PS, Boopathi Doss S, Subramanian & Zaim M (2008): Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen 0.5% GR against *Culex quinquefasciatus*, the vector of *Bancroftian* filariasis in Pondicherry, India. *Acta Trop.*, 107: 20–24
- Judson CL & de Lumen HZ (1976): Some effects of juvenile hormone and analogues on the ovarian follicles of the mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.*, 13:197–201.

- Kamimura K & Arakawa R (1991): Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Culex pipiens pallens* and *Culex tritaeniorhynchus*. Jpn. J. Sanit. Zool. 42:249-254.
- Kasai S, Komagata O, Tomita T, Sawabe K, Tsuda Y, Kurahashi H, Ishikawa T, Motoki M, Takahashi T, Tanikawa T, Yoshida M, Shinjo G, Hashimoto T, Higa Y & Kobayashi M (2008): PCR-based identification of *Culex pipiens complex* collected in Japan. Japanese J. Infect. Dis., 61: 184–191
- Katagi T & Takahashi N (1994): Hydrolysis of S-31183 in Buffered Aqueous Solutions, Sumitomo Chemical Company, Data Package Report No. 156629-N. DPR No. 52080-029.
- Kawada H, Kohama T & Abe Y (1994): Larviciding activity of a watersoluble granular formulation of the insect growth regulator, pyriproxyfen against *Culex* mosquito. Japanese J. Environ. Entomol. Zool., 6: 77–86
- Knight KL (1978): Supplement to the Catalog of the mosquitoes of the World (Diptera: Culicidae). Entomological Society of America.
- Kono Y, Omata Iwabuchi, Keiko; Takahashi, Masakazu (1997): Changes in susceptibility to pyriproxyfen, a JH mimic, during late larval and early pupal stages of *Culex pipiens molestus*. Medical Entomology & Zoology. 48(2): 85-89.
- Kruppa T (1988): Vergleichende Untersuchungen zur Morphologie und Biologie von drei Arten des *Culex pipiens*-Komplexes. Diss. Erlangung Doctorgrades fachbereichs biologie. Hamburg. 72 pp.
- Langley P A, Felton T, Stafford K & Oouchi H (1990): Formulation of pyriproxyfen, a juvenile hormone mimic, for tsetse control. Med. Vet. Entomol.4:127-133.
- Lee DK (2001): Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Aedes togoi* larvae in brackish water in South Korea. Journal of vector ecology 26(1):39-42
- Lee DK (2002): Mosquito Control Evaluations of an Insect Growth Regulator, Pyriproxyfen against *Culex pipiens pallens* (Diptera, Culicidae) Larvae in Marsh Area, Korea. Entomological Research, 32: 37–41
- Maleszka R & Helliwell P (2001): Effect of juvenile hormone on short-term olfactory memory in young honeybees *Apis mellifera*. Horm Behav.,40: 403– 8.
- Marshall JF (1938): The British Mosquitoes. London. Brit. Mus. Nat. Hist. pp 341.
- Matolcsy G, Nadasy M & Andriska V (1988): Pesticide Chemistry: Studies in Environmental Science, Elsevier. New York.

- Mbare O, Lindsay SW & Fillinger U (2014): Pyriproxyfen for mosquito control: female sterilization or horizontal transfer to oviposition substrates by *Anopheles gambiae sensu stricto* and *Culex quinquefasciatus*. *Parasites and vectors.*, 7 (6). p. 280.
- Merritt RW, Dadd RH & Walker ED (1992): Feeding behavior, natural food, and nutritional relationships of larval mosquitoes. *Annu Rev Entomol.* 37:349–376.
- Moh Seng C, Seta T, Chanta N, Socheat D, Guillet P & Nathan MB (2006): Inhibition of adult emergence of *Aedes aegypti* in simulated domestic water-storage containers by using a controlled release formulation of pyriproxyfen. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc.* 22(1): 152-154.
- Morrison AC, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R (2008) Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med.*,5:362–366.
- Mosqueira B, Duchon S, Chandre F, Hougard JM, Carnevale P & Mas-Coma S (2010): Efficacy of an insecticide paint against insecticide-susceptible and resistant mosquitoes - part 1: laboratory evaluation. *Malar J.*, 9:340.
- Mulla MS, Hwang YS, Loomis EC & Axelrod H (1978): Products of putrefaction and brewing odors that attract synanthropic flies. *Proc. Pap. 46th Ann. Conf. Calif. Mosq. Vector Contr. Assoc.* pp. 70-73
- Mulla MS, Darwazehb HA, Kennedy ND & Dawson DM (1986): Evaluation of new insect growth regulators against mosquitoes with notes on nontarget organisms. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 2 :314-320.
- Mulla MS, Darwazeh HA & Schreiber ET (1989): Impact of new insect growth regulators and their formulations on mosquito larval development in impoundment and floodwater habitats. *J. Am. Mosq. Contr. Assoc.* 5:15-20.
- Nayar JK, Al A & Zaim M (2002): Effectiveness and residual activity comparison of granular formulations of insect growth regulators pyriproxyfen and S-methoprene against Florida mosquitoes in laboratory and outdoor conditions. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 18: 196-201.
- Ohashi K, Nakada K, Miyaguchi J, Shono Y, Lucas JR & Mito N (2012): Efficacy of pyriproxyfen-treated nets in sterilizing and shortening the longevity of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.*,49:1052–1058.
- Ohba S-y, Ohashi K, Pujiyati E, Higa Y, Kawada H, Mito N & Takagi M (2013): The Effect of Pyriproxyfen as a “Population Growth Regulator” against *Aedes albopictus* under Semi-Field Conditions. *Plos One*, 8(7): e67045.

- Olejníček J (1990). The effect of age on the fertility of males of *Culex molestus* (Diptera, Culicidae). *Folia Parasitol.* 37,4:355-367.
- Olejníček J & Zoulova M (1994): Variation in the morphology of male antenna among strains of *Culex molestus* and *C. pipiens* mosquitoes. *Akaieka Newsl.*,16(1): 1–4.
- Omer MS (1996): A survey of bancroftian filariasis among South-East Asian expatriate workers in Saudi Arabia. *Trop. Med. Inter. Heal.*, 1: 155–160
- Palma KG & Meola RV (1990): Field evaluation of Nylar for control of cat fleas in home yards. *J. Med. Entomol.* 27 :1045-1049.
- Pereira Lima JB, Pereira da Cunha M, da Silva Ju´nior RC, Ribeiro Galardo AK, da Silva Soares S, Aparecida Braga I, Pimentel Ramos R & Valle D (2003): Of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espó´rito Santo, Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 68: 329-333.
- Petrić D, Zgomba M & Srdić Ž (1986): Physiological condition and mosquito mortality of *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) during hibernating time. *Proc. 3rd Europ Congress of Entomol, Amsterdam.* 188-189.
- Petrović T, Lupulović D, Petrić D, Vasić A, Hrnjaković Cvjetković I, Milošević V, Vidanović D, Šekler M, Lazić S, Đuričić B, Plavšić B, Saiz JC. 2015. WNV infection - an emergent vector borne viral infection in Serbia: Current situation. *Vet. glasnik* 69 (1-2) 111-26
- Ponlawat A, Fansiri T, Kurusarttra S, Pongsiri A, McCardle PW, Evans BP & Richardson JH (2013): Development and evaluation of a pyriproxyfen-treated device to control the dengue vector, *Aedes aegypti* (L.) (Diptera:culicidae) *Southeast Asian J Trop Med Public Health.*,44:167–178.
- Reisen WK, Meyer RP & Milby MM (1986): Overwintering studies on *Culex tarsalis* (Diptera, Culicidae) in Kern County, California-survival and the experimental induction and termination of diapause. *Ann Entomol Soc Am.*,79:664–673.
- Reiter P (2007): Oviposition, dispersal, and survival in *Aedes aegypti*: Implications for the efficacy of control strategies. *Vector Borne Zoonotic Dis* 7:261–273.
- Retnakaran A, Grenett J & Ennis T (1985): Insects Growth Regulators, in: *Comprehensive insects physiology, biochemistry and pharmacology.* (G. A. Kerkut, and L. I. Gilberts,eds), Volume 12, Pergamon Press, Oxford, pp. 529-601.
- Rettich F (2004): Unusual Occurrence of Mosquitoes (Diptera, Culicidae) after Catastrophic Floods in the Mělník Region (Central Bohemia) in the Year 2002. *Folia Facultatis Scientiarum Naturalium Universitatis Masarykianae Brunensis Brunensis Biologia*, 109, 239-245.

- Richards G (1981): Insect hormones development. Biol. Rev. 56:501-549.
- Riddiford LM (1994): Cellular and molecular actions of juvenile hormone: general considerations and premetamorphic actions. Advances in Insect Physiology, 24: 213-274.
- Ruigt GS (1985): Pyrethroids, in: Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. (G. A. Kerkut, and L. I. Gilbert, eds.), Volume 12, Pergamon Press, Oxford, pp 183-263.
- Satho T, Tsuda Y, Somboon P, Kawada H & Tagaki M (2003): Difference in the larval susceptibility to pyriproxyfen in nine colonies of six vector mosquito species. Med. Entomol. Zool. 54: 155-160.
- Schaefer CH & Washino RK (1970): Synthesis of energy for overwintering in natural populations of the mosquito *Culex tarsalis*. Comp Biochem Physiol.,35:503–506.
- Schaefer CH, Miura T, Dupras EF, Mulligan FS & Wilder WH (1987): Efficacy, nontarget effects, and chemical persistence of S-31183, a promising mosquito (Diptera: Culicidae) Control Agent. J. Econ. Entomol. 81, 1648-1655.
- Schaefer CH, Miura T, Dupras EF, Mulligan FS & Wilder WH (1988): Efficacy, nontarget effects, and chemical persistence of S- 31183, a promising mosquito (Diptera:Culicidae) Control Agent. J. Econ. Entomol., 81: 1648–1655.
- Schaefer CH & Miura T (1990): Chemical persistence and effects of S-31183, 2-[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy)ethoxylpyridine, on aquatic organisms in field tests. J. Econ. Entomol. S3:1768-1776
- Schaefer CH & Mulligan III FS (1991): Potential for resistance to pyriproxyfen: A promising newmosquito larvicide. J. Am. Mosq. Control Assoc., 7, 409-411
- Siddall J B (1976): Insect Growth Regulators and insect control:a critical appraisal. Environ. Health Persp. 14:119-126.
- Sihunincha M, Zamora-Perea E, Orellana-Rios W, Stancil JD, Lopez-Sifuentes V, Vidal-Ore C & Devine GJ (2005): Potential use of pyriproxyfen for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Iquitos, Peru. J. Med. Entomol. 42 (4): 620-630.
- Sirola N & Syrjarinne P (2002): Solving GPS time and position without navigations data. Proceedings of Institute of Electrical and Electronics Engineers PLANS 2002, Palm Springs
- Skultab S & Eldridge BF (1985): Ovarian diapause in *Culex peus*(Diptera: Culicidae) J Med Entomol. 22:454–458.

- Sota T & Mogi M (1992): Interspecific variation in desiccation survival-time of *Aedes* (*Stegomyia*) mosquito eggs is correlated with habitat and eggs size. *Oecologia* 90, 353–358.
- Spielman A (1964): Studies on autogeny in *Culex pipiens* populations in nature. I. Reproductive isolation between autogenous and anautogenous populations. *Am. J. Hyg.* 80: 175-183.
- Spielman A & Wong J (1973): Environmental control of ovarian diapause in *Culex pipiens*. *Ann Entomol Soc Am.*, 66:905–907.
- Srdić Ž, Zgomba M i Petrić D (1986): Les moustiques (Dip. Culicidae) et la demoustication en Vojvodine (Yugoslavie). Rapports generaux et communications IV-e Congres sur la protection de la sante humaine et des cultures en milieu tropical. Marseille. 489-494.
- Sullivan J (2000): Environmental fate of piriproxyfen. PhD-thesis. Environmental Monitoring & Pest Management Branch. Department of Pesticide Regulation. Sacramento, CA
- Suman DS, Farajollahi A, Healy S, Williams GM, Wang Y, Schoeler G, Gaugler R (2014): Point-source and area-wide field studies of pyriproxyfen autodissemination against urban container-inhabiting mosquitoes. *Acta Tropica*, 135: 96–103.
- Takken W & Knols BGJ (2010): Olfaction in vector-host interactions. Ecology and control of vector-borne diseases. Volume 2. Wageningen Academic Publisher, pp. 417.
- Tamarina NA & Fedorova MV (1983): Reproductive isolation in blood-sucking mosquitoes. In: Nartshuk, EP (ed.), *Dipterous insects, their systematics, geographical distribution and ecology*. Leningrad, pp. 128-130.
- Turell MJ, O'Guinn ML, Dohm DJ & Jones JW (2001): Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile Virus. *J. Med. Entomol.*, 38: 130–134
- Tusting LS, Thwing J, Sinclair D, Fillinger U, Gimnig J, Bonner KE, Bottomley C & Lindsay SW (2013): Mosquito larval source management for controlling malaria. *Cochrane Database Syst Rev.*, 8:CD008923.
- Urbanelli S, Coluzzi M, Petrarca V & Bullini L (1980): Differenziamento genetico in popolazioni italiani di *Cx. pipiens*. Am XII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Rome 2, 273-280.
- Van den Broek (2000). Olfactory sensitivity in *Anopheles* mosquitoes with different host preferences. PH. D. thesis Wageningen Agricultural University. The Netherlands. Department of Entomology 125pp
- Vasuki V (1990): Effect of insect growth regulators on hatching of eggs of three vector mosquito species. *Proc. Indian Acad. Sci., Anim. Sci.* 99: 477-482.

- Vigier F, Boffety D, Marionneau A & Ollivier E (2000): Automated on board system for georeferenced grain sampling on combine harvester, 11 th International Conference and Exhibition on Mechanization of Field Experiments, Chelmsford, UK, pp. 133-138.
- Vinogradova EB (2000): *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Pensoft; Sofia, Bulgaria.
- Vuković G (2012): Određivanje ostataka pesticida u dečijoj hranu upotrebom gasne hromatografije i tečne hromatografije sa masenom spektrometrijom. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Vythilingam I, Maria Luz B, Hanni R, Siew Beng T & Cheong Huat T (2005): Laboratory and field evaluation of the insect growth regulator pyriproxyfen (Sumilarv 0.5G) against dengue vectors. J.Am. Mosq. Cont. Assoc. 21(3): 296-300.
- Walker K & Lynch M (2007): Contributions of Anopheles larval control to malaria suppression in tropical Africa: review of achievements and potential. Med Vet Entomol., 21:2–21.
- White MT, Griffin JT, Churcher TS, Ferguson NM, Basáñez M & Ghani AC (2011): Modelling the impact of vector control interventions on *Anopheles gambiae* population dynamics. Parasit Vectors., 4:153.
- World Health Organization WHO (1993): A global strategy to control Malaria (WHO, Geneva).
- World Health Organization WHO (2001): Review of the insect growth regulator pyriproxyfen GR, pp. 50-67. In Report of the 4th WHOPES Working Group Meeting, 2000 December 4-5, Geneva Switzerland Geneva.WHO/CDS, WHOPES/2001.
- World Health Organization WHO (2002): World Health Report: Reducing risks, Promoting Healthy Life. Geneva: World Health Organization
- World Health Organization WHO (2004): Pyriproxyfen in Drinking Water. Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality (WHO, Geneva).
- Yapabandara AM & Curtis CF (2002): Laboratory and field comparisons of pyriproxyfen, polystyrene beads and other larvicidal methods against malaria vectors in Sri Lanka. Acta Trop., 81:211–223.
- Yapabandara AM, Curtis CF, Wickramasinghe MB & Fernando WP (2001): Control of malaria vectors with the insect growth regulator pyriproxyfen in a gem-mining area in Sri Lanka. Acta Trop., 80:265–276.
- Zeller HG & Schuffenecker I (2004): West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. Eur J Clin Microbiol Infect Dis., 23:147–156.

- Zhao TY & Lu BL (1999): The clasdics of *Culex pipiens* complex. *Acta Zootaxonomica Sinica*. 24:206–210.
- Згомба М (1987): Утицај ларвицида коришћених за сузбијање комараца (*Diptera Culicidae*) на акватичну ентомофауну у неким биотопима Војводине. Докторска дисертација на Пољопривредном факултету. Универзитет у Новом Саду, 101 пп.
- Згомба М и Петрић Д (1986): Консеквенце масовне појаве комараца августа 1985. године. Зборник радова Семинара из Заштите биља Војводине. Нови Сад, 106-107.

11. BIOGRAFIJA

Dušan Marinković rođen je 01.10. 1975. godine u Novom Sadu. Gimnaziju „Jovan Jovanović Zmaj“ završio je 1994. godine u Novom Sadu. Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu upisao je školske 1994/1995. godine. Diplomski rad pod naslovom: „Usporedno ispitivanje tri tipa minijaturnih klopki sa suvim ledom za sakupljanje odraslih formi komaraca“ odbranio 29.06.2000. godine.

Postdiplomske studije na smeru Fitofarmacija upisao 2002. godine. Angažovan je tokom 2003. godine kao istraživač pripravnik na predmetima Opšta entomologija i Zaštita bilja na Departmanu za zaštitu bilja i životne sredine Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu. U zvanje asisienta pripravnika na predmetu Posebna fitofarmacija na Departmanu za zaštitu bilja i životne sredine Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu izabran je 07.12.2005. godine. Magistrarsku tezu pod nazivom "Kreiranje modela za praćenje biološke efikasnosti tretmana namenjenih suzbijanju komaraca" odbranio je u junu 2008. godine.

U dosadašnjoj karijeri bio je angažovan na više naučnih i stručnih projekata na teritoriji grada Novog Sada i pokrajine Vojvodine. Autor je i koautor 49 naučnih i stručnih publikacija, objavljenih u različitim časopisima i prezentovanih na međunarodnim i domaćim skupovima.

Od 2013. godine radi kao asistent za užu naučnu oblast Fitofarmacija na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu.

Glavna oblast naučnog istraživačkog rada i polja interesovanja su Fitomedicina, Zoocidi, Hematofagni insekti

Čita, piše i govori engleski i nemački jezik.

Oženjen je i otac dvoje dece.