



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**

**Департман за Фитомедицину и заштиту
животне средине**



Никола Лаћарац
дипл.инж. пољопривреде

**БИОЛОШКИ ЕФЕКТИ ЕТАРСКОГ УЉА КИМА И
МИРОЋИЈЕ НА ИМАГА *SITORPHILUS ORYZAE* L.
(COLEOPTERA, CURCULIONIDAE)**

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2021.



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Департман за Фитомедицину и заштиту
животне средине



Кандидат

Дипл. инж. Никола Лаћарац

Ментор

Проф. др. Александра Поповић

БИОЛОШКИ ЕФЕКТИ ЕТАРСКОГ УЉА КИМА И МИРОЋИЈЕ НА ИМАГА *SITORPHILUS ORYZAE* L. (COLEOPTERA, CURCULIONIDAE)

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2021.

КОМИСИЈА ЗА ОДБРАНУ И ОЦЕНУ МАСТЕР РАДА:

др Александра Поповић, ванредни професор

Ужа научна област: Ентомологија

Пољопривредни факултет, Нови Сад

-Ментор-

др Јована Шућур, ванредни професор

Ужа научна област: Хемија и биохемија

Пољопривредни факултет, Нови Сад

-Председник-

др Милош Петровић, доцент

Ужа научна област: Ентомологија

Пољопривредни факултет, Нови Сад

-Члан-

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	3
2.1. СКЛАДИШНЕ ШТЕТОЧИНЕ	3
2.1.1. ПИРИНЧАНИ ЖИЖАК – <i>SITOPHILUS ORYZAE</i> (LINNAEUS)	4
2.2. ЕТАРСКА УЉА	6
2.2.1. ОПИС БИЉАКА И САСТАВ ЕТАРСКИХ УЉА ПРЕДСТАВНИКА ФАМИЛИЈЕ АРИСЕАЕ	7
2.2.2. ЕТАРСКА УЉА КАО ЗАМЕНА ЗА СИНТЕТИЧКЕ ПЕСТИЦИДЕ	9
3. ЗАДАТАК И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА	11
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА	12
4.1. ИНСЕКТИ КОРИШЋЕНИ У ИСТРАЖИВАЊУ	12
4.2. БИЉНИ МАТЕРИЈАЛ И ПРИПРЕМА ЕТАРСКИХ УЉА	13
4.3. ПРОТОКОЛ ОГЛЕДА	13
4.4. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА	20
5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА	21
5.1. УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ КОНЦЕНТРАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА КИМА У УСЛОВИМА ПРАЗНОГ СКЛАДИШТА НА МОРТАЛИТЕТ <i>S. ORYZAE</i>	21
5.2. УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ КОНЦЕНТРАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА КИМА У УСЛОВИМА ПУНОГ СКЛАДИШТА НА МОРТАЛИТЕТ <i>S. ORYZAE</i>	24
5.3. УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ КОНЦЕНТРАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА МИРОЋИЈЕ У УСЛОВИМА ПРАЗНОГ СКЛАДИШТА НА МОРТАЛИТЕТ <i>S. ORYZAE</i>	27
5.4. УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ КОНЦЕНТРАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА МИРОЋИЈЕ У УСЛОВИМА ПУНОГ СКЛАДИШТА НА МОРТАЛИТЕТ <i>S. ORYZAE</i>	30
6. ДИСКУСИЈА	33
7. ЗАКЉУЧАК	35
8. ЛИТЕРАТУРА	36
9. ПРИЛОГ	40

БИОЛОШКИ ЕФЕКТИ ЕТАРСКОГ УЉА КИМА И МИРОЋИЈЕ НА ИМАГА *SITOPHILUS ORYZAE* L. (COLEOPTERA, CURCULIONIDAE)

РЕЗИМЕ

Sytophilus oryzae (Linnaeus) је честа и штетна инсекатска врста у складиштима. Сваке године причињава значајне квантитативне и квалитативне губитке на ускладиштеним сировим житарицама. У мастер раду је испитивано деловање различитих концентрација етарских уља кима – *Carum carvi* (Linnaeus) и мирођије – *Anethum graveolens* (Linnaeus) на испољавање морталитета пиринчаног жишка након експозиције од 48h при различитим температурама (20°C, 25°C и 30°C), такође испитивање је рађено у две варијанте. Прва варијанта симулира услове сличне фумигацији празних складишта тј. инсекти су постављени у празне посуде, док друга варијанта симулира услове сличне фумигацији пуног складишта. Ефекат оба уља је испитиван у десет различитих концентрација. У првој варијанти, односно симулацији услова у празним складиштима, етарско уље кима је најјачи токсични ефекат остварило на температури од 20°C и концентрацији примене од 125 µl, при чему је стопа смртности износила 100%. Када је етарско уља мирођије у питању стопа смртности од 100% је остварена при температури од 25°C и концентрацији 105 µl, као и на температури од 30°C и чак четири различите концентрације: 145 µl; 165 µl; 185 µl и 205 µl. У другој варијанти, тј. симулацији услова у пуним складиштима, етарско уље кима је најјачи токсични ефекат, од 24%, имало на температури од 30°C и концентрацији од 112,5 µl. Етарско уље мирођије најјачи токсични ефекат је имало на температури од 30°C и концентрацији 185 µl при чему је стопа смртности износила 32%.

Кључне речи: *Sytophilus oryzae*, етарско уље, биолошки ефекат, ким, мирођија

BIOLOGICAL EFFECTS OF CARAWAY AND DILL ESSENTIAL OILS ON ADULTS OF *SITOPHILUS ORYZAE* L. (COLEOPTERA, CURCULIONIDAE)

SUMMARY

Sytophilus oryzae (Linnaeus) is a common and harmful insect species in warehouses. Every year it causes significant quantitative and qualitative losses on stored raw cereals. The master thesis examined the effect of different concentrations of essential oils of caraway - *Carum carvi* (Linnaeus) and dill - *Anethum graveolens* (Linnaeus) on the manifestation of rice weevil mortality after exposure of 48 h at different temperatures (20°C, 25°C and 30°C), also the test was done in two variants. The first variant simulates conditions similar to the fumigation of empty warehouses, insects are placed in empty containers, while another variant simulates conditions similar to full warehouses fumigation. The effect of both oils was examined in ten different concentrations. In the first variant, simulation of conditions in empty warehouses, caraway essential oil had the strongest toxic effect at a temperature of 20°C and a concentration of 125 µl, with a mortality rate of 100%. When it comes to dill essential oil, the mortality rate of 100% was achieved at a temperature of 25°C and a concentration of 105 µl, as well as at a temperature of 30°C and even four different concentrations of application: 145 µl; 165 µl; 185 µl and 205 µl. In another variant, simulation of conditions in full warehouses, caraway essential oil had the strongest toxic effect, of 24%, at a temperature of 30°C and a concentration of 112,5 µl. Dill essential oil had the strongest toxic effect at a temperature of 30°C and a concentration of 185 µl, with a mortality rate of 32%.

Keywords: *Sytophilus oryzae*, essential oil, biological effect, caraway, dill

1. УВОД

Инсекти су једна од најзначајнијих група штеточина у пољопривреди. Причињавају штете у пољу, током вегетације, али такође значајне штете могу настати током складиштења пољопривредних производа. Штете које настају на ускладиштеним производима доводе до великих економских губитака али и смањења квалитета ускладиштених производа. Губици на ускладиштеним житарицама и њиховим производима се крећу од 5-10% у подручјима умереног климата док у тропским областима достижу чак 20-30% (Пеке и Ogungbite, 2014). Из тог разлога неопходно је спроводити мере заштите ускладиштених производа. Под заштитом ускладиштених производа подразумева се скуп мера којима се губици у току складиштења своде на минимум. Данас у свету доминира интегрални приступ у заштити ускладиштених биљних производа који укључује: добро познавање биологије и екологије инсеката и осмишљавање најпогоднијег начина за њихову детекцију и мониторинг током времена, као и познавање најпогоднијих мера за сузбијање у одређеним условима (Кљајић и Перић, 2005). Главно оружје у борби са штетним инсектима су инсектициди, они се користе како у пољу тако и у складиштима. Најчешћи начин коришћења инсектицида у складиштима је фумигација. Данас се све чешће говори о негативном утицају синтетичких пестицида на животну средину и здравље људи. Управо из разлога безбедности број доступних инсектицида за примену у складиштима је смањен (Padin и сар., 2013). Зато се данас све више ради на изналажењу алтернативних мера за борбу са инсектима које би могле да замене постојеће синтетичке инсектициде. Као могућа замена за синтетичке инсектициде помињу се ботанички инсектициди (Huang и сар., 2007, Ukeћ и Umoetok, 2011). Ботанички пестициди (инсектициди) су еколошки прихватљиви и не задржавају се дуго у животној средини (Милетић и сар., 2013). Поред повољнијих еколошких карактеристика ботанички инсектициди би могли да представљају ново оружје у борби са инсектима који су развили резистентност на до сада коришћене инсектициде. Једна од боље испитаних група ботаничких инсектицида су етарска уља.

У првом делу овог мастер рада у лабораторијским условима испитивана је смртност имага *Sytophilus oryzae* (Linnaeus), која су била изложена деловању различитих

концентрација етарских уља кима и мирођије на три различите температуре (20°C, 25°C и 30°C). Инсекти су били смештени у празне посуде, запремине 720ml, чиме су опонашани услови као у празном складишту.

У другом делу огледа су имага *S. oryzae* била изложена истим концентрацијама етарских уља и температурама као и у првом делу огледа с тим што су посуде у овом случају биле испуњене кукурузом како би се створили услови као у пуном складишту.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. СКЛАДИШНЕ ШТЕТОЧИНЕ

Штетни инсекти у складиштима воде порекло из природе, они су хиљадама година живели у природи и хранили се биљкама, међутим како је човек почео да прикупља и складишти храну дошло је и до прилагођавања појединих инсекатских врста на живот у складиштима (Бркић и сар., 2009). Поједине врсте су се толико прилагодили условима који владају у складиштима да су у потпуности престали да траже храну у природи. Те врсте, код којих се целокупан животни циклус одвија у затвореним просторима називају се складишне штеточине (Корунџић, 1990). Штете које изазивају на ускладиштеним производима доводе до великих економских губитака али и смањења квалитета ускладиштених производа. Инсекти који причињавају штете у складиштима се према начину исхране деле на: примарне штеточине, секундарне штеточине, микофагне врсте, стрвинаре и случајне врсте (Hagstrum и сар., 2013). Примарне штеточине житарица нападају цела, неоштећена зрна житарица на или у којима се хране и развијају. Неке од примарних штеточина су: *Sitophilus oryzae* (Linnaeus), *Sitophilus granarius* (Linnaeus), *Sitophilus zeamais* (Motschulsky), *Sitotroga cerealella* (Olivier), *Rhizopertha dominica* (Fabricus), и др. За разлику од примарних штеточина секундарне штеточине се развијају на производима који су оштећени током жетве, транспорта, истовара или су оштећени од стране примарних штеточина, као и на многобројним прерађевинама (гриз, мекиње). Представници ове групе су: *Tribolium confusum* (du Val), *Tribolium castaneum* (Herbst), *Tribolium destructor* (Uyttenboogaart), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens), *Ephesia kuehniella* (Zeller), и др. Микофагне врсте се не хране самим производима, већ како им и само име каже мицелијом гљива која се развија на ускладиштеним производима, њихово присуство је углавном показатељ неадекватног складиштења производа. У ову групу спадају: *Typhaea stercorea* (Linnaeus), врсте рода *Cryptophagus* spp. (Herbst), *Mycetophagus quadriguttatus* (Muller), и др. Инсекти који припадају групи стрвинара се хране биљним остацима у фази распадања, те се за њих не може баш рећи да су штетни, представници ове групе су врсте из рода *Blaps* spp. (Fabricius). Последњу групу инсеката у складиштима чине случајне врсте, то могу бити неке врсте које нападаја биљке у току вегетације па заједно са пољопривредним производима буду унете у складиште, пример

за ову групу су житне стенице, оне не праве штете у складиштима пошто врло брзо угину (Група аутора, 1972).

2.1.1. ПИРИНЧАНИ ЖИЖАК – *SITOPHILUS ORYZAE* (LINNAEUS)

Међу најзначајније примарне штеточине ускладиштених производа спада пиринчани жижак - *S. oryzae*, поред ове врсте истом роду *Sithophilus* (Coleoptera, Curculionidae), припадају још две значајне врсте примарних штеточина *S. granarius* (Linnaeus) - житни жижак и *S. zeamais* (Motschulsky) - кукурузни жижак. Пиринчани жижак је космополитска врста која је веома значајна штеточина у складиштима пиринча (Bello и сар., 2001), али осим на пиринчу озбиљне штете могу настати и на ускладиштену кукурузу и пшеницу (Arannilewa и сар., 2002). Управо штете које могу настати током складиштења кукуруза и пшенице су значајне за нас, пошто су то две најзаступљеније житарице код нас. Пиринчани жижак је врста са потпуним преображајем, односно пролази кроз стадијуме јајета, ларве (слика 1), лутке (слика 2) и имага (слика 3). Имаго *S. oryzae* је рђастосмеђе до црне боје, дужина тела је од 2,5 до 4 mm. На пронотуму ове врсте се налазе ситније рупице у односу на житног жишка, поред овога, пиринчани жижак се такође разликује по томе што на свакој елитри има по две нејасно ограничене црвене пеге. Испод елитри су смештена опнаста крила, помоћу којих ова врста може да лети. Ларва је беле боје, аподна, пролази кроз четири развојна ступња и стадијум предлутке. Ларва на прва три абдоминална тергита има по три набора. Јаја су издужена овалног облика, просечне дужине 0,6 до 0,7 mm, у почетку су безбојна а касније добијају млечно белу боју. Лутка је рупа *libera*, дужине од 3 до 4 mm, у почетку је беле боје а касније добија тамнију боју. Имага веома брзо достижу полну зрелост, након чега долази до копулације и полагања јаја. Женка рилицом буши отворе у зрну и у њих одлаже јаја. Доња температурна граница испод које не долази до одлагања јаја је 13°C, а горња температурна граница за одлагање јаја је 35°C. У зрна чија је влажност испод 9% женке не полажу јаја. Женка дневно положи до 10 јаја, а укупно током живота 300-500 јаја. Оптимална температура за развој ларве је 24-28°C, поред температуре на развој ларви утиче и влажност зрна. Тако да при влажности зрна од 14% и температури 25,5°C смртност ларви износи свега 7%, када је влага 11% и температура 30°C тада је смртност

ларви око 38% и када је влага зрна 10,5% и температура 30°C тада је смртност ларви 76%. У једном зрну се може развијати понекад и више од једне ларве. Пиринчани жижак углавном има 3-4 генерације годишње, док у случају да дође до повећања температуре у складиштима или до загревања житарица тада може имати и већи број генерација. С обзиром да ова врста има огроман потенцијал за размножавање, као и чињеница да припада групи примарних штеточина у складиштима веома је важно пратити стање у складиштима како би се на време уочило присуство ове врсте и предузеле адекватне мере за њено сизбијање (Група аутора, 1972).



Слика 1. Ларва *S. oryzae* (Извор: https://agritech.tnau.ac.in/crop_protection/images/grain/larvawivel.jpg)



Слика 2. Лутка *S. oryzae* (Извор: <https://d3i71xaburhd42.cloudfront.net>)



Слика 3. Имаго *S. oryzae* (Извор: http://spiru.cgahr.ksu.edu/ImageDB/m_RiWAd2.jpg)

2.2. ЕТАРСКА УЉА

Биљке током одвијања метаболичких процеса продукују две врсте метаболита: примарне и секундарне метаболите. У примарне метаболите спадају протеини, липиди, нуклеинске киселине и угљени хидрати, ова једињења су носиоци многих важних улога у биљкама. За секундарне метаболите се дуго сматрало да немају битне улоге у функционисању биљака, међутим Seigler и Price (1976) су показали да терпеноиди, шикимати, поликетиди и алкалоиди имају различите биохемијске, физиолошке и еколошке функције. Једну од најважнијих група секундарних метаболита представљају етарска уља. Етарска уља су лако испарљива најчешће безбојна једињења специфичног мириса која продукују биљке из бројних фамилија, међу којима су најпознатије фамилије *Ariaceae*, *Asteraceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae* и др. Етарска уља могу бити локализована у различитим биљним деловима: корену, стаблу, листу, цвету и плоду. Биљке етарска уља синтетишу и акумулирају ендегено у посебним анатомским творевинама као што су: секреторне ћелије, секреторне шупљине, секторни канали и идиобласти, као и егзогено у жлезданим длачицама. Према неким проценама утврђено је око 3000 различитих етарских уља од којих већи комерцијални значај има њих око 300 (Ћеркић, 2015). Биљке из којих се етарска уља издвајају су најчешће индустријски узгајане и од посебног су значаја оне биљке које по екстракцији дају приносе етарског уља изнад 0,001% у односу

на суву масу. Врсте чија се уља најчешће користе припадају следећим родовима: *Salvia* spp., *Matricaria* spp., *Origanum* spp., *Ocimum* spp., *Thymus* spp., *Anethum* spp., *Carum* spp. и др. (Костић и сар., 2012). Удео етарског уља у биљкама варира, приликом екстракције хидродестилацијом цвасти хајдучке траве принос уља износи 0,05% док после хидродестилације семена першуна принос уља износи 7% (Совиљ и Спасојевић, 2001). Најчешће коришћена метода екстракције етарских уља је метода хидродестилације она се користи у лабораторијским условима али и у индустријској екстракцији. Поред ове методе постоји и низ других метода екстракције етарских уља као што су: Sohlert екстракција помоћу течног угљен диоксида, екстракција асистирана микроталасима и екстракција гасовима и течностима у суперкинетичком стању (Kubeczka, 2010; Filip, 2014). Једна од главних предности етарских уља, која отежава инсектима да стекну резистентност на њих је њихов састав, односно етарска уља представљају смешу великог броја компоненти (Поповић и сар., 2019). Те компоненте су угљоводоници, алкохоли, кетони, киселине, лактони, терпени, естри и гликозиди.

2.2.1. ОПИС БИЉАКА И САСТАВ ЕТАРСКИХ УЉА ПРЕДСТАВНИКА ФАМИЛИЈЕ АРИАСЕАЕ

Фамилија Ариасеае (штитоноше) обухвата 434 рода у оквиру којих је описано 3700 различитих врста. Неке од биљака из ове фамилије су веома значајне у повртарској производњи (мрква, целер, першун, паштрнак), док неке припадају групама ароматичног и зачинског биља (ким, мирођија, анис, коријандер, коморач и кумин) (Tuncstürk и Ozdokse, 2015). Представници ове фамилије су углавном једногодишње зељасте биљке, али има представника који су двогодишње или вишегодишње врсте.

Ким – *Carum carvi* (Linnaeus) - је једногодишња или двогодишња биљка из фамилије Ариасеае. Двогодишња форма током прве године формира лисну розету а у другој години усправно стабло висине око 150 cm на коме су наизменично распоређени двојно или тројно перасто дељени листови. Има ситне, беле до белоружичасте цветове који су груписани у штитасте цвасти (слика 4). Плод је шизокарпијум у коме се формирају две семенке. На плоду се налази више ребара, између којих се налазе канали испуњени етарским уљем (Kişgeci, 2002). Удео етарског уља у плоду кима је 1-6% (Sedlakova и сар.,

2003). Доминантне компоненте етарског уља кима, које чине 95% уља, су лимонен и карвол (Аћимовић и сар., 2015b).

Мирођија – *Anethum graveolens* (Linnaeus) је једногодишња зељаста биљка из фамилије Ариасеае. Има вретенаст корен и усправно стабло висине око 120 cm на коме су распоређени перасто дељени листови. Цветови су ситни, жуте боје и груписани у штитасте цвасти (слика 5). Плод је шизокарпијум у коме се формирају две семенке. Арома карактеристична за мирођију потиче од етарског уља чији је садржај у плоду од 3,3-3,7%. Доминантне компоненте етарског уља семена мирођије, узгајане у Србији и Бугарској, су д-лимонен и д-карвон које чине 94% свих компоненти детектованих у овом уљу (Jirovetz и сар., 2003 и Аћимовић и сар., 2015a).



Слика 4. Ким – *Carum carvi* у цветању

(Извор: <https://dijetaplus.com/wp-content/uploads/2016/01/kim-biljka.jpg>)



Слика 5. Мирођија - *Anethum graveolens* у цветању

(Извор: https://oroseeds.rs/wpcontent/uploads/2019/02/Screenshot_30-2.png)

2.2.2. ЕТАРСКА УЉА КАО ЗАМЕНА ЗА СИНТЕТИЧКЕ ПЕСТИЦИДЕ

Као последица вишегодишње, интензивне примене синтетичких инсектицида у заштити ускладиштених производа дошло је до развоја низа негативних ефеката као што су појава резистентности, негативно деловање на здравље људи и животиња, проблеми са остацима инсектицида у намирницама и низ других проблема. Све ови проблеми су навели истраживаче који се баве овом облашћу да предмет својих истраживања усмере ка проналажењу алтернативних мера које би омогућиле да се превазиђу наведени проблеми у заштити ускладиштених производа. Материје биљног порекла, а међу њима и етарска уља, су стекле научну популарност због низа повољних особина као што су: висока испарљивост, ниска токсичност према сисарима, смањен негативни ефекат према корисним инсектима и ниска перзистентност (Sprochacz и сар., 2018). Пошто су етарска уља лако испарљива једињења са ниском токсичношћу према сисарима са тог аспекта су повољна за примену у складиштима (Batish и сар., 2008). Једна од главних предности етарских уља, која отежава инсектима да стекну резистентност на њих је њихов састав, односно етарска уља представљају смешу великог броја компоненти (Поповић и сар., 2019). Етарска уља имају широк спектар деловања на складишне штеточине, могу

деловати фумигантно, репелентно, атрактантно а такође могу деловати и на параметре постембрионалног развића. Етарско уље кима је ефикасно у сузбијању кукурузног жишка *S. zeamais* и кестењастог брашнара *Tribolium castaneum* (Herbst) (Fang и сар., 2010). Уље кима такође испољава инсектицдно деловање према малом брашнару *Tribolium confusum* и великом брашнару *Tenebrio molitor* (Linnaeus) (Петровић и сар., 2019). Утврђено је да етарско уље семена мирођије има токсично деловање на *Periplaneta americana* (Linnaeus), *Musca domestica* (Linnaeus) и *Tribolium castaneum* (Babri и сар., 2012). Етарско уље лаванде се показало као ефикасно у контроли *Tribolium confusum* (DuVal) (Kheloul и сар., 2020). Етарска уља *Origanum vulgare* (Tourn), *Citrus limon* (Burm), *Cupressus sempervirens* (Linnaeus), *Citrus sinensis* (Osbeck) и *Callistemon viminalis* (Byrnes) испољавају фумигантна деловања према *S. oryzae* (Abdelgaleil и сар., 2016). Када је у питању испитивање могућности употребе етарских уља у контроли пиринчаног жишка, први огледи су спроведени још крајем прошлог века и још тада је утврђено фумигантно и перзистентно деловање етарских уља 31 биљке као нпр. лаванде, рузмарина, еукалиптуса и других на *S. oryzae* (Singh и сар., 1989).

3. ЗАДАТАК И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Задатак овог рада је био да се испита ефекат етарских уља кима и мирођије на пиринчаног жишка као једне од најзначајнијих примарних штеточина ускладиштених производа.

С обзиром да етарска уља због низа предности у односу на конвенционалне инсектициде, заузимају веома важно место у савременим концептима биљне производње као што су органска и интегрална производња, циљ овог рада је био да се путем биолошких тестова утврди деловање различитих концентрација етарских уља кима и мирођије на различитим температурама и могућности њихове примене, као биолошке мере борбе у сузбијању пиринчаног жишка (*S. oryzae*).

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Оглед је рађен у просторијама Пољопривредног факултета у Новом Саду, у лабораторији за ентомологију у оквиру Депатмана за фитомедицину.

4.1. ИНСЕКТИ КОРИШЋЕНИ У ИСТРАЖИВАЊУ

За потребе огледа коришћени су одрасли инсекти (оба пола) *S. oryzae* који су гајени у лабораторији за ентомологију на хранљивом супстрату (слике 6 и 7) на собној температури. Као хранљиви супстрат коришћен је кукуруза. У огледу је коришћено укупно 13.200 одраслих инсеката *S. oryzae*.



Слика 6. (лево) Хранљиви супстрат. Слика 7. (десно) Увеличани приказ хранљивог супстрата (Фото: Никола Лаћарац, 2021)

4.2. БИЉНИ МАТЕРИЈАЛ И ПРИПРЕМА ЕТАРСКИХ УЉА

Екстракција етарских уља извршена је методом хидродестилације уз *n* – хексан као растварач. Уља су екстрахована из семена биљака кима и мирођије. Према европској фармакопеји European Pharmacopoeia (Council of Europe 2010), за добијање етарских уља кима као и мирођије користи се самлевено семе претходно осушено на 12% апсолутне влаге. Сам поступак добијања етарских уља се одвија у неколико корака. Најпре се у стаклени балон запремине 1000ml унесе 40g уситњеног биљног материјала и прелије са 650ml дестиловане воде, након чега се изврши хомогенизација биљног материјала и воде. Стаклени балон се гуменим цевима повеже са апаратом и затим се постави на грејач. Трајање процеса је износило око 3h у току којих је на сваких 30 минута вршена провера да ли се процедура одвија по плану. Тако добијени етарско уље је сушено помоћу анхидрованог Na_2SO_4 , након чега је *n* – хексан упарен у ротационом вакуум упаривачу. Добијено уље је чувано у ексикатору до константне масе након чега је мерен принос уља који се изражава у g/100g осушеног биљног материјала. Уље које је овако припремљено спремно је за употребу до момента коришћења чувано је у замрзивачу на $+4^\circ\text{C}$ (Петровић, 2020).

4.3. ПРОТОКОЛ ОГЛЕДА

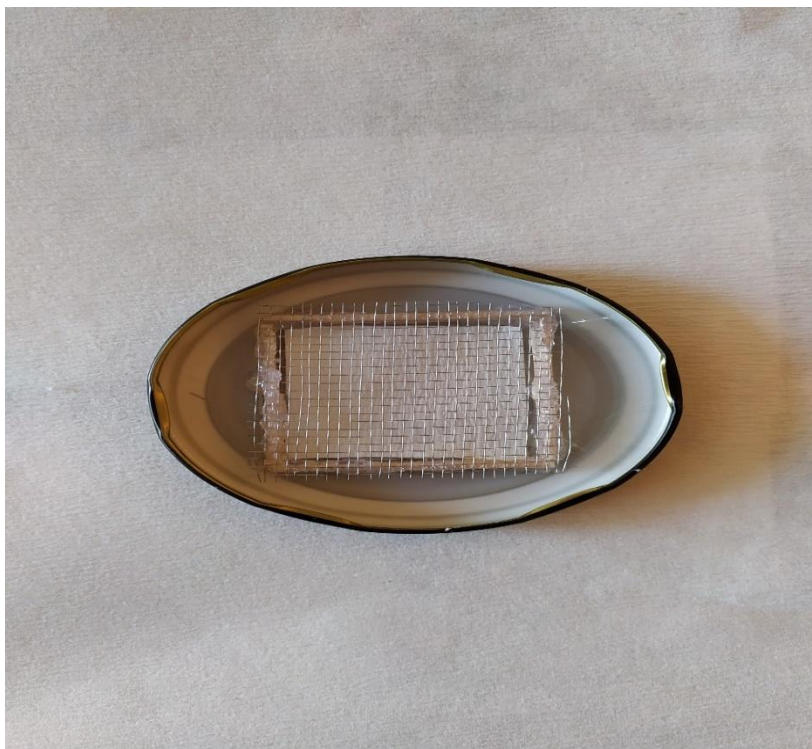
Оглед је изведен на одраслим јединкама оба пола врсте *S. oryzae*. Пре постављања огледа инсекти су помоћу сита издвојени из супстрата (слика 8) након чега је потребан број инсеката (за свако понављање је коришћено по 25 инсеката) пребачен у стаклене посуде у којима се оглед одвијао. У ову сврху су коришћене стаклене посуде (тегле) запремине 720ml (слика 9) са одговарајућим чеповима. Чепови су посебно прилагођени за овај оглед (слика 10), са унутрашње стране чепа налепљена је филтер хартија површине 25cm^2 , на коју је постављен жичани кавез који не дозвољава да инсекти дођу у директан контакт са етарским уљем које се наноси на филтер хартију већ само са његовом гасовитом фазом.



Слика 8. Издвајање инсеката из супстрата (Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 9. Тегле које су коришћене у огледу (Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 10. Чеп са филтерхартијом на коју је наношено етарско уље (Фото: Никола Лаћарац, 2021)

У првом делу огледа су испитивани ефекти етарских уља кима и мирођије на одрасле јединке *S. oryzae*, у условима који симулирају стање у празном складишту.

Биолошки ефекат етарског уља кима на морталитет имага *S. oryzae* испитиван је у десет различитих концентрација: 12,50; 25; 37,50; 50; 62,50; 75; 87,50; 100; 112,50 и 125 $\mu\text{L/L}$ ваздуха. Свака концентрација је примењена у 4 понављања, што значи да је било укупно 40 понављања у којима су примењена етарска уља и још 4 додатна понављања у којима није коришћено етарско уље и она представљају контролу. Да би се утврдило да ли температура има утицај на биолошки ефекат етарског уља оглед је постављен и на три различите температуре 20, 25 и 30°C.

На исти начин је испитиван и биолошки ефекат етарског уља мирођије на морталитет имага *S. oryzae*, с тим што су у ову сврху коришћене следеће концентрације етарског уља мирођије: 25; 45; 65; 85; 105; 125; 145; 165; 185 и 205 $\mu\text{L/L}$ ваздуха.

У другом делу огледа да би се испитало да ли етарска уља кима и мирођије имају подједнак биолошки ефекат на морталитет пиринчаног жишка и у условима пуног

складишта, оглед је постављен са истим концентрацијама примене етарских уља обе биљке и на истим температурама као што је описано за први део огледа са разликом у томе што је у сваку стаклену посуду додато по 250 грама кукуруза.

Као што је већ наведено први корак у постављању огледа је био издвајање инсеката из хранљивог супстрата помоћу сита. Затим се приступило пребројавању инсеката и преношењу потребног броја инсекта у сваку стаклену посуду. У сваку посуду је стављено по 25 инсеката што значи да је за сваку концентрацију требало 100 инсеката распоређених у 4 посуде (4 понављања). С обзиром да се у огледу испитивао ефекат 10 различитих концентрација примене етарског уља и контрола то значи да је за сваку испитивану температуру било потребно 44 посуде и 1100 инсекта. На сваку посуду је налепљена етикета са врстом инсекта, концентрацијом етарског уља којој ће инсекти бити изложени у тој посуди, температуром на којој се одвија оглед и трајање огледа (Слика 11). Након што су све посуде обележене на адекватан начин у њих су постављени инсекти, 25 по посуди. Када је у сваку посуду унето по 25 инсеката, приступило се наношењу етарских уља, у одговарајућим концентрацијама, на филтер хартије које су залепљене са унутрашње стране чепова. Етарска уља су нанета помоћу аутоматске пипете (слика 12). Пошто је етарско уље нането на све филтер хартије посуде су затворене. Како би се обезбедила херметичност у посудама, око чепова је постављен парафилм. Припремљене посуде, на претходно описан начин, пренете су у клима комору која је подешена на одговарајућу температуру (слике 13, 14 и 15). Након 48 часова од уношења посуда са инсектима у клима комору, приступило се пребројавању угинулих и преживелих инсеката у свакој посуди (слика 16).

Сам начин постављања огледа је идентичан за оба етарска уља, са разликом у концентрацијама примене уља. Такође и када се испитује утицај температуре на ефикасност примењеног уља поступак је исти, једина разлика је у температури на коју је клима комора подешена (20, 25 или 30°C) (слике 17, 18 и 19). Исто тако када се поставља оглед у коме се испитује ефикасност етарских уља у условима пуног складишта поступак је идентичан са разликом што је за сваку посуду одмерено по 250 грама кукуруза (слика 20), и стављено по 25 инсеката након чега су посуде затворене и стављене у клима комору (слике 21 и 22).



Слика 11. Тегла означена етикетом
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 12. Наношење етарског уља
аутоматском пипетом
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 13. Уношење тегли у клима комору
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



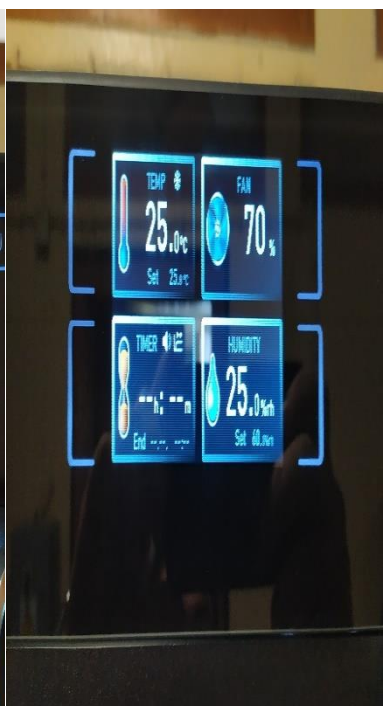
Слика 14. Тегле постављене у клима комору
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 15. Клима комора
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 16. Пребројавање уинулих и преживелих јединки након 48h
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



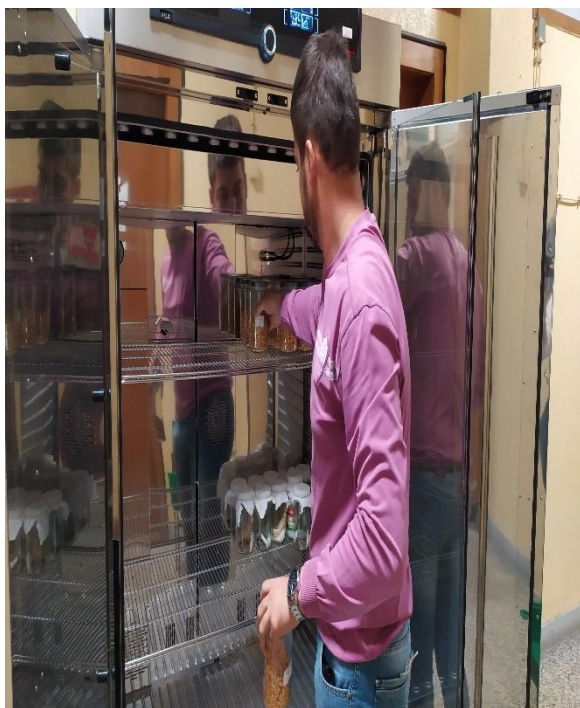
Слике 17, 18 и 19. Приказ температура на којима се одвијао оглед
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 20. Одмеравање кукуруза
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 21. Посуде са кукурузом и
инсектима пре уношења у клима комору
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 22. Уношење посуда у клима комору
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)



Слика 23. Посуде у клима комори
(Фото: Никола Лаћарац, 2021)

4.4. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Статистичка анализа података је извршена основним статистичким методама и тестовима, а посматрана је и корелациона повезаност смртности пиринчаног жишка у зависности од примењене концентрације етарског уља, као и температуре, коришћењем софтвера Statistica 14 (StatSoft, Универзитетска лиценца) и IBM SPSS (Универзитетска лиценца).

5. РЕЗУЛТАТИ ИСТАРЖИВАЊА

5.1. УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ КОНЦЕНТРАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА КИМА У УСЛОВИМА ПРАЗНОГ СКЛАДИШТА НА МОРТАЛИТЕТ *S. ORYZAE*

У табели 1. приказани су резултат утицаја различитих концентрација етарског уља кима у условима празног складишта на смртност адулта *S. oryzae* при излагању температурама 20, 25 и 30°C. Примењеном статистичком анализом при излагању инсеката температури од 20°C добијени су резултати који су према сигнификантности подељени у четири категорије (a-d). Добијена F вредност износила је 17,49 а $p=0,0000$. При експозицији наведене врсте следећим концентрацијама етарског уља 12,5; 25; 37,5 и 50 $\mu\text{l/L}$ ваздуха смртност се кретала од 30 до 56% и ови резултати су сврстани у категорију a. Категорији b припадају резултати који су добијени приликом излагања концентрацијама 62,5 и 100 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је смртност износила 74 и 83%. У категорију c сврстани су резултати добијени при излагању концентрацијама 75 и 87,5 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је смртности била 92 и 94%. Резултати добијени при излагању концентрацијама 112,5 и 125 $\mu\text{l/L}$ ваздуха сврстани су у категорију d при чему је смртност износила 96 и 100%.

Примењеном статистичком анализом при излагању инсеката температури од 25°C добијени су резултати који су према сигнификантности подељени у 3 категорије (a-c). Добијена F вредност је износила 1,12, а $p=0,0000$. Резултати који су добијени при излагању инсеката концентрацијама 12,5; 50 и 75 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему се смртност кретала од 66 до 70% припадају категорији a. У категорију b су сврстани резултати добијени при експозицији инсеката концентрацијама 25; 37,5; 62,5; и 100 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је смртност била између 72 и 83%. Категорији c припадају резултати добијени при излагању инсеката концентрацијама 87,5; 112,5 и 125 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када се смртност кретала од 86 до 93%.

Примењеном статистичком анализом при излагању инсеката температури од 30°C добијени су резултати који су према сигнификантности подељени у 4 категорије (a-d). Добијена F вредност је износила 4,10, а $p=0,0016$. При експозицији наведене врсте концентрацији 12,5 $\mu\text{l/L}$ ваздуха смртност је износила 58% и овај резултат припада

категорији а. Категорији б припадају резултати добијени при излагању концентрацијама 25 и 75 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је смртност била 74 и 76%. У категорију с су сврстани резултати добијени при излагању инсекта концентрацијама 37,5; 50; 62,5; 87,5 и 100 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему се смртност кретала од 87 до 95%. Резултати који су добијени при излагању концентрацијама 112,5 и 125 $\mu\text{l/L}$ ваздуха су сврстани у категорију д при чему је смртност у оба случаја износила 98%.

Прегледом резултат који се односе на смртност приликом излагања истим концентрацијама али на различитим температурама, уочено је постојање пет случајева где је утврђена статистички сигнификантна разлика. Статистичаки значајна разлика је уочена приликом излагања инсеката концентрацији 12,5 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је забележена смртност од 30, 60 и 58% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=5,73$ и $p=0,0248$. Исти случај је забележен и приликом излагања инсеката концентрацији од 37,5 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је забележена смртност 42, 83 и 92% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=34,93$ и $p=0,0000$. Статистички сигнификантна разлика је уочена и при излагању инсеката концентрацији од 50 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је забележена смртност 56, 66 и 87% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=6,56$ и $p=0,0174$. И при концентрацији примене од 100 $\mu\text{l/L}$ ваздуха је уочена статистички сигнификантна разлика између добијених резултат смртности која је износила 74, 72 и 95% за температуре 20, 25 и 30°C, овакав закључак је изведен на основу вредности $F=5,09$ и $p=0,0332$. Статистичаки значајна разлика је уочена приликом излагања инсеката концентрацији 112,5 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је забележена смртност од 96, 87 и 98% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=9,96$ и $p=0,0052$.

Табела 1. Морталитет адулта *S. oryzae*, изложених различитим концентрацијама етарског уља кима у условима празног складишта

	Морталитет <i>S. oryzae</i> (%)						Једнофакторијална ANOVA између излагања на различитим температурама	
Концентрација етарског уља кима (µl/L vazduha)	20°C		25°C		30°C			
	$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$			
12,50	30,00 ± 4,79a		69,00 ± 3,20a		58,00 ± 4,34a		5,73	0,0248
25	47,00 ± 6,29a		74,00 ± 5,25b		74,00 ± 4,50b		2,08	0,1807
37,50	42,00 ± 2,88a		83,00 ± 2,50b		92,00 ± 0,81c		34,93	0,0000
50	56,00 ± 0,81a		66,00 ± 4,79a		87,00 ± 2,21bc		6,56	0,0174
62,50	83,00 ± 3,40b		83,00 ± 3,40b		94,00 ± 1,73c		1,15	0,3573
75	94,00 ± 1,29c		70,00 ± 7,59a		76,00 ± 6,21b		1,19	0,3468
87,50	92,00 ± 1,15c		93,00 ± 0,50c		95,00 ± 0,95c		0,70	0,5217
100	74,00 ± 2,64b		72,00 ± 4,08b		95,00 ± 0,50c		5,09	0,0332
112,50	96,00 ± 0,81d		87,00 ± 0,95c		98,00 ± 1,00d		9,96	0,0052
125	100,00 ± 0,00d		86,00 ± 3,31c		98,00 ± 0,00d		3,79	0,0638
Контрола	0,00 ± 1,89a		5,00 ± 6,18a		0,00 ± 2,82a		0,96	0,8839
Једнофакторијална ANOVA у склопу времена излагања	F=17,49	p=0,0000	F=1,12	p=0,0000	F=4,10	p=0,0016	/	

5.2. УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ КОНЦЕНТРАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА КИМА У УСЛОВИМА ПУНОГ СКЛАДИШТА НА МОРТАЛИТЕТ *S. ORYZAE*

У табели 2. приказани су резултат утицаја различитих концентрација етарског уља кима у условима пуног складишта на смртност адулта *S. oryzae* при излагању температурама 20, 25 и 30°C.

Примењеном статистичком анализом при излагању температури од 20°C добијени су резултати који по сигнификантности припадају истој категорији (а). Добијена F вредност је износила 1,39 а $p=0,2352$. Проценат смртности се кретао од 2% при излагању концентрацији 25 µl/L ваздуха до 8% при излагању концентрацијама 50; 75 и 87,5 µl/L ваздуха.

Примењеном статистичком анализом при излагању температури од 25°C добијени су резултати који по сигнификантности припадају истој категорији (а). Добијена F вредност је износила 1,04 а $p=0,4282$. Проценат смртности се кретао од 4% при излагању концентрацији 100 µl/L ваздуха до 10% при излагању концентрацијама 50 и 75 µl/L ваздуха.

Примењеном статистичком анализом при излагању инсеката температури од 30°C добијени су резултати који су према сигнификантности подељени у 3 категорије (а-с). Добијена F вредност је износила 2,59 а $p=0,0238$. Резултати који су добијени при излагању инсеката концентрацијама 12,5; 25; 75 и 87,5 µl/L ваздуха припадају категорији а при чему смртност износи од 6 до 9%. У категорију б су сврстани резултати добијени при експозицији инсеката концентрацијама 37,5; 50; 62,5; 100 и 125 µl/L ваздуха при чему је смртност била између 12 и 19%. Категорији с припада резултат добијен при излагању инсеката концентрацији 112,5 µl/L ваздуха при чему смртност износи 24%.

Прегледом резултат који се односе на смртност приликом излагања истим концентрацијама али на различитим температурама, уочено је да постоје 3 различита случаја где је утврђена статистички сигнификантна разлика. Статистички значајна разлика је уочена приликом излагања инсеката концентрацији 25 µl/L ваздуха при чему је забележена смртност од 2, 6 и 8% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=5,25$ и $p=0,0308$. Исти случај је забележен и приликом излагања инсеката концентрацији од

87,5 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је забележена смртност 8, 5 и 9% за температуре 20, 25 и 30% на шта указује $F=39,8$ и $p=0,0000$. Статистички сигнификантна разлика је уочена и при излгању инсеката концентрацији од 112,5 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је забележена смртност 5, 8 и 24% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=8,16$ и $p=0,0094$.

Табела 2. Морталитет адулта *S. oryzae*, изложених различитим концентрацијама етарског уља кима у условима пуног складишта

	Морталитет <i>S. oryzae</i> (%)						Једнофакторијална ANOVA између излагања на различитим температурама	
Концентрација етарског уља кима (µl/L vazduha)	20°C		25°C		30°C			
	$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$			
12,50	4,00 ± 0,81a		6,00 ± 1,00a		6,00 ± 1,29a		0,30	0,7479
25	2,00 ± 0,57a		6,00 ± 0,57a		8,00 ± 0,81a		5,25	0,0308
37,50	4,00 ± 0,81a		8,00 ± 0,81a		12,00 ± 1,82ab		2,57	0,1308
50	8,00 ± 0,81a		10,00 ± 1,29a		13,00 ± 0,95ab		1,46	0,2820
62,50	6,00 ± 1,29a		8,00 ± 0,81a		13,00 ± 2,06ab		1,48	0,2779
75	8,00 ± 1,15a		10,00 ± 1,29a		8,00 ± 1,82a		0,15	0,8562
87,50	8,00 ± 0,81a		5,00 ± 1,25a		9,00 ± 0,95a		1,02	0,3967
100	6,00 ± 0,57a		4,00 ± 0,81a		19,00 ± 0,50b		39,8	0,0000
112,50	5,00 ± 0,50a		8,00 ± 0,81a		24,00 ± 2,94c		8,16	0,0094
125	7,00 ± 0,95a		8,00 ± 0,81a		13,00 ± 2,21b		1,19	0,3472
Контрола	4,00 ± 0,81a		2,00 ± 0,57a		4,00 ± 0,81a		0,60	0,5693
Једнофакторијална ANOVA у склопу времена излагања	F=1,39	p=0,2352	F=1,04	p=0,4282	F=2,59	p=0,0238	/	

5.3 УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ КОНЦЕНТРАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА МИРОЋИЈЕ У УСЛОВИМА ПРАЗНОГ СКЛАДИШТА НА МОРТАЛИТЕТ *S. ORYZAE*

У табели 3. приказани су резултат утицаја различитих концентрација етарског уља мироџије у условима празног складишта на смртност адулта *S. oryzae* при излагању температурама 20, 25 и 30°C.

Примењеном статистичком анализом при излагању инсеката температури од 20°C добијени су резултати који су према сигнификантности подељени у четири категорије (a-d). Добијена F вредност износила је 9,00 а $p=0,0000$. При експозицији наведене врсте концентрацији 25 $\mu\text{l/L}$ ваздуха смртност је износила 72% и овај резултат је сврстан у категорију a. Категорији b припадају резултати који су добијени приликом излагања концентрацијама 45; 85 и 125 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је смртност износила од 87 до 92%. У категорију c сврстани су резултати добијени при излагању концентрацијама 65 и 105 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је смртности у оба случаја износила 95%. Резултати добијени при излагању концентрацијама 145; 165; 185 и 205 $\mu\text{l/L}$ ваздуха сврстани су у категорију d при чему је смртност износила од 98 до 99%.

Примењеном статистичком анализом при излагању инсеката температури од 25°C добијени су резултати који су према сигнификантности подељени у четири категорије (a-d). Добијена F вредност износила је 4,26 а $p=0,0012$. При експозицији наведене врсте концентрацијама 25; 45 и 65 $\mu\text{l/L}$ ваздуха смртност се кретала у интервалу од 69 до 72% и ови резултати су сврстани у категорију a. Категорији b припадају резултати који су добијени приликом излагања концентрацијама 85 и 125 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је смртност износила 90 и 91%. У категорију c сврстан је резултат добијен при излагању концентрацији 145 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је смртност износила 95%. Резултати добијени при излагању концентрацијама 105; 165; 185 и 205 $\mu\text{l/L}$ ваздуха сврстани су у категорију d при чему је смртност износила од 98 до 100%.

Примењеном статистичком анализом при излагању инсеката температури од 30°C добијени су резултати који су према сигнификантности подељени у четири категорије (a-d). Добијена F вредност износила је 6,91 а $p=0,0000$. При експозицији наведене врсте концентрацији 25 и 65 $\mu\text{l/L}$ ваздуха смртност је износила 62 и 73% и ови резултати су

сврстани у категорију а. Категорији б припада резултат добијен приликом излагања концентрацијо 45 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је смртност износила 80%. У категорију с сврстани су резултати добијени при излагању концентрацијама 85 и 105 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је смртност износила 94 и 95%. Резултати добијени при излагању концентрацијама 125; 145; 165; 185 и 205 $\mu\text{l/L}$ ваздуха сврстани су у категорију d при чему је смртност износила од 99 до 100%.

Прегледом резултат који се односе на смртност приликом излагања истим концентрацијама али на различитим температурама, уочено је да ни у једном случају не постоји статистички сигнификантна разлика, на шта указују добијене F и p вредности.

Табела 3. Морталитет адулта *S. oryzae*, изложених различитим концентрацијама еарског уља мирођије у условима празног складишта

	Морталитет <i>S. oryzae</i> (%)						Једнофакторијална ANOVA између излагања на различитим температурама	
Концентрација етарског уља мирођије (µl/L vazduha)	20°C		25°C		30°C			
	$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$			
25	72,00± 2,44a		72,00± 1,82a		62,00±7,04 a		0,42	0,6670
45	91,00±1,50b		69,00±4,50a		80,00±2,94b		2,91	0,1058
65	95,00± 0,95c		72,00± 7,61a		73,00± 1,70a		2,04	0,1846
85	87,00± 2,06b		91,00± 3,30b		94,00± 1,73c		0,50	0,6173
105	95,00± 0,50c		100,00± 0,00d		95,00± 1,89c		1,63	0,2487
125	92,00± 1,82b		90,00± 5,00b		99,00± 0,50d		0,58	0,5764
145	99,00± 0,50d		95,00± 2,50c		100,00± 0,00d		0,80	0,4757
165	99,00± 0,50d		98,00± 1,00d		100,00± 0,00d		0,60	0,5693
185	98,00± 0,57d		99,00± 0,50d		100,00± 0,00d		1,29	0,3227
205	98,00± 1,00d		99,00± 0,50d		100,00± 0,00d		0,60	0,5693
Контрола	0,00± 0,00a		0,00± 0,00a		0,00± 0,00a		0,35	0,7097
Једнофакторијална АНОВА у склопу времена излагања	/							
	F=9,00	p=0,0000	F=4,26	p=0,0012	F=6,91	p=0,0000		

5.4 УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ КОНЦЕНТРАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА МИРОЋИЈЕ У УСЛОВИМА ПУНОГ СКЛАДИШТА НА МОРТАЛИТЕТ *S. ORYZAE*

У табели 4. приказани су резултат утицаја различитих концентрација етарског уља мироџије у условима пуног складишта на смртност адулта *S. oryzae* при излагању температурама 20, 25 и 30°C.

Примењеном статистичком анализом при излагању температури од 20°C добијени су резултати који по сигнификантности припадају истој категорији (а). Добијена F вредност је износила 1,48 а $p=0,1000$. Проценат смртности се кретао од 0% при излагању концентрацији 65 $\mu\text{L/L}$ ваздуха до 5% при излагању концентрацији 205 $\mu\text{L/L}$ ваздуха.

Примењеном статистичком анализом при излагању температури од 25°C добијени су резултати који по сигнификантности припадају истој категорији (а). Добијена F вредност је износила 1,03 а $p=0,4367$. Проценат смртности се кретао од 1% при излагању концентрацији 25 $\mu\text{L/L}$ ваздуха до 10% при излагању концентрацији 205 $\mu\text{L/L}$ ваздуха.

Примењеном статистичком анализом при излагању температури од 30°C добијени су резултати који по сигнификантности подељени у две категорије (а и б). Добијена F вредност је износила 0,48 а $p=0,8717$. Категорији а припадају резултати који су добијени при излагању концентрацијама 25; 65 и 125 $\mu\text{L/L}$ ваздуха при чему се проценат смртности кретао од 17 до 21%. У категорију б сврстани су резултати добијени при излагању следећим концентрацијама 45; 85; 105; 145; 165; 185 и 205 $\mu\text{L/L}$ ваздуха при чему се смртност кретала од 24 до 32%.

Прегледом резултат који се односе на смртност приликом излагања истим концентрацијама али на различитим температурама, уочено је постојање осам случајева где је утврђена статистички сигнификантна разлика. Статистички значајна разлика је уочена приликом излагања инсеката концентрацији 45 $\mu\text{L/L}$ ваздуха при чему је забележена смртност од 1, 1 и 17% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=5,74$ и $p=0,0247$. Исти случај је забележен и приликом излагања инсеката концентрацији од 85 $\mu\text{L/L}$ ваздуха када је забележена смртност 4, 6 и 27% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=7,34$ и $p=0,0128$. Статистички сигнификантна разлика је уочена и при излагању

инсеката концентрацији од 105 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је забележена смртност 4, 5 и 24% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=22,41$ и $p=0,0003$. И при концентрацији примене од 125 $\mu\text{l/L}$ ваздуха је уочена статистички сигнификантна разлика између добијених резултат смртности која је износила 2, 6 и 21% за температуре 20, 25 и 30°C, овакав закључак је изведен на основу вредности $F=25,80$ и $p=0,0001$. Статистичаки значајна разлика је уочена приликом излагања инсеката концентрацији 145 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је забележена смртност од 1, 6 и 28% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=6,47$ и $p=0,0181$. И при концентрацији примене од 165 $\mu\text{l/L}$ ваздуха је уочена статистички сигнификантна разлика између добијених резултат која је износила 4, 6 и 26% за температуре 20, 25 и 30°C, овакав закључак је изведен на основу вредности $F=41,62$ и $p=0,0000$. Такође статистички сигнификантна разлика је утврђена при излагању концентрацији 185 $\mu\text{l/L}$ ваздуха када је забележена смртност 3, 5 и 32% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=10,26$ и $p=0,0047$. Статистичаки значајна разлика је уочена приликом излагања инсеката концентрацији 205 $\mu\text{l/L}$ ваздуха при чему је забележена смртност од 5, 10 и 29% за температуре 20, 25 и 30°C на шта указује $F=8,10$ и $p=0,0096$.

Табела 4. Морталитет адулта *S. oryzae*, изложених различитим концентрацијама етарског уља мирођије у условима пуног складишта

	Морталитет <i>S. oryzae</i> (%)						Једнофакторијална ANOVA између излагања на различитим температурама	
Концентрација етарског уља мирођије (µl/L vazduha)	20°C		25°C		30°C			
	$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$		$\bar{X} \pm SE$			
25	1,00± 0,50a		1,00± 0,50a		17,00± 3,94a		3,97	0,0577
45	2,00±0,57a		3,00±0,50a		27,00±5,05ab		5,74	0,0247
65	0,00± 0,00a		6,00± 1,29a		17,00± 4,27a		2,79	0,1134
85	4,00± 0,00a		6,00± 1,29a		27,00± 3,86ab		7,34	0,0128
105	4,00± 0,81a		5,00± 0,95a		24,00± 1,63ab		22,41	0,0003
125	2,00± 0,57a		6,00± 0,57a		21,00± 1,50a		25,80	0,0001
145	1,00± 0,50a		6,00± 0,57a		28,00± 4,83ab		6,47	0,0181
165	4,00± 0,81a		6,00± 1,29a		26,00± 0,57ab		41,62	0,0000
185	3,00± 0,95a		5,00± 0,50a		32,00± 4,24b		10,26	0,0047
205	5,00± 0,50a		10,00± 2,38a		29,00± 2,98b		8,10	0,0096
Контрола	0,00± 0,00a		0,00± 0,00a		3,00± 0,50		9,00	0,0071
Једнофакторијална ANOVA у склопу времена излагања	F=1,48	p=0,1000	F=1,03	p=0,4367	F=0,48	p=0,8717	/	

6. ДИСКУСИЈА

У резултатима огледа који су претходно дати приказан је утицај различитих концентрација етарских уља кима и мирођије при различитим температурама (20, 25 и 30°C) на морталитет врсте *S. oryzae* у словима празног и пуног складишта. На основу добијених резултат се закључује да оба етарска уља испољавају висок ефекат на морталитет имага врсте *S. oryzae* али само у условима празног складишта. У словима пуног складишта добијени резултати указују на то да у таквим условима испитивана етарска уља дају лошије резултате.

С обзиром да је примена биолошке контроле штеточина веома актуелна у свету, као и научна истраживања из ове области у наставка су приказани резултати неких радова у којима је испитиван биолошки ефекат етарских уља на морталитет *S. oryzae*.

Jayakumar и сар. (2017) су испитивали утицај етарских уља десет различитих биљака у концентрацијама примене 10 и 50 μL на морталитет имага *S. oryzae*. Утврђивање броја угинулих јединки је рађено након 48 часова изложености етарским уљима. Температура није узета у обзир као фактор који може имати утицаја на ефикасност примењених етарских уља. У огледу су коришћена етарска уља следећих биљака: аниса, камфора, цитронеле, еукалиптуса, геранијума, лаванде, лимуна, рузмарина, ветивера и зимзелена. Ефекат етарских уља свих наведених биљака на морталитет имага пиринчаног жишка је при концентрацији примене од 10 μL био испод 30%, односно најбољи резултат је дало етарско уље лимуна чијом применом је остварен резултат од 26,66% угинулих јединки. Када су етарска уља истих биљака примењена у концентрацији од 50 μL најбољи резултат је и у овом случају дало етарско уље лимуна пошто је смртност износила 53,34%.

Lashgari и сар. (2014) су експериментално испитивали утицај етарских уља менте и кумина на морталитет имага *S. oryzae*. Етарска уља су примењивана у концентарцијама 1, 3, 6, 12 и 24 μL (посуде у којима се одвијао оглед су биле запремине 27ml). Оцена броја угинулих инсеката је вршена након 6, 12, 24, 48 и 72 часа. Овде ће бити приказани резултати добијени након 48 часова изложености. Када је у питању ефикасност етарског уља менте, проценат смртности се кретао од 22% при концентрацији примене 1 μL до

66% при концентрацији примене 24 μL . Ефикасност етарског уља кумина на морталитет пиринчаног жишка се кретала од 22% при концентрацији примене 1 μL до 78% при концентрацији 24 μL етарског уља.

Khanі и сар. (2017) су експериментално испитивали биолошки ефекат етарских уља менте, рузмарина и милодуха на морталитет пиринчаног жишка у условима пуног складишта. Оглед је постављен у бочицама од 70 ml у које је додат пиринач. Етарска уља су премењена у концентрацијама 5, 10, 15, 20, 25 и 30 μL , свака од ових концентрација је пре примене рстворена у 1 ml ацетона. Етарско уље је наношено на филтерхартију која је причвршћена са унутрашње стране чепова. Оцена броја уинули инсеката је вршена након 72 часа. Добијени резултати показују да је LC_{50} за етарско уље менте 299,51, за рузмарин 115,63 и милодух 78,16 $\mu\text{L/L}$ ваздуха.

7. ЗАКЉУЧАК

На основу резултата огледа који је имао за циљ да се испита биолошки ефекат етарских уља кима и морођије на морталитет пиринчаног жишка могу се извести следећи закључци:

- Да етарско уље кима у условима празног складишта испољава инсектицидну активност према пиринчаном жишку. При изложености температурама 20, 25 и 30°C све концентрације примене изнад 50 µl/L ваздуха довеле су смртности више од 50% инсеката. Такође се може закључити да је на вишим температурама израженији ефекат етарског уља на морталитет врсте *S. oryzae*.
- Када је у питању испитивање ефекат етарског уља кима на морталитет пиринчаног жишка у условима пуног складишта тада су резултати знатно лошији. Проценат уинулих јединки, при свакој од температура изложености је веома низак. Као и при испитивању ефекта етарског уља кима у празном складишту тако су и у овом случају резултати били „најбољи“ при температури изложености 30°C када је процента смртности износи највише 24% при концентрацији примене 112,50 µl/L ваздуха.
- Етарско уље мирођије је такође испољило висок инсектицидни потенцијал за сузбијање пиринчаног жишка у условима празног складишта. При свакој концентрацији примене овог етарског уља, на све три испитиване температуре проценат уинулих инсеката је био изнад 50%, а све концентрације примене изнад 100 µl/L ваздуха узазвале су смрт више од 90% инсеката.
- Ефекат етарског уља мирођије на морталитет пиринчаног жишка у условима пуног складишта је знатно слабији него у условима празног складишта. Проценат уинулих јединки, при свакој од температура изложености је веома низак. Бољи резултати добијени су изложености температури 30°C када је процента смртности износи највише 32% при концентрацији примене 185 µl/L ваздуха.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Abdelgaleil, S., Mohamed, E., Shawir, S., Abou-Taleb, K. (2016): Chemical composition, insecticidal and biochemical effects oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. Journal of Pest Science. 89: 219-229.
2. Arannilewa, S., Ekrakene, T., Akinney, J. (2002): Laboratory evaluation of four medicinal plants as protectants against the maize weevil, *Sitophilus oryzae* (Mots). African Journal of Biotechnology. 5(21): 2032-2036.
3. Babri, R. A., Khokhar, Z., Mahmud, S. (2012): Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Anethum graveolens* L. Seeds. 5: 453-455.
4. Bello, G., Padin, S., Lastra, L., Fabrizio, M. (2001): Laboratory evaluation of chemical biological control of the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.) in stored grains. Jurnal of Stored Products Research. 37:77-84.
5. Council of Europe (2010): European Pharmacopoeia.-7thedn., Strasbourg, France, European Directorate for the Quaility of Medicines and Healthcare. 1090-1091.
6. Fang, R., Jiang, H., Wang, Y., Zhang, M., Liu, L., Zhou, L., Du, S., Deng, W. (2010): Insecticidal activity of essential oil of *Curum carvi* fruits from china and its main components against two grain storage insects. Molecules. 15: 9391-9402.
7. Hagstrum, D., Klejdysz, T., Subramanyam, B., Nawrot, J. (2013): Atlas of Stored-Product Insects and Mites. AACC International Press, St. Paul, Minnesota, USA: 1-598.
8. Huang, Y.Z., Yang, C.J., Xue, D., Akinkurolere, R.O., Yao, Y.J., (2007): Contact and repellency activities of ethanol extracts from twenty medicinal plants against *Rhizopertha dominica* (Fab.)(Coleoptera: Bostrichidae), Acta Entomologica Sinica. 50 (2): 118-124.
9. Ileke, K. D., Ogungbite, O. C. (2014): Entomocidal Activity of Powders and Extracts of Four Medicinal Plants Against *Sitophilus oryzae* (L), *Oryzaephilus mercator* (Faur) and *Ryzopertha dominica* (Fabr.). Jordan Journal of Biological Sciences. 7 (1): 57-62.

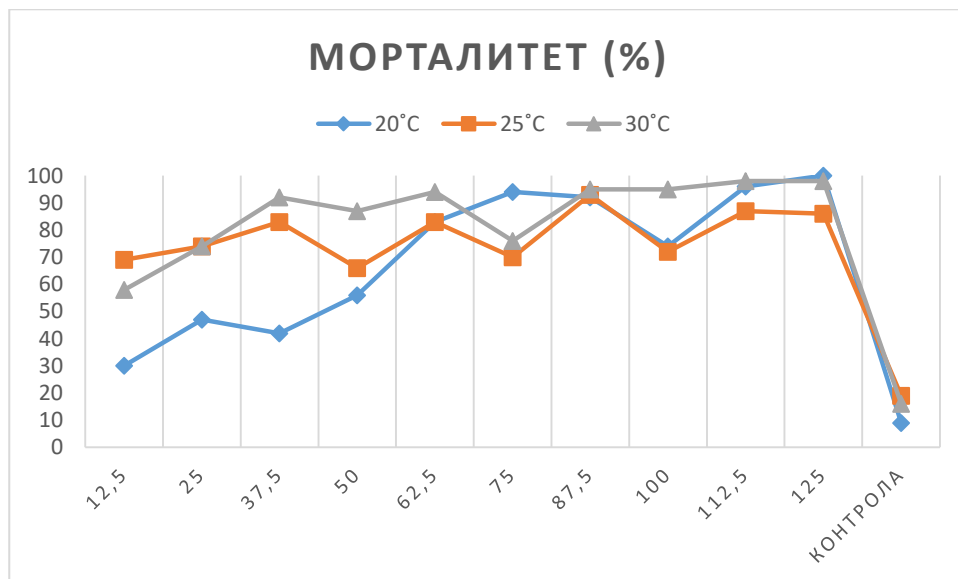
10. Jayakumar, M., Arivoli, S., Raveen, R., Tennyson, S. (2017): Repellent activity and fumigant toxicity of a few plant oils against the adult rice weevil *Sitophilus oryzae* Linnaeus 1763 (Coleoptera, Curculionidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5(2): 324-335.
11. Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A.S., Georgiev, E.V., Damianova, T. (2003): Composition, Quality Control, and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Long Time Stored Dill (*Anethum graveolens*) Seeds from Bulgaria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 3854-3857.
12. Khani, M., Marouf, A., Amani, S., Yazdan, D., Farashiani, M., Ahvazi, M., Sigaroodi, F., Gharalari, A. (2017): Efficacy of three Herbal Essential oils Against Rice Weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera, Curculionidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 20(4): 937-950.
13. Kheloul, L., Anton, S., Gadenne, C., Kellovche, A. (2020): Fumigant toxicity of *Lavandula spica* essential oil and linalool on different life stages of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 23 (2): 320-326.
14. Kubeczka, K. (2010): History and Sources of Essential Oil Research Chapter 2 in *Handbook of Essential oils. Science, Technology and Applications*. 3-39.
15. Lashgari, A., Mashayekhy, S., Javadzadeh, M., Marzban, R. (2014): Effect of *Mentha piperita* and *Cuminum cyminum* essential oil on *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae*. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*. 47:3, 324-329.
16. Padin, S. B., Fusé, C., Urrutia, M. I., Dal Bello, G. M. (2013): Toxicity and repellency of nine medicinal plants against *Tribolium castaneum* in stored wheat. *Bulletin of Insectology*. 66 (1): 45-49.
17. Sedlakova, J., Kocourkova, B., Lojkova, L., Kuban, V. (2003): The essential oil content in caraway species (*Carum carvi* L.). *Zahrad. Horticultural Science*. 30: 73-79.
18. Seigler, D., Price, W. (1976): Secondary compounds in plants: primary function. *The American Naturalist*. 110(9): 101-105.
19. Singh, D., Siddiqui, M.S., Sharma, S. (1989): Reproduction retardant and fumigant properties in essential oils against rice weevil (Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat. *Journal of Economic Entomology*. 82: 727-732.

20. Spochacz, M., Chowanski, S., Walkowiak-Nowicka, K., Szymczak, M., Adamski, Z. (2018): Plant-Derived Substances Used Against Beetles-Pests of Stored Crops and Food and Their Mode of Action: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 17: 1339-1366.
21. Ukeh, D. A., Umoetok, S. B. A. (2011): Repellent effects of five monoterpenoid odours against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.) in Calabar, Nigeria. *Crop Protection*. 30: 1351-1355.
22. Аћимовић, М. (2015b): Технологија гајења мирођије са освртом на болести и штеточине. *Биљни лекар*. 4: 353-359.
23. Аћимовић, М., Долијановић, К., Ољача, И., Ковачевић, Д., Ољача, В. (2015a): Effect of Organic and Mineral Fertilizers on Essential Oil Content in Caraway, Anise and Coriander Fruits. *Acta Scientiarum Polonorum: Hortorum Cultus*. 14: 95-103.
24. Бркић, Д., Влајс, В., Вукојевић, Ј., Марин, П., Соковић, М. (2009): Chemical Composition of Essential Oils Of *Thimus* and *Mentha* Species and Their Antifungal Activities. 238-249.
25. Група аутора (1972): Штеточине у складиштима: биологија и сузбијање са основама ускладиштења пољопривредних производа. Институт за заштиту биља, Нови Сад. 135-210.
26. Кишгеци, Ј. (2002): Лековито биље. Партенон Београд. 1-364.
27. Кљајић, П., Перић, И. (2005): Резистентност складишних инсеката према инсектицидима. *Пестиц. фитомед. (Броград)*. 20: 9-28.
28. Корунић, З. (1990): Штетници ускладиштених пољопривредних производа: Биологија, Екологија и Сузбијање. *Господарски лист, Загреб*. 1-221.
29. Костић, И., Марковић, Т., Крњајић, С. (2012): Секреторне структуре ароматичних биљака са посебним освртом на структуре са етарским уљима, места синтезе уља и њихове важније функције. *Лековите сировине*. 32: 3-25.
30. Милетић, В., Инђић, Д., Вуковић, С., Лазић, С., Гвозденац, С., Шуњка, Д. (2013): Етарска уља и биљни екстракти од значаја у фитомедицини. *Биљни лекар*. 41, 3: 178-187.
31. Петровић, М., Поповић, А., Којић, Д., Шућур, Ј., Бурсић, В., Аћимовић, М., Маленчић, Ђ., Стојановић, Т., Вуковић, Г. (2019): Assessment of toxicity and

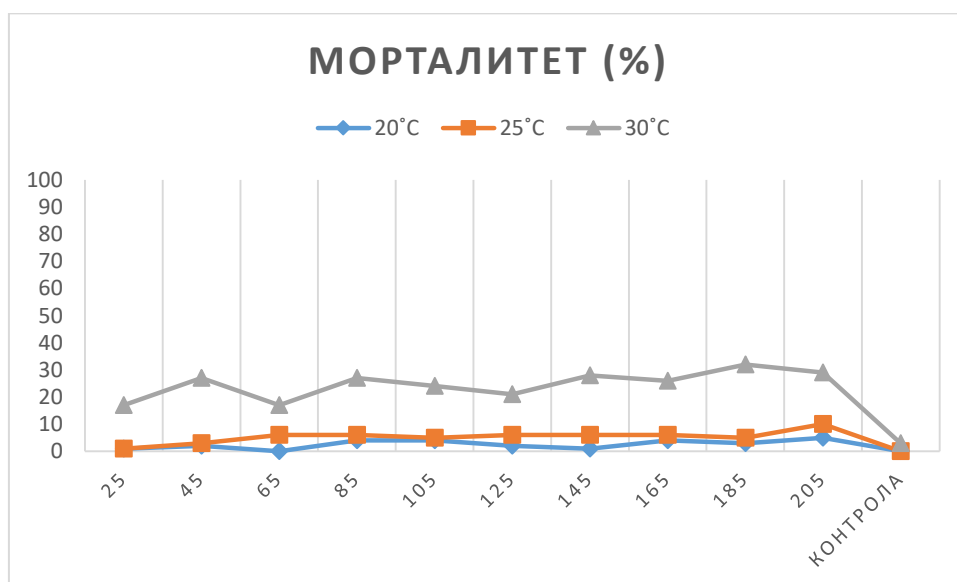
- biochemical response of *Tenebrio molitor* and *Tribolium confusum* exposed to *Carum carvi* essential oil. *Entomologia Generalis*. 38 (4): 333-348.
32. Петровић, М. (2020): Биолошки ефекти етарских уља на *Tribolium confusum* Duval и *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Curculionidae). Докторска дисертација. Универзитет у Новом Саду. Пољопривредни факултет. 1-161.
33. Поповић, А., Петровић, М., Стојановић, Т., Буђен, М. (2019): The effect of the mint and star anise essential oil on the adults of *Tribolium confusum* (Coleoptera, Tenebrionidae). *Билни лекар*. 47, 5, 344-354.
34. Совиљ, М., Спасојевић, М., (2001): Производња и примена етарских уља из домаћег лековитог биља. *ПТЕП*. 5(1-2): 34-38.
35. Tuncturk, M., Ozdokce, F. (2015): Chemical composition of some apiaceae plants commonly used in herby cheese in Eastern Anatolia. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 39: 55-62.
36. Ћеркић, Ј. (2015): Хемијски састав и антимикуробно деловање етеричних уља из биљних родова *Salvia* и *Thymus* L. Универзитет у Загребу, Фармацеутско-биохемијски факултет. 1-2.
37. Филип, С., (2014): Екстракција босиљка (*Ocimum basilicum*, Lamiaceae) угљендиоксидом у суперкритичном стању и моделовање екстракционог система. Докторска дисертација. Универзитет у Новом Саду. Технолошки факултет, 1-137.

9. ПРИЛОГ

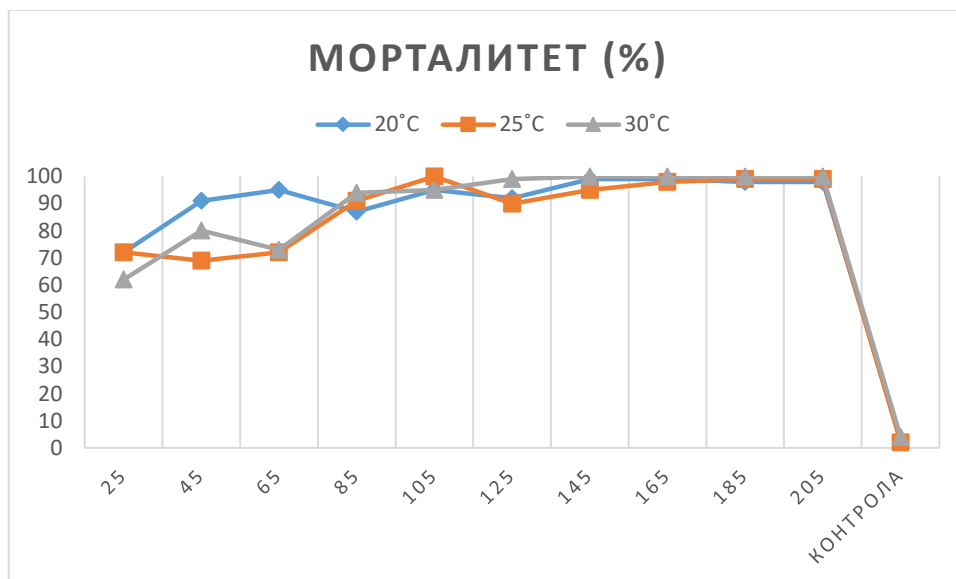
Прилог 1. Графички приказ смртности имага *Sitophilus oryzae* услед примене етарског уља кима у условима празног складишта



Прилог 2. Графички приказ смртности имага *Sitophilus oryzae* услед примене етарског уља кима у условима пуног складишта



Прилог 3. Графички приказ смртности имага *Sitophilus oryzae* услед примене етарског уља мирођије у условима празног



Прилог 3. Графички приказ смртности имага *Sitophilus oryzae* услед примене етарског уља мирођије у условима празног

