

Заштита биљака и резистентност штетних организама

Васкрсија Јањић, Сениша Митрић, Дејан Марчић, Милан Стевић

Сажетак. У овом поглављу разматрају се актуелни проблеми у заштити гајених биљака, с посебним освртом на проблеме резистентности штетних организама који користе биљке за своју исхрану. У заштити гајених биљака од штетних биолошких агенаса посебан проблем представља стална појава нових штетних биолошких агенаса, који су мање познати и за које често не постоје адекватне мјере њиховог сузбијања, а поготово недостатак адекватних пестицида дозвољених у нашој земљи за њихово успјешно сузбијање. Други, исто тако велики и актуелан проблем представља појава резистентности код многих штетних биолошких агенаса који се скоро редовно појављују и за које се, већ дужи низ година, употребљавају за њихово сузбијање исти препарати пестицида на које су они постали резистентни. За сузбијање таквих штетних агенаса тада се морају употребљавати веће количине пестицида, што представља проблем за здравствену исправност добијених производа, а појављују се и проблеми са економичношћу производње. С обзиром на то да постоје велике морфолошке, физиолошке и друге разлике између организама које нападају биљке, онда је и посебно размотрена резистентност коровских биљака на хербициде, артропода (инсеката и гриња) на инсектициде и акарациде, те гљива на фунгициде.

Цитирање: Јањић В, Митрић С, Марчић Д, Стевић М (2020) Заштита биљака и резистентност штетних организама. У: Јањић В, Пржуљ Н (уредници) Ограничења и изазови у биљној производњи. Академија наука и умјетности Републике Српске, Бања Лука, Монографија LXII:223–324

Cite as: Janjić V, Mitrić S, Marčić D, Stević M (2020) Plant protection and resistance of harmful organisms. In: Janjić V, Pržulj N (eds) Limitations and challenges in crop production. Academy of Sciences and Arts of the Republic of Srpska, Banja Luka, Monograph LXII:223–324

Поред разлика у њиховој биологији, постоје велике разлике у токсичности пестицида који се користе за њихово сузбијање, али и метаболита насталих у току њиховог метаболизма. Резистентност штетних организама према пестицидима ствара низ проблема, од којих се могу навести следећи: за уништавање резистентних биотипова појединих штетних организама, зависно од степена резистентности, потребно је употрејибити вишеструко веће количине пестицида него што се употребљавају када ова појава није развијена; због употребе пестицида у већим количинама по јединици површине долази до појаве повећане контаминације животне средине и израженијих штетних посљедица за природну равнотежу; повећана употреба пестицида по јединици површине ради постизања задовољавајуће ефикасности доводи до поскупљења производње и смањења економске исплативости примјене пестицида. Овај проблем није изражен само у нашој земљи, него је присутан и представља још већи проблем у земљама са интензивном пољопривредном производњом. И на крају, због те појаве јавља се потреба за изналажењем нових пестицида са специфичним и другачијим механизмом дејства, за чији су проналазак, синтезу, тестирања, полуиндустријску и индустријску производњу, потребна огромна средства, специјалне хемикалије и високообучен кадар. И оно што је најгоре, све оно што данас савремени произвођачи чине да би њихова производња била успјешнија и да би се искористио генетички потенцијал појединих биљних врста и сората, страшно доприноси развоју, ширењу и умножавању штетних организама који нападају биљке и користе их за своју исхрану. Тако нпр. савремени агротехнички захвати који се данас користе у интензивној производњи (као што су: монокултура, савршена припрема земљишта за сјетву, наводњавање, ђубрење, резидба, гајење високоприносних сората, гајење у затвореном простору, механичка берба и жетва, чување у силосима и многе друге мјере и поступци који се користе у гајењу појединих врста биљака), изузетно много доприносе стварању услова за оптималан развој штетних организама. Зато је данас заштита биљака један од најважнијих предуслова за добијање високе производње и доброг квалитета производа.

Кључне ријечи: Заштита биљака, пестициди, корови, артропode, гљиве, резистентност, штетни организми

5.1. Увод

У читавом свијету сматра се да око 67.000 врста штетних организама напада гајене биљке. Од тог броја, око 900 врста припада инсектима и грињама, 50.000 врста патогених микроорганизама и око 8.000 врста коровских биљака. У земљама са интензивном пољопривредном производњом сматра се да фитопатогени микроорганизми, штетни инсекти и корови умањују приносе за око 30%, док ово смањење у земљама са екстензивном производњом износи у многим случајевима и преко 50% (Agrios 2005).

Зато се сматра да штетни организми сваке године умањују производњу хране која би била довољна за исхрану скоро милијарду људи, што је једнако количини хране која је потребна да би се савладала глад у свијету. На развој биљака у току њиховог гајења утиче читав низ абиотичких и биотичких фактора који ограничавају њихов развој, па су зато губици у производњи редовна појава. Од свих фактора који негативно утичу на биљну производњу, по својој распрострањености, интензитету и учесталости, најважнији су живи организми који користе биљке као своју храну. Да би опстали у слободној природи, у току еволуције они су се толико прилагодили на поједине биљке и услове у којима се оне гаје, да стварно представљају огроман проблем у биљној производњи. И оно што је најгоре, све оно што данас савремени произвођачи чине да би њихова производња била успјешна и да би се искористио генетички потенцијал појединих биљних врста и сората, страшно доприноси развоју, ширењу и умножавању штетних организама који нападају биљке и користе их за своју исхрану. Тако нпр. савремени агротехнички захвати који се данас користе у интензивној производњи (као што су: монокултура, савршена припрема земљишта за сјетву, наводњавање, ђубрење, резидба, гајење високоприносних сората, гајење у затвореном простору, механичка берба и жетва, чување у силосима и многе друге мјере и поступци који се користе у гајењу појединих врста биљака), изузетно много доприносе стварању услова за оптималан развој штетних организама. Зато је заштита биљака један од најважнијих предуслова за добијање високе производње и доброг квалитета производа.

5.2. Улога и значај заштите биљака

Од најстаријих времена, штетни организми који нападају биљке представљали су проблем за човјека. У стању су да се за релативно кратко вријеме намноже у тој мјери да потпуно униште гајене биљке чије производе човјек користи за своју исхрану, и то често на веома великом пространству.

Многе гладне године на тлу данашње наше земље, а нарочито у другим крајевима свијета, биле су директно везане за масовну појаву штетних организама који користе биљке и њихове производе за своју исхрану. Поред овога, знатан број врста инсеката напада човјека и домаће животиње, изазивајући различита обољења.

За сузбијање тако великог броја штетних организама који нападају биљке свуда у свијету, а нарочито у развијеним земљама, троше се огромне количине пестицида. Поред великог значаја за биљну производњу, пестициди могу бити узрочници озбиљних штетних посљедица у животној средини. Са овим проблемима човјечанство се срело у оштром облику у посљедњим деценијама прошлог вијека, а нарочито у развијеним земљама. Пестициди могу да изазову најразличитије промјене у биолошкој равнотежи, да изазову деградацију животне средине, да токсично директно или индиректно угрозе здравље човјека и животиња и да се сами или преко својих деградационих производа укључе у ланац исхране. Те штете могу да се одразе и на друга жива бића између којих у природи постоји стална еколошка условљеност и повезаност. Потенцијално загађивање хране не настаје само пестицидима, у свим технолошким процесима производње, прераде и складиштења сировина и финалних производа за исхрану, већ и великим бројем других једињења која се директно примјењују ради повећања пољопривредне производње (минерална ђубрива, антибиотици) и побољшања квалитета појединих производа (адитиви). Загађивање хране настаје и многим другим једињењима која спонтано доспијевају на пољопривредне површине путем загађивања ваздуха, земљишта, атмосферских, површинских и подземних вода (полихлоровани диоксини, полициклични ароматични угљоводоници, полихлоровани бифенили и хексахлорбензен и друга ненамјерно емитована једињења). Зато се сматра да данас у свијету, од свих загађивача које човјек уноси у организам, око 90% доспијева храном (Robert et al. 2015).

У производњи, промету и примјени данас се у свијету налази огроман број пестицида. Компјутеризован списак садржи преко 5.000.000 једињења која испољавају у мањем или већем степену својства пестицида. Ипак, од тако великог броја једињења само мали број једињења нашао је широку практичну примјену. Данас савремени асортиман чини око 1.000 једињења која се широко употребљавају у многим земљама у свијету, од чега 250 припада категорији хербицида, 250 категорији инсектицида, 100 категорији фунгицида, 20 категорији нематоцида и 30 категорији регулатора растења биљака, дефолијаната и десиканата (Јанјић 2005). Тако велики број једињења и поготово њихових препарата (око 100.000) компликује читав рад са пестицидима (Michael 2009). Од 1945. године, када се рачуна да је свјетска

производња пестицида износила око 100.000 тона, данас се рачуна да је производња пестицида достигла ниво преко 4.000.000 тона (FAOSTAT 2017). Због постојања огромног броја пестицида и сталне производње препарата са новим или дјелимично измијењеним особинама, развој и називе производа ове гране хемијске индустрије веома је тешко пратити. Ово утолико прије што појава нових препарата не значи да је дошло и до открића нове активне супстанце пестицида. Зато се јавља потреба да се примијене различите класификације или подјеле пестицида.

Потенцијална опасност по здравље становништва, нарочито у развијеним земљама, расте са развојем технологије и примјене различитих једињења у процесима производње и прераде производа. Схватајући да се налазе у таквој ситуацији, многе земље у свијету, својим директивама, забраниле су или ограничиле производњу скоро 2/3 до данас познатих пестицида. Исто тако, у многим земљама започели су процеси тзв. органске производње хране у току којих се пестициди не употребљавају или се употребљавају ограничене количине само неких пестицида. Површине на којима се производи храна без употребе пестицида веома су симболичне. Приноси на оваквим површинама много су нижи, а цијене производа вишеструко веће. Зато ова производња у овој фази развоја ни приближно не може да помогне рјешавању проблема глади и недостатка хране у неразвијеним земљама. Због ограничене количине и повећаних цијена, ове производе користиће становници богатих земаља и високог стандарда. У неким земљама у свијету уводе се у гајење генетички модификоване биљке, али њихово гајење треба да обезбиједи стварање већег профита и користи само за произвођаче хране, али не и за широке слојеве сиромашног становништва.

Примјена пестицида представља једну од значајних могућности које човјеку стоје данас на располагању за повећање биљне производње, не само квантитативно већ и квалитативно, чиме у великој мјери могу да се олакшају напори за обезбјеђење довољних количина хране за становништво наше планете, које се страховитом брзином повећава. Отуда, у оквиру мјера за повећање пољопривредне производње, сузбијању штетних организама припада једно од важних мјеста.

Према подацима Agrios (2005) при општој вриједности свјетског приноса од око 950 милијарди долара годишње, стварни губици и штете од штеточина, проузроковача биљних болести и корова процијењене су на 550 милијарди долара (Таб. 5.1. и 5.2). У нашој земљи нема података о штетама које проузроковачи биљних болести, штетни инсекти и корови наносе појединим гајеним биљкама. Према нашим грубим проценама (Јанјић 1994) на подручју

Србије и Републике Српске проузроковачи биљних болести, штетни инсекти и корови умањују приносе на годишњем нивоу за 3.670.000 тона.

Таб. 5.1. Процјена производње најзначајнијих гајених биљака и губитака (милиона тона) проузрокованим болестима, инсектима и коровима у свијету (Agrios 2005)

Table 5.1. Evaluation of production of the most important cultivated plants and losses (million of tons) caused by diseases, insects and weed in the world (Agrios 2005)

Гајена биљка	Производња Милиона тона	Процјена губитака Милиона тона	% губитака проузрокован			Укупан губитак приноса %
			Болести	Инсекти	Корови	
Кромпир	288	137	21,8	6,5	4,0	32,3
Жита	1.894	906	9,2	13,9	11,4	34,5
Легуминозе	57	28	11,3	13,3	8,7	33,3
Поврће	465	178	10,1	8,7	8,9	27,7
Воће	371	113	12,6	7,8	3,0	23,4
Дуван	8	3	12,3	10,4	8,1	30,8

Таб. 5.2. Губици у биљној производњи од болести, штеточина и корова (Agrios 2005)

Table 5.2. Losses at plant protection from diseases, pests and weed (Agrios 2005)

Очекивана биљна производња (цијене 2002)	1,5 билион \$
Остварена биљна производња	950 милијарди \$
Биљна производња без заштите	455 милијарди \$
Стварни годишњи губици у биљној производњи	550 милијарди \$
Губици само од патогених микроорганизама (14,1 %)	220 милијарди \$

У заштити биљака у нашој земљи, а скоро иста ситуација је у многим земљама свијета, појављују се многи проблеми, а најактуелнији су:

- стална појава нових и нових проузроковача болести, штеточина и коровских биљака,
- проблеми са примјеном пестицида и њиховим споредним ефектима,
- резистентност штетних организама на стално примјењиване пестициде,
- проблеми везани за ограничење ширења и сузбијање појединих врста штетних организама,
- ограничење и забрана употребе појединих пестицида са широким спектром дјеловања и великом употребом

Појава нових штетних биолошких агенаса представља велики проблем за заштиту биљака и биљну производњу. Они се појављују веома често, а много

пута није ни познато како су доспјели. Оно што је најгоре, у самом почетку њихова појава није примјетна, али се уочавају тек када су се намножили и захватили велике површине. Тада почиње убрзана активност на њиховој идентификацији, што није нимало једноставан и лак задатак који се може брзо ријешити. Послије тога настављају се активности везане за праћење њиховог ширења, а онда и за мјере сузбијања. Код сузбијања појављује се посебан проблем. Некако се рјешавају административне и агротехничке мјере, а када је у питању примјена пестицида, настаје много проблема које никако није могуће брзо ријешити. Обично за такве нове биолошке агенсе нема препарата који имају дозволу за њихово сузбијање. У заштити биљака није дозвољена примјена препарата који немају дозволу за такву намјену. И ако постоји у свијету препарат за такву намјену, да би се у нашој земљи могао примјењивати потребна су једногодишња или двогодишња испитивања од овлашћених институција, па би такав препарат добио дозволу за примјену. Тако свака појава новог штетног биолошког агенса направи велике штете биљној производњи и њиховим произвођачима.

5.3. Основне карактеристике и значај резистентности

Толерантност неких штетних организама и осјетљивост других на исте пестициде предмет је проучавања великог броја истраживача од првих дана појаве пестицида. Такве разлике, које се могу уочити између биотипова исте врсте, обично су условљене морфолошким и физиолошким особеностима или токсичношћу метаболита насталог у току његовог метаболизма и сл. Међутим, данас се појављује једна сасвим нова појава – појава резистентности штетних организама према пестицидима. То је појава повећане отпорности појединих врста штетних организама који су раније били осјетљиви. Према томе, толерантност представља природну и нормалну варијабилност на пестициде и друге агенсе која егзистира унутар једне врсте. Према дефиницији FAO, резистентност представља појаву опадања реакције животињских и биљних врста и биљних патогена на пестициде или друге агенсе који настају као посљедица њихове употребе. Резистентност није појава која се подједнако брзо развија код свих организама. Брзина развијања резистентности зависи од врсте организма, броја генерација, дужине живота, природе и специфичности биохемијских процеса у организму, природе једињења, учесталости и дужине примјене, механизма дјеловања, сличности дјеловања са другим једињењима и др. Сигурно је да се резистентност развија најбрже код фитопатогених и других микроорганизама, спорије код инсеката, а поготово биљака. Феномен

резистентности има огроман биолошки и еволутивни значај. Када не би било резистентности, значи да не би било ни еволуције живог свијета. У многим земљама и многим подручјима резистентност према пестицидима регистрована је код многих организама. Тако је регистровано око 600 врста инсеката и гриња који су резистентни на један или више врста инсектицида (Cilek and Greene 1994), од чега су 345 врста значајне пољопривредне штеточине. Вишеструка резистентност (*multiple resistance*) нагло се повећава. Постоји више од 1.000 врста инсеката резистентних на комбинације инсектицида и више од 17 врста инсеката резистентних на све главне групе инсектицида (Bellinger 1996). Како су инсекти постали резистентнији, тако су се примјењивале више дозе инсектицида. Резистентност представља велики проблем за развој нових инсектицида. Сматра се да су у току прошлих деценија утрошена огромна средстава за истраживање и развој инсектицида. Еволуција инсеката наметнула је велики економски терет многим земљама у свијету и повећану опасност за спољну средину од хемикалија које могу угрозити људско здравље и природне екосистеме. Штавише, неке врсте инсеката које су биле ријетке, постале су озбиљне штеточине, јер су примјеном инсектицида уништени њихови природни непријатељи. Око 60% тих инсеката припада групи пољопривредних штеточина, а многи од њих угрожавају људско здравље. Такође, данас је неоспорно познато 512 случајева (случајеви резистентности = број коровска врста x број механизма дјеловања хербицида) резистентности коровских врста биљака на хербициде који укључују 262 врсту корова (152 дикотиледоних и 110 монокотиледоних). Ова резистентност укључује 23 од 26 познатих група хербицида са познатим мјестом дјеловања и 167 различита хербицида. Резистентност је утврђена у 92 гајеној биљци у 70 земаља у свијету (Неар 2020).

Резистентност штетних организама према пестицидима феномен је прилагођавања ових врста измијењеним условима средине. Својство прилагођавања карактерише сва жива бића. Током прилагођавања, мијењају се функционалне особине ћелије и организма у цјелини. Но како постоји велики број разноврсних пестицида који се разликују у погледу природе и механизма дјеловања, то се у процесу еволуције обезбјеђују специјални механизми индивидуалне адаптације.

Дејство пестицида условљава знатну промјенљивост организма. Степен промјенљивости зависи од генотипа, етапе онтогенетског развића и фактора спољашње средине. Иако се адаптивни ефекти могу постићи на разним нивоима организације, промјене у грађи и животним функцијама ћелије које настају под утицајем пестицида манифестују се на организам као цјелину. Способност прилагођавања штетних организама током индивидуалног развића на дјеловање пестицида, означена као онтогенетска адаптација,

слаба је и једва примјетна. Она долази до изражаја као посљедица дуготрајног дјеловања одређеног пестицида у току његове вишегодишње и сталне примјене. У данашње вријеме, када се пестициди у великим количинама примјењују у скоро свим земљама свијета, феномен резистентности је од огромног практичног значаја. Резистентност доводи до тога да се одређени штетни организам, односно његове ниже систематске категорије, које су варијабилније и нестабилније од врсте, не могу уништавати пестицидима који су до одређеног времена били ефикасни. Зато масовна појава резистентности штетних организама може да буде главни ограничавајући фактор даље примјене пестицида. Само због резистентности трошкови сузбијања штетних организама у свијету повећани су за пар стотина милиона долара годишње. Резистентност штетних организама према пестицидима ствара низ проблема од којих се могу навести сљедећи:

- за уништавање резистентних биотипова појединих штетних организама, зависно од степена резистентности, потребно је употребити 2, 5, 10, 50, 100 и више пута веће количине пестицида него што се употребљавају када ова појава није развијена;
- због употребе пестицида у већим количинама по јединици површине, долази до појаве повећане контаминације животне средине и израженијих штетних посљедица за природну равнотежу;
- повећана употреба пестицида по јединици површине, ради постизања задовољавајуће ефикасности, доводи до поскупљења производње и смањења економске исплативости примјене пестицида.

И на крају, због те појаве јавља се потреба за изналажењем нових пестицида са специфичним и другачијим механизмом дејства, за чији су проналазак, синтезу, тестирања, полуиндустријску и индустријску производњу потребна огромна средства, специјалне хемикалије и високообучен кадар.

5.3.1. Резистентност коровских биљака на хербициде

Историјски подаци о развоју резистентности коровских биљака. У великом броју земаља констатовано је да су многе коровске биљке развиле резистентност на хербициде. Ова појава нарочито је развијена код многих коровских биљака у земљама у којима се интензивно примјењују хербициди. Појава резистентности није констатована код свих врста корова подједнако, нити је подједнако заступљена на све до данас познате хербициде. Развијање резистентности коровских биљака последице континуиране примјене хербицида још је 1954. године запазио Abel (1954). У свом раду, саопштеном на савјетовању о коровима у Енглеској 1956. године, Harper (1956) је

разматрао проблем резистентности коровских биљака на хербициде. Од тог периода почињу и интензивна проучавања резистентности појединих коровских биљака на хербициде. Резистентност је проучавана код великог броја коровских биљака, као нпр. *Agropyrum repens*, *Setaria sp.* (Santtemann and Meade 1961), *Cynodon dactylon* (Rochecouste 1962), *Echinochloa crus-galli* (Roche i Muzik 1964), *Sorghum halepense* (Hamilton and Tucker 1964), *Erechtites hieracifolia*, *Cardaria chalepensis*, *Daucus carota*, *Convolvulus arvensis* i dr. (Whitehead and Switzer 1963). Тако су Whitehead and Switzer (1963) утврдили постојање различитих екотипова *Cirsium arvense* који су показивали различиту отпорност на 2,4-Д и амитрол. Hammerton (1966) је утврдио да је средња летална доза дихлорпропа за различите екотипове *Polygonum lapathifolium* варирала више од три пута. У многим иностраним радовима (Ryan 1970; Radosevich and Appleby 1973; Radosevich and DeVilliers 1976; Arntzen et al. 1979; Holt et al. 1981; Jansen 1982) утврђена је резистентност појединих коровских биљака на хербициде, а поготово триазине. Истраживања природе резистентности показала су да се ради о релативно различитим механизмима резистентности различитих биљака. У нашој земљи, изузев визуелних запажања повећане отпорности појединих коровских биљака на неке хербициде, нема довољно експерименталних доказа о степену резистентности појединих коровских биљака на хербициде, а поготово хербициде инхибиторе фотосинтезе.

Ellis and Kay (1975) наводе резултате истраживања у којима је утврђена резистентност *Erechtites hieracifolia*, *Cammelina diffusa* и *Cirsium arvense* на 2,4-D, *Cynodon dactylon* на ТСА и далапон и *Tripleurospermum nodorum* на МСПА и јоксинил. Послије вишегодишње примјене етоксурона, констатовани су резистентни биотипови *Poa annua*, *Echinochloa crus-galli* и *Senecio vulgaris* (Grginac 1978). Marriage and Warwick (1980) наводе податке већег броја истраживача који су констатовали резистентне биотипове *Ambrosia artemisifolia*, *Senecio vulgaris*, *Chenopodium strictum* и *Brassica campestris* на триазинске хербициде. Појава резистентности констатована је и код алги *Chlamidomonas reinhardii*, *Bumelleriopsis filiformis* и *Euglena gracilis*, послије дужег временског периода примјене препарата на бази диурона. Резистентност коровских биљака констатована је у многим земљама свијета. Вишегодишња примјена хербицида изазива појаву резистентности код појединих коровских врста. Неке коровске врсте развиле су резистентност на више група хербицида, тако да је њих 262 резистентно на један или више хербицида.

Еволутивни значај резистентности. Резистентност коровских биљака на хербициде огроман је свјетски проблем. За биљну производњу и заштиту биљака резистентност је веома велики глобални проблем који се веома

тешко рјешава, јер захтијева ангажовање армије научних радника и огромна финансијска средства. У свијету данас настају огромни и несагледиви губици и штете у биљној производњи због појаве и раширености резистентности коровских биљака резистентних на хербициде. Већ данас се сматра да се од укупних средстава за различита истраживања у области заштите биљака скоро једна трећина троши на истраживања резистентности проузроковача болести, инсеката, гриња и коровских биљака. На глобалном нивоу, проблем није могуће једноставно и брзо ријешити. Висок степен примјене различитих једињења у заштити биљака довео је до појаве резистентности различитих штетних организама у многим земљама, у великом интензитету и на великим површинама.

Резистентност коровских биљака на хербициде није јединствен феномен и није везан само за коровске биљке и хербициде. Феномен резистентности присутан је код свих живих организама. У овом дијелу живог свијета који је предмет нашег интересовања прво се појавила резистентност инсеката на инсектициде још 1908. године, а онда резистентност биљних патогена на фунгициде 1940. године и тек онда резистентност коровских биљака на хербициде 1968. године.

Резистентност коровских биљака на хербициде није нова и непозната појава. То је појава повећане отпорности појединих врста коровских биљака које су раније биле осјетљиве. За разлику од резистентности, толерантност биљака представља природну и нормалну варијабилност на хербициде и друге агенсе која егзистира унутар једне врсте. Према дефиницији FAO, резистентност представља појаву опадања реакције животињских, биљних врста и биљних патогена на пестициде или друге агенсе, која настаје као посљедица њихове употребе. Резистентност није појава која се подједнако брзо развија код свих организама. Брзина развијања резистентности зависи од врсте организма, броја генерација, дужине живота, природе и специфичности биохемијских процеса у организму, природе једињења, учесталости и дужине примјене, механизма дјеловања, сличности дјеловања са другим једињењима и др. Сигурно је да се резистентност развија најбрже код фитопатогених и других микроорганизама, спорије код инсеката, а још спорије код биљака.

Феномен резистентности има огроман биолошки и еволутивни значај. Када не би било резистентности значи да не би било ни еволуције живог свијета. У многим земљама и многим подручјима резистентност према пестицидима регистрована је код многих организама. Тако је регистровано 600 врста инсеката и гриња који су резистентни на један или више врста инсектицида (Cilek and Greene 1994). Вишеструка резистентност нагло се повећава. Постоји

више од 1.000 врста инсеката резистентних на комбинације инсектицида и више десетина врста инсеката резистентних на све главне групе инсектицида (Bellinger 1996). Како су инсекти постали резистентнији, тако су се примјењивале више дозе инсектицида. Резистентност представља велики проблем за развој нових инсектицида. Сматра се да су у току прошлих деценија утрошена огромна средстава за истраживање и развој инсектицида. Еволуција инсеката наметнула је велики економски терет многим земљама у свијету и повећану опасност за спољну средину од хемикалија које могу угрозити људско здравље и природне екосистеме. Штавише, неке врсте инсеката које су биле ријетке, постале су озбиљне штеточине, јер су примјеном инсектицида уништени њихови природни непријатељи. Око 60% тих инсеката припада групи пољопривредних штеточина, а многи од њих угрожавају људско здравље.

Коровска врста *Lolium rigidum* данас је највећи проблем у свијету, јер је утврђена њена резистентност у 12 земаља, испољава резистентност на 14 група хербицида различитог механизма дјеловања, на 9 ратарских режима гајења биљака и заузима површину око 2 милиона хектара (Heap 2020). У свјетским размјерама високу резистентност испољава *Amaranthus palmeri*, *Conyza canadensis*, *Avena fatua*, *Amaranthus tuberculatus* и *Echinochloa crus-galli*.

Резистентност коровских биљака на хербициде феномен је прилагођавања ових врста измијењеним условима средине. Својство прилагођавања карактерише сва жива бића. Током прилагођавања мијењају се функционалне особине ћелије и организма у цјелини. Но, како постоји велики број разноврсних хербицида који се разликују у погледу природе и механизма дјеловања, то се у процесу еволуције обезбјеђују специјални механизми индивидуалне адаптације.

Дејство хербицида условљава знатну промјенљивост организма биљке. Степен промјенљивости зависи од генотипа, етапе онтогенетског развића и фактора спољашне средине. Иако се адаптивни ефекти могу постићи на разним нивоима организације, промјене у грађи и животним функцијама ћелије које настају под утицајем хербицида манифестују се на организам као цјелину. Способност прилагођавања коровских биљака током индивидуалног развића на дјеловање хербицида, означена као онтогенетска адаптација, слаба је и једва примјетна. Она долази до изражаја као посљедица дуготрајног дјеловања одређеног хербицида у току његове вишегодишње и сталне примјене. У данашње вријеме, када се хербициди у великим количинама примјењују у скоро свим земљама свијета, феномен резистентности је од огромног практичног значаја. Резистентност доводи до тога да се одређене врсте коровских биљака, односно његове ниже

систематске категорије, које су варијабилније и нестабилније од врсте, не могу уништавати хербицидима који су до одређеног времена били ефикасни.

Резистентност коровских биљака на хербициде јавља се као резултат процеса њихове адаптације у току еволуције (Jasieniuk et al. 1996). У основи, постоје два типа механизма за развој резистентности (Dalye 2011; Beckie et al. 2012; Dalye et al. 2016). Таргет-мјесто резистентности (TSR) проузроковано је промјенама у тродимензионалној структури циљаног протеина који доводи до смањења везивања хербицида или повећања активности. Не таргет мјесто резистентности (NTSR) укључује механизме који нису повезани са таргет-мјестом резистентности (TSR), нпр. редукција апсорпције или транслокације хербицида у организму биљака или механизме детоксикације хербицида (Yuan et al. 2007; Dalye 2013).

Мутације, које су основа резистентности коровских биљака на дјеловање хербицида, могу се класификовати у два типа. Први тип су структуралне промјене у ДНК секвенци енкодираног протеина, и то су структуралне промјене. Структуралне мутације доводе до структуралних модификација у тродимензионалној структури протеина који онда доводи до умањене ефикасности хербицида. Нпр. мутације које доводе до замјене аминокиселина на мјесту везивања хербицида у таргет-мјесту протеина, могу умањити афинитет везивања хербицида за таргет-протеин.

Други тип мутација повезан са резистентношћу хербицида резултат је разлика у експресији једног или више гена код резистентних и осјетљивих биљака, и то су регулаторне мутације (Yuan et al. 2007; Dalye 2013). Ове мутације изазивају промјене у ДНК секвенци које могу изазвати повећање експресије хербицида или промијенити експресију метаболизма хербицида или повећати његову деградацију или промијенити компартментацију хербицида на путу мјеста дјеловања. Идентификација регулаторне мутације за промјене у експресији гена није лака зато што мутације могу бити различите природе. Ови примјери укључују: амплификацију цијелог гена, структуралне промјене у промотору секвенци гена који енкодира протеин који показује различиту експресију или чак структуралне промјене у промотор секвенци или у кодираној секвенци гена који енкодира протеин који регулише експресију (Dalye 2013). Епигенетички процеси (нпр. ДНК метилација) такође могу изазвати експресију гена.

Резистентност коровских популација почиње са малим бројем биљака на одређеном простору. То су оне биљке које преживљавају одређену примјену хербицида. Ако се исти хербицид и даље примјењује, а резистентни корови репродукују, проценат популација корова која је резистентна се повећава. Током првих неколико година, ако се програм контроле корова ослања само

на један хербицид, проценат резистентних корова веома је низак (испод 1%). Докле год се овај хербицид буде примјењивао, број резистентних корова стално се повећава. Обично се ова појава резистентних корова добро уочава када се број резистентних корова повећа на око 30%. Зависно од групе хербицида и њиховог механизма, резистентност се појављује послје 4 до 7 година. Резистентне форме корова на триазинске хербициде појавиле су се послје 7 и више година од примјене хербицида, а када су у питању сулфонилурее, резистентност се појавила послје 3–5 година.

Масовна појава резистентности коровских биљака може да буде главни ограничавајући фактор даље примјене хербицида. Само због резистентности трошкови сузбијања штетних организама у свијету повећани су за неколико стотина милиона долара годишње. Резистентност коровских биљака на хербициде ствара низ тешко рјешивих проблема. За уништавање резистентних биотипова појединих коровских биљака, зависно од степена резистентности, потребно је употребити 2, 5, 10, 50, 100 и више пута веће количине хербицида него што се употребљавају када ова појава није била развијена. Због употребе хербицида у већим количинама по јединици површине долази до појаве повећане контаминације животне средине и израженијих штетних посљедица за природну равнотежу. Повећана употреба хербицида по јединици површине ради постизања задовољавајуће ефикасности доводи до поскупљења производње и смањења економске исплативости примјене хербицида. И на крају, због те појаве јавља се потреба за изналажењем нових хербицида са специфичним и другачијим механизмом дејства, за чији су проналазак, синтезу, тестирања, полуиндустријску и индустријску производњу, потребна огромна средства, специјалне хемикалије и високообучен кадар.

5.3.2. Биолошке основе резистентности коровских биљака

И поред великог броја истраживања, још увијек се недовољно зна о генетичкој, физиолошкој и биохемијској основи резистентности живих организама. У оквиру врсте постоје јединке које природно посједују другачији фенотип и генотип у односу на другу групу јединки исте врсте, што дозвољава систематичарима издвајање подврста, варијетета, форми, екотипова, биотипова, итд. Имајући у виду да се врсте унутар једне такве популације слабо укрштају, може се говорити о јединственом комплексу гена или генофонду. Мада из генерације у генерацију долази до сталних комбинација постојећих гена у генском комплексу, врсте гена и њихов број из генерације у генерацију остаје непромијењен. У популацији се из генерације у генерацију испољава тенденција одржавања генетичке

равнотеже, односно тенденција да популација остаје непромијењена. Оваква тенденција могла би бити штетна у промјенљивој средини, јер би спречавала прилагођавање популације на нову средину, што би водило њеном одумирању (Gressel 1982).

Равнотежа постоји све дотле док се јединке сваке од њих слободно, по случајном избору, међусобно укрштају, и док се не појаве фактори који ту равнотежу ремете, што указује да постоји стална тенденција одржавања истих фреквенција у свим наведеним генерацијама. Ако би постојала стална генетичка равнотежа, онда би она дјеловала као конзервативан фактор који је супротан промјенама, тј. еволуцији врста. Постоје појаве мутација, селекције и случајног разилажења гена који ремете генетичку равнотежу. Селекција обухвата све оне процесе који осигуравају да индивидуе са одређеним особинама имају више потомака него индивидуе са другачијим особинама (Begen and Mortimer 1986). Отуда примјена хербицида представља један од крупних фактора који руши генетичку равнотежу популације. У условима равнотеже све јединке, ма колико се генетички разликовале, имају подједнак удио у стварању сљедеће генерације. То се у природи практично никад не дешава. Као посљедица селекције настале и дјеловањем хербицида појављује се и диференцијална фреквенција гена из генерације у генерацију (Harper 1977). Примјеном хербицида осјетљиве јединке исте врсте бивају уништене, а раст и развој настављају оне отпорне на дјеловање хербицида. Тако се у једној заједници у наредној години налази знатно већи број јединки отпорних на дјеловање хербицида. Послије вишегодишње примјене хербицида са истим спектром дјеловања и сличним механизмом дејства, формира се заједница која се у цјелини одликује повећаном отпорношћу на дјеловање хербицида. Селекциони притисак настао дјеловањем хербицида обично је у почетку довољно висок и темпо селекције брз. Уколико фреквенција гена постаје нижа, темпо селекције је све спорији. Али, ма како тај темпо био спор, када се има у виду вријеме може се схватити да и блага селекција дјелује као неодољива снага еволуције која фаворизује све промјене корисне за врсту. Пођимо од примјера да се у одређеном локалитету појавила једна резистентна коровска врста. Ако она производи 5.000 сјемена и ако у првој години клијавост испољи само 20% сјемена, у тој години појавиће се 1.000 резистентних биљака, у сљедећој години при истим условима биће милион резистентних биљака, а већ наредне године биће то скоро милијарду резистентних коровских биљака. То је један прост и хипотетичан примјер који указује како појава резистентности може брзо да се рашири у одређеном подручју. Разлике између толерантности и резистентности тешко је разумјети. Толерантност према многим хербицидима је полигенског карактера. Више од једног алела на

многим генима даје адитивну толерантност (Gressel and Segel 1982; Faukner 1982). Толерантност *Lolium* spp. на паракват је полигенска, а то је констатовано и у другим случајевима код гајених и коровских биљака при тестирању (Faukner 1982). Резистентност биљака обично контролишу један или највише два гена. То је истина за резистентност према триазинима у кукурузу (Faukner 1982), резистентност у дувану према пиклораму, фенмедифаму и бентазону према метрибузину у соји (Faukner 1982) и многим другим случајевима. Природа селективности атразина и симазина према кукурузу базирана је на Менделовим правилима (Faukner 1982). Развој резистентности према триазинима је специфичан случај, зато се не базира на Менделовим правилима наслеђивања. У Φ_1 генерацији, укрштањем између резистентног и осјетљивог биотипа добија се потомство осјетљиво ако је мајка била осјетљива и резистентно ако је мајка била резистентна (Souza-Machado 1982). И митохондрије и пластиди садрже ДНК, али се претпоставља да се резистентност на триазине наслеђује преко ДНК у хлоропластима. Пластиди изоловани из корова резистентних на триазине резистентни су на ефекте триазина *in vitro* (Arntzen et al. 1982; Radosevich and Holt 1984). *Senecio vulgaris* је специфичан случај. И толерантан и резистентан биотип нађен је у различитим локалитетима у Енглеској (Gressel 1982). Толерантни биотип имао је типично нуклеарно полигенско наслеђивање (Holliday and Putwain 1980), док је резистентни тип имао мајчинско наслеђивање (Scott and Putwain 1981). Резистентност на диурон није нађена у условима поља, али је констатована код различитих алги у лабораторијским условима (Leval-Martin et al. 1983; Gallovay and Mets 1984; Boger et al. 1989). Резистентност на метрибузин констатована је код *Chlamidomonas* spp. (Janatova and Wildner 1982). Резистентност појединих биотипова штетних организама резултат је утицаја великог броја фактора, од којих се један број заснива на биолошким карактеристикама, а други је везан за природу дјеловања хербицида и факторе спољне средине (Powles and Holtum 1994; Powles et al. 1997; Powles and Shaner 2001). Најчешће, резистентност може да настане услед:

- смањења апсорпције и транслокације хербицида у организму,
- интензификације процеса разлагања и смањења активације хербицида у организму,
- специфичности физиолошких процеса и њихових измјена под утицајем хербицида,
- мутације гена у појединим ензимима и протеинима.

Смањење апсорпције и транслокације од стране појединих биотипова истих биљних врста показало се као један од механизма резистентности. Тако су нпр. Radosevich and Appleby (1973) констатовали да су резистентни биотипови *Senecio vulgaris* апсорбовали мање количине симазина него осјетљиви.

Послије 24 сата, 18 биљака резистентних биотипова *Senecio vulgaris* апсорбовало је 44,7 μg симазина. За исто вријеме, осјетљиви биотипови апсорбовали су 64,8 μg симазина. Један од најчешћих узрока резистентности коровских биљака је повећање разлагања и смањење активације хербицида. Брзина и ефекат дејства огромног броја хербицида у тијесној су вези са његовим метаболизмом. Постоји велики број хербицида који се и у организму појединих биотипова истих биљних врста метаболишу различитом брзином, па чак и различитим правцем.

Код осјетљивијих и резистентних биотипова истих врста утврђена је различита активност појединих ензимских система. У току истраживања механизма резистентности појединих биотипова исте биљне врсте постајало је све јасније да у основи постоји нека специфична реакција која је инхибирана или стимулирана дјеловањем хербицида. Инхибиција активности неког важног метаболичког процеса ремети сам процес и на тај начин врши дубок утицај на живу ћелију и организам биљке у цјелини. Многобројна испитивања природе и механизма резистентности појединих биотипова исте биљне врсте показују да је дјеловање хербицида зависило од нарушавања процеса промета материја и да је различит однос појединих биотипова према једном истом хербициду условљен особеностима размјене материје дате биљке. Тако је Jansen (1982) констатовао да се осјетљивост неких биотипова *Chenopodium album* према атразину заснива на јакој инхибицији електронског транспорта у хлоропластима ове коровске биљке. У Таб. 5.3. приказани су резултати Radosevich and Appleby (1973) експеримената осјетљивог и отпорног биотипа *Senecio vulgaris* који су гајени у хранљивом раствору са различитим концентрацијама триазинских хербицида. Биљке осјетљивог биотипа добијале су потпуну хлорозу при знатно нижим концентрацијама примењених хербицида. Резистентни фактор (однос између LD_{100} резистентног и осјетљивог биотипа) кретао се између 8 и 80. Ови резултати сугеришу да је механизам резистентности физиолошке природе и да је зависан од структуре триазинског хербицида (Rayan 1970; Radosevich and Appleby 1973). Исто тако постоје огромне разлике у специфичној активности ALS ензима (израженој у min mg^{-1} протеина) између осјетљивих (S) и отпорних (R) биотипова *Kochia scopari* (Таб. 5.4). Према овом параметру, I_{50} за различита једињења која припадају хербицидима инхибиторима ALS, однос између отпорних и осјетљивих биотипова *Kochia scoparia* креће се од 2 до 28. То значи да је за постизање истог степена инхибиције овог ензима код отпорних биотипова ове коровске врсте, кључног ензима за дјеловање ове класе хербицида, била потребна многострука већа концентрација хербицида. Исто тако у овом огледу је показано да постоје огромне разлике, за постизање истог степена

инхибиције, између појединих хербицида исте класе једињења, од 5 до 6.600 nM код осјетљивих и 19 до 13.000 nM код отпорних биотипова *Kochia scoparia*. Фактор резистентности (I_{50} резистентних / I_{50} осјетљивих) био је нарочито велики ако се посматрају поједини хербициди из различитих група хербицида (Таб. 5.3).

Таб. 5.3. Дозе триазинских хербицида које изазивају потпуну некрозу (LD_{100}) биотипова *Senecio vulgaris* гајених у стакленику у хранљивом раствору (Radoshevich and Appleby 1973)

Table 5.3. Doses of triasyn herbicides which cause complete necrosis (LD_{100}) biotypes *Senecio vulgaris* cultivated in the greenhouse in the nutrient solution (Radoshevich and Appleby 1973)

Хербицид	LD_{100} (мг л ⁻¹)		Фактор резистентности
	Осјетљиви биотип	Резистентан биотип	
Симазин	0,01-0,5	4	>8
Атразин	0,1-0,05	30	>60
Секбуметон	0,5-1,0	30	>30
Прометон	0,1-1,0	30	>30
Прометрин	1,0-4,0	30	>80

На основу ових проучавања, утврђен је фактор резистентности коровских биљака које су укључене у ова проучавања, послије тестирања са различитим групама хербицида инхибитора фотосинтезе (Таб. 5.4). Из података у Таб. 5.4. види се да *Kochia scoparia* има висок степен резистентности мјерен преко односа инхибиције електронског транспорта у хлоропластима резистентних и осјетљивих биотипова (I_{50} резистентних/ I_{50} осјетљивих), а нарочито према триазинским хербицидима. Према овим хербицидима, фактор резистентности креће се 100–1.000. Он је висок и за метрибузин (30–300), бромацил (10–100) и пиразон (90). За остале хербициде који су укључени у ова разматрања фактор резистентности је низак. То указује да ове коровске биљке према овим хербицидима још увијек нису развиле резистентност. У нашој земљи је још увијек мало истраживања проблема резистентности. Зато се не располаже великим бројем података на основу којих би се могло говорити о степену и спектру резистентности појединих врста.

Таб. 5.4. Специфична активност ALS ензима (мин мг⁻¹ протеина) из S и R биотипова *Kochia scoparia* (Saary et al. 1990)

Table 5.4. Specific activity of ALS enzyme (min mg⁻¹ of proteins) from S and R biotypes *Kochia scoparia* (Saary et al. 1990)

Хербицид	I ₅₀		Однос (R/S)
	S (nM)	R (nM)	
Хлоримурон етил	5	99	19
Хлорсулфурон	22	400	18
Метсулфурон метил	26	130	5
Сулфометурон метил	10	280	28
Тифенсулфурон метил	62	780	13
Тиасулфурон	40	460	12
2,4-дихлоросулфонамид	86	1.700	20
Имазапир	6.000	3.800	6
Имазаметбенз	2.300	7.500	3
Имазетапир	6.600	13.000	2

У нашем раду (Јањић и сар. 1988) проучавана је резистентност различитих биотипова *Amaranthus retroflexus* према атразину методом флуоресценције листова и мјерењем квантног приноса. Тада је први пут утврђена резистентност ове коровске врсте у нашој земљи. Arsenović et al. (1991) установили су појаву резистентности код различитих коровских врста: *Amaranthus retroflexus*, *Convolvulus arvensis*, *Sorghum halepense*, *Cynodon dactylon* итд., као резултат дугогодишње примјене триазинских хербицида на жељезничким пругама Југославије. Резистентни биотипови корова развијају различите механизме резистентности према хербицидима. Примарно мјесто дјеловања триазинских хербицида је фотосистем II. У овом случају, резистентност коровских биотипова најчешће настаје модификацијом тилакоидне мембране хлоропласта, и то на мјесту везивања активне материје хербицида (Arntzen et al. 1982; Fuerst and Norman 1991). У циљу сагледавања распрострањености појаве резистентности код *Amaranthus retroflexus* према триазинским хербицидима сакупљана су сјемена са два удаљена локалитета (Киkinда и Краљево), и то са парцела гдје су триазински хербициди примјењивани више од 10 година, као и са оних парцела гдје ови хербициди нису примјењивани. На основу проучавања различитих биотипова *Amaranthus retroflexus* према атразину, примјеном методе флуоресценције листова и мјерењем квантног приноса у нашој земљи први пут је утврђена резистентност ове коровске врсте према атразину (Јањић и сар. 1988). Показано је да атразин значајно инхибира фотосинтезу, смањује квантни принос и блокира транспорт електрона, и на тај начин, код

осјетљивог биотипа утиче на повећан принос флуоресценције хлорофила, а и смањено ослобађање кисеоника. Резистентни биотип *Amaranthus retroflexus* понаша се као биљка која претходно није третирана. На сличан начин утврђена је и резистентност различитих биотипова *Chenopodium album* у нашој земљи (Јанјић и сар. 1994а). Експерименти са осјетљивим и резистентним биотиповима *Amaranthus retroflexus* показују да су хлоропласти мјеста селективне толерантности на атразин (Arntzen et al. 1982). Како се фитотоксично дејство атразина заснива на инхибицији фотосинтетског транспорта електрона, мјерење приноса флуоресценције хлорофила и ослобађања O_2 могу да дају квантитативну мјеру те инхибиције. Спора кинетика флуоресценције хлорофила користи се као општа дијагностичка проба која даје информације о стању фотосинтетског апарата. С обзиром на велику осјетљивост флуоресцентног сигнала на мале промјене у физиолошком стању листа, мјерењем флуоресценције листова могу се разликовати листови који су наизглед исти. Зато се мјерење кинетике флуоресценције данас користи у изучавању ефекта стреса на биљку, па према томе и дјеловања хербицида који се појављују као фактори стреса. На Граф. 2 и 3 приказани су резултати мјерења флуоресценције хлорофила *a* и фотосинтетског ослобађања O_2 у устаљеном стању на исјечцима листова *Amaranthus retroflexus*. Листови су један сат инкубирани у раствору атразина концентрације 20 mg l^{-1} . Концентрација атразина од 20 mg l^{-1} изабрана је као најнижа концентрација која испољава мјерљиве ефекте на листовима биљака, тако да је ова концентрација у даљем раду коришћена. Наша мјерења показала су да једночасовна инкубација листова у раствору атразина концентрације 10 mg l^{-1} не изазива промјене у приносу флуоресценције хлорофил *a* и брзини ослобађања O_2 . Брзина ослобађања O_2 третиране осјетљиве биљке смањена је за око 20% у односу на нетретирану осјетљиву биљку. Познато је да је за хербицидно дјеловање атразина неопходна свјетлост, као и да је степен оштећења сразмјеран интензитету свјетлости (Ashton and Crafts 1991). Зато реосвјетљавање исјечка листа свјетлошћу вишег интензитета проузрокује и већу (за 10%) инхибицију ослобађања O_2 , као и већи релативни принос флуоресценције код осјетљивог биотипа. Кад су листови инкубирани три сата у раствору атразина исте концентрације, добија се тотална инхибиција фотосинтезе само осјетљивог биотипа, што је потпуно разумљиво, јер што је вријеме излагања дуже то лист усваја већу количину атразина из раствора. Код резистентног биотипа, чији су листови такође изложени трочасовном дејству атразина исте концентрације, уочава се незнатна инхибиција фотосинтезе.

Принос флуоресценције осјетљивог биотипа већи је од приноса флуоресценције резистентног биотипа, кад су листови оба биотипа

инкубирани 1 сат у раствору атразина. Након три сата инкубације, флуоресценција осјетљивог биотипа остаје на нивоу Р-максимума, што је у корелацији са инхибицијом ослобађања O_2 . Принос флуоресценције резистентног биотипа повећава се незнатно. На вишем интензитету свјетлости разлике су између осјетљивог и резистентног биотипа још више изражене. Инхибирајући транспорт електрона атразин утиче на ефикасност фотосинтетског апарата у коришћењу свјетлосне енергије, што се може уочити мјерењем квантног приноса (f - број молекула O_2 који су ослобођени по молу фотона које апсорбује фотосинтетски апарат). Квантни принос се израчунава из нагиба кривих, које дају зависност фотосинтетског ослобађања O_2 од интензитета свјетлости. На ниском интензитету свјетлости, гдје је брзина фотосинтезе директно пропорционална интензитету свјетлости, квантни принос је константан и максималан и представља мјеру ефикасности којом је свјетлост конвертована у стабилне фотосинтетске продукте. Под претпоставком да биљке користе исти фотосинтетски пут и истом ефикасношћу конвертују фотоне у енергију хемијских веза, очекује се да ће имати и исти квантни принос, уколико није поремећен функционални интегритет система. Тако одређивање квантног приноса може послужити као квантитативни индикатор ефекта атразина и других хербицида, инхибитора фотосинтезе, на фотосинтетски апарат. Таб. 5.5. показује зависност фотосинтетског ослобађања O_2 од интензитета свјетлости. Максимална брзина ослобађања O_2 (на највишем интензитету свјетлости) је два пута већа код резистентног него код осјетљивог биотипа, чији су листови инкубирани три сата у раствору атразина.

Из Таб. 5.5. види се да је квантни принос фотосинтезе осјетљивог биотипа *Amaranthus retroflexus* третираног атразином око два пута мањи од квантног приноса резистентног биотипа. Квантни принос резистентног биотипа не мијења се под утицајем атразина и примијењене концентрације. Ова мјерења показују да постоје велике разлике у степену отпорности *Amaranthus retroflexus* према атразину. Усљед вишегодишње примјене триазинских хербицида дошло је до појаве резистентности ове коровске биљке и у нашој земљи. И то су, у ствари, први научни резултати о резистентности ове коровске биљке у нашој земљи. У наредним проучавањима било би неопходно утврдити дистрибуцију резистентности *Amaranthus retroflexus* у нашој земљи, а на основу експеримената са различитим концентрацијама не само атразина, него и других хербицида, инхибитора фотосинтезе. Утврђивањем 50% инхибиције (I_{50}) потребно је изнаћи фактор резистентности који би директно указао на степен резистентности ове, као и других коровских биљака према различитим и најчешће примјењиваним хербицидима.

Таб. 5.5. Утицај атразина (20 мг л⁻¹) на квантни принос (f) и брзину ослобађања O₂ (μM² c⁻¹) (Јанјић и сар. 1988)
 Table 5.5. Influence of atrazine (20 mg l⁻¹) on quantum yield (f) and the speed of release of O₂ (μM² c⁻¹) (Janjić i sar. 1988)

Биотип	Квантни принос			Максимална брзина ослобађања O ₂		
	Вријеме инкубације (сати)					
	0	1	3	0	1	3
Осјетљив	0,6	0,02	0,02	11,22	5,49	1,10
Резистентан	0,05	0,05	0,04	9,45	10,55	11,21

5.3.3. Генетичке основе контроле резистентности коровских биљака

За промјену осјетљивости коровских биљака на дјеловање хербицида одговоран је један или више гена. Моногенска резистентност утврђена је код резистентности гљива на бензимидазоле и неке друге фунгициде сличне конфигурације. Ова резистентност, контролисана једним геном, брже доводи до резистентности у популацији него резистентност која је контролисана већим бројем гена. Полигенска резистентност споро се развија, мада је стабилна те наноси и мање проблеме у пракси. Многбројна истраживања показала су да је за постизање резистентности код неких врста корова потребна позитивна интеракција између неколико мутантних гена. На основу резултата укрштене резистентности, тврди се да се резистентност не наслеђује по Менделовим правилима наслеђивања, јер у свему томе значајну улогу имају и гени модификатори. Доминантност гена резистентности није иста за разне хербициде, нити за исти хербицид код различитих врста коровских биљака. Поред тога што су сложени механизми стварања резистентности, постоје и различити типови резистентности, као што су:

- укрштена резистентност,
- мултипла или вишеструка резистентност,
- дупла резистентност,
- симултана резистентност и др.

Унакрсна резистентност (или укрштена резистентност) је резистентност на већи број хербицида са истим механизмом дјеловања. То је резистентност контролисана истим генетичким фактором. Код овог типа резистентности постоје појаве да се њоме повећа отпорност према једном хербициду, а

смањи према другом и обратно. За овакав тип резистентности користи се термин негативна унакрсна резистентност (или колатерална осјетљивост) или позитивна унакрсна резистентност када се употребом једног хербицида повећава отпорност на други. Позитивна унакрсна резистентност је скоро увијек реципрочна. Симултана резистентност и није права резистентност, а поготово је не треба мијешати са унакрсном резистентношћу. Овдје се, у ствари, ради о томе да два једињења испољавају антагонизам један према другом при чему се не мијења њихова токсичност. Мултирезистентност (или вишеструка резистентност) је појава резистентности на већи број хербицида, али различитог механизма дјеловања, а термин дупла резистентност користи се да означи резистентност на више од једне групе хербицида.

5.3.4. Мутације коровских биљака изазване примјеном хербицида

Мутације су насљедне промјене које настају изненадном промјеном генетичког материјала. Оне доводе до специфичних измјена хемијске структуре одређеног дијела молекула ДНК. У најужем смислу, то су промјене у финој структури одређених гена па се зато и називају генске мутације. У широком смислу, под мутацијама се подразумијева свака насљедна промјена чију појаву није могуће приписати рекомбинацији гена или хромозома. Или, како је амерички генетичар Simpson (1953) рекао, то је „промјена у некој од карактеристика која није наслијеђена од родитеља, али се насљеђује у потомству“. Читав низ карактеристика једног организма може да се измијени ако се мутација деси у једном од гена који својом активношћу контролише неки од кључних процеса у метаболизму. Мутације могу настати као резултат крупних промјена у грађи гена или могу бити промјене у само једном или неколико нуклеотида (тачкасте или поинт мутације). Највећи број фенотипских карактеристика налази се под контролом већег броја гена. Такви гени називају се полигени, а промјене на њима микромутације. Мутације гена могу се десити како у репродуктивним ћелијама тако и у соматским ћелијама. Прве мутације представљају промјене у геному читавих група гамета, а друге се изражавају само у ћелијама које воде поријекло од ћелије у којој се мутација десила. Соматске мутације се не преносе на сљедеће генерације. Међутим, и соматске мутације на одређеном степену развића организма могу да се насљеђују. Значај соматских мутација посебно је велики код микроорганизама. И код виших биљака, из ћелије клице у којој се десила соматска мутација, може касније, диобом и диференцијацијом, настати мутантна биљка гдје ће тада соматска мутација постати насљедна.

Изгледа да сваки ген мутирањем може да створи сасвим ограничен број алела. Исто тако, сматра се да постоје генски локуси за које није познато да мутирају. На способност мутирања првенствено утиче молекуларна структура гена. Још увијек се не знају прави узроци мутирања гена па се зато каже да мутације настају спонтано у природи. На настанак мутација утичу сасвим одређени фактори, од којих зависи какве ће се промјене десити у структури гена и колико често ће се оне дешавати. Данас се и у експерименталним условима изазивају мутације тзв. индуковане мутације и тако се у лабораторијама разјашњавају природе настанка промјена у генима код многих организама. Поред генетичких фактора и фактора природне средине до мутација гена долази и због употребе различитих једињења у пољопривреди.

Генске мутације дешавају се када је једна ДНК секвенца гена измијењена и нова нуклеотидна секвенца прелази у потомство. Те промјене могу настати замјеном једног нуклеотида или неколико њих другим, супституцијом парова база, односно додавањем (инсерцијом) или губљењем (делецијом) једног или неколико нуклеотида. Нуклеотидне замјене могу бити или транзиције или трансверзије. Транзиције су замјене једног пуринског нуклеотида другим такође пуринским (аденина гуанином или обрнуто). Трансверзије су замјене пуринског нуклеотида пиримидинским или пиримидинског пуринским (С или Т са Г или А). Замјене у нуклеотидној секвенци одређеног гена доводе до промјена на нивоу секвенције аминокиселина у полипептиду. Тако нпр. ако се у триплету ААТ у ДНК (одговара кодону UUA у иРНК) који кодира аминокиселину леуцин, први аденински нуклеотид у триплету (А) замијени са гуанинским (G), чиме се секвенца на ДНК мијења у GAT, а комплементарна на иРНК транскрипту у CUA, триплет ће и даље кодирати леуцин. Такве мутације називају се синонимне мутације. Синонимне су оне мутације које не мијењају структуру протеина, иако је база замијењена.

Да би се једна материја могла назвати насљедном супстанцом, она мора имати сљедећа својства:

- способност саморепродукције,
- способност да носи генетичку информацију,
- способност промјене своје структуре и функције.

Молекул ДНК испуњава сва три наведена услова. Молекул ДНК састоји се од два комплементарна полинуклеотидна ланца, који се међусобно увијају у виду спирале, повезани водоничним везама. Сваки од два спирална ланца састоји се од низа нуклеотида, постављених један према другом. Нуклеотид се састоји од пентозовог шећера, фосфорне киселине и једне од четири азотне базе (А, Т, Г и С). Отуда се разлике између појединих нуклеотида

заснивају на разликама у броју и распореду нуклеотида. Увијек се аденин везује двојном водоничном везом за тимин (A=T), а цитозин преко три водоникова атома за гуанин (C≡G).

Гени представљају поједине дијелове молекула ДНК. Величина ових дијелова износи од неколико стотина до неколико хиљада парова нуклеотида. Просјечно се може узети да дужина дијела ДНК који представља један генски локус износи 600–1.800 парова нуклеотида, тако да тај дио има молекулску масу око 500.000 Da. Сваки ген има своју специфичну примарну структуру, која је условљена распоредом четири поменута типа нуклеотида у оквиру тог дијела ланца ДНК. Тако нпр. ако се ген састоји од 1.000 нуклеотида који може бити четири типа, укупно је могуће створити 41.000 комбинација. Или, ДНК бактерије *Escherichia coli* има 2.200.000 нуклеотидних парова, квасац 62.000.000, морски јеж око 800.000.000, мачка око 2,5 милијарде и човјек око 3 милијарде нуклеотидних парова. На основу ових и других података може се израчунати колико у просјеку гена има један организам. Нпр. ако човјек има 3×10^9 нуклеотидних парова, ако један ген у просјеку има 1.000 нуклеотида, долази се до цифре од 3×10^6 гена које човјек има. Полазећи од броја аминокиселина у живом свијету (20) и броја азотних база у ланцу ДНК (4), прерачунавањем дошло се до закључка да је број нуклеотида који кодира једну аминокиселину три. Триплет нуклеотида на ДНК назван је генетички код, док се њима комплементарни триплети нуклеотида на иРНК називају антикодони. Тако су данас утврђени триплети који су одговорни за поједине аминокиселине. Већина кодона одговара одређеним аминокиселинама. Свега три кодона UAA, UAG и UGA су тзв „бесмислени кодони“, јер не носе информацију ни за једну аминокиселину. Генетички код је специфичан, јер само један кодон одговара само једној аминокиселини. Само два кодона, један за аминокиселину метионин (AUG), а други за аминокиселину валин (GUG) одступају од тог правила. Друга карактеристика генетичког кода је његова тзв. „дегенеративност“ (изрођеност), односно да је положај многих аминокиселина у полипептидним ланцима одређен са више него једним кодоном на иРНК. И на крају, постоји једна карактеристика кодона, а то је одсуство преклапања нуклеотида, односно нуклеотиди једног кодона нису у исто вријеме нуклеотиди другог кодона.

Мутације су ријетки и случајни догађаји високо регулисаног процеса репликације, организације и дистрибуције насљедног материјала. Случајност се огледа у томе што није могуће предвидјети који ће локус, на који начин, код које јединке, код колико индивидуа и у којој генерацији претрпјети насљедну промјену. Ипак, постоји извјестан степен одређености. Тај степен одређености назива се стопа мутације. Она говори о просјечној учесталости одговарајуће мутације. Та учесталост најчешће се изражава по гамету

(геному) по генерацији. Просјечна учесталост мутација по генском локусу/генерацији код човјека износи $2,3 \times 10^{-5}$ (Vogel and Rathenberg 1975).

5.3.4.1. Секвенцирање ДНК биљака резистентних на хербициде

Анализе генетичког материјала имају своју примјену већ више деценија. Данас се располаже широким спектром метода, од класичних цитогенетичких метода, ради уочавања нумеричких и структуралних аберација хромозома, до најфинијих испитивања за детекцију генских мутација на молекуларном нивоу. Осамдесетих година прошлог вијека развијена је метода PCR (ланчана реакција полимеризације ДНК), као и аутоматско секвенцирање методом по Сангеру. Посљедњих година развијају се потпуно нове методе за брзу, ефикасну и доступну анализу насљедног материјала, које су познате као нова генерација метода за секвенцирање ДНК (*Next Generation Sequencing*, NSG). Ове методе омогућују испитивање не само појединачних гена или дијелова гена него и већег броја сегмената, све до читавог генома. Примјена оваквог поступка доводи до праве револуције у генетици. Генерално, секвенцирањем се одређује примарна структура, тј. тачан редослијед нуклеотида у молекулу ДНК. Готово четири деценије користи се поменути метода секвенцирања по Сангеру, која се одликује изванредном прецизношћу, али она се може примијенити на сегменте ДНК релативно мале дужине (испод 1.000 бп). То је чини погодном за анализу појединачних гена или дијелова гена, али не и већих цјелина насљедне основе. Имајући у виду величину генома појединих организама, његово секвенцирање Сангеровом методом трајало би мјесецима. Нове методе заснивају се на идеји о паралелном секвенцирању великог броја сегмената ДНК (масовно паралелно секвенцирање) и потом биоинформатичком повезивању добијених података. Током посљедњих неколико година више компанија понудило је платформе за NGS, које се заснивају на различитим идејама и биохемијским принципима. Неки од апарата који су тренутно актуелни су Ion Torrent (Life sci. Technology), HiSeq MiSeq (Illumina). Изузетно је значајно напоменути да су међу пионирима NGS приступа еминентни и свјетски признати молекуларни биолози Радоје Дрманац и Радомир Црквењаков, обојица потекли са Београдског универзитета. Тако се данас дошло до границе снова, да је могуће секвенцирање једног хуманог генома урадити за пар дана по цијени нижој од 5.000 евра. Поред анализе читавог генома, предлаже се и анализа само протеин-кодирајућих региона тзв. егзома. Будући да егзом чини мање од 1% насљедне основе, овакав приступ чини се рационалним и оправданим у многим случајевима. Дизајниране су и

батерије за истовремено секвенцирање одређеног сета гена – тзв. генски панели. Панели могу бити конципирани шире или уже, према проблематици.

Захваљујући овим истраживањима у области молекуларне генетике извршено је секвенцирање ДНК код многих биљака које су развиле резистентност на хербициде. Тако су урађене секвенце ДНК коровских биљака резистентних на хербициде који инхибирају EPSPS, GS, ACC-азе, ALS, HPPD, PDS и PPO (Таб. 5.6).

Таб. 5.6. Секвенционалне базе за поједине коровске биљке према механизму дјеловања хербицида (Heap 2020)

Table 5.6. Sequential basis for particular weed plants according to the mechanism of herbicide impact (Heap 2020)

Р.б.	Врста	EPSPS	GS	ACC-азе	ALS	HPPD	PDS	PPO
1	<i>Abutilon theophrasti</i>	cDNA	cDNA	cDNA		cDNA	cDNA	
2	<i>Aegilops cylindrica</i>			cDNA				
3	<i>Alnus glutinosa</i>		cDNA					
4	<i>Alopecurus japonicus</i>			cDNA				
5	<i>Alopecurus myosuroides</i>			cDNA	cDNA			
6	<i>Amaranthus albus</i>		cDNA					cDNA
7	<i>Amaranthus blitoides</i>				cDNA			
8	<i>Amaranthus chlorostachys</i>		cDNA		cDNA			
9	<i>Amaranthus graecizans</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
10	<i>Amaranthus hybridus</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
11	<i>Amaranthus hypochondriacus</i>				cDNA			
12	<i>Amaranthus lividus</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA		cDNA	cDNA
13	<i>Amaranthus palmeri</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
14	<i>Amaranthus powellii</i>				cDNA			
15	<i>Amaranthus quitensis</i>				cDNA			
16	<i>Amaranthus retroflexus</i>				cDNA			
17	<i>Amaranthus rudis</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
18	<i>Amaranthus spinosus</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA		cDNA	cDNA
19	<i>Amaranthus thunbergii</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA		cDNA
20	<i>Amaranthus tuberculatus</i>	cDNA			cDNA	cDNA		
21	<i>Amaranthus viridis</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
22	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	cDNA	cDNA		cDNA			cDNA
23	<i>Ambrosia trifida</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
24	<i>Anthemis cotula</i>				cDNA			
25	<i>Apera spica-venti</i>			cDNA	cDNA			
26	<i>Arabidopsis thaliana</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
27	<i>Avena fatua</i>			cDNA				

28	<i>Bacopa rotundifolia</i>								cDNA
29	<i>Bidens subalternans</i>								cDNA
30	<i>Brassica rapa</i>			cDNA					
31	<i>Bromus arvensis</i>								cDNA
32	<i>Bromus diandrus</i>								cDNA
33	<i>Bromus lanceolatus</i>								cDNA
34	<i>Bromus secalinus</i>								cDNA
35	<i>Bromus squarrosus</i>								cDNA
36	<i>Bromus tectorum</i>								cDNA
37	<i>Camelina microcarpa</i>								cDNA
38	<i>Camelina sativa</i>								cDNA
39	<i>Capsella bursa-pastoris</i>								cDNA
40	<i>Chenopodium album</i>	cDNA	cDNA						cDNA
41	<i>Cirsium setosum</i>	cDNA							
42	<i>Commelina diffusa</i>	cDNA	cDNA	cDNA					
43	<i>Convolvulus arvensis</i>	cDNA	cDNA						
44	<i>Conyza canadensis</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	
45	<i>Conyza sumatrensis</i>	cDNA							
46	<i>Cyperus difformis</i>								cDNA
47	<i>Dactylis glomerata</i>								cDNA
48	<i>Dasypyrum villosum</i>								cDNA
49	<i>Descurainia sophia</i>								cDNA
50	<i>Digitaria ischaemum</i>								cDNA
51	<i>Digitaria sanguinalis</i>	cDNA	cDNA	cDNA		cDNA		cDNA	
52	<i>Echinochloa crus-galli</i>								cDNA
53	<i>Echinochloa phyllopogon</i>								cDNA
54	<i>Eleusine indica</i>	cDNA							
55	<i>Erigeron annuus</i>	cDNA							
56	<i>Euphorbia heterophylla</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA		cDNA	
57	<i>Fallopia convolvulus</i>								cDNA
58	<i>Festuca arundinacea</i>								cDNA
59	<i>Galium spurium</i>								cDNA
60	<i>Glycine max</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	
61	<i>Gossypium hirsutum</i>	cDNA							cDNA
62	<i>Hordeum murinum</i>								cDNA
63	<i>Kochia scoparia</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	
64	<i>Lolium multiflorum</i>	cDNA	cDNA			cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
65	<i>Lolium perenne</i>								cDNA
66	<i>Lolium rigidum</i>	cDNA							cDNA
67	<i>Medicago sativa</i>								cDNA
68	<i>Nicotiana benthamiana</i>								cDNA
69	<i>Nicotiana tabacum</i>	cDNA	cDNA			cDNA		cDNA	cDNA
70	<i>Nymphaea alba</i>	cDNA							

71	<i>Oryza sativa</i>	cDNA	cDNA		cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
72	<i>Panicum capillare</i>				cDNA			
73	<i>Petunia x hybrida</i>	cDNA						
74	<i>Phalaris paradoxa</i>				cDNA			
75	<i>Plantago lanceolata</i>	cDNA						
76	<i>Poa annua</i>				cDNA			
77	<i>Polypogon fugax</i>				cDNA			
78	<i>Raphanus raphanistrum</i>						cDNA	
79	<i>Setaria viridis</i>				cDNA	cDNA		
80	<i>Sinapis arvensis</i>						cDNA	
81	<i>Solanum lycopersicum</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
82	<i>Solanum tuberosum</i>						cDNA	cDNA
83	<i>Sorghum halepense</i>	cDNA			cDNA			
84	<i>Tragus racemosus</i>				cDNA			
85	<i>Triticum aestivum</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA
86	<i>Xanthium strumarium</i>				cDNA		cDNA	
87	<i>Zea mays</i>	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA	cDNA

EPSPS-5 – енолпирувилшикимат-3-фосфат (EPSP) синтетаза је ензим који каталише хемијску реакцију: фосфоенолпируват+3-фосфошикимат \leftrightarrow фосфат +5-енолпирувилшикимат-3-фосфат (EPSP)

GS – Глутамин синтетаза је ензим који има есенцијалну улогу у метаболизму азота и каталише кондензацију глутамате и амонијак до глутамине: глутамате+ ATP+NH₃→глутамин+ADP+ фосфат

ACC-ase – Ацетил-СоА карбоксилаза је биотин-зависни ензим који каталише иреверзбилну карбоксилацију ацетил-СоА до малонил-СоА у двије каталитичке активности биотин карбоксилазе (BC) и карбокситрансферазе (CT)

ALS – Ацетолактат синтетаза (ALS) ензим (такође познат као ацетохидрокси кисела синтетаза, или AHAS) каталише прву степеницу у синтези рачвастих аминокиселина (валина, изолеуцина и леуцина)

HPPD-4 – Хидроксифенилпируват диоксигеназа је ензим нађен у биљкама и животињама каталише катаболизам аминокиселелине тирозин

PDS – Фитоен десатураза је ензим важан за биосинтезу каротеноида и игра важну улогу у оксидацији и стварању синглет O₂ (1O₂)

PPO - Протопорфириноген оксидаза (PPG оксидаза или Протокс) је ензим у биосинтези хлорофила и хема, каталише протопорфиноген

IX (PPGIX) до протопорфина IX (PPIX).

5.4. Један примјер резистентности у гајењу генетички модификованих биљака

Резистентност на глифосат (главни хербицид који се користи у гајењу генетички модификованих биљака) утврђено је да је настала, у највећем броју случајева, мутацијом гена. За сада утврђене су појаве мутације на пет

аминокиселина, и то: треонину на 102 глицин на 96, аланин на 103 и пролину на 106 и 102 позицији. Код четири коровске биљке, *Eleusine indica*, *Bidens pilosa*, *Bidens subalternans* и *Amaranthus hybridus* констатована је мутација, гдје је аминокиселина треонин на 102 позицији замијењена аминокиселином изолеуцином. И баш код ове мутације констатована је висока резистентност која је већа од 10 пута у односу на осјетљиве форме ових коровских биљака. Код свих других коровских биљака код којих је дошло до резистентности на мјесту аминокиселине пролина, на 106 мјесту, које су замјењиване серином, треонином, аланином и леуцином, није остварен тако висок ниво резистентности као код *Eleusine indica* и била је код свих коровских врста испод 10 пута, у односу на осјетљиве популације. Поред *Eleusine indica*, до сада је констатована висока резистентност код *Lolium perenne*, *Bidens pilosa*, *Amaranthus palmeri*, *Bidens subalternans* и *Amaranthus hybridus*. Код највећег броја врста мутације су настале замјеном аминокиселине пролина на 106 позицији аминокиселинама серином (12) и треонином (5) (Trantel et al. 2020). Само код четири коровске врсте (*Lolium rigidum*, *Lolium perenne ssp. multiflorum*, *Echinochloa colona* и *Eleusine indica*) мутација је настала замјеном пролина аланином и леуцином (Таб. 5.7).

Од појаве прве резистентне коровске врсте биљака, а то значи од 1996. до 2020. године, у свијету је утврђено 48 коровских врста биљака резистентно на глифосат, хербицид који инхибира синтезу EPSP ензима. Појава развоја резистентности на овај хербицид нарочито интензивно се развијала од 2000. године (Граф. 5.1. и 5.2). Већ 2005. године било је резистентно 11, а од тада до 2019. године 37 коровских врста биљака. Упоредо са развојем резистентности, развијала се и мултипла резистентност, резистентност са другим хербицидима, али другачијег механизма дејства (Таб. 5.10). До данас је утврђена мултипла резистентност код 19 коровских врста биљака, али у њеном стварању учествовао је и глифосат. У четири коровске врсте, *Lolium rigidum*, *Poa annua*, *Eleusine indica* и *Lolium perenne ssp. multiflorum*, мултипла резистентност потиче од дјеловања на 8–14 група хербицида, односно њиховог механизма дјеловања. То су углавном хербициди који се употребљавају у сузбијању корова у многим гајеним биљкама, а имају другачији механизам дјеловања као што су хербициди који инхибирају ацетил коензим карбоксидазу (ACC-азу), хербициди који инхибирају фотосинтезу у фотосистеми I и II, хербициди који инхибирају синтезу ALS и хербициди који инхибирају стварање микротубула у фази диобе, односно хербициди који по HRAC-овој класификацији имају ознаку A, B, C₁, C₂, D, K₁ и O. Код 8 коровских врста (*Conyza canadensis*, *Bidens pilosa*, *Conyza bonariensis*, *Sorghum halepense*, *Bromus diandrus*, *Conyza sumatrensis*, *Lactuca serriola* и *Sonchus oleraceus*) констатована је резистентност на 3–5 група хербицида

различитог механизма дјеловања. А само код 7 коровских врста утврђена је резистентност на двије групе хербицида, од чега је једна група којој припада глифосат.

Таб. 5.7. Супституција аминокиселина у EPSPS у стварању резистентности код различитих врста

Table 5.7. Substitution of amino acids in EPSPS in creating the resistance at different species

Амино-киселина	Супституирана са	Врста	R/r	Година	Литература
Thr 102	Ile	<i>Elusine indica</i>	R	2015	Yu et al. 2015 Chen et al. 2015
	Ile	<i>Bidens pilosa</i>	R	2016	Alcantara-de Cruz et al. 2016a
	Ser	<i>Tridax subalternans</i>	r	2018	Jingibo et al. 2018
	Ile	<i>Bidens subalternans</i>	R	2019	Takano et al. 2019
	Ile	<i>Amaranthus hybridus</i>	R	2019	Perotti et al. 2019; Garcia et al. 2019
Gly 96	Ala	<i>Escherichia coli</i>			Eschenburg et al. 2006
Ala 103	Val	<i>Amaranthus hybridus</i>	R	2019	Perotti et al. 2019 Garcia et al. 2019
Pro 102	Ser	<i>Tridax procubens</i>	r	2018	Jingbo et al. 2018
Pro 106	Ser	<i>Elusine indica</i>	r	2002	Baerson et al. 2002 Kaundun et al. 2008
	Thr	<i>Eleusine indica</i>	r	2003	Ng et al. 2003
	Thr	<i>Lolium rigidum</i>	r	2006	Bostamam et al. 2012 Wakelin and Preston 2006
	Ser	<i>Lolium perenne ssp. multiflorum</i>	r	2007	Perez-Jones et al. 2007
	Ala	<i>Lolium rigidum</i>	r	2007	Yu et al. 2007a Bostamam et al. 2012
	Ala	<i>Lolium perenne ssp. multiflorum</i>	r	2008	Jasieniuk et al. 2008
	Ser	<i>Lolium rigidum</i>	r	2008	Yu et al. 2007a; Simarmata and Penner 2008
	Leu	<i>Lolium rigidum</i>	r	2011	Callavo et al. 2012 Kaundun et al. 2011
	Thr	<i>Digitaria insularis</i>	r	2012	Carvalho et al. 2012
	Ser	<i>Amaranthus rudis</i>	r	2012	Nandula et al. 2013
Ser	<i>Echinochloa colona</i>	r	2013	Alarcon-Reverte et al. 2013	

Thr	<i>Echinochloa colona</i>	r	2014	Alarcon-Reverte et al. 2013
Leu	<i>Echinochloa colona</i>	r	2015	Han et al. 2015
Leu	<i>Eleusine indica</i>	r	2015	Chen et al. 2015
Ser	<i>Lolium perenne</i>	R	2015	Ghanizadeh et al. 2015
Ser	<i>Parthenium hystererophorus</i>	r	2016	Bracamonte et al. 2016
Ser	<i>Bidens pilosa</i>	R	2016	Alcantara-de la Cruz et al. 20166
Ser	<i>Lepthochloa virgata</i>	r	2016	Alcantara-de la Cruz et al. 20166
Ser	<i>Conyza canadensis</i>	r	2016	Page et al. 2017
Ser	<i>Amaranthus palmeri</i>	R	2017	Dominguez-Valenzuela et al. 2017
Thr	<i>Bidens subalterernans</i>	R	2019	Takano et al. 2019
Ser	<i>Amaranthus hybridus</i>	R	2019	Perotti et al. 2019

1. Број аминокиселине је стандардизован у односу на секвенцу *Arabidopsis thaliana*

2. Индикатор нивоа резистентности

r = средње резистентан (<10 пута отпорнији од осјетљивог биотипа)

R = Високо резистентан (> 10 пута отпорнији од осјетљивог биотипа)

3. Година када је мутација први пут објављена

Код највећег броја биљака резистентних на хербициде, инхибиторе EPSPS, утврђене су секвенционе базе cDNA и одређене секвенце за поједине коровске биљке. У нашем даљем тексту дати су подаци, као примјери само за једну коровску биљку (*Abutilon theophrasti*), о ауторима, афилацији, извору, односно патенту, молекулском типу, биљној врсти и таргет гену. До данас то је урађено за 31 коровску врсту која је резистентна на хербициде инхибиторе EPSPS (Таб. 5.8.). Врста *Abutilon theophrasti* на којој су утврђене секвенционалне базе приказана је у Таб. 5.9, само за примјер, а тако је урађено код свих коровских биљака резистентних на глифосат.

Таб. 5.8. Секвенционалне базе за поједине коровске биљке резистентне на хербициде инхибиторе EPSPS (Heap 2020)

Table 5.8. Sequential basis for particular weed plants resistant to herbicides inhibitors EPSPS (Heap 2020)

Р.б. Врста	EPSPS	Р.б. Врста	EPSPS
1. <i>Abutilon theophrasti</i>	cDNA	19. <i>Conyza sumatrensis</i>	cDNA
2. <i>Amaranthus graecizans</i>	cDNA	20. <i>Digitaria sanguinalis</i>	cDNA
3. <i>Amaranthus hybridus</i>	cDNA	21. <i>Eleusine indica</i>	cDNA
4. <i>Amaranthus lividus</i>	cDNA	22. <i>Erigeron annuus</i>	cDNA
5. <i>Amaranthus palmeri</i>	cDNA	23. <i>Euphorbia heterophylla</i>	cDNA
6. <i>Amaranthus rudis</i>	cDNA	24. <i>Glycine max</i>	cDNA

7. <i>Amaranthus spinosus</i>	cDNA	25. <i>Gossypium hirsutum</i>	cDNA
8. <i>Amaranthus thunbergii</i>	cDNA	26. <i>Kochia scoparia</i>	cDNA
9. <i>Amaranthus tuberculatus</i>	cDNA	27. <i>Lolium multiflorum</i>	cDNA
10. <i>Amaranthus viridis</i>	cDNA	28. <i>Lolium rigidum</i>	cDNA
11. <i>Ambrosia artemisiifolia</i>	cDNA	29. <i>Nicotiana tabacum</i>	cDNA
12. <i>Ambrosia trifida</i>	cDNA	30. <i>Nymphaea alba</i>	cDNA
13. <i>Arabidopsis thaliana</i>	cDNA	31. <i>Oryza sativa</i>	cDNA
14. <i>Chenopodium album</i>	cDNA	32. <i>Petunia hybrida</i>	cDNA
15. <i>Cirsium setosum</i>	cDNA	33. <i>Plantago lanceolata</i>	cDNA
16. <i>Commelina diffusa</i>	cDNA	34. <i>Solanum lycopersicum</i>	cDNA
17. <i>Convolvulus arvensis</i>	cDNA	35. <i>Sorghum halepense</i>	cDNA
18. <i>Conyza canadensis</i>	cDNA	36. <i>Triticum aestivum</i>	cDNA

EPSPS – 5-енолпирувилшикимат-3-фосфат (EPSP) синтазе је ензим који каталише хемијску реакцију: фосфоенолпируват + 3-фосфошикимат <----> фосфат + 5-енолпирувилшикимат-3-фосфат (EPSP)

Таб. 5.9. cDNA секвенца за EPSPS у *Abutilon theophrasti*
 Table 5.9. cDNA sequence for EPSPS in *Abutilon theophrasti*

Аутор	Ader et al. (2013)
Афилација	Monsanto
Извор	US Patent 20130288895
Молекулски тип	cDNA
Биљна врста	<i>Abutilon theophrasti</i>
Таргет ген	EPSPS
Екстерни линк	US Patent 20130288895

Секвенце:

TCAGTTTCATTCAGATCAAATCTCAAAGGAGGTTTTTCCAATCCCAGGGTTTGTGTTTG
 AACAGCAATGGTAAGTTGGGAACAATCAAGGTTTCGGCCAGGAGTGTTTCTGCTTCAA
 CAGCAGCCACGGCTGAGAAGCCATCCAGCGCATCCGAAATTGTGCTTCAACCAATCAAT
 GAAATTTCCGGTACTGTAAATACCCGGCTCTAAATCACTCTCCAATCGGATTCTGCTC
 STAGCTGCTCTATCCGAGGGAACACTGTGGTTGACAATTTGTTGAATAGCGACGATGT
 TCATCACATGCTTGTGCTTTGGGAAAACCTGGCCTTCGTGTGGAGCATGACAGTGAAA
 AGAAACGAGCCATTGTTGAAGGCTGCGGTGGTCAATTTCCAGTAGGGAAAGGGGAAG
 GTCAAGAAATTGAGCTTTTCTCGGGAATGCTGGAACCGCAATGCGACCTTACTGCT
 GCTATTACCGCCGCGGTGGCAATCAAGCTACGTAATTGATGGTGTACCCGAATGAG
 AGAGAGGCCAATTGGGGACTTAGTTACTGGTCTTAAGCAGCTGGGTGCAGATGTCGAT
 TGTAATCTTGGCACAATTTGCCCCCTGTCCGTATAAATGGAAGGGTGGTCTTCTGG
 AGGAAAGGTGAACTTTCCAGGATCTATCAGTAGTCAATACTTGACCGCTTACTCATGG
 CAGCTCCTTTGGCTCTTGGGGATGTGGAAATTGAGATTATTGATAAACTGATTTCAATC
 CCAATATGTTGAAATGACCATAAAATTTGATGGAAAGGTTTGGGGTCAGTGTGGAGCACA
 GTAATAGCTGGGATCGATTCTTTATCCGAGGAGGTCAAAGTACAAGTCTCCTGGAAA

TGCTTACGTCGAAGGTGACGCTTCAAGTGCTAGTACTTCCTTGCTGGTGCAGCTGTTA
 CTGGTGGGACTGTCACAGTAGAAGGATGTGGAACAAGTAGTTTGCAGGGTGATGTAA
 AATTCGCTGAGGTTCTTGAGATGATGGGTGCCAAAGTACTTGGACCGAGAACAGTGT
 AACCGTCACTGGACCCCAAGAAATTCCTTTGGGAGGAAGCAATTGCGTGCTATTGAT
 GTCAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCCATGACTCTCGCTGTTGTTGCCCTTACGCT
 GATGGTCCCACTGCCATAAGAGATGTGGCAAGTTGGAGGGTGAAAGAGACTGAAAGG
 ATGATTGCTATATGCACAGA AACTCAGGAAGCTCGGAGCAACAGTTGAAGAAGGGCCA
 GATTATTGCGTCATCACTCCACCGGAGAAATTAACGTGACAGCAATAGATACTTATGA
 TGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCTTCCCGCTGTGCAGAGGTTCCAGTTACCA
 TCAATGATCCTGGTTGTACCCGAAAACCTTCCCTGACTACTTTGAAGTTCTCGAGAGG
 GTTACAAAAGCATTGA

5.5. Резистентност коровских биљака на поједине групе хербицида

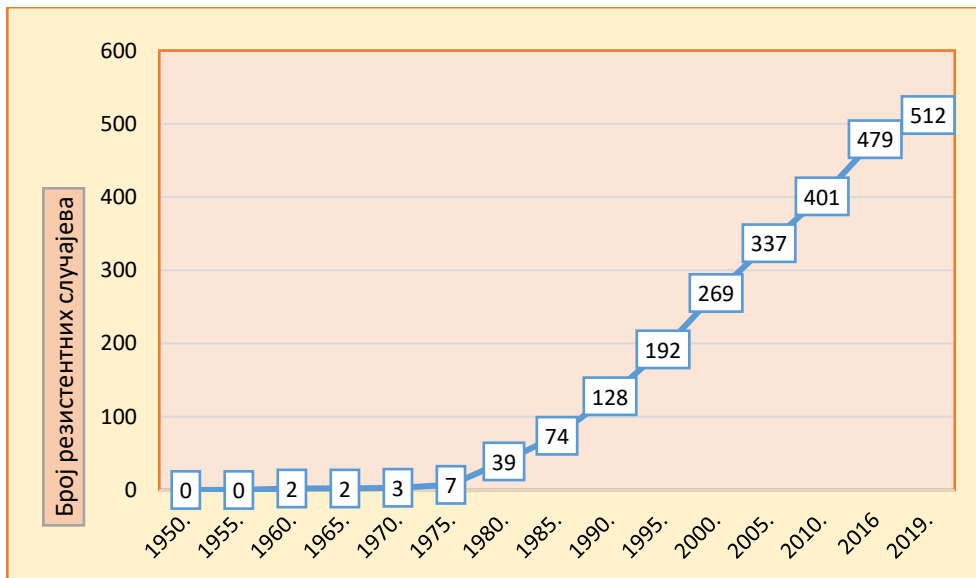
Резистентност коровских биљака на хербициде непрекидно се развија и брзо шири. То се нарочито може лако уочити ако се пореде подаци о тој појави од почетка њене констатације до данашњих дана (Таб. 5.10, Граф 5.1). Резистентност је нарочито развијена на четири најзначајније групе хербицида (ALS инхибитори, Инхибитори фотосинтезе у фотосистему II, ACC-азе инхибитори и инхибитори синтезе EPSP синтетазе). На ове четири групе хербицида данас је утврђено да постоји 336 резистентних коровских врста (176 дикотиледоних и 160 монокотиледоних), што представља око 66% од укупног броја резистентних коровских врста биљака (или 66% монокотиледоних и 65% дикотиледоних).

Таб. 5.10. Број резистентних коровских биљних врста у свијету према механизму дјеловања различитих група хербицида (Heap 2020)
 Table 5.10. Number of resistant weed plant species in the world according to the mechanism of impact of different herbicides (Heap 2020)

Р.б.	Група хербицида	HRAC група	Примјер хербицида	ДК	МК	Укупно
1.	Инхибитори ALS	В	Хлорсулфурон	101	64	165
2.	Инхибитори фотосистема II	C ₁	Атразин	51	23	74
3.	ACC-азе инхибитори	А	Сетоксидим	0	49	49
4.	Инхибитори синтезе EPSP синтетазе	G	Глифосат	24	24	48
5.	Синтетички ауксини	О	2,4-D	33	8	41

6.	Инхибитори транспорта електрона у фотосистему I	D	Паракват	22	10	32
7.	Инхибитори фотосистема II (Урее и амиди)	C ₂	Хлоротолурон	11	18	29
8.	Инхибитори микротубула	K ₁	Трифлуралин	2	10	12
9.	Инхибитори PPO	E	Оксифлуорфен	10	3	13
10.	Инхибитори синтезе липида	N	Триалат	0	10	10
11.	Инхибитори биосинтезе каротеноида (непознато дјеловање)	F ₃	Амитрол	1	5	6
12.	Инхибитори синтезе масних киселина дугог ланца	K ₃	Бутахлор	2	5	7
13.	Инхибитори фотосистема II (Нитрили)	C ₃	Бромоксинил	3	1	4
14.	Инхибитори биосинтезе каротеноида	F ₁	Дифлуфеникан	3	1	4
15.	Инхибитори синтезе глутамина	H	Глуфосинат алуминијум	0	3	3
16.	Инхибитори целулозе	L	Дихлобенил	0	4	4
17.	Антимикротубуларни митотички дисруптери	Z	Флампроп-метил	0	3	3
18.	Инхибитори HPPD	F ₂	Изоксафлутол	2	0	2
19.	Инхибитори DOXP	F ₄	Кломазон	0	2	2
20.	Инхибитори деобе ћелија	K ₂	Профам	0	1	1
21.	Непознато дјеловање	Z	Ендотал	0	1	1
22.	Инхибитори елонгације ћелија	Z	Дифензокват	0	1	1
23.	Инхибитори нуклеинске киселине	Z	MSMA	1	0	1
Укупно				266	246	512

ДК – дикотиледони корови, МК – монокотиледони корови, А – ACC азе инхибитори, В – Инхибитори ALS, C₁ – Инхибитори фотосистема II, C₂ – Инхибитори фотосистема II (Урее и амиди), D – Дивертери PSI електрона, G – Инхибитори синтезе EPSP синтазе, K₁ – Инхибитори микротубула, O – Синтетички ауксини



Граф. 5.1. Хронолошко повећање случајева резистентности коровских биљака на хербициде у свијету 1950–2019. (Heap 2020)

Graph. 5.1. Chronological increase of cases of weed plants on herbicides in the world from 1950 to 2019 (Heap 2020)

Таб. 5.11. Развој резистентности за различите хербициде (Le Baron 1991; Valverde and Greessel 2006)

Table 5.11. Development of the resistance for different herbicides (Le Baron 1991; Valverde and Greessel 2006)

Хербицид	Година увођења	Прва година о резистентности
2,4-D	1945	1963
Dalapon	1953	1962
Atrazin	1958	1968
Trialat	1962	1987
Pikloram	1963	1988
Trifluralin	1963	1973
Glifosat	1972	2003
Diklofop	1977	1982
Hlorosulfuron	1982	1987

Таб. 5.12. Развој резистентности коровских биљака на поједине групе хербицида у свијету у периоду 1957–2019. (Heap 2020)

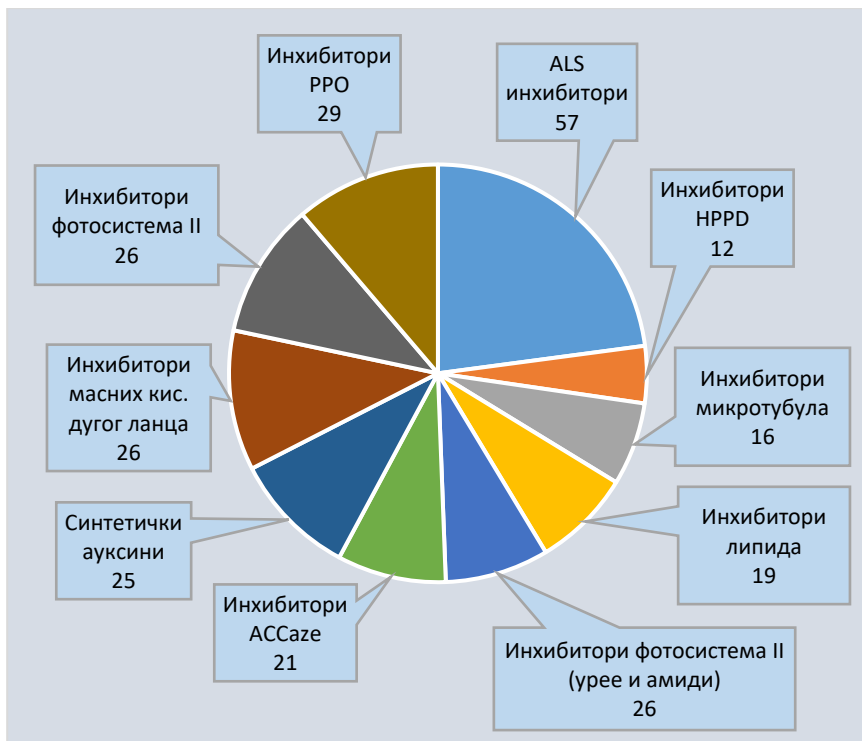
Table 5.12. Development of the resistance of the weed plants to the particular herbicides groups in the world from 1957 to 2019. (Heap 2020)

Година	Укупна	A	B	C ₁	C ₂	D	G	K ₁	O	F ₁	Други
1957	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
1970	3	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0
1972	4	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0
1973	6	0	0	3	0	0	0	1	2	0	0
1975	7	0	0	4	0	0	0	1	2	0	0
1976	10	0	0	7	0	0	0	1	2	0	0
1977	12	0	0	9	0	0	0	1	2	0	0
1978	17	0	0	14	0	0	0	1	2	0	0
1979	25	0	0	20	1	0	0	1	3	0	0
1980	39	0	0	30	2	3	0	1	3	0	0
1981	47	0	0	36	2	4	0	1	4	0	0
1982	57	2	1	38	2	5	0	2	4	0	3
1983	62	2	1	41	2	5	0	2	5	0	4
1984	69	2	2	44	2	7	0	2	5	0	5
1985	73	3	2	44	2	8	0	2	6	0	6
1986	78	3	3	44	3	10	0	2	6	0	7
1987	90	4	6	48	6	10	0	3	6	0	7
1988	99	4	8	49	7	11	0	4	8	0	8
1989	112	5	11	52	7	13	0	5	9	0	10
1990	127	6	13	53	11	18	0	6	10	0	10
1991	137	9	15	54	13	20	0	6	10	0	10
1992	148	10	18	57	14	20	0	8	10	0	11
1993	171	12	32	58	15	21	0	8	11	0	14
1994	184	13	37	59	18	21	0	8	12	0	16
1995	191	13	41	60	18	21	0	8	13	0	17
1996	212	17	54	62	18	21	1	8	14	0	17
1997	227	20	63	62	18	21	2	9	15	0	17
1998	239	22	69	62	18	21	2	9	17	0	19
1999	254	26	73	63	20	21	2	10	20	0	19
2000	268	29	81	63	20	21	3	10	21	0	20
2001	277	31	85	63	20	22	4	10	21	0	21
2002	289	33	88	64	20	23	4	10	23	0	24
2003	293	33	89	65	20	23	6	10	23	0	24
2004	315	33	98	67	23	23	9	11	23	0	28
2005	336	35	105	67	23	24	14	11	25	0	32
2006	343	35	109	68	24	25	14	11	25	0	32
2007	356	36	116	68	24	26	16	11	26	0	33
2008	362	36	119	68	24	26	19	11	26	0	33

2009	381	40	125	69	24	27	20	11	27	2	36
2010	399	43	133	69	24	28	24	12	27	2	37
2011	420	43	140	71	24	31	25	12	28	2	44
2012	430	44	147	71	24	31	26	12	29	2	44
2013	439	44	151	71	26	31	27	12	31	2	44
2014	461	47	158	72	28	31	32	12	32	2	47
2015	475	47	159	72	28	32	36	12	34	2	53
2016	478	48	159	73	28	32	37	12	34	2	53
2019	512	49	165	74	29	32	48	12	41	2	60

A – ACC-азе инхибитори, B – Инхибитори ALS, C₁ – Инхибитори фотосистема II, C₂ – Инхибитори фотосистема II (Урее и амиди), D – Ивертери PSI електрона, G – Инхибитори синтезе EPSP синтетазе, K1 – Инхибитори микротубула, O – Синтетички ауксини

Интензитет развоја резистентности коровских биљака зависи од великог броја фактора, али и од природе активне материје хербицида, количине и учесталости примјене, али свакако и од броја активних материја које имају поједине групе хербицида. Из прегледа датих на Граф. 5.2, уочава се да поједине групе хербицида имају различит број активних материја. Он се креће од 3 па до 57. Свакако највећи број активних материја има најновија класа хербицида, група сулфонилуреа. У вријеме њихове појаве сматрало се да ће они изазвати револуцију у пољопривреди, првенствено због употребе малих количина активне материје по јединици површине. И остале групе као што су: инхибитори PPO, инхибитори синтезе масних киселина дугог ланца, инхибитори фотосинтезе у фотосистему II, синтетички ауксини, инхибитори ацетил СоА и инхибитори фотосинтезе у фотосистему II, гдје спадају урее и амиди, имају од 20 до 30 активних материја у групи. Од 10 до 20 активних материја имају сљедеће групе хербицида: инхибитори синтезе липида, инхибитори формирања микротубула, инхибитори HPPD и хербициди непознатог механизма дјеловања који по HRAC-овој класификацији имају ознаку Z. Све остале групе хербицида, а има их свега четири групе, имају мање од 10 активних материја у групи.

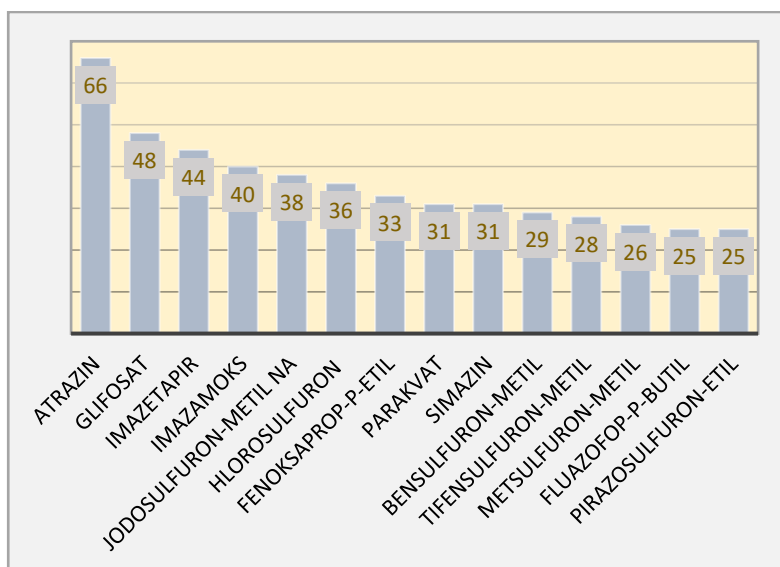


Граф. 5.2. Број активних материја по групама хербицида по механизму њиховог дјеловања (Heap 2020)

Graph. 5.2. Number of active substances by the herbicides groups by the mechanism of their action (Heap 2020)

Ако се посматра резистентност појединих коровских врста биљака на поједине хербициде који припадају различитим групама хербицида, онда се такође могу уочити законитости које су повезане са механизмом дјеловања, интензитетом и дужином примјене, спектром и ширином дјеловања и обимом примјене везаним за површине и врсте гајених биљака у којима су примјењивани. Тако нпр. на добро познати и дуго употребљавани хербицид атразин највећи број коровских врста биљака је резистентно. Према посљедњим подацима, утврђено је да је 66 врста коровских биљака резистентно на овај хербицид (Граф. 5.3). Када се посматра учесталост резистентности коровских биљака на поједине хербициде, онда се може уочити да је највећи број коровских биљака резистентно на атразин, један стари дуги и широко употребљавани хербицид, а припада групи хербицида инхибитора фотосинтезе у фотосистему II. Он је имао ниску цијену и употребљавао се за сузбијање корова у великом броју гајених биљака, нарочито оних које се у многим земљама гаје на великим површинама. Ако

се узму површине само кукуруза у којима је овај хербицид деценијама био главни хербицид за сузбијање корова у овом усјева, онда се може уочити шта је из такве примјене све произашло. Данас, послије много година употребе једног од најпознатијих хербицида, у многим земљама његова употреба је забрањена. И на многе хербициде из групе сулфонилуреа многе коровске биљке постале су резистентне: трибенурон метил, метсулфурон метил, хлорсулфурон, бенсулфурон метил, тифенсулфурон-метил и пирazosулфурон, па и хербициде из сродне групе имазамокс и имазетапир. Резистентност на ове активније материје хербицида креће се у опсегу од 25 до 45 коровских врста. На симазин и паракват постигнут је исти степен резистентности коровских врста биљака. На ова два хербицида резистентна је 31 врста корова.



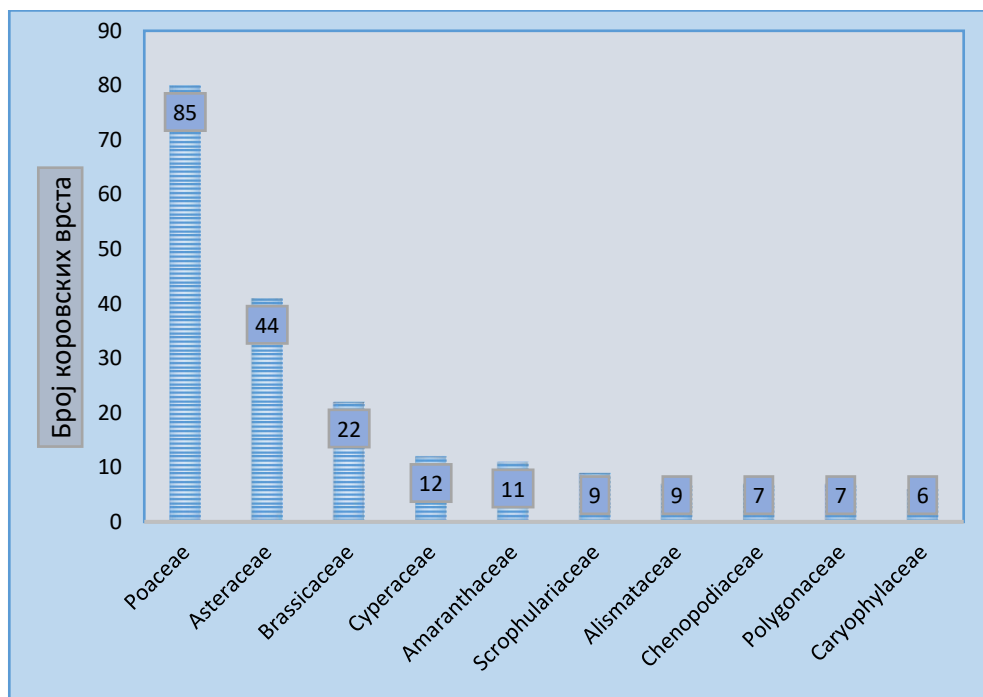
Граф. 5.3. Број врста коровских биљака резистентних на поједине хербициде (Heap 2020)

Graph. 5.3. Number of weed plants resistant to particular (Heap 2020)

5.6. Резистентност коровских биљака по фамилијама

Свака фамилија биљака има низ својих карактеристика, биолошких, еколошких, физиолошких и биохемијских, а постоје велике разлике у броју родова и врста које њима припадају. Највећи број резистентних коровских врста биљака припада фамилији Роасеае. У овој фамилији до сада је регистровано 85 резистентних врста. Скоро дупло мање резистентних врста

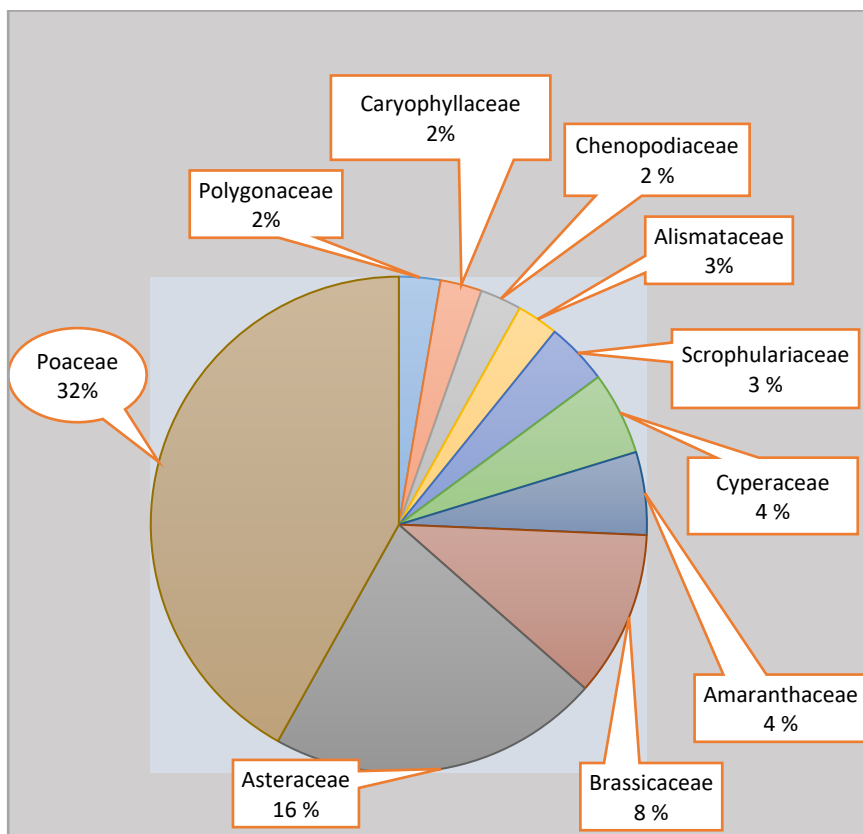
констатовано је у фамилији Asteraceae (44 врсте), а 22 резистентне врсте утврђене су у фамилији Brassicaceae. Ове три фамилије имају 151 резистентну врсту коровских биљака (Граф. 5.4.).



Граф. 5.4. Број резистентних коровских биљака по фамилијама биљака (Heap 2020)

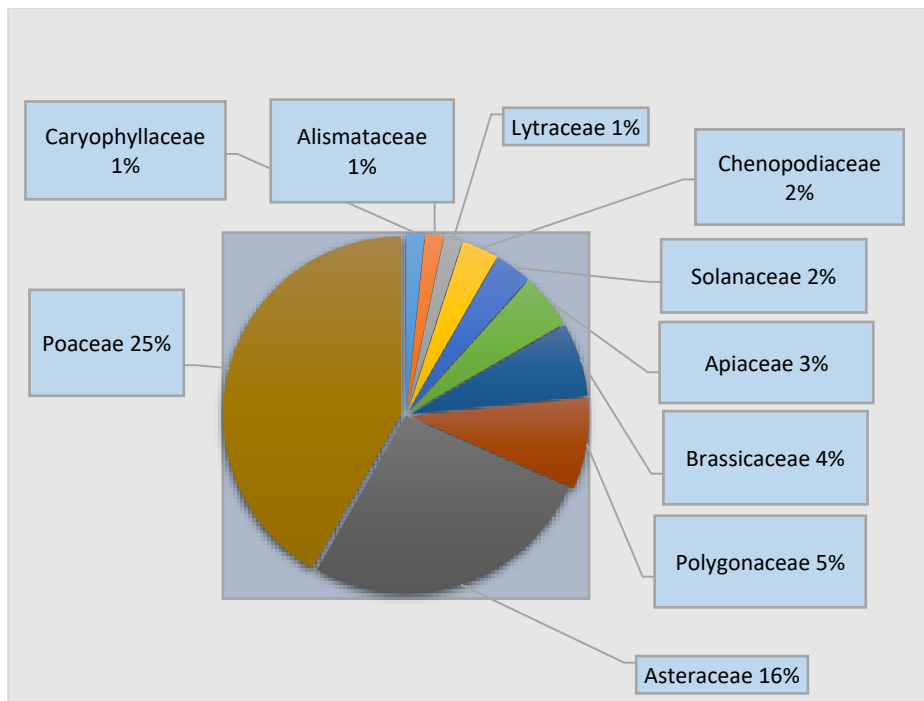
Graph. 5.4. Number of resistant weed plants by plants families (Heap 2020)

Коровске врсте из пет фамилија биљака – Poaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Cyperaceae, Amaranthaceae и Scrophulariaceae, чине око 70% случајева резистентности на хербициде, а што представља само 50% од укупне популације главних корова свијета (Граф. 5.5). Корови фамилија Poaceae, Brassicaceae и Amaranthaceae веома су склони развоју резистентности у поређењу са коровима и другим фамилијама биљака (Граф. 5.6).



Граф. 5.5. Релативна заступљеност резистентних коровских биљака по фамилијама (Heap 2020)

Graph. 5.5. Relative representation of resistant weed plants by families (Heap 2020)



Граф. 5.6. Процент резистентних коровских врста у најопаснијим коровима свијета (Holm et al. 1979, 1981)

Graph. 5.6. % of resistant weed plants in the most dangerous weeds of the world (Holm et al. 1979, 1981)

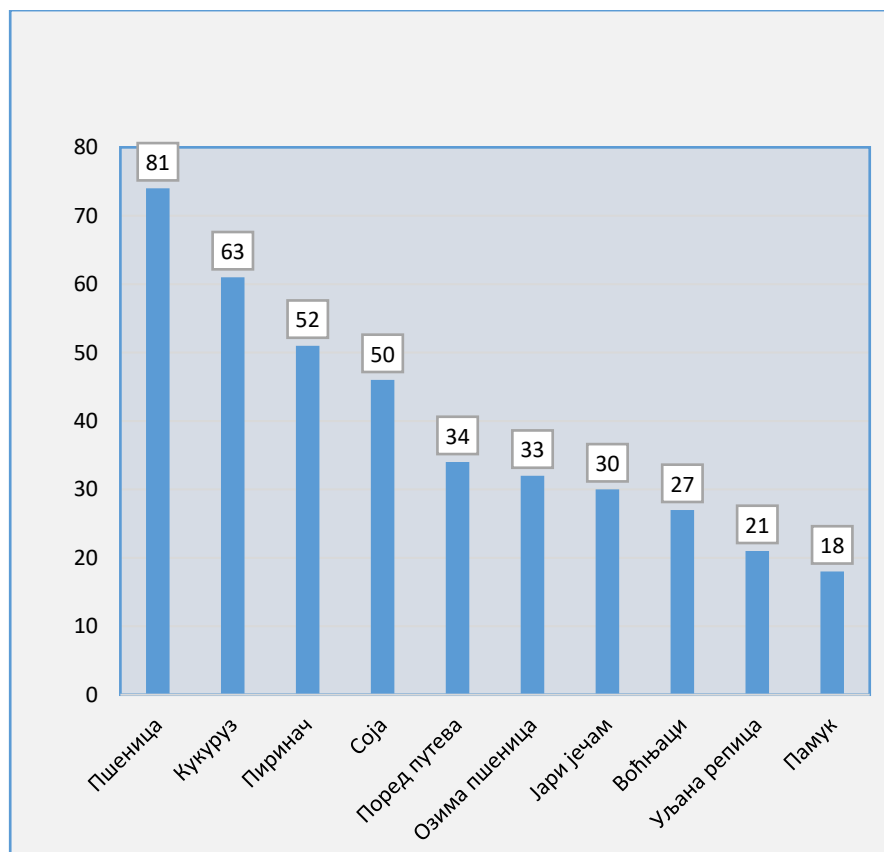
Од укупног броја резистентних коровских врста, значајно је истаћи да највећи број од њих припада једногодишњим коровима, а затим вишегодишњим коровима. Ове двије групе корова по животном циклусу обухватају 210 врста коровских биљака. У осталим групама корова по животном циклусу налази се знатно мањи број корова који су резистентни на хербициде: једногодишњи-двогодишњи 16 врста и толики исти број имају и једногодишњи-вишегодишњи корови (Граф. 5.7).



Граф. 5.7. Преглед броја резистентних коровских биљака у бази података по дужини животног циклуса (Heap 2020)

Graph. 5.7. Review of the number of the resistant weed plants in the database by the length of the life (Heap 2020)

Интересантан је и распоред резистентних коровских биљака у појединим гајеним биљкама. Свакако да се највећи број резистентних коровских биљака, у стратегијски најзначајнијим гајеним биљкама у свијету, гаји на великим површинама, па је на тако великим површинама примјена хербицида већа него у усјевима који се гаје на малим површинама, гдје су у појединим земљама још увијек присутне и примјењују се друге мјере борбе против корова. У усјеву пшенице констатована је 81 врста резистентних корова, у усјеву кукуруза 63, пиринча 52 и соје 50 (Граф. 5.8). У ове четири гајене биљке утврђено је да постоји 246 резистентних коровских врста или скоро 94% од укупног броја регистрованих резистентних врста коровских биљака у свијету.



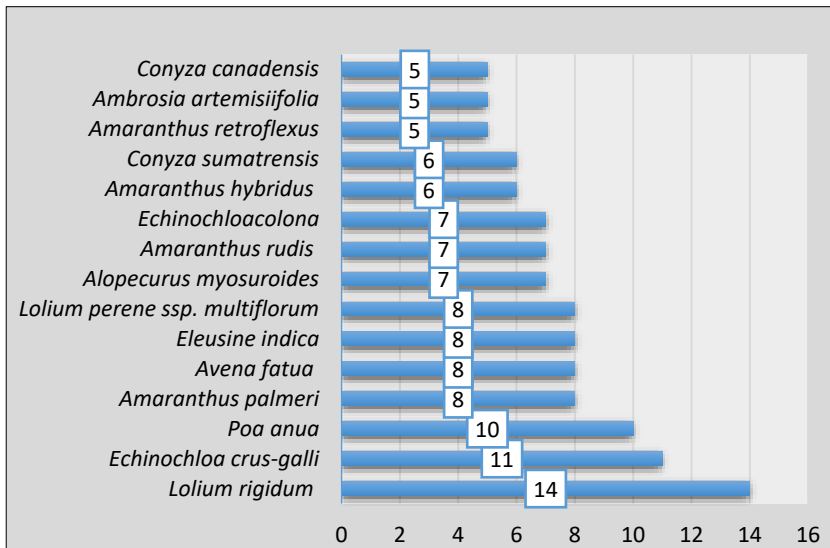
Граф. 5.8. Број резистентних коровских врста биљака у појединим усјевима (Heap 2020)

Graph. 5.8. Number of resistant weed species of plants in particular crops (Heap 2020)

5.7. Мултипла резистентност коровских биљака

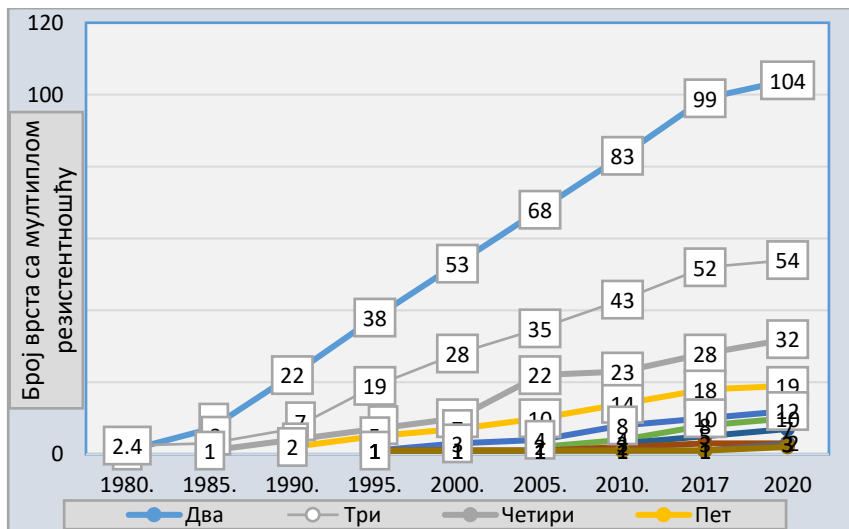
Посебно су проблематични за сузбијање корови који су постигли резистентност на већи број хербицида различитог механизма дјеловања. Данас је у свијету познато преко 15 врста коровских врста биљака које су постале резистентне на 5 до 14 група хербицида који имају различит механизам дјеловања. Резистентност на тако велики број механизма дјеловања хербицида представља својеврстан проблем, јер је за такве биљке тешко наћи хербицид који је ефикасан у њиховом сузбијању. Већина њих припада фамилији Роасаеа, а по степену резистентности на већи број хербицида истичу се *Lolium rigidum* (14 хербицида различитог механизма дјеловања), *Echinochloa crus-galli* (11), *Poa annua* (10), *Lolium perenne ssp. multiflorum*

(8), *Alopecurus myosuroides* (7), *Avena fatua* (8) и *Echinochloa colona* (7). И осталих 7 врста (*Amaranthus tuberculatus*, *Amaranthus palmeri*, *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus retroflexus*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Conyza canadensis* и *Kochia scoparia*) постигле су резистентност на 5–6 група хербицида различитог механизма дјеловања (Граф. 5.9). И мултипла резистентност коровских биљака брзо се развијала. Данас у свијету постоји 86 врста коровских биљака које су резистентне на већи број група хербицида, али различитог механизма дјеловања. Постоји велики број коровских врста које су резистентне на 2, 3, 4 и више група хербицида различитог механизма дјеловања. Постоје врсте које су резистентне на 10, 11 и 14 група хербицида различитог механизма дјеловања. Око 104 коровских врста резистентно је на два хербицида, 54 на три и 32 коровских биљака које су резистентне на три хербицида различитог механизма дјеловања, односно око 190 коровских врста које су резистентне на 1, 2 или три хербицида различитог механизма дјеловања. И мултипла резистентност се у свијету брзо развијала. На Граф. 5.10. приказано је како се мултипла резистентност развијала од 1980. до 2020. године. Она се од двије коровске врсте резистентне на два хербицида, за скоро 35 година повећала на 236 коровских врста. Разумије се да је нешто успорени раст резистентности коровских врста биљака био на већи број механизма дјеловања (Граф. 5.10, 5.11).

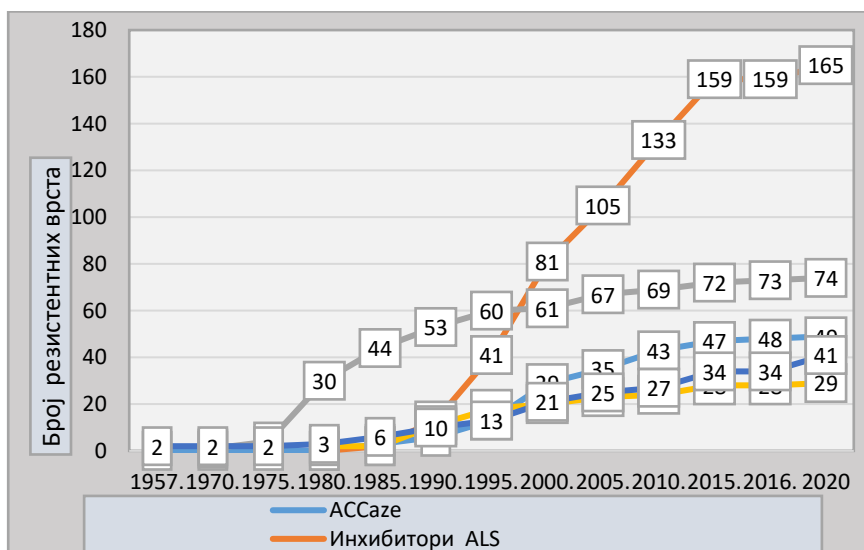


Граф. 5.9. Коровске врсте са мултиплом резистентношћу на већи број мјеста дјеловања (Heap 2020)

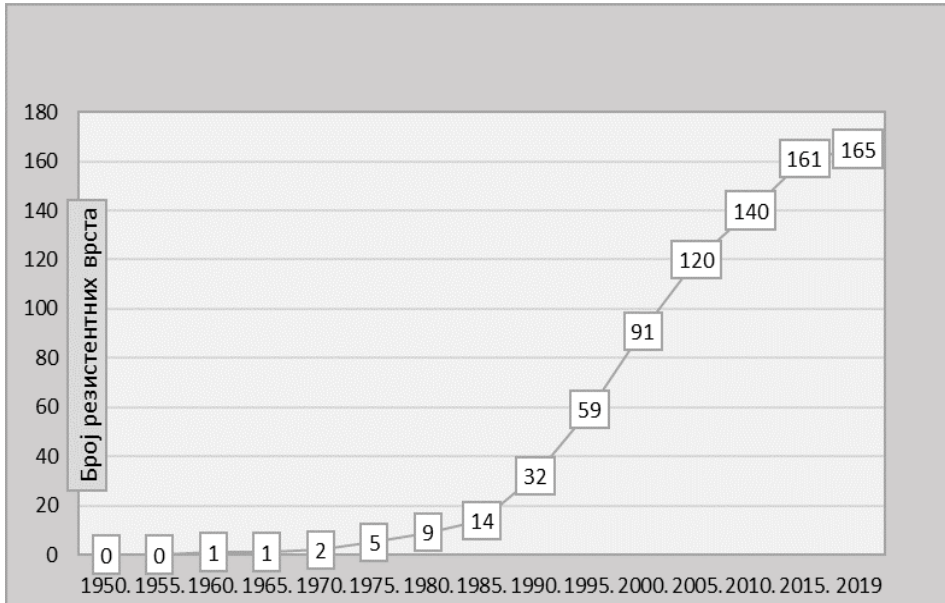
Graph. 5.9. Weed plants with multiple resistance, on larger number of places of action (Heap 2020)



Граф. 5.10. Повећање броја коровских врста са резистентношћу на два или више хербицида различитог механизма дјеловања (Heap 2020)
 Graph. 5.10. Increase of the number of weed species with resistance to two or more herbicides of different mechanism of action (Heap 2020)



Граф. 5.11. Хронологија развоја резистентности коровских биљака на поједине групе хебицида у свијету у периоду 1957–2020. (Heap 2020)
 Graph. 5.11. Chronology of resistance development of weed plants to particular groups of herbicides in the world in period from 1957 to 2020 (Heap 2020)



Граф. 5.12. Хронологија развоја резистентности коровских биљака на хербициде у САД у периоду 1950–2019. (Heap 2020)

Graph. 5.12. Chronology of resistance development of weed plants to herbicides in the USA in period from 1950 to 2019 (Heap 2020)

5.8. Дистрибуција резистентности коровских биљака

Највећи број резистентних биотипова корова регистрован је у земљама са најинтензивнијом пољопривредном производњом. Ово потврђује чињеницу да дужина, учесталост и обим примјене хербицида има пресудан утицај на настанак и развој појаве резистентности корова на дејство хербицида (Таб. 5.13). У Таб. 5.13. приказани су резултати укупног броја резистентних коровских врста биљака у појединим земљама, али и према механизму дјеловања хербицида (од А до О класификације хербицида према механизму дјеловања хербицида HRAC-ова класификација). Далеко највећи број резистентних коровских врста биљака утврђено је у САД, а затим у Аустралији и Канади. Од укупног броја резистентних коровских биљака у ове три земље налази се 328 резистентних коровских врста биљака, или 64%. У десет земаља у свијету (САД, Аустралија, Канада, Француска, Бразил, Кина, Шпанија, Израел, Јапан и Њемачка) присутне су 623 резистентне коровске врсте, од којих се неке понављају, па је зато број већи од укупно констатованих резистентних врста.

Таб. 5.13. Преглед откривених резистентних биотинова корова по државама, а према механизму дјеловања хербицида (Heap 2020)
 Table 5.13. Review of discovered resistant biotypes of weed of countries and according the mechanism of action of herbicides (Heap 2020)

Р.Б. Земља	Укупно	A	B	C ₁	C ₂	D	G	K ₁	O	Други
1. САД	165	15	53	26	11	6	17	6	10	21
2. Аустралија	95	13	26	8	0	11	19	3	4	11
3. Канада	68	4	25	13	3	3	6	1	6	7
4. Француска	55	6	22	22	1	0	2	0	1	1
5. Бразил	50	7	20	4	1	1	9	0	3	5
6. Кина	45	8	17	1	2	5	2	0	5	5
7. Шпанија	39	2	9	18	3	0	5	0	1	1
8. Израел	37	6	13	12	2	0	2	0	0	2
9. Јапан	36	2	21	1	0	7	3	2	0	0
10. Њемачка	33	5	11	13	3	0	0	0	0	1
11. Италија	30	8	11	4	2	0	3	0	1	1
12. У. Краљ.	29	4	8	8	2	2	0	1	1	3
13. Аргентина	27	3	5	0	0	0	15	0	4	0
14. Белгија	22	2	4	8	1	3	0	1	0	3
15. Малезија	22	1	6	0	1	7	2	0	4	1
16. Пољска	22	3	8	8	1	0	1	0	1	0
17. Н. Зеланд	20	1	2	3	0	2	2	0	5	5
18. Чеш. Реп.	18	0	3	13	1	0	1	0	0	0
19. Турска	18	6	10	0	0	0	1	0	1	0
20. Грчка	17	3	5	2	1	0	4	0	1	1
21. Ј. Кореја	17	3	13	0	0	0	1	0	0	0
22. Чиле	16	5	10	0	0	0	1	0	0	0
23. Швајцарска	15	0	0	11	3	0	1	0	0	0
24. Иран	14	7	5	1	0	0	0	0	1	0
25. Ј. Африка	14	3	5	1	0	2	3	0	0	0
26. Колумбија	13	2	3	0	1	1	4	0	1	1
27. Данска	13	4	8	0	0	0	0	1	0	0
28. Венецуела	13	2	7	0	3	0	1	0	0	0
29. Норвешка	11	0	7	3	1	0	0	0	0	0
30. Шведска	11	1	6	1	1	0	0	0	1	1
31. Боливија	8	4	2	0	0	0	1	0	0	1
32. Костарика	8	1	4	0	1	0	2	0	0	0
33. Холандија	8	1	1	5	1	0	0	0	0	0
34. Мексико	7	3	2	0	0	0	2	0	0	0

35. Парагвај	6	0	2	0	0	1	3	0	0	0
36. Аустрија	5	0	2	2	1	0	0	0	0	0
37. Португалија	5	0	1	1	0	0	3	0	0	0
38. Тајланд	5	2	0	0	1	0	0	0	1	1
39. Бугарска	4	0	0	2	1	0	0	1	0	0
40. Индија	4	1	2	0	1	0	0	0	0	0
41. Египат	3	1	1	0	0	1	0	0	0	0
42. Мађарска	3	0	1	0	0	0	1	0	1	0
43. Индонезија	3	0	0	0	0	1	1	0	1	0
44. Филипини	3	0	0	0	1	0	0	0	1	1
45. Србија	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0
46. Сирија	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
47. Кипар	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
48. Финска	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
49. Летонија	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
50. Шри Ланка	2	0	0	0	1	1	0	0	0	0
51. Уругвај	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0
52. Еквадор	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
53. Ел. Салвад.	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
54. Етиопија	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
55. Фуџи	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
56. Гватемала	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
57. Хондурас	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
58. Ирска	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
59. Јордан	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
60. Кенија	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
61. Литванија	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
62. Никарагва	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
63. Пакистан	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
64. Панама	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
65. Русија	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
66. С. Арабија	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
67. Словенија	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
68. Тајван	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
69. Тунис	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
70. Украјина	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0

А – ACC-aze инхибитори, В – Инхибитори ALS, C₁ – Инхибитори фотосистема II, C₂ – Инхибитори фотосистема II (Урее и амиди), D – Дивертери PSI електрона, G – Инхибитори синтезе EPSP синтетазе, K1 – Инхибитори микротубула, O – Синтетички ауксини

Таб. 5.14. Осам најзаступљенијих коровских биљака код којих је најчешће у различитим земљама свијета утврђена појава резистентности
 Table 5.14. Eight most common weed plants with the most common resistance in different countries

Каталошки број	Назив врсте (резистентна на)
9900	<i>Bidens pilosa</i> (parakvat)
9901	<i>Amaranthus retroflexus</i> (triazine)
9902	<i>Chenopidium album</i> (triazine)
9903	<i>Polygonum lapathifolium</i> (triazine)
9904	<i>Senecio vulgaris</i> (triazine)
9905	<i>Solanum nigrum</i> (triazine)
9906	<i>Alopecurus myosuroides</i> (multi rezistentnost)
9907	<i>Alopecurus myosuroides</i> (multi rezistentnost)
9908	<i>Lolium rigidum</i> (SLR 31, sulfoniluree)
9909	<i>Lolium rigidum</i> (WLR1, sulfoniluree)
9010	<i>Lolium rigidum</i> (WLR 96, ACC-aza mutant)

У Европи 36 врста развило је резистентност на триазинске хербициде, међу којима и *Amaranthus retroflexus* (Le Baron and Grassel 1982) (Таб. 5.14). Поред резистентности проузроковане дуготрајном употребом хербицида, постоје подаци и о резистентности добијеној у лабораторији у култури ткива. Тако су добијени резистентни биотипови соје (*Glycine max*), дувана (*Nicotiana tabacum*), шаргарепе (*Daucus carota*), *Nicotiana silvestris*, алги (*Chlamidomonas reinhardii*, *Euglena gracilis*) и др. (McBride et al. 1977; Leval-Marti et al. 1983).

Географска дистрибуција резистентности корова на хербициде веома често се приказује на географским картама. Свјетска асоцијација за резистентност корова на хербициде (*International Survey of Herbicide Resistant Weed*, ISHRW) израдила је, на бази најновијих података (2016) о стању ове појаве у свијету, карте географске дистрибуције резистентности корова на хербициде, а према интензитету развоја ове појаве. Једна од најзначајнијих мјера борбе против резистентности корова на хербициде јесте квалитетан и опсежан мониторинг чији би основни задатак био сакупљање информација о настанку, развоју и ширењу ове појаве на одређеном простору. Мониторинг би требало да обухвати што већи простор, а скупљене информације требале би бити сачуване на једном мјесту. Скупљање база података омогућила би анализу и праћење појаве резистентности, те предузимање одговарајућих мјера у циљу њене контроле и спречавања даљег развоја и ширења. На овом принципу основан је HRAC (*Herbicide Resistance Action Committee*) као свјетска

организација чији је основни задатак да олакша ефикасну контролу појаве резистентности корова на хербициде у свијету. Ова асоцијација основана је на иницијативу познатих свјетских произвођача пестицида (AgroEvo, American, Cyanamid, BASF, Bayer, Dow Elanco, Du Pont, Monsanto, Novartis, Rohm and Haas и др.) и уз подршку GCPF (*Global Crop Protection Federation*). Рад ове асоцијације одвија се кроз активност неколико радних група, организованих на регионалној основи (Европа, НАФТА и остатак свијета).

5.9. Фактори од којих зависи брзина развоја резистентности коровских биљака

Развој резистентности на првом мјесту зависи од спољашњих услова који могу бити такви да нису повољни за наставак развоја резистентне коровске популације. Ниво резистентности може остати у релативно успореном интензитету тако да се хербицидима обезбјеђује континуирана примјена. Она не представља проблем док резистентна популација нема одговарајуће учешће у популацији корова. У неким случајевима то се дешавало кратко после увођења хербицида. Такав случај је био са сулфонилуреама, а у другим случајевима за то је требало више година. Од фактора који утичу на брзину развоја резистентности коровских биљака на хербициде могу се навести сљедећи:

- прилагођеност резистентне популације за преживљавање и даљи развој,
- природа коровске биљке,
- селекциони притисак хербицида и др.

Фреквенција резистентне популације може остати на ниском нивоу ако њихова својства и спољни услови нису погодни за развој резистентне популације. Или, резистентност може остати на релативно значајном нивоу ако се настави са примјеном хербицида. Резистентне јединке корова могу бити мање или више прилагођене за даљи развој у одређеним условима. Постоје такође хербициди који изазивају резистентност, а створене резистентне популације нису мање прилагодљиве на одговарајуће услове за свој развој од нормалних популација. Може се закључити да је прилагођеност за опстанак биотипова резистентних на хербицид важан механизам којим се регулише развој резистентности на хербициде. Неке метаболичке промјене код резистентних биотипова умањују способност прилагођавања тих биотипова у одсуству хербицида, а неке не умањују ту способност. На основу тога неки хербициди спадају у ризичнија једињења за развој резистентности него други. Међутим, смањује се могућност развоја резистентних биотипова корова са смањеном прилагођеношћу за развој у

одсутству хербицида, а у исто вријеме ова појава се повећава у присуству хербицида. Свакако да у природи постоје сложени механизми којима се одржава и развија једна створена резистентна популација коровских биљака. Својим дјеловањем хербициди утичу на стварање резистентних популација коровских биљака. Тај њихов утицај, у ствари, остварује се селекцијом организама, па се и назива селекциони притисак. Брзина стварања резистентних биотинова, или селекциони притисак, зависи од:

- количине хербицида која се примењује,
- учесталости примјене хербицида,
- стабилности хербицида у земљишту и на биљкама,
- површине која се третира,
- начина примјене хербицида,
- интродукције осјетљивих биотинова.

5.10. Ниво резистентности коровских биљака и мјере за њено спречавање или превазилажење

Поред релативног учешћа резистентних биотинова у популацији, од великог значаја је и познавање нивоа резистентности. У условима ниског нивоа резистентности хербициди се и даље могу примјењивати, али то је први сигнал да се мора кренути на програм за превазилажење њеног даљег развоја. За одржавање једном стечене резистентности велики значај има способност прилагођавања мутаната за преживљавање. Слаба прилагођеност није увијек пропорционална нивоу резистентности. Ниво резистентности биће ограничен у случају када постоји инверзна релација између резистентности и прилагођености за развој. Мала прилагођеност резистентног биотинова није гаранција да је проблем резистентности ријешен. У условима континуираног селекционог притиска, резистентност може да се даље развија и еволуира и тако да компензира смањену прилагођеност за развој. Смањена прилагођеност резистентних биотинова утврђена је и код неких типова резистентности на хербициде. Због огромних посљедица које изазива појава резистентности појединих коровских биљака, у многим земљама предузимају се веома различите мјере ради спречавања појаве или превазилажења посљедица резистентности. При предузимању мјера увијек се мора узимати у обзир:

- тип хербицида,
- селекциони притисак.

Најједноставнији поступци за спречавање појаве и превазилажење посљедица резистентности своде се на:

- примјену хербицида са потпуно другим механизмом дјеловања,

- примјену аналога са великим афинитетом за промијењено мјесто дјеловања,
- додавање адитива (нпр. диметилсулфооксида) и површински активних материја ради повећања растворљивости и др.

Проблеми резистентности изузетно су сложени и сваком од њих мора се прићи са највећом пажњом. Колико се појави резистентности додаје пажње у међународним оквирима уочава се из чињенице да је основан Међународни акциони комитет за борбу против резистентности на хербициде (*Herbicide Resistance Action Committee*, HRAC) у оквиру кога постоје радне групе за поједине групе хербицида.

5.11. Резистентност артропода на инсектициде и акарициде

Историја резистентности штетних врста артропода (инсеката и гриња) на пестициде (инсектициде и акарициде) почела је прије више од једног вијека, када је ентомолог А. Л. Меландер забиљежио неочекивано високе проценте преживљавања популација калифорнијске штитасте ваши, *Diaspidiotus perniciosus* (Hemiptera: Diaspididae), третираних калцијум полисулфидом (Melander 1914). Током наредне четири деценије појавило се свега 11 извјештаја о резистентности на разна неорганска једињења. Међутим, са почетком „хемијске ере“ тј. убрзаног развоја индустрије синтетских органских пестицида у деценијама послје Другог свјетског рата, нагло се повећао и број извјештаја о резистентним врстама и популацијама артропода (Forgash 1984).

Феномен резистентности привукао је пажњу академске заједнице, тако да се до краја вијека појавило неколико значајних књига и чланака из области примијењене ентомологије и акарологије (Brown 1971; Georghiou 1972; Georghiou and Saito 1983; Roush and McKenzie 1987; Georghiou and Lagunes-Tejeda 1989; Roush and Tabashnik 1990) у којима је дата синтеза резултата истраживања резистентности артропода на пестициде и предложене стратегије за рјешавање овог проблема. Растући проблем резистентности агрохемијска индустрија настојала је (и још увијек настоји) да ријеша прије свега развојем једињења нових механизма дјеловања (Marčić 2003, 2012; Whalon et al. 2008; Casida 2009). Међутим, појава на тржишту практично сваке нове класе пестицида убрзо је била праћена бројним извјештајима о резистентности, уз све ширу географску дистрибуцију резистентних популација. Послије кулминације током 70-их и 80-их година, тренд је ипак донекле успорен, дјелимично захваљујући развоју нових молекула, али и другим факторима, као што је увођење интегралног приступа управљања

популацијама штетних организама засновано на резултатима научних истраживања. И поред тога, резистентност је данас глобални феномен и проблем који озбиљно угрожава биљну производњу, животну средину и људско здравље (Mota-Sanchez et al. 2002; Whalon et al. 2008).

5.11.1. Дефиниције резистентности

Резистентност артропода на пестициде дефинише се на различите начине, у зависности од тога да ли је нагласак на генетичким основама или посљедицама. Најранију формалну дефиницију дали су експерти Свјетске здравствене организације (*World Health Organization, WHO*), предложивши да се резистентност дефинише као „развој способности соја/расе инсеката да толерише дозе токсиканта које су леталне за већину јединки из нормалне популације исте врсте“ (WHO 1957). Јасно упућивање на генетичку основу резистентности као феномена микроеволуције укључено је у утицајну дефиницију према којој је резистентност „генетичка промјена у одговору на селекцију токсикантом која може да умањи ефекте сузбијања“ (Sawicki 1987). У новије вријеме предложена је и широка дефиниција резистентности, као „генетички заснованог смањења осјетљивости на пестициде“ (Tabashnik et al. 2014). Имајући у виду да је резистентност могуће селекционисати и у лабораторији, предложено је и увођење појма *резистентности развијене у пољу* (у условима практичне примјене), дефинисане као „генетички засновано смањење осјетљивости на пестициде у популацији узроковано излагањем пестицидима у пољу“. Резистентност развијена у пољу која редукује ефикасност пестицида означена је као *практична резистентност* (Tabashnik et al. 2014). С друге стране, експерти које је асоцијација агрохемијских компанија CropLife ангажовала у оквиру организације IRAC (*Insecticide Resistance Action Committee*) повезали су појам резистентности са неуспјешним сузбијањем популација штетних врста инсеката и гриња предложивши да се резистентност дефинише као „наследна промјена осјетљивости популације која се одражава у поновљеном неуспјеху пестицида да постигне очекивани ниво сузбијања у количини препорученој за примјену“ (IRAC 2018).

Резистентност чија је основа смањење осјетљивости на пестициде означава се као *физиолошка резистентност* да би се разликовала од резистентности засноване на *понашању* артропода којим се избјегава контакт са пестицидом. У примјере за овај тип резистентности често се погрешно убрајају репелентни и други слични сублетални ефекти пестицида. Конзистентна дефиниција и овдје мора да изражава природу резистентности

као еволуционог феномена да би се направила јасна разлика између сублеталних ефеката на понашање и резистентности као наслеђне генетички засноване промјене понашања која је резултат селекције (Mota-Sanchez et al. 2002; Zalucki and Furlong 2017). Неке од постојећих дефиниција, као што је она коју су предложили експерти агрохемијске индустрије (IRAC 2018), праве грешку јер не инсистирају на наслеђности понашања којим се избјегава контакт са пестицидом.

5.11.2. Резистентност артропода на пестициде као глобални феномен

Појава једињења DDT (дихлор-дифенил-трихлоретан) на глобалном тржишту 1945. године симболички је означила не само почетак ере синтетских хемијских пестицида у пољопривреди, ветерини и јавном здравству, већ и почетак развоја резистентности артропода (инсеката и гриња) као глобалног феномена. Најзначајнији извор података о динамици развоја резистентности до почетка 90-их представљају публикације које је објавио Џ.П. Џорџију, самостално или као коаутор (Georghiou 1980; Georghiou and Saito 1983; Georghiou and Lagunes-Tejeda 1989). Ове публикације послужиле су као основа за стварање „Базе података о резистентности артропода на пестициде“ (*Arthropod Pesticide Resistance Database, APRD*) на Универзитету Мичиген, уз подршку експертске организације IRAC (Mota-Sanchez et al. 2002; Whalon et al. 2008; Anonymous 2018). И поред неких дилема у вези са прикупљањем података (нпр. оправданост укључивања извјештаја о резистентности селекционисаној искључиво у лабораторији), APRD је најбољи савремени извор података о резистентности артропода на глобалном нивоу. Подаци из APRD базе о стању и структури резистентности у 2018. години, упоредиће се са подацима прикупљеним 2007. године и анализираним у посебној публикацији (Whalon et al. 2008), са нагласком на врсте значајне у заштити биљака.

5.11.3. Динамика, стање и структура резистентности

Током прве три деценије од појаве DDT-а, број резистентних врста инсеката и гриња, којих је 1945. године било свега 12, повећао се за више од 30 пута: 1954 – 25 врста, 1960 – 137 врста, 1967 – 224 врсте, 1975 – 364 врсте (Georghiou and Saito 1983). До 1980. године број резистентних врста повећао се на 428, да би закључно са 1989. годином износио 504, од чега су 60% чиниле врсте

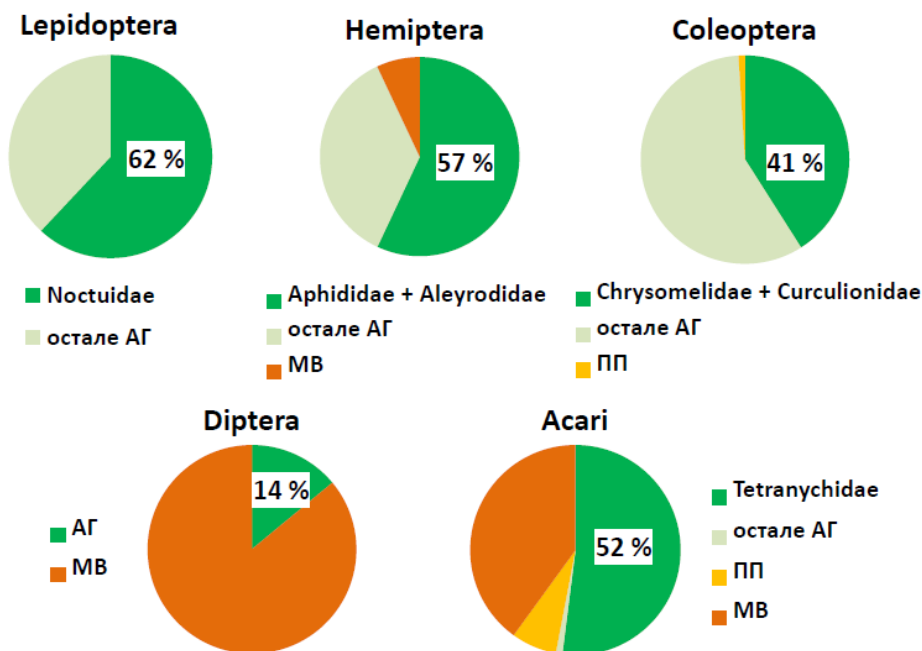
значајне у пољопривреди (Georghiou 1980; Georghiou and Lagunes-Tejeda 1989). Крај миленијума дочекан је са 533 резистентне врсте и 2.574 извјештаја о резистентности, да би се ови бројеви до 2007. године повећали на 553 врсте и 7.742 извјештаја (Mota-Sanchez et al. 2002; Whalon et al. 2008). Са порастом броја регистрованих резистентних врста и извјештаја о појави резистентних популација повећавао се и број података из различитих земаља и географских подручја, што је посљедица глобалне експанзије примјене пестицида, али и резултат међународних и националних програма детекције и мониторинга резистентности.

Актуелно стање и структура резистентности по таксономским категоријама (Таб. 5.15, Граф. 5.13) показује да су у периоду 2007–2018. регистроване 44 нове резистентне врсте артропода и да је број извјештаја више него двоструко већи. Од укупног броја, фитофагне врсте значајне у пољопривреди чине 58% врста и 68% извјештаја. По броју врста и извјештаја међу инсектима издвајају се редови Lepidoptera, Diptera, Hemiptera и Coleoptera. У оквиру реда Lepidoptera, гдје су све резистентне врсте фитофагне, најзаступљеније су совице (Noctuidae) са 62% извјештаја. Фитофагне врсте доминирају у реду Hemiptera, гдје 57% извјештаја припада лисним вашима (Aphididae) и лептирастим (Aleyrodidae) вашима, и у реду Coleoptera, гдје се 41% извјештаја односи на фамилије Chrysomelidae и Curculionidae. С друге стране, 86% извјештаја о резистентности за ред Diptera чине врсте значајне у медицини и ветерини. Поред ова четири реда инсеката, издваја се и поткласа Acari, у којој 52% извјештаја припада фитофагним грињама паучинарима (Tetranychidae), док се 40% извјештаја односи на крпеље. У поткласи Acari заступљене су и резистентне предаторске врсте гриња (Phytoseiidae). Поред њих, треба поменути и резистентне предаторе из реда Coleoptera и паразитоиде из реда Hymenoptera, као позитиван аспект резистентности корисних врста артропода. Извјештаји о резистентности фитофагних врста из поткласе Acari и редова Coleoptera, Hemiptera и Lepidoptera чине 92% свих извјештаја о резистентности ових врста. У поређењу са 2007. годином, број извјештаја о резистентности врста из поменутих таксона повећао се 2,3 пута.

Таб. 5.15. Резистентност артропода (инсеката и гриња) по таксономским категоријама (АГ – фитофагне врсте значајне у заштити биљака, ПП – предаторске и паразитоидне врсте значајне у заштити биљака; МВ – врсте значајне у медицини и ветерини; ОВ – остале врсте) (Anonymous 2018)

Table 5.15. Resistance of the arthropods (insects and mites) by the taxonomic categories (AG – phytophagous species significant for plant protection, PP – predatory and parasitoid species significant for plant protection; MV – species significant for medicine and veterinary medicine; OV – other species) (Anonymous 2018)

Таксон	Број врста					Број извјештаја				
	Укупно	АГ	ПП	МВ	ОВ	Укупно	АГ	ПП	МВ	ОВ
Blattodea	3			3		285			285	
Coleoptera	82	76	6			1.789	1.768	21		
Dermaptera	1		1			2		2		
Diptera	193	36	2	153	2	4.052	556	4	3.489	3
Ephemeroptera	2				2	2				2
Hemiptera	90	85		5		3.144	2.933		211	
Hymenoptera	18	3	13	1	1	48	6	37	2	3
Lepidoptera	92	92				4.437	4.437			
Neuroptera	1		1			1		1		
Orthoptera	2	2				9	9			
Phthiraptera	10	1		9		144	16		128	
Siphonaptera	9			9		100			100	
Thysanoptera	8	8				320	320			
Acari	86	42	17	27		1.779	951	109	719	
Укупно:	597	345	40	205	5	16.112	10.996	174	4.934	8



Граф. 5.13. Структура резистентности у родовима инсеката Lepidoptera, Hemiptera, Coleoptera и Diptera и поткласи Acari (АГ – фитофагне врсте, ПП – предаторске и паразитоидне врсте; МВ – врсте значајне у медицини и ветерини) (Anonymous 2018)

Graph. 5.13. Structure of resistance in genera of insects Lepidoptera, Hemiptera, Coleoptera and Diptera and subclass Acari (AG – phytophagous species, PP – predatory and parasitoid species; MV – species significant for medicine and veterinary medicine) (Anonymous 2018)

На основу броја извјештаја и броја једињења (активних супстанци) за која постоје извјештаји о резистентности, аутори APRD базе података саставили су листу „топ 20“ резистентних врста артропода (Mota-Sanchez et al. 2002; Whalon et. al. 2008). Овдје је приказана листа „топ 20“ ажурирана и ограничена на фитофагне врсте инсеката и гриња значајне у заштити биљака (Таб. 5.16). Највећи број врста (осам) припада реду Lepidoptera, међу којима су три врсте рангиране на прва три мјеста по броју извјештаја: купусни мољцац, *Plutella xylostella*, кукурузна или памукова совица, *Helicoverpa armigera*, и совица *Spodoptera litura*, која није присутна у Србији. На листи се налазе врсте из још три инсекатска реда: Hemiptera (шест врста), Coleoptera (три врсте) и Thysanoptera (једна врста), као и двије врсте из поткласе Acari. Према броју једињења, међутим, редослијед прва три мјеста се мијења.

Врста са највећим бројем једињења за која постоје извјештаји о резистентности је обична гриња-паучинар, *Tetranychus urticae* (97 једињења), за којом слиједи *P. xylostella* (95 једињења), док треће мјесто припада зеленој бресквиној ваши, *Myzus persicae* (80 једињења). Исти редослијед важио је и према подацима из 2007. године, али са 80, 76 и 68 једињења (Whalon et. al. 2008). Врсте из листе „топ 20“ у даљем тексту користиће се као примјери.

Таб. 5.16. Листа „топ 20“ резистентних врста артропода (инсеката и гриња) значајних у заштити биљака (RI – редослијед према броју извјештаја; RJ – редослијед према броју једињења) (Anonymous 2018)

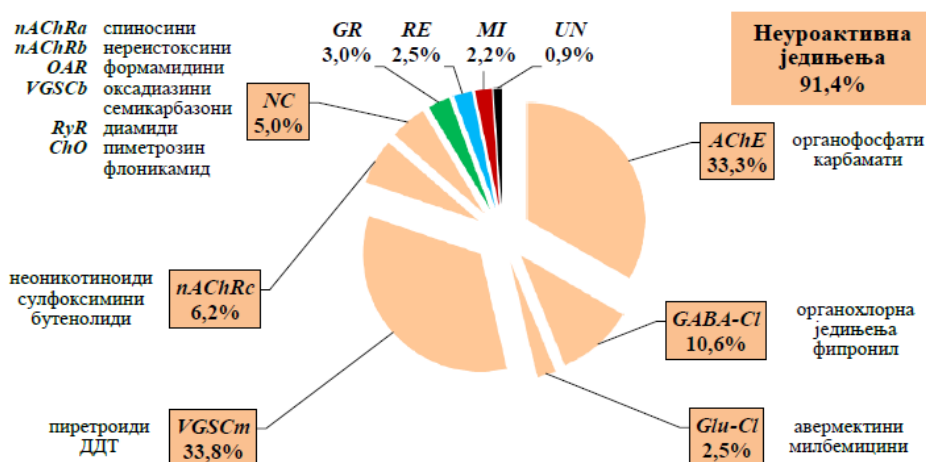
Table 5.16. List 'top 20' of resistant species of arthropods (insects and mites) significant for plant protection (RI – order by number of reports; RJ – order by number of compounds) (Anonymous 2018)

Таксономска класификација	I*	II**	RJ
1. <i>Plutella xylostella</i> (Lepidoptera: Plutellidae)	862	95	2
2. <i>Helicoverpa armigera</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	856	48	7
3. <i>Spodoptera litura</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	644	39	9
4. <i>Bemisia tabaci</i> (Hemiptera: Aleyrodidae)	615	60	4
5. <i>Tetranychus urticae</i> (Acari: Tetranychidae)	533	97	1
6. <i>Spodoptera exigua</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	525	39	10
7. <i>Melighetes aeneus</i> (Coleoptera: Nitidulidae)	518	27	16
8. <i>Myzus persicae</i> (Hemiptera: Aphididae)	469	80	3
9. <i>Nilaparvata lugens</i> (Hemiptera: Delphacidae)	410	31	13
10. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> (Coleoptera: Chrysomelidae)	300	56	5
11. <i>Aphis gossypii</i> (Hemiptera: Aphididae)	280	50	6
12. <i>Panonychus ulmi</i> (Acari: Tetranychidae)	193	47	8
13. <i>Cydia pomonella</i> (Lepidoptera: Tortricidae)	193	22	18
14. <i>Phenacoccus solenopsis</i> (Hemiptera: Pseudococcidae)	192	23	17
15. <i>Frankliniella occidentalis</i> (Thysanoptera: Thripidae)	175	30	15
16. <i>Sogatella furcifera</i> (Hemiptera: Delphacidae)	170	12	20
17. <i>Chilo suppressalis</i> (Lepidoptera: Pyralidae)	148	31	14
18. <i>Tribolium castaneum</i> (Coleoptera: Tenebrionidae)	134	33	12
19. <i>Earias vittella</i> (Lepidoptera: Nolidae)	128	15	19
20. <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	125	34	11

I* – Број једињења, II** – Број извјештаја

Структура резистентности инсеката и гриња приказана по механизмима дјеловања (Граф. 5.14) показује доминацију неуроактивних једињења (91,4% од укупног броја извјештаја), створену у вријеме глобалне експанзије тзв. конвенционалних синтетских пестицида широког спектра дјеловања: органохлорних једињења (DDT-а, линдана, циклодиена), органофосфата и

карбамата, средином прошлог вијека, а затим и пиретроида. Велики дио података за ове пестициде је старијег датума: 94% извјештаја за DDT, 81% извјештаја за циклодиене и 55% извјештаја за карбамате и органофосфате потиче из периода прије 2000. године (Mota-Sanchez et al. 2002; Whalon et al. 2008; Anonymous 2018).



Граф. 5.14. Удио инсектицида и акарицида истог механизма дјеловања (%) у укупном броју извјештаја о резистентности артропода; AChE – инхибитори ацетилхолинестеразе; GABA-Cl – блокатори јонских канала хлора које регулише γ -аминобутерна киселина; Glu-Cl – алостерични модулатори јонских канала хлора које регулише глутамат; VGSCm – модулатори јонских канала натријума; nAChRc – компетитивни модулатори никотинских рецептора ацетилхолина; NC – остала неуроактивна једињења; nAChRa – алостерични модулатори никотинских рецептора ацетилхолина, nAChRb – блокатори канала никотинских рецептора ацетилхолина, OAR – агонисти рецептора октопамина; VGSCb – блокатори јонских канала натријума, RyR – модулатори рианодинских рецептора; ChO – модулатори хордотоналних органа; GR – пестициди који делују на раст и развиће; RE – пестициди који делују на респирацију; MI – микробиолошки дисруптори мембране црева; UN – пестициди неспецифичног или непознатог механизма дјеловања (IRAC 2018; Anonymous 2018)

Graph. 5.14. Proportion of insecticides and acaricides of the same mechanism of action (%) in the total number of arthropod resistance reports AchE-Acetylcholinesterase (AChE) inhibitors; GABA-Cl- GABA-gated

chloride channel blockers; Glu-Cl- Glutamate-gated chloride channel (GluCl) allosteric modulators; VGSCm- Sodium channel modulators; nAChRc- Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) competitive modulators; NC- Other neuroactive compounds; nAChRa- Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) allosteric modulators; nAChRb- Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) channel blockers; OAR- Octopamine receptor agonists; VGSCb- Sodium channel blockers; RyR- Ryanodine receptor modulators; ChO- Chordotonal organ Modulators- undefined target site; GR- Growth and Development Disruptors; RE- Insecticides interfere with cellular respiration; MI- Microbial disruptors of insect midgut membranes; UN- Compounds of unknown or uncertain MoA (IRAC 2018; Anonymous 2018)

У поређењу са 2007. годином (Whalon et al. 2008; Anonymous 2018) удио органофосфата и карбамата у укупном броју извјештаја о резистентности опао је са 41,4% на 33,3%. Примјена једињења из ове двије групе знатно је редукована, али се укупан број извјештаја ипак повећао за 58%. Удио циклодиена (који су скоро потпуно искључени из примјене) опао је са 18,6% на 10,6%. Удио пиретроида – чији се број извјештаја повећао скоро четири пута, добрим дијелом због интензивне примјене у комуналној хигијени и јавном здравству – задржао се на нивоу од око 28% (због истог механизма дјеловања пиретроиди и DDT приказани су заједно на Граф. 5.14). С друге стране, биљежи се изразито повећање броја и процентуалног удјела извјештаја за неколико група неуроактивних једињења новије генерације, прије свега неоникотиноида (број извјештаја већи 18 пута, пораст удјела са 0,7% на 6,2%), као и авермектина и милбемицина (број извјештаја већи 20 пута, пораст удјела са 0,3% на 2,5%) и спиносина (број извјештаја већи 12 пута, пораст удјела са 0,3% на 1,6%) (Граф. 5.14). Ова експанзија је још значајнија ако се има у виду да је ријеч о групама са малим бројем једињења и ужим спектром дјеловања у поређењу са конвенционалним пестицидима старије генерације.

Повећање броја и процентуалног удјела извјештаја биљежи се и за групу пестицида који дјелују на раст и развиће артропода (4,9 пута више извјештаја и повећање удјела са 1,3% на 3%). Ово повећање великим дијелом посљедица је развоја резистентности на инхибиторе биосинтезе хитина (бензоилурее, бупрофезин) и агонисте рецептора екдизона (диацилхидразини). Такође, група пестицида који дјелују на респирацију имала је 3,3 пута више извјештаја, а њен удио је повећан са 1,6% на 2,5%, највише захваљујући инхибиторима митохондријалног транспорта електрона (Whalon et al. 2008; Anonymous

2018) (Граф. 5.14). Ове двије групе пестицида углавном обухватају једињења новије и средње генерације чији спектар дјеловања није широк.

Сви до сада поменути пестициди су синтетског поријекла, осим авермектина, милбемицина и спиносина, биопестицида микробиолошког поријекла развијених по угледу на „хемијски“ модел. Поред резистентности на ове биопестициде, треба указати и на појаву популација инсеката резистентних на групу микробиолошких дисруптора мембране средњег цријева којој припадају бактерије *Bacillus thuringiensis* и *B. sphaericus*, укључујући и трансгене биљке са експресираним *B. thuringiensis* (*Bt*) токсинима. Због комплексности дјеловања и других специфичности, резистентност на *Bt* токсине овдје неће бити даље разматрана. Резистентност заснована на промјени понашања као посебан тип резистентности такође овдје неће бити разматрана, имајући у виду мали број случајева у којима је овај тип резистентности експериментално потврђен (Zalucki and Furlong 2017).

5.11.4. Посљедице резистентности

Резистентност артропода на пестициде (инсектициде и акарициде) има економске, еколошке и здравствене посљедице. Мањи принос и лошији квалитет производа прве су посљедице неуспјеха у сузбијању популација штетних инсеката и гриња у биљној производњи. Поновљени третмани и повећање количине већ коришћених пестицида, што је честа реакција на недовољно ефикасно сузбијање, повећавају трошкове производње, заједно са каснијим издацима за набавку нових пестицида, као краткорочног рјешења за сузбијање пренамножених популација примарних и секундарних штеточина (Forgash 1984; Mota-Sanchez et al. 2002; Gould et al. 2018). Према неким процјенама, најмање 10% новца који се у САД потроши за сузбијање штеточина пестицидима односи се на додатна третирања неопходна за сузбијање резистентних популација неколико економски најзначајнијих врста (Pimentel 2005).

Иако индустрија пестицида у новије вријеме настоји да развија „биорационална“ и „еколошки прихватљива“ једињења, примјену пестицида (инсектицида и акарицида) и даље прати велики ризик негативних ефеката на живи свет. Пестициди могу да узрокују леталне и сублеталне ефекте на нециљане организме у агроекосистемима и животној средини, прије свега на артропode (предаторе, паразитоиде, полинаторе), али и друге животињске врсте. Ови ефекти испољавају се не само на јединкама, већ и на нивоу популација и екосистема. Поред могуће директне интоксикације, ризик за људско здравље постоји и усљед контаминације животне средине и хране

(Devine 2007; Carvalho 2017). Поновљени и додатни третмани, као чест одговор на еволуцију резистентности и појаву резистентних популација, повећавају ризик за појаву ових негативних ефеката.

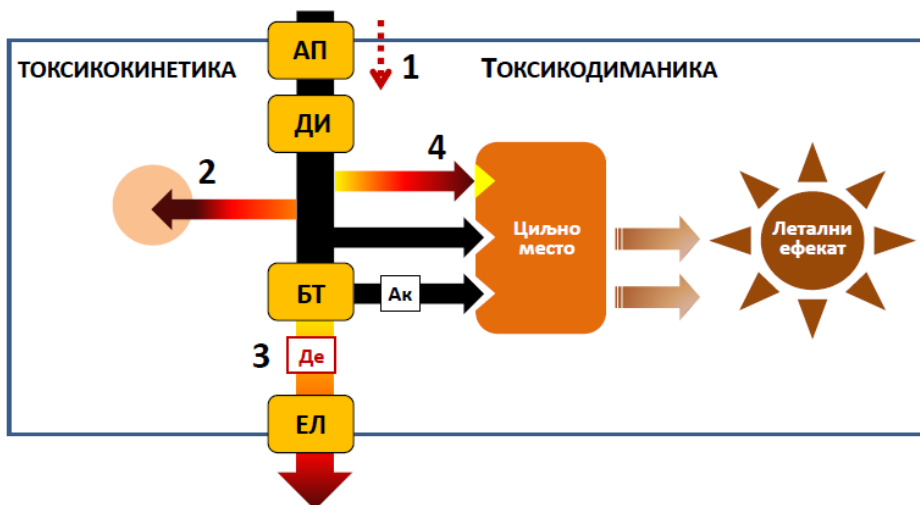
5.11.5. Механизми резистентности артропода на инсектициде и акарициде

За остварење токсичног дјеловања пестицида неопходна је апсорпција активне супстанце (кроз интегумент, исхраном, респирацијом), а затим и акумулација ефективне количине активне супстанце на циљном мјесту дјеловања у организму. **Токсикокинетика пестицида** обухвата процесе *апсорпције* активне супстанце, *дистрибуције* апсорбоване супстанце у организму (која укључује и секвестрацију), *биотрансформације* (активације или детоксификације) и *елиминације* супстанце из организма. Интеракција активне супстанце са циљним мјестом дјеловања (ензимом, рецептором, јонским каналом и др.) и биохемијско-физиолошке посљедице ове интеракције сврставају се у **токсикодинамику пестицида** (Граф. 5.15). Из те перспективе могуће је разликовати и токсикокинетичке и токсикодинамичке механизме физиолошке резистентности артропода на пестициде (Kennedy and Tierney 2012; Feyereisen et al. 2015). Појам механизам обухвата биохемијске и физиолошке промјене у оквиру поменутих токсикокинетичких/ динамичких процеса које смањују или спречавају токсично дјеловање пестицида. Механизми резистентности могу да се јаве у популацијама појединачно или у комбинацијама два или више механизма.

5.11.6. Токсикокинетички и токсикодинамички механизми резистентности

Токсикокинетички механизми резистентности артропода редукују количину активне супстанце која доспијева на циљно мјесто дјеловања у организму редуkcијом или успоравањем апсорпције, секвестрацијом (везивањем апсорбоване супстанце за разне макромолекуле без токсиколошких посљедица), појачаном биотрансформацијом и елиминацијом супстанце из организма (Kennedy and Tierney 2012; Pittendrigh et al. 2014). Редукована или успорена апсорпција пестицида кроз интегумент резултат је промијењеног састава кутикуле или повећања њене дебљине усљед додатне депозиције структурних компоненти, као што су епикутикуларни восак и структурни протеини (Balabanidou et al. 2018). Редукована апсорпција пестицида сматра

се мање важним механизмом, али се његов значај повећава у комбинацији са другим механизмима, што показује примјер резистентности *M. persicae* на неоникотиноиде (Bass et al. 2014).



Граф. 5.15. Токсикокинетички и токсикодинамички процеси дјеловања пестицида и механизми резистентности на пестициде (АП – апсорпција; ДИ – дистрибуција; БТ – биотрансформација, Ак = активација, Де – детоксификација; ЕЛ – елиминација; 1 – редукована апсорпција; 2 – секвестрација; 3 – појачана детоксификација; 4 – умањена осјетљивост циљног мјеста дјеловања)

Graph. 5.15. Toxicokinetic and toxicodynamic processes of pesticides actions and mechanisms of resistance to pesticides (AB – absorption; DI – distribution; BT – biotransformation, Ак = activation, De – detoxification; EL – elimination; 1 – reduced absorption; 2 – sequestration; 3 – amplified detoxification; 4 – reduced sensitivity of the target site of action)

Један од два најзначајнија механизма резистентности артропода на пестициде је **метаболичка резистентност**, заснована на биотрансформацији апсорбоване супстанце појачаном активношћу квантитативно или квалитативно измијењених ензима којом настају метаболити мање токсични и подложнији елиминацији из организма. Од првих биохемијских студија из 50-их и 60-их година, које су потврдиле њихову улогу у резистентности (Georghiou 1972; Georghiou and Saito 1983), са метаболичком детоксификацијом пестицида повезују се три ензимске фамилије, еволутивно развијене за адаптацију артропода на природне токсине

(секундарне метаболите биљака). Цитохром Р450 монооксигеназе и карбоксилестеразе, ензими прве фазе, катализују реакције стварања хидрофилнијих метаболита који ступају у реакције конјугације са ендогеним трипептидом глутатионом под утицајем *глутатион S-трансфераза (GST)*, ензима друге фазе, чиме се повећава њихова хидрофилност (GST могу да директно метаболишу и нетрансформисана једињења). У трећој фази, производи настали у прве двије фазе биотрансформације транспортују се из ћелије и елиминишу из организма (Hollingworth and Dong 2008; Kennedy and Tierney 2012; Pittendrigh et al. 2014).

Монооксигеназе катализују читав низ реакција (хидроксилацију, деалкилацију, сулфоксидацију, десулфурацију и др.) тако да је оксидативни метаболизам значајан за резистентност артропода на многе хемијске класе пестицида. Карбоксилестеразе катализују хидролизу естара карбоксилне киселине, реакцију значајну највише за метаболичку резистентност на пиретроиде, али и оргонофосфате, карбамате и још нека једињења. Значај ове две ензимске фамилије за развој резистентности зависи од биолошких разлика између врста, али и од историјата примјене и хемијског диверзитета пестицида. Тако је, нпр. повећана активност карбоксилестераза, обезбиједила широк спектар резистентности *M. persicae* на оргонофосфате и карбамате, док се код *T. urticae* хидролитички метаболизам показао као значајан за пиретроиде. Као одговор на увођење пестицида нових механизма дјеловања, појачани оксидативни метаболизам омогућио је еволуцију резистентности на неоникотиноиде, код прве врсте, односно на абамектин и МЕТI-акарициде, код друге врсте (Van Leeuwen et al. 2010; Bass et al. 2014).

Конјугација под утицајем глутатион S-трансфераза до сада је повезана са резистентношћу на инсектициде и акарициде из различитих хемијских класа (Hollingworth and Dong 2008; Pittendrigh et al. 2014) код већег броја врста артропода, укључујући и фитофагне врсте резистентне на велики број једињења, као што су *T. urticae*, *P. xylostella*, *H. armigera*, *Bemisia tabaci*, *Leptinotarsa decemlineata* (Pavlidis et al. 2018). Када је ријеч о ензимима реакција конјугације, резултати новијих студија резистентности указују и на значај UDP (*уридин дифосфат*) – *гликозилтрансфераза (UGT)*, ензима који катализује конјугацију малих липофилних молекула са шећерима (Silva et al. 2012; Kaplanoglu et al. 2017; Li et al. 2018).

Такође, повећава се број доказа (Kennedy and Tierney 2012; Dermauw and van Leeuwen 2014; Gott et al. 2017) да су са резистентношћу артропода на пестициде повезани и ABC (*binding cassette*, АТФ) – *транспортери*, примарни транспортни протеини који користе аденозин трифосфат (АТФ) за пренос

супстрата преко ћелијских мембрана у трећој фази биодетоксификације. ABC-транспортери могу да функционишу и као „прва линија одбране“ организма од ксенобиотика (Kennedy and Tierney 2012).

Активна супстанца може након апсорпције да буде секвестрирана везивањем за ензиме или протеине и потом депонована у различитим органелама, чиме се избегава доспијевање пестицида на циљно мјесто дјеловања. За резистентност на органофосфате и карбамате засновану на секвестрацији често су одговорне карбоксиестеразе (као нпр. код *M. persicae*), а потврђена је и улога GST у секвестрацији пиретроида (Pittendrigh et al. 2014; Pavlidi et al. 2018).

Други од два најзначајнија механизма резистентности, **резистентност циљног мјеста**, подразумева токсикодинамички механизам умањења афинитета за везивање молекула пестицида промјеном структуре или нивоа експресије циљног мјеста дјеловања, чиме се умањује осјетљивост на пестициде. Резистентност циљног мјеста утврђена је код многих врста артропода као одговор на селекциони притисак пестицидима различитих механизма дјеловања, код појединих хемијских класа значајнији од метаболичке резистентности (Hollingworth and Dong 2008; Pittendrigh et al. 2014). Парадигма да резистентност може да настане као посљедица умањене осјетљивости циљног мјеста дјеловања демонстрирана је 1964. године (Smislaert 1964), када је резистентност *T. urticae* на органофосфате повезана са умањеном осјетљивошћу ацетилхолинестеразе (AChE). У наредним деценијама показало се да је умањена осјетљивост AChE доминантан механизам резистентности *T. urticae* на органофосфорна једињења. Код ове врсте утврђена је умањена осјетљивост и других циљева у организму (Таб. 5.17): јонских канала натријума (VGSC), јонских канала хлора које регулише глутамат (Glu-Cl), митохондријалног цитохрома б (cyt b) и хитин синтазе (CHS), која је повезана са резистентношћу на пиретроиде, абамектин, бифеназат и етоксазол (Marčić 2003; Van Leeuwen et al. 2010). Резистентност циљева AChE, VGSC и GABA-Cl, на које дјелују пестициди старије генерације (органосфосфати, пиретроиди и циклодиени), утврђена је и код других фитофагних врста резистентних на велики број једињења: *P. xylostella*, *M. persicae*, *B. tabaci*, *L. decemlineata*. Токсикодинамички механизам утврђен је и за циљеве дјеловања новијих инсектицида, као што је резистентност *M. persicae* на неоникотиноиде и *P. xylostella* на хлорантранилипрол и спиносад (Alyokhin et al. 2008; Bass et al. 2014; Wang et al. 2017).

Таб. 5.17. Примјери повезивања умањене осјетљивости циљног мјеста дјеловања са резистентношћу на инсектициде и акарициде код првих пет врста према броју једињења са документованом резистентношћу

Table 5.17. Examples of linking reduced sensitivity of the target site of action with the resistance to insecticides and acaricides at first five species according to the number of unification with documented resistance

Циљно мјесто	<i>T. urticae</i>	<i>P. xylostella</i>	<i>M. persicae</i>	<i>B. tabaci</i>	<i>L. decemlineata</i>
AChE	■	■	■	■	■
VGSC	■	■	■		■
GABA-Cl		■ ^{ab}	■ ^a	■ ^a	
Glu-Cl	■				
nAChR*		■ ^d	■ ^c		
RyR*		■			
cyt b**	■				
CHS	■				

* циљно мјесто дјеловања само за инсектициде ** циљно мјесто дјеловања само за акарициде

AChE – ацетилхолинестераза (органофосфати, карбамати);

VGSC – јонски канали натријума (пиретроиди)

GABA-Cl – јонски канали хлора које регулише γ -аминобутерна киселина (циклодиени^a, фипронили^b)

Glu-Cl – јонски канали хлора које регулише глутамат (абамектин)

nAChR – никотински рецептори ацетилхолина (неоникотиноиди^c, спиносади^d)

RyR – рианодински рецептори (хлорантранилипрол)

cyt b – митохондријални цитохром Б (бифеназат)

CHS – хитин синтаза (етоксазол)

5.11.7. Молекуларни механизми резистентности

Подјела на токсикокинетичке и токсикодинамичке механизме резистентности артропода заправо је фенотипски израз генетичких промјена на којима се заснивају ови механизми. Из перспективе резистентности као микроеволуционог процеса много кориснија је генотипска класификација на основу мутација које се могу повезати са резистентношћу. У најширем смислу ове мутације спадају у три категорије: 1) мутације које мијењају секвенцу гена, 2) мутације које узрокују повећање експресије гена и 3) мутације које узрокују смањење експресије гена (Feyereisen et al. 2015).

Мутације које мијењају секвенцу гена су промјене нуклеотида (тачкасте мутације, инсерције, делеције) чија је последица промјена структуре кодираног протеина. Овакве мутације су основа токсикодинамичког механизма умањења осјетљивости циљног мјеста дјеловања пестицида и детаљно су карактеризоване код циљева као што су AChE, VGSC и GABA-Cl (Bass et al. 2014; Ilias et al. 2014; Feyereisen et al. 2015). Тачкасте мутације знатно се рјеђе повезују са токсикокинетичким механизмима резистентности.

Позитивна регулација експресије гена укључених у детоксификацију пестицида је честа појава, мада молекуларни механизми у многим случајевима нису до краја разјашњени (Li et al. 2007; Hollingworth and Dong 2008; Feyereisen et al. 2015). Позитивна експресија настаје као последица дупликације или амплификације тј. повећања броја копија гена. Добро познат примјер амплификације гена је резистентност *M. persicae* на органофосфате и карбамате услед повећане продукције карбоксилестераза (Bass et al. 2014). Амплификација се повезује и са експресијом гена који кодирају GST и монооксигеназе (Li et al. 2007; Bass and Field 2011; Feyereisen et al. 2015). Позитивна експресија гена без промјене броја копија обухвата цис- и транс-регулацију и за сада је повезана само са токсикокинетичким механизмима (Feyereisen et al. 2015). С друге стране, дупликација и амплификација повезане су и са токсикодинамичком резистентношћу, као што показују примјери резистентности на органофосфате засноване на дупликацији гена који кодира AChE код *P. xylostella* и амплификацији истог гена код *T. urticae* (Li et al. 2007; Feyereisen et al. 2015). Негативна регулација експресије нарушавањем функције гена, односно кодирања протеина, забиљежена је код *P. xylostella*, гдје је нарушавање структуре једне од појединца никотинског рецептора ацетилхолина (nAChR) повезано са резистентношћу на спиносад (Feyereisen et al. 2015).

5.11.8. Фактори еволуције резистентности

Резистентност артропода на пестициде је еволуциони феномен који је резултат комплексне интеракције бројних фактора, повезаних или са врстом чије су популације изложене селекционом притиску или са пестицидом као селекционим агенсом. Широко прихваћена класификација (Georghiou and Taylor 1977a, 1977b, 1986) сврстала је познате и претпостављене факторе еволуције резистентности у **генетичке факторе** и **биолошке факторе** (повезане са врстом), те у **оперативне факторе** (повезане са пестицидом). Утицај ових фактора и њихове интеракције на еволуцију и ширење резистентности оцјењиван је на основу истраживачких резултата

карактеризације различитих аспеката резистентности, као и закључака произашлих из теоријских модела (Roush and McKenzie 1987; Roush and Daly 1990; Onstad and Gassmann 2014).

У најзначајније **генетичке факторе** убрајају се фреквенција, број и доминантност алела резистентности, као и њихова интеграција са другим локусима која умањује евентуалне негативне ефекте резистентности (Georghiou and Taylor 1977a, 1986; Roush and McKenzi 1987; Onstad and Gassmann 2014). Алели који обезбјеђују генетичке механизме резистентности чине основу за еволуцију резистентности која се одвија повећавањем њихове фреквенције под селекционим притиском пестицидима. Број алела на којима се заснива резистентност и степен њихове доминантности зависе од интензитета селекције. Јак селекциони притисак омогућује селекцију ријетких појединачних алела који обезбјеђују високе нивое резистентности. Овако селекционисана (моногена) резистентност шири се знатно брже од полигене резистентности, која је резултат акумулације већег броја алела са мањим ефектима у условима слабијег селекционог притиска. Степен доминантности зависи од тога да ли су дозе пестицида које апсорбују хетерозиготи за њих леталне или не. Високе дозе које остављају у животу само резистентне хомозиготе, а елиминишу хетерозиготе и осјетљиве хомозиготе, чине резистентност ефективно рецесивном и успоравају еволуцију. Ниже дозе које могу да преживе и хетерозиготи чине резистентност ефективно доминантном и тако убрзавају еволуцију резистентности на почетку селекције када у популацији доминирају хетерозиготи (Roush and McKenzie 1987; Onstad and Gassmann 2014). На фреквенцију алела резистентности утичу и други фактори, као што је дисперзија тј. имиграција осјетљивих и емиграција резистентних јединки (Roush and McKenzie 1987; Miller and Sappington 2017).

Мутације на којима се заснива резистентност артропода на пестициде обезбјеђују јединкама које их носе предност под селекционим притиском (тј. преживљавање). Ову предност, међутим, може да прати умањена адаптивна вриједност (*fitness*) резистентних јединки у односу на осјетљиве, када селекциони притисак престане (Georghiou and Taylor 1977a; Roush and McKenzie 1987). Умањење адаптивне вриједности или адаптивни трошак резистентности (*fitness cost*) посљедица је физиолошких ефеката, тј. прерасподјеле енергије у корист токсикокинетичких процеса (прије свега метаболичке детоксификације) или плејотропних ефеката мутација у генима који кодирају молекуларне циљеве дјеловања пестицида (што је најчешћа основа токсикодинамичке резистентности) усљед којих настају структурна и функционална ограничења (Kliot and Ghanim 2012).

Биолошки фактори обухватају биолошке и еколошке особине врсте, међу којима су најзначајније бројност потомства у генерацији, број генерација, начин исхране, мобилност (Georghiou and Taylor 1977a, 1986). Велике популације, бројније потомство у генерацији и већи број генерација годишње, као и партеногенеза (хаплодиплоидија) убрзавају еволуцију резистентности. Еколошке особине, односно обрасци понашања повезаног са исхраном, размножавањем и дисперзијом, првенствено су значајни за просторну динамику и дистрибуцију резистентности (Roush and McKenzie 1987; Croft and Van de Baan 1988; Onstad and Gassmann 2014).

Величина популације значајна је за еволуцију резистентности јер се са повећањем бројности популације повећава и вјероватноћа за селекцију ријетких алела резистентности, док се утицај генетичког дрифта (случајних промјена фреквенције алела) и других негативних ефеката смањује. Већи број генерација годишње убрзава еволуцију резистентности, при чему треба узети у обзир и друге факторе, прије свега селекциони притисак, односно процијенити колико је генерација и у ком интензитету изложено селекцији (Rosenheim and Tabashnik 1990, 1991; Onstad and Gassmann 2014).

Артропode су способне за активну или пасивну дисперзију и ова њихова способност важна је за брзину еволуције и ширења резистентности на пестициде. Дисперзија утиче на динамику резистентности, омогућавајући ток гена између популација и мијењајући фреквенцију алела резистентности у популацијама. Имиграција осјетљивих јединки у третиране популације успорава еволуцију и ширење резистентности у тим популацијама. Осјетљиве јединке долазе са нетретираних биљака из истих или сусједних усјева и засада и из околне спонтане вегетације, али и са већих растојања. Емиграција резистентних јединки у друге популације које нису биле изложене селекцији и/или колонизација неинфестираних биљака резистентним јединкама доприноси ширењу резистентности. Емиграција јединки које носе гене резистентности не мора да буде само локална, већ омогућује и ширу просторну (метапопулациону, предеону и географску) експанзију резистентности (Onstad and Gassmann 2014; Miller and Sappington 2017).

Асоцијација између фитофагних артропода и биљака, односно ширина спектра биљака домаћина, повезује се са еволуцијом резистентности на пестициде преко хипотезе о преадаптацији. Према овој хипотези, фитофагни инсекти и гриње развили су током еволуције различите метаболичке механизме адаптације на секундарне биљне метаболите као природне токсине и ови механизми чине основу за еволуцију резистентности на пестициде (Gordon 1961). У прилог хипотези преадаптације иду експериментални подаци који показују да изложеност фитофагних инсеката

и гриња биљним токсинима умањује њихову осјетљивост на пестициде, јер индукује ензиме детоксификације (Gould et al. 1982; Li et al. 2000; Castle et al. 2009), као и молекуларни докази да исти ензими (али и други механизми) имају значајну улогу у адаптацији на биљне токсине и еволуцији резистентности на пестициде (Despres et al. 2007; Li et al. 2007; Dermauw et al. 2013; Dermauw and Van Leeuwen 2014; Heidel-Fischer and Vogel 2015).

Из хипотезе о преадаптацији произашао је и закључак да полифагне фитофагне врсте – које су изложеније биљним токсинима од олигофагних и монофагних врста – имају генетичку предиспозицију за брзу еволуцију резистентности на пестициде. Овај закључак поткрепљују резултати статистичких анализа односа између алелохемијског диверзитета биљака домаћина и резистентности (Rosenheim et al. 1996; Hardy et al. 2018), односно бројности гена детоксификационих ензима добијених обрадом података за велики број врста. С друге стране, анализа спектра биљака домаћина „топ 20“ резистентних врста артропода из APRD базе података не иде у прилог хипотези о предиспозицији полифагних врста за брзу еволуцију резистентности (Dermauw et al. 2018). На листи „топ 20“ врста инсеката и гриња значајних у заштити биљака (Таб. 5.16), поред 14 полифагних, налази се и шест врста чије су биљке домаћини искључиво или претежно из само једне фамилије (*Plutella xylostella*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Phorodon humuli*, *Nilaparvata lugens*, *Chilo suppressalis*, *Melighetes aeneus*). Ако се у обзир узму и врсте значајне у ветерини и јавном здравству, онда неке фитофагне врсте испадају са листе, тако да у „топ 20“ остаје десет полифагних врста.

Резистентност је посебан случај адаптације на ксенобиотику који се ипак разликује од адаптације на биљне токсине. Када је у питању резистентност, селекциони агенс је познат и хемијски дефинисан, а селекциони притисак снажан и усмјерен на један специфичан молекуларни циљ, али и краткотрајан и ограничен на третиране популације. Код адаптације на биљне токсине, селекциони агенс је комплексна мјешавина једињења чији су молекуларни циљеви разноврснији, а селекциони притисак је дуготрајан и усмјерен на врсту, а не на појединачне популације. Иако су ензими детоксификације и други механизми у основи исти и код адаптације и код резистентности, њихове генетичке архитектуре (број и идентитет гена укључених у одговор на селекцију) могу да се знатно разликују (Dermauw et al. 2018; Wybow et al. 2019). Полифагност није неопходна ни сама по себи довољна за убрзавање еволуције резистентности на пестициде, већ треба узети у обзир и друге факторе. Могуће је да „топ 20“ листа прије свега одражава економски значај штетних врста, тј. већи интензитет селекције пестицидима којој су изложене не само полифагне већ и глобално економски

значајне врсте са уским кругом биљака домаћина, као што су нпр. *L. decemlineata* или *P. xylostella* (Dermauw et al. 2018).

Оперативни фактори обухватају пестицид и његову примјену. За оперативне факторе се каже да се налазе под контролом човјека који бира пестицид (самим тим и физичка и хемијска својства, тип формулације, начин и механизам дјеловања), одређује количине, начин и вријеме примјене пестицида и тако утиче на јачину селекционог притиска (Georghiou and Taylor 19776, 1986). Као што је већ истакнуто, утицај јачине селекције на брзину еволуције резистентности треба посматрати у интеракцији са генетичким и биолошким факторима. Повећањем селекционог притиска (већи број третирања, веће концентрације/количине, примјена перзистентнијих пестицида), еволуција резистентности се убрзава јер се повећава и вјероватноћа за селекцију ријетких гена који обезбјеђују високе нивое резистентности. С друге стране, потребно је више времена да се бројност популације обнови. Повећање или смањење селекционог притиска директно одређује и степен ефективне доминантности, што утиче на брзину еволуције. Утицај интензитета селекције испољава се и у зависности од репродуктивног потенцијала врсте, величине и изложености популација селекционом притиску. Значајан оперативни фактор је и претходна примјена других пестицида као могућа основа за укрштenu резистентност.

Посматран у контексту токсикокинетике пестицида, селекциони притисак директно зависи од висине доза које апсорбују циљани организми. У условима практичне примјене дистрибуција активне супстанце на третираним површинама просторно и временски је хетерогена, тако да је могућа не само летална већ и сублетална експозиција. Иако ова хетерогеност може да се смањи разним технолошким рјешењима и оперативним одлукама, величина апсорбоване дозе ипак није под потпуном контролом човјека (Duke 2017; Gressel 2017).

Посљедица сублеталне експозиције, односно апсорпције сублеталних доза пестицида, спора је (пузајућа) еволуција полигене резистентности, засноване на акумулацији већег броја алела који обезбјеђују ниске нивое резистентности. С друге стране, могућа посљедица стресног дјеловања сублеталних доза је повећање стопе мутација укључујући појаву таквих мутација на којима се заснивају механизми резистентности, чиме се убрзава њена еволуција (Gressel 2011, 2017). Евентуални стимулативни ефекат такође би могао да убрза еволуцију резистентности, посебно ако се стимулација репродукције јавља заједно са индукцијом детоксификационих ензима (Guedes et al. 2017).

5.11.9. Управљање резистентношћу

Од средине прошлог вијека, када је резистентност на пестициде препозната као проблем који озбиљно угрожава заштиту биљака од штетних врста инсеката и гриња, на питање могућности његовог рјешавања покушавају да одговоре научници и стручњаци из академске заједнице, агрохемијских компанија и регулаторних тијела. Значај генетичких, биолошких и оперативних фактора за еволуцију и ширење резистентности на пестициде проучаван је у експерименталним, опсервационим и другим истраживањима и процјењиван примјеном теоријских модела (аналитичких, симулационих, оптимизационих, емпиријских). На основу резултата истраживања и закључака произашлих из моделовања, дефинисане су различите стратегије, тактике и методе управљања резистентношћу популација штетних врста инсеката и гриња (Roush and Daly 1990; Tabashnik 1990; Denholm and Rowland 1992; Sparks and Nauen 2015). Полазећи од тога да је реалистичан циљ свих стратегија заправо успоравање еволуције, односно појава резистентних популација штетних врста, појам *управљање* критикован је као неодговарајући и, умјесто њега, предложен је појам *ублажавање резистентности* (Ноу 1998), али се овај појам у литератури о резистентности рјеђе користи.

Кључна стратегија управљања резистентношћу (или ублажавања резистентности) артропода на пестициде је манипулисање оперативним факторима у циљу смањења селекционог притиска на популације промјеном динамике, начина и количина примјене пестицида. Тактике које се најчешће предлажу и примјењују за смањење интензитета селекције су **ротација** и **мјешавине** (Ноу 1998; Denholm and Rowland 1992). Ротација или алтернативна примјена током времена два или више једињења различитих механизма дјеловања између којих нема укрштања резистентности заснива се на претпоставци да ће фреквенција јединки резистентних на једно једињење опадати након третирања другим једињењима. На овој тактици заснива се систем управљања резистентношћу инсеката и гриња на пестициде који је предложила експертска организација IRAC (Sparks and Nauen 2015; IRAC 2018). Симултана примјена два једињења различитих механизма дјеловања и сличне перзистентности у мјешавини, која такође подразумијева да нема укрштања резистентности, полази од претпоставке да је симултана селекција два различита механизма резистентности тежа и спорија од селекције једног механизма. Трећа често примјењивана тактика је **мозаик** или просторна алтернативна примјена пестицида различитих механизма дјеловања. Све три тактике комбинују се са остављањем

нетретираних биљака или нетретираних зона да би била омогућена имиграција осјетљивих јединки (Denholm and Rowland 1992; Hoy 1998).

Имајући у виду да агротехничке, биолошке и друге мјере, предвиђене у оквиру концепта интегралног управљања штеточинама (*Integrated Pest Management, IPM*), доприносе умањењу селекционог притиска пестицидима на популације штетних врста инсеката и гриња, одрживо рјешење је дефинисање управљања резистентношћу као компоненте мултитактичког IPM система (Croft 1990; Denholm and Rowland 1992; Hoy 1998).

5.12. Резистентност гљива на фунгициде

Резистентност се дефинише као могућност развијања способности код једне расе, соја или популације неких врста организама, да толеришу дозе фунгицида које су инхибиторне за нормално осјетљиве популације дате врсте. Ова врста отпорности јавља се као посљедица примјене пестицида и наследног је карактера (Georgopoulos 1982). Поред појма *резистентност*, у стручној литератури користе се и термини *смањена осјетљивост* или *толерантност*. Ови термини углавном имплицирају на редукацију осјетљивости патогена до оног нивоа који неће представљати значајнију препреку у сузбијању патогена у пољским условима, док се термин резистентност користи у ситуацијама када је ниво отпорности такав, да ефикасно сузбијање, примјеном препоручених количина фунгицида, више није могуће. У циљу наглашавања нивоа резистентности, када изостаје ефикасна заштита у пољу, у употреби је и термин *практична (пољска) резистентност* (Georgopoulos 1982; Leroux and Gredt 2018).

Изостанак очекиваних ефеката прво се региструје у пољу. Међутим, само на основу ових сазнања, није могуће утврдити да ли се заиста ради о резистентности. Постоје бројни фактори који, поред резистентности, могу бити разлог изостанка адекватне заштите, попут закасјеле или пријевремене примјене, неповољних метео услова (високе или ниске температуре, обилне падавине и сл.) током или непосредно након апликације, неисправности уређаја за примјену фунгицида итд. Тек након што се сви други могући узроци изостанка адекватне заштите искључе, неопходно је спровести одговарајуће лабораторијске тестове како би резистентност била потврђена. Изузимајући спорадичне случајеве, може се рећи да је феномен резистентности типичан углавном за фунгициде са специфичним механизмом дјеловања.

Унакрсна резистентност. Популације гљива које развију резистентност на једно једињење, истовремено постају резистентне и на друга једињења која имају исти механизам дјеловања. Ова појава назива се укрштена резистентност. Постоје и случајеви када резистентност на једну групу једињења, резултира истовременим повећањем осјетљивости на фунгициде из неке друге групе, који имају другачији механизам дјеловања. Овај феномен познат је као негативна укрштена резистентност. Овакав примјер присутан је код популација гљива резистентних на бензимидазоле, које су истовремено осјетљивије на N-фенил карбамате, у поређењу са нормално осјетљивим популацијама (Leroux and Gredt 2018).

Мултипла (мулти) резистентност. Поред унакрсне, постоје случајеви да популације резистентне на једињења са једним механизмом дјеловања, постају резистентне на фунгициде које имају потпуно другачији механизам дјеловања. Ова појава назива се мултипла (мулти) резистентност, и као таква до сада није потпуно разјашњена. Неки примјери унакрсне и мултипле резистентности указују да механизам дјеловања фунгицида није увијек у потпуности разјашњен. Квиноксифен и проквиназид, према класификацији FRAC-а, припадају истој групи, азанафталенима. Оба једињења инхибирају транспорт електрона (пренос сигнала) у комплексу I. Међутим, унакрсна резистентност између ових једињења утврђена је код *E. necator*, али не и код *B. graminis* и других проузроковача пепелница (Fuchs and Drandarevski 1976; Genet and Jaworska 2009).

5.12.1. Механизми развоја резистентности гљива на фунгициде

Под појмом *механизам резистентности*, подразумијева се скуп, најчешће биохемијских промјена, које резултирају промјеном осјетљивости гљива на одређено једињење или групу једињења. У основи, постоје четири различита механизма развоја резистентности гљива на фунгициде.

Промјена мјеста дјеловања. Ово је најчешћи вид механизма резистентности код гљива. Утицајем молекула фунгицида може доћи до грешака у току репликације ДНК. Ове грешке познате су као мутације. С обзиром на то да је ДНК одговорна за производњу ензима у ћелији, неке мутације доводе до промјене у секвенци аминокиселина, које молекули фунгицида више не препознају као мјеста дјеловања, што резултира значајним смањењем осјетљивости на дјеловање фунгицида. Као примјер оваквих промјена су мутације на цитохром б гену, код којих је у позицији 143, глицин замијењен аланином (G143A), односно у позицији 129, гдје је фенилаланин замијењен

леуцином (F129L). Обје мутације одговорне су за смањење осјетљивости гљива на стробилурине (Sierotzki et al. 2005; Fraaije et. al. 2005).

Детоксикација. Гљиве садрже бројне ензиме који учествују у нормалном функционисању ћелијског метаболизма. Ови ензими посједују способност да у потпуности преведу молекуле фунгицида у неактивни облик. Неки фунгициди примјењују се као про-фунгициди, тј. постају активни тек по доспијевању у ћелије гљива (биоактивација). Ако дође до промјене у метаболизму гљива, биоактивација може изостати, што ће резултирати смањењем или потпуним изостанком фунгицидног дјеловања (De Waard et. al. 2002; Brent and Hollomon 2007).

Хиперекспресија циљног мјеста дјеловања. Након доспијећа у ћелију гљива, молекули фунгицида се „такмиче“ са природним супстратом за циљно мјесто. Како све више фунгицида улази у ћелију, организам производи веће количине природног супстрата (хиперекспресија), а као резултат повећава се вјероватноћа да се метаболички процеси наставе, мање или више неометано. Примјена већих доза фунгицида може пореметити равнотежу у корист хемикалије, међутим, у пракси, повећање доза примјене углавном није прихватљиво (Kuck 2005; Brent and Hollomon 2007).

Елиминација фунгицида. Унутар ћелије гљиве налазе се ефлуксне пумпе које служе да се из ћелије искључе или избаце стране супстанце (ксенобиотици). У правилу, и поред рада ових пумпи, већина фунгицида остаје у ћелији у довољној количини која је неопходна за прекид одређених метаболичких процеса. Међутим, иако ријетки, постоје примјери када се радом ефлуксних пумпи из ћелије избаци одређена количина фунгицида, довољна да се спријечи његово летално дјеловање (Russell 2003; Kuck 2005).

5.12.2. Процјена ризика од развоја резистентности

Да ли ће до развоја резистентности доћи и у којем временском року, могуће је оквирно процијенити на основу фактора ризика. Ови фактори могу се подијелити на факторе патогена, факторе фунгицида и агрономске факторе ризика (FRAC 2018).

Фактори повезани са особинама саме гљиве углавном се односе на генетички диверзитет популација дате врсте. Врсте које имају полну фазу у циклусу развића имају већи ризик за развој резистентности. Код патогена који имају више циклуса (полициклични) развића у току једне сезоне, ризик је већи него код оних које имају само једну генерацију годишње. Степен ризика од развоја резистентности пропорционалан је продукцији спора. Сматра се да је

ризик од развоја резистентности већи код патогена надземних дијелова биљака у односу на патогене у земљишту (Таб. 5.18). Разлог томе лежи у чињеници да се споре првих, ношене ваздушним струјама и кишом, знатно лакше и брже разносе на већа растојања, што омогућава учесталије мешање популација и стварање нових генотипова, у односу на друге.

Таб. 5.18. Преглед патогена са различитим ризиком од развоја резистентности (FRAC 2018)

Table 5.18. Review of pathogens with different risk from the development of resistance (FRAC 2018)

Низак	Средњи	Висок
<i>Tilletia spp.</i>	<i>Bremia lactucae</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
<i>Fusarium spp.</i>	<i>Pyrenophora teres</i>	<i>Erysiphe graminis</i>
<i>Phytophthora spp.</i>	<i>Monilinia spp.</i>	<i>Cercospora beticola</i>
<i>Pythium spp.</i>	<i>Mycosphaerella graminicola</i>	<i>Phytophthora infestans</i>
<i>Rhizoctonia spp.</i>	<i>Uncinula necator</i>	<i>Plasmopara viticola</i>
<i>Ustilago spp.</i>	<i>Peronospora spp.</i>	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>
<i>Sclerotinia spp.</i>	<i>Colletotrichum gloeosporoides</i>	<i>Sphaerotheca fuliginea</i>
<i>Taphrina deformans</i>	<i>Puccinia spp.</i>	<i>Venturia spp.</i>
<i>Guignardia bidwellii</i>	<i>Ascochyta pisi</i>	<i>Dydimella bryoniae</i>
<i>Podosphaera leucotricha</i>	<i>Venturia pirina</i>	<i>Pyricularia oryzae</i>

Главни фактор ризика везан за особине фунгицида је сам механизам дјеловања. Фунгициди са специфичним механизмом (*single-site*) дјеловања су у групи са високим ризиком, док се код неспецифичних (*multi-site*) инхибитора, резистентност углавном не јавља. Израженији ризик од развоја резистентности је код фунгицида који се примјењује више пута у току једне сезоне и код оних који имају шири спектар дјеловања. Код фунгицида који имају куративно и ерадикативно дјеловање, ако се примјењује након што су симптоми обољења видљиви, ризик од резистентности се повећава у односу на оне који се примјењује само превентивно (FRAC 2018; Gisi and Staehle-Csech 1988).

Учестала примјена фунгицида са истим механизмом дјеловања повећава ризик од развоја резистентности (Таб. 5.19). Примјена фунгицида са специфичним механизмом дјеловања и ослањање на њихову куративну способност, такође је једна од агрономских грешака које доводе до бржег развоја резистентности (Gisi and Staehle-Csech 1988; Brent and Hollomon 2007; FRAC 2010).

Таб. 5.19. Преглед фунгицида са различитим ризиком од развоја резистентности
 Table 5.19. Review of fungicides with different risk from the development of resistance

Низак	Средњи	Висок
Си-једињења	DMI фунгициди	Бензимидазоли
Сумпор	Анилопиримидини	Дикарбоксимиди
Дитиокарбамати	Фенилпироли	Фениламиди
Фатлимиди	Фосфоротиолати	Анилопиримидини
Хлоронитрили	Азанафталени	Стробилурини (QoI)
Дитиини	Карбамати	SDHI

Таб. 5.20. Комбиновани ризик резистентности на фунгициде (Brent and Hollomon 2007)

Table 5.20. Combined risk of resistance to (Brent and Hollomon 2007)

Висок Бензимидазоли Стробилурини Фениламиди, Дикарбоксимиди SDHI...	3	3	6	9
Средњи DMI, Анилопиримидини Фенилпироли Фосфоротиолати	2	2	4	6
Низак Си-једињења, Сумпор Дитиокарбамати Фатлимиди...	0,5	0,5	1	1,5
Ризик фунгицида		1	2	3
		низак	Средњи	Висок
	Ризик патогена	<i>Rhizoctonia sp.</i>	<i>Micosphaerela sp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
		<i>Puccinia sp.</i>	<i>Rinchosporium sp.</i>	<i>Blumeria</i>
<i>Tilletia sp.</i>		<i>Bremia lactucae</i>	<i>graminis</i>	
<i>Taphrina sp.</i>		<i>Monilinia spp.</i>	<i>Venturia</i>	
Патогени из земљишта...	<i>Venturia pirina</i>	<i>inaequalis</i>		
		<i>Plasmopara</i>		
		<i>viticola</i>		
		<i>Phytophthora</i>		
		<i>infestans</i>		

0,5–1,5, низак ризик; 2–6, средњи до висок ризик; 9, јако висок ризик

Најпрецизнија процена ризика од развоја резистентности гљива обухвата истовремено факторе ризика који се односе на природу патогена и факторе везане за карактеристике фунгицида. Комбиновани ризик, предложен од стране Brent and Hollomon (2007), предвиђа да свака група фунгицида и сваки патоген поседују свој фактор ризика (Таб. 5.20). Множењем ова два фактора, добија се производ који представља комбиновани ризик од развоја конкретног патогена на одређени фунгицид (Brent and Hollomon 2007).

Модификација предложеног дијаграма за процену ризика, предложена од стране Кука (Kuck 2005), поред ризика фунгицида и ризика патогена, у процену укључује и агрономски ризик (Таб. 5.21).

Таб. 5.21. Модификовани комбиновани ризик резистентности на поједине групе фунгицида (Kuck 2005)

Table 5.21. Modified combined risk of resistance to particular groups of fungicides (Kuck 2005)

Група фунгицида	Ризик фунгицида	Комбиновани ризик			Агрономски ризик
Бензимидазоли	Висок = 6	6	12	18	Висок=1 Средњи=0,5 Низак=0,25
Стробилурини		3	6	9	
Фениламиди		1,5	3	4,5	
Дикарбоксимиди					
SDHI					
DMI	Средњи = 4	4	8	12	Висок=1 Средњи=0,5 Низак=0,25
Анилопиримидини		2	4	6	
Фенилпироли		1	2	3	
Фосфоротиолати					
Су-једињења	Низак = 1	1	2	3	Висок=1 Средњи=0,5 Низак=0,25
Сумпор		0,5	1	1,5	
Дитиокарбамати		0,25	0,5	0,75	
Фатлимиди					
Дитиини					
Ризик патогена		Низак=1	Средњи=2	Висок=3	
Патогени		<i>Rhizoctonia sp.</i> <i>Puccinia sp.</i> <i>Tilletia sp.</i> <i>Taphrina sp.</i> Патогени из земљишта...	<i>Micospaerella sp.</i> , <i>Rinchosporum sp.</i> , <i>Bremia lactucae</i> , <i>Monilinia spp.</i> , <i>Venturia pirina</i>	<i>Botrytis cinerea</i> <i>Blumeria graminis</i> <i>Venturia inaequalis</i> <i>Plasmopara viticola</i> <i>Phytophthora infestans</i>	

5.12.3. Стање резистентности гљива на фунгициде у Србији

Појава резистентности неког фунгицида има за посљедицу читав низ проблема. Прије свих, овом појавом угрожени су пољопривредни произвођачи, јер се смањењем ефикасности доводи у питање обезбјеђивање високих приноса и очување квалитета производа, који гарантују исплативост производње. Резистентност погађа и хемијску индустрију, јер пад ефикасности појединог средства, може узроковати губитак поверења у одређеног произвођача фунгицида. У циљу превазилажења проблема везаних за резистентност, најефикаснија мјера је перманентно праћење стања осјетљивости биљних патогена на фунгициде. У Србији, нажалост, још увијек не постоји систематско праћење резистентности биљних патогена, онако како је то организовано у неким европским земљама и САД. Услед недостатка одговарајућег мониторинга, велика је вјероватноћа да одређен број случајева појаве резистентности остаје необјављен, и широј јавности непознат, све док се неки фунгицид не замијени новим и ефикаснијим.

И поред наведених чињеница, проучавање резистентности гљива на фунгициде, у Србији има дугу традицију. Још 1976. године, проф. Марић са сарадницима, саопштава о појави толерантности *Cercospora beticola* на беномил у Југославији (Marić i sar. 1976), свега пар година од првог налаза ове појаве у свијету (Ruppel and Scott 1974). Од тада, па до данашњих дана, у нашој земљи проучавана је и детектована појава резистентности на фунгициде, код неколико, економски веома значајних биљних патогена.

Један од касније најдетаљније проучаваних патогена у контексту резистентности на фунгициде у Србији, управо је проузроковач пјегавости лишћа шећерне репе, *Cercospora beticola*. Примјеном различитих метода, потврђено је постојање резистентних форми ове гљиве, на фунгициде из група бензимидазола (МВС) и триазола (DMI), од стране више аутора (Trkulja et al. 2012; Trkulja et al. 2013; Budakov et al. 2014).

Након учачања да ефикасност QoI и DMI фунгицида у заштити јабуке од проузроковача чађаве краставости изостаје, проучавана је осјетљивост популација *Venturia inaequalis* на ове фунгициде. Утврђено је да су изолати овог патогена, узети из комерцијалних (Бела Црква) и експерименталних (ОШД Радмиловац) засада јабуке, и до 40 пута мање осјетљиви на крезоксиметил и трифлуксистробин, односно дифеноконазол и флузилазол, у поређењу са изолатима који воде поријекло са спонтаних сијанаца јабуке, који претходно нису били изложени дјеловању фунгицида (Stević et al. 2010; Stević et al. 2015). У засадима из којих потичу резистентни изолати, изведени си двогодишњи експерименти у којима је потврђена веома ниска ефикасност QoI и DMI фунгицида у сузбијању чађаве краставости јабуке (Stević 2010).

Током 2014–2017. године, проучавана је осјетљивост проузроковача кестењасте пјегавости, *Didymella applanata*, најзначајнијег патогена малине. Лабораторијским испитивањима потврђено је постојање високо резистентних изолата овог патогена на QoI фунгициде. Изолати који су били резистентни на пиракlostробин, испољили су значајно мању осјетљивост и на азоксистробин, чиме је потврђена унакрсна резистентност код ова два QoI фунгицида (Mirковић et al. 2015; Stević et al. 2017). У двогодишњим огледима спроведеним на подручју Ариља, утврђена је веома слаба ефикасност азоксистробина и пиракlostробина и у производним условима (Stević et al. 2017).

Проузроковач сиве трулежи, *Botrytis cinerea*, један је од најдеструктивнијих патогена у биљној производњи. Од 130 тестираних изолата, узетих са плодова малине, 9 је било изразито резистентно на беномил и тиофанат-метил (Таповић и Ivanović 2010). Изолати *B. cinerea* узетих са плодова јагоде, на подручју Шапца и Тополе, били су резистентни на трифлористробин и пиракlostробин (Trkulja et al. 2016).

Иако је не мали број истраживања обављен и сумња у резистентност у многим случајевима потврђена, сасвим је сигурно да међу још неким патогенима у Србији и Републици Српској постоје популације резистентне на поједине групе фунгицида. Посљедњих година уочава се изостанак добре ефикасности појединих фунгицида у сузбијању неких, веома важних патогена. Тако, нпр. ефикасност анилопиримидина (пириметанил, ципродинил), у сузбијању проузроковача чађаве краставости јабуке (*V. inaequalis*), на појединим локалитетима у Србији, није на нивоу на којем је била прије десетак година. Евидентан је и пад ефикасности стробилурина у погледу сузбијања проузроковача пепелнице винове лозе (*Uncinula necator*), као и проузроковача пјегавости лишћа шећерне репе (*C. beticola*), пламењаче краставца и других биљака фамилије *Cucurbitacea* (*Pseudoperonospora cubensis*). Наравно, све ове индикације нису довољне да се у овим случајевима говори о резистентности, све док се она, примјеном одговарајућих метода и техника, не потврди, што би свакако требало да буде предмет неких будућих истраживања.

5.12.4. Антирезистентна стратегија

Иако грешке у примјени фунгицида, саме по себи, нису основни узрок за развој резистентности, оне могу допринијети да се овај процес убрза. Исто тако, примјеном одговарајућих мјера, ова појава може се пролонгирати, а употребни вијек фунгицида у значајној мјери продужити. Скуп мјера које имају за циљ да што је могуће више одложе или чак спријече појаву

резистентности гљива на фунгициде, заједничким именом називају се антирезистентном стратегијом. Ова стратегија базирана је на неколико најважнијих принципа:

Интегрална заштита биљака. Примјена свих расположивих нехемијских мјера сузбијања, које укључују различите агротехничке мјере, гајење мање осјетљивих и отпорних сората и хибрида, механичко уклањање извора инокулума, примјена биолошких препарата, не само да доприносе бољем очувању животне средине, већ и смањују потенцијалну могућност развоја резистентности гљива на синтетичке фунгициде.

Примјена системичних фунгицида у комбинацији са превентивним. Комбинована примјена два или више фунгицида, било да се ради о готовим смјешама или о тзв. танк-миксу, поред проширења спектра дјеловања и продужења периода заштите, значајна је и као мјера антирезистентне стратегије. Превентивни фунгицид, примијењен као партнер системичном, смањиће селекциони притисак на патогене, али и сузбити већ резистентне биотипове у популацији. Превентивна компонента у смјеси два фунгицида, зауставиће клијање спора и спријечити инфекцију, смањујући тако потребу за куративном активношћу системичне компоненте. Алтернативно, као партнер системичном фунгициду, поред неспецифичних инхибитора, могу се примијенити и фунгициди са специфичним механизмом дјеловања, наравно, под условом да између ова два фунгицида не постоји ризик од унакрсне резистентности (Brent and Hollomon 2007; FRAC 2018).

Примјена пуних препоручених доза фунгицида. У условима када је притисак обољења мали, односно када ризик од економских губитка није велики, неријетко се прибјегава примјени смањених (субефективних) доза фунгицида, у циљу оптимизације трошкова и смањења штетног утицаја на животну средину. Међутим, у контексту развоја резистентности, ова пракса сматра се крајње погрешном. Излагање патогена субефективним дозама фунгицида, који имају висок ризик од развоја резистентности, не само да повећава шансе за његово преживљавање, већ и индукује одређене механизме настанка отпорности, најчешће генске мутације, које ће бити пренесене на потомство и тако допринијети стварању резистентних популација. Поред тога, мање дозе фунгицида фаворизују преживљавање и размножавање већ постојећих умјерено резистентних биотипова, који би примјеном пуних доза били инактивисани (Kuck 2005; FRAC 2010).

Примјена фунгицида са различитим механизмом дјеловања. Континуираном примјеном једног или више фунгицида са истим механизмом дјеловања, повећава се селекциони притисак на патогене, што увећава ризик од развоја резистентности. Из овог разлога, примјена фунгицида са високим

ризиком од развоја резистентности, често је ограничена на максимално два третирања у току једне вегетационе сезоне, а за остала третирања неопходно је прибјежавати примјени фунгицида са другачијим механизмом дјеловања, кад год је то могуће (Kuck 2005; FRAC 2010).

Избјегавање пост-инфекционе примјене фунгицида. Иако могућност заустављања развоја патогена након остварене инфекције (куративно) или након што су симптоми обољења већ видљиви (ерадикативно), представља значајну предност појединих фунгицида, ослањање на ову могућност никако није препоручљиво. Без обзира што се већина ризичних фунгицида, у циљу сузбијања фолијарних патогена, примјењује у смјеси са неспецифичним, након већ остварене инфекције системик дјелује сам, јер фунгицид партнер нема постинфекциону активност. Ако се чека да праг штетности досегне моменат који оправдава примјену фунгицида, бројне спорулационе лезије већ могу бити присутне, а формиране споре даље ширити обољење, што повећава вјероватноћу за селекцију отпорних биотипова (Kuck 2005; FRAC 2010).

Избјегавање примјене фунгицида када су метеоролошки услови неповољни. Примјена фунгицида за вријеме неповољних метео услова, често резултира губитком извјесне количине активне материје са циљне површине (спирање кишом, термодеградација и сл.) или спречавање самог доспијећа на циљну површину, заносењем, усљед јачег ваздушног струјања, или испаравањем капљица течности током транспорта до одредишта, усљед високе температуре. Количина фунгицида која остаје на циљној површини, односно која ће доћи у контакт са патогеном, мања је од препоручене, односно од количине која се сматра довољном за спречавање развоја обољења. Посљедице овакве примјене идентичне су онима у случају примјене субефективних доза (Kuck 2005; FRAC 2010).

5.13. Закључак

У читавом свијету сматра се да око 67.000 врста штетних организама напада гајене биљке. Од тог броја око 900 врста припада инсектима и грињама, 50.000 врста патогених микроорганизама и око 8.000 врста коровских биљака. У земљама са интензивном пољопривредном производњом сматра се да фитопатогени микроорганизми, штетни инсекти и корови умањују приносе за око 30%, док ово смањење у земљама са екстензивном производњом износи у многим случајевима и преко 50%. Савремени агротехнички захвати који се данас користе у интензивној производњи (као што су: монокултура, савршена припрема земљишта за сјетву, наводњавање,

ђубрење, резидба, гајење високоприносних сората, гајење у затвореном простору, механичка берба и жетва, чување у силосима и многе друге мјере и поступци који се користе у гајењу појединих врста биљака) изузетно много доприносе стварању услова за оптималан развој штетних организама. Појава нових штетних биолошких агенаса и појава резистентности представљају велики проблем за заштиту биљака и биљну производњу. Овај проблем није изражен само у нашој земљи, него је присутан и представља још већи проблем у земљама са интензивном пољопривредном производњом.

За уништавање резистентних биотипова појединих штетних организама, зависно од степена резистентности, потребно је употрејибити вишеструко веће количине пестицида него када ова појава није развијена. Због употребе пестицида у већим количинама по јединици површине, долази до појаве повећане контаминације животне средине и израженијих штетних посљедица за природну равнотежу. Повећана употреба пестицида по јединици површине ради постизања задовољавајуће ефикасности доводи до поскупљења производње и смањења економске исплативости примјене пестицида. У многим земљама и многим подручјима резистентност према пестицидима регистрована је код бројних организама. Регистровано је око 600 врста инсеката и гриња који су резистентни на један или више врста инсектицида од чега су 345 врста значајне пољопривредне штеточине. Постоји више од 1.000 врста инсеката резистентних на комбинације инсектицида и више од 17 врста инсеката резистентних на све главне групе инсектицида. По броју врста, међу инсектима се издвајају редови Lepidoptera, Diptera, Hemiptera и Coleoptera. У оквиру реда Lepidoptera, гдје су све резистентне врсте фитофагне, најзаступљеније су совице (Noctuidae) са 62%. Фитофагне врсте доминирају у реду Hemiptera, гдје 57% извјештаја припада лисним вашима (Aphididae) и лептирастим (Aleyrodidae) вашима, и у реду Coleoptera, гдје се 41% извјештаја односи на фамилије Chrysomelidae и Curculionidae. Око 86% извјештаја о резистентности за ред Diptera чине врсте значајне у медицини и ветерини. Утврђене су 262 врсте корова резистентне на хербициде (152 дикотиледоних и 110 монокотиледоних). Ова резистентност укључује 23 од 26 познатих група хербицида са познатим мјестом дјеловања и 167 различита хербицида. Резистентност је утврђена у 92 гајеној биљци у 70 земаља у свијету. Резистентност је нарочито развијена на четири најзначајније групе хербицида (ALS инхибитори, инхибитори фотосинтезе у фотосистему II, ACC-азе инхибитори и инхибитори синтезе EPSP синтетазе). На ове четири групе хербицида данас је утврђено да постоји 336 резистентних коровских врста (176 дикотиледоних и 160 монокотиледоних), што представља око 66 % од укупног броја резистентних коровских врста биљака (или 66% монокотиледоних и 65% дикотиледоних).

Резистентност штетних организама на пестициде огроман је свјетски проблем. За биљну производњу и заштиту биљака резистентност је веома велики глобални проблем који се веома тешко рјешава, јер захтијева ангажовање армије научних радника и огромна финансијска средства

Литература

- Abel LA (1954) The rotation of weed killers. Proc Bright Crop Conference-Weeds 2:249–259
- Ader D, Li Z, Hasmukh Shah R, Tao N, Wang D, Yang H (2013) US Patent 20130288895
- Agrios NG (2005) Plant Pathology, Fifth Edition. Academic Press. Amsterdam
- Alarcón-Reverte R, García A, Urzúa J, Fischer AJ (2013) Resistance to glyphosate in junglerice (*Echinochloa colona*) from California. Weed Science 61:48–54
- Alcántara-de la Cruz R, Fernández-Moreno PT, Ozuna CV, Rojano-Delgado AM, Cruz-Hipolito HE, Domínguez-Valenzuela JA, Barro F, De Prado R (2016a) Target and non-target site mechanisms developed by glyphosate-resistant hairy beggarticks (*Bidens pilosa* L.) populations from Mexico. Frontiers in Plant Science 7:149
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2016.01492/full>
- Alcántara-de la Cruz R, Rojano-Delgado AM, Giménez MJ, Cruz-Hipolito HE, Domínguez-Valenzuela JA, Barro F, De Prado R (2016b) First resistance mechanisms characterization in glyphosate-resistant *Leptochloa virgata*. Frontiers in Plant Science 7:1742
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5114308/>
- Alyokhin A, Baker M, Mota-Sanchez D, Dively G, Grafius E (2008) Colorado potato beetle resistance to insecticides. American Journal of Potato Research 85:395–413
- Anonymous (2018) Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD), Michigan State University, IRAC, USDA, <https://www.pesticideresistance.org/> 20.08.2018
- Arntzen CJ, Ditto CL, Brewer PE (1979) Chloroplast membrane alternations in triazine-resistant *Amaranthus retroflexus* biotypes. Proc Natl Acad Sci USA 76:278–282
- Arntzen CJ, Pfister K, Steinback K (1982) The mechanism of chloroplast triazine resistance, alternations in the site of herbicide action. In: LeBaron H, Gressel J (eds) Herbicides Resistance in Plant John Wiley and Sons, New York
- Arsenović M, Živanović M, Šovljanski R (1991) Weed control in Railways in Yugoslavia. Proc Bright Crop Protect. Conference-Weed pp 1159–1164

- Ashton FM, Crafts AS (1991) Mode of Action of Herbicides, 2nd ed. John Wiley & Sons, New York
- Baerson SR, Rodriguez DJ, Tran M, Feng YM, Biest NA, Dill GM (2002) Glyphosate-resistant goosegrass. Identification of a mutation in the target enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Plant Physiology* 129:1265–1275
- Balabanidou V, Grigoraki L, Vontas J (2018) Insect cuticle: a critical determinant of insecticide resistance. *Current Opinion in Insect Science* 27:68–74
- Bass C, Field LM (2011) Gene amplification and insecticide resistance. *Pest Management Science* 67: 886–890
- Bass C, Puinean AM, Zimmer CT, Denholm I, Field LM, Foster SP, Gutbrod O, Nauen R, Martin RS, Williamson S (2014) The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 51:41–51.
- Beckie HJ, Johnson EN, Legere A. (2012) Negative cross-resistance of acetolactate inhibitor-resistant Kochia (*Kochia scoparia*) to protoporphyrinogen oxidase- and hydroxyphenylpyruvate dioxygenase-inhibiting herbicides. *Weed Technol.* 26:570-574.
- Begen M, Mortimer M (1986) Population Ecology. Blackwell Scientific Publications, Oxford
- Bellinger RG (1996) Pest Resistance to Pesticides, publication, Department for Entomology, Clemson University.
www.ipm.nesu.edu/safety/factsheets/resistance.pdf
- Borger P, Sandman G (eds) (1989) Target Sites of Herbicide Action. CRS Press, Boca Raton
- Bostamam Y, Malone JM, Dolman FC, Boutsalis P, Preston C (2012) Rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) populations containing a target site mutation in EPSPS and reduced glyphosate translocation are more resistant to glyphosate. *Weed Science* 60:474–479
- Bracamonte E, Fernández-Moreno PT, Barro F, De Prado R (2016) Glyphosate-Resistant *Parthenium hysterophorus* in the Caribbean Islands: Non Target Site Resistance and Target Site Resistance in Relation to Resistance Levels. *Front Plant Sci* 7:1845–1859
- Brent KJ, Hollomon DW (2007) Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How Can it be Managed? FRAC Monograph No. 1, second edition. Fungicide Resistance Action Committee, pp 56. <http://www.frac.info/docs/default-source/publications/monographs/monograph-1.pdf>./09.09.2018
- Brown AWA (1971) Pest Resistance to Pesticides. In: White-Stevens R (ed) Pesticides in the Environment, New York: Dekker 1(II):457–552
- Budakov D, Nagl N, Stojšin V, Bagi F, Danojević D, Neher OT, Taski-Ajduković K (2014) Sensitivity of *Cercospora beticola* isolates from Serbia to carbendazim and flutriafol. *Crop Protection* 66:120–126.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026121914002932/11.09.2018>

- Valverde B, Greesel J (2006) Dealing with the evolution and spread of *Sorghum helepens* glyphosate resistance in Argentina. A consultancy Report to SENASA
- Van Leeuwen T, Vontas J, Tsagkarakou A, Dermauw W, Tirry L (2010) Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 40:563–572
- Vogel F, Rathenberg R (1975) Spontaneous mutation in man. *Adv in Human Genet* 5:223–318
- Gaines TA, Heap IM (2020) Mutations in herbicide-resistant weeds to EPSP synthase inhibitors. Online <http://www.weedscience.com>. 5/26/2020
- Galloway RR, Mets LJ (1984) Atrazine, bromacil and diuron resistance in *Chlamydomonas*. *Plant Physiol* 74:469–473
- Garcia MJ, Palma-Bautista C, Rojano-Delgado AM, Bracamonte E, Portugal J, Alcántara-de la Cruz R, De Prado R (2019) The Triple Amino Acid Substitution TAP-IVS in the EPSPS Gene Confers High Glyphosate Resistance to the Superweed *Amaranthus hybridus*. *International Journal of Molecular Sciences* 20:2396.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6567628/>
- Genet JL, Jaworska G (2009) Baseline sensitivity to proquinazid in *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and *Erysiphe necator* and cross-resistance with other fungicides. *Pest management science* 65(8):878-884
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19418441/10.09.2018>.
- Georgopoulos SG (1982) Cross-resistance. In: Dekker J, Georgopoulos SG (eds) *Fungicide Resistance in Crop Protection*. Pudoc, Wageningen, pp 53–59
- Georghiou GP (1972) The evolution of resistance to pesticides. *Annual Review of Ecology and Systematics* 3:133–168
- Georghiou GP, Taylor CE (1977a) Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *Journal of Economic Entomology* 70:319–323
- Georghiou GP, Taylor CE (1977b). Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *Journal of Economic Entomology* 70:653–658
- Georghiou GP (1980) The occurrence of resistance to pesticides in arthropods: an index of cases reported through 1980. Rome: FAO Plant Production and Protection Service
- Georghiou GP (1983) Management of Resistance in Arthropods. In: Georghiou GP, Saito T (eds) *Pest Resistance to Pesticides*. New York: Plenum Press, pp 769–792
- Georghiou GP, Saito T (eds) (1983) *Pest Resistance to Pesticides*, New York: Plenum Press

- Georghiou GP, Taylor CE (1986) Factors influencing the evolution of resistance. In: Pesticide resistance: strategies and tactics for management. National Academy Press, Washington DC, pp 157–169
- Georghiou GP, Lagunes-Tejeda A (1989) The occurrence of resistance to pesticides in arthropods, an index of cases reported through 1989, 1991, Rome: FAO
- Gisi U, Staehle-Csech U (1988) Resistance risk evaluation of new candidates for disease control. In: Delp C (ed) Fungicide Resistance, APS press, Minneapolis, pp 101–106
- Ghanizadeh H, Harrington KC, James TK, Woolley DJ, Ellison NW (2015) Mechanisms of glyphosate resistance in two perennial ryegrass (*Lolium perenne*) populations. *Pest Management Science* 71:1617–1622
- Gordon HT (1961) Nutritional factors in insect resistance to chemicals. *Annual Review of Entomology* 6:27–54
- Gott RC, Kunkel GR, Zobel ES, Lovett BR, Hawthorne DJ (2017) Implicating ABC transporters in insecticide resistance: research strategies and a decision frame work. *Journal of Economic Entomology* 110:667–677
- Gould F, Carroll CR, Futuyma DJ (1982) Cross-resistance to pesticides and plant defense: a study of the two-spotted spider mite. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 31:175–180
- Gould F, Brown ZS, Kuzma J (2018) Wicked evolution: Can we address the sociobiological dilemma of pesticide resistance? *Science* 360:728–732
- Gressel J (1982) Triazine herbicide interaction with a 32000 M, thylakoid–alternative possibility. *Plant Sci. Lett* 25:99
- Gressel J, Segel LA (1982) Interaction factors controlling the fate of appearance of resistance. In: La Baron HM, Gressel J (eds) *Herbicide resistance in Plants* John Wiley and Sons, New York
- Gressel J (2011) Low pesticide rates may hasten the evolution of resistance by increasing mutation frequencies. *Pest Management Science* 67:253–257
- Gressel J (2017) All doses select for resistance. When will this happen and how to slow evolution? In: Duke SO, Kudsk P, Solomon K (eds) *Pesticide dose: Effects on the environment and target and non-target organisms*. Washington: ACS Symposium Series pp 61–72
- Grginac P (1978) The evolution of resistance to herbicide in weedy species. *Agro-Ecosyst* 4:377
- Guedes RN, Walse SS, Throne JE (2017) Sublethal exposure, insecticide resistance and community stress. *Current Opinion in Insect Science* 21:47–53.
- Cilek JE, Greene GL (1994) Stable Fly(Diptera:Muscidae) Insecticide Resistance in Kansas Cattle Feedlots. *Journal of Economic Entomology* 87, 2:275-279.
- De Waard MA, Andrade AC, Hayashi K, Schoonbeek HJ, Stergiopoulos I, Fraaije BA, Butters JA, Coelho JM, Jones DR, Hollomon DW (2002) Following the dynamics of strobilurin resistance in *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* using

- quantitative allele-specific real-time PCR measurements with the fluorescent dye SYBR green. *Plant Pathology* 51(1):45–54
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.0032-0862.2001.00650.x>
- Dalye C, Pernin F, Scarabel L (2011) Evolution and diversity of the mechanisms endowing resistance to herbicides inhibiting acetolactate-synthase (ALS) in corn poppy (*Papaver rhoeas* L.). *Plant Science* 180:333–342
- Dalye C (2013) Unravelling the genetic bases of non-target-sitebased resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forthcoming decade. *Pest Manag Sci* 69:176–187
- Delye C, Causse R, Michel S (2016) Genetic basis, evolutionary origin and spread of resistance to herbicides inhibiting acetolactate synthase in common groundsel (*Senecio vulgaris*). *Pest Management Science* 72:89–10
- Denholm I, Rowland MW (1992) Tactics for managing pesticide resistance in arthropods: theory and practice. *Annual Review of Entomology* 37:91–112
- Dermauw W, Wybouw N, Rombauts S, Menten B, Vontas J, Grbić M (2013) A link between host plant adaptation and pesticide resistance in the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae*. *PNAS* 110: E113–E122
- Dermauw W, Van Leeuwen T (2014) The ABC gene family in arthropods: Comparative genomics and role in insecticide transport and resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 45:89–110
- Dermauw W, Pym A, Bass C, Van Leeuwen T, Feyereisen R (2018) Does host plant adaptation lead to pesticide resistance in generalist herbivores? *Current Opinion in Insect Science* 26:25–33
- Despres L, David JP, Gallet C (2007) The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in Ecology and Evolution* 22:298–307
- Devine GJ, Furlong MJ (2007) Insecticide use: Contexts and ecological consequences. *Agriculture and Human Values* 24:281–306
- Dominguez-Valenzuela JA, Gherekhloo J, Fernández-Moreno PT, Cruz-Hipolito HE, Alcántara-de la Cruz R, Sánchez-González E, De Prado R (2017) First confirmation and characterization of target and non-target site resistance to glyphosate in Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) from Mexico. *Plant Physiology and Biochemistry* 115:212–218
- Duke SO (2017) Pesticide dose - a parameters with many implications. In: Duke SO, Kudsk P, Solomon K (eds) *Pesticide dose – Effects on the environment and target and non-target organisms*. ACS Symposium Series, Vol. 1249, American Chemical Society, Washington DC, pp 1–13
- Ellis M, Kay QON (1975) Genetic variation in herbicide resistance in scentless mayweed (*Trypleurospermum inodorum* L. Schultz Bip): I Diference between populations in response to MCPA. *Weed Res* 15:285
- Eschenburg S, Healy ML, Priestman MA, Lushington GH, Schonburnn E (2006) How the mutation glycine 96 to alanine confers glyphosate insensitivity to 5-

- enolpyruvyl shikimate-3- phosphate synthase from *Escherichia coli*. *Planta* 216:129–135
- Ilias A, Vontas J, Tsagkarakou A (2014) Global distribution and origin of target site insecticide mutations in *Tetranychus urticae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 48:17–28
- Zalucki MP, Furlong MJ (2017) Behavior as a mechanism of insecticide resistance: evaluation of the evidence. *Current Opinion in Insect Science* 21:19–25
- Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) (2018) Resistance – Mechanisms, Management and Modeling, <http://www.iraconline.org/about/resistance/> 20.08.2018
- Janatova H, Wildner GP (1982) Isolation and characterisation of metribuzin-resistant *Chlamydomonas reinhardtii* cells. *Biochim Biophys Acta* 682:227–229
- Jansen KIN (1982) The roles of uptake, translocation and metabolism in the differential intraspecific responses to herbicides. In: Homer MLB, Gressell J (eds) *Herbicide resistance in plant*. Wiley-Interscience Publication, John Wiley Sons, New York, Toronto
- Janjić V, Veljović S, Jovanović LJ, Plesničar M, Arsenović M (1988) Utvrđivanje rezistentnosti *Amaranthus retroflexus* L. prema atrazinu primenom metode fluorescencije listova. *Fragmenta herbologica Jugoslavica* 17(1–2):45–54
- Janjić V (1994) Hormonski herbicidi. Institut za istraživanja u poljoprivredi Srbija i IP Nauka, Beograd
- Janjić V, Stanković-Kalezić R, Radivojević Lj, Jovanović Lj, Ajder S (1994a). Rezistentnost *Amaranthus retroflexus* L. i *Chenopodium album* L. prema atrazinu. *Acta herbologica* 3(1):63–71
- Janjić V, Stanković-Kalezić R, Radivojević Lj, Ajder S, Marisavljević D, Jovanović Lj (1994b) Distribution of atrazine resistant population of *Amaranthus retroflexus* L. *Acta biologica jugoslavica, series G: Acta herbologica* 3(1):23–31
- Janjić V, Stanković-Kalezić R, Radivojević Lj, Marisavljević D, Ajder S, Jovanović Lj (1995) Detection some triazine resistant weeds using chlorophyll fluorescence. *International symposium on weed and crop resistance to herbicides, Cordoba (Spain)* p 134
- Janjić V (2005) Fitofarmacija. Društvo za zaštitu bilja Srbije, Institut za istraživanja u poljoprivredi „Srbija“, Beograd i Poljoprivredni fakultet, Banja Luka, str 1229
- Jasieniuk M, Bruele´-Babel AL, Morrison IN (1996) The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. *Weed Sci* 44:176–193
- Jasieniuk M, Ahmad R, Sherwood AM, Firestone JL, Perez-Jones A, Lanini WT, Mallory-Smith C, Stednick Z (2008) Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in California: distribution, response to glyphosate, and molecular evidence for an altered target enzyme. *Weed Science* 56:496–502

- Jingbo Li, Qiong P, Heping H, Alex N, Tymofii K, Qin Y, Stephen P (2018) Glyphosate resistance in *Tridax procumbens* via a novel EPSPS Thr-102-Ser substitution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66(30):7880–7888
- Kaplanoglu E, Chapman P, Scott IM, Donly C (2017) Overexpression of a cytochrome P450 and a UDP-glycosyltransferase is associated with imidacloprid resistance in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Scientific Reports* 7:1762
- Kaundun SS, Zelaya IA, Dale RP, Lycett AJ, Carter P, Sharples KR, McIndoe E (2008) Importance of the P106S target-site mutation in conferring resistance to glyphosate in a goosegrass (*Eleusine indica*) population from the Philippines. *Weed Science* 56:637–646
- Kaundun SS, Dale RP, Zelaya IA, Dinelli G, Marotti I, McIndoe E, Cairns A (2011) A novel P106L mutation in EPSPS and an unknown mechanism(s) act additively to confer resistance to glyphosate in a South African *Lolium rigidum* population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 3227–3233
- Kennedy CJ, Tierney KB (2012) Xenobiotic protection/resistance mechanisms in organisms, In: Meyers RA (ed) *Encyclopedia of sustainability science and technology*, New York: Springer Verlag pp 12293–12314
- Kliot A, Ghanim M (2012) Fitness costs associated with insecticide resistance. *Pest Management Science* 68:1431–1437
- Kuck KH (2005) Fungicide resistance management in a new regulatory environment. In: Dehne H-W, Gisi U, Kuck K-H, Russell PE, Lyr H (eds) *Modern fungicides and anti-fungal compounds IV*. BCPC, Alton UK, pp 35–43
- LeBaron H, Grassel J (eds) (1982) *Herbicide Resistance in Plant*. John Wiley and Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore
- Leroux P, Gredt M (2018) Negative cross-resistance of benzimidazole-resistant strains of *Botrytis cinerea*, *Fusarium nivale* and *Pseudocercospora herpotrichoides* to various pesticides. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 95(1):121–127.
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF01974291/10.09.2018>
- Leval-Martin D, Grizeau D, Calvayrac R (1983) Characterisation of diuron resistant *Euglena*. *Plant Sci Lett* 29:155–159
- Li X, Zangerl AR, Schuler A, Berenbaum MR (2000) Molecular cross-resistance to α -cypermethrin after xanthotoxin ingestion in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 93:18–25
- Li X, Gao H, Liang XP (2018) Characterization of UDP-glucuronosyltransferase genes and their possible roles in multi-insecticide resistance in *Plutella xylostella* (L.). *Pest Management Science* 74:695–704
- Li X, Schuler MA, Berenbaum MR (2007) Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology* 52:231–253

- Marčić D (2003) Rezistentnost grinja-paučinara (Acari: Tetranychidae) na akaricide. *Pesticidi* 18:133–158
- Marčić D (2012) Acaricides in modern management of plant feeding mites. *Journal of Pest Science* 85:395–408
- Marić A, Petrov M, Maširević S (1976) Pojava tolerantnosti kod *C. beticola* Sacc. prema benomilu u Jugoslaviji i mogućnosti suzbijanja ovog parazita. *Zaštita bilja* 27:137–138
- Marriage PB, Warwick SJ (1980) Differential growth and response to atrazine between and within susceptible and resistant biotypes of *Chenopodium album* L. *Weed Res* 20:9–15
- Melander AL (1914) Can insects become resistant to sprays? *Journal of Economic Entomology* 7:167–173
- Miller NJ, Sappington TW (2017) Role of dispersal in resistance evolution and spread. *Current Opinion in Insect Science* 21:68–74
- Mirković B, Tanović B, Hrustić J, Mihajlović M, Stević M, Delibašić G, Vukša P (2015) Toxicity of copper hydroxide, dithianon, fluazinam, tebuconazole and pyraclostrobin to *Didymella applanata* isolates from Serbia. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 50(3):175–183. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03601234.2015.982414/> 11.09.2018
- Michael CRA (2009) Pesticide Use and Exposure Extensive Worldwide. *Rev Environ Health* 24(4)303–309
- Mota-Sanchez D, Bills PS, Whalon ME (2002) Arthropod Resistance to Pesticides: Status and Overview. In: Wheeler WB (ed) *Pesticides in Agriculture and the Environment*, New York: Marcel Dekker Inc, pp 241–272
- McBride JC, McBride AC, Togasaki RT (1977) Isolation of *Chlamidomonas reinhardii* mutans resistant to the herbicide DCMU. *Plant Cell Physiol Photosynthetic Organelles* pp 239–242
- Nandula VK, Ray JD, Ribeiro DN, Pan Z, Reddy KN (2013) Glyphosate resistance in tall waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) from Mississippi is due to both altered target-site and nontarget-site mechanisms. *Weed Science* 61:374–383
- Ng CH, Wickneswari R, Salmijah S, Teng YT, Ismail BS (2003) Gene polymorphisms in glyphosate-resistant and-susceptible biotypes of *Eleusine indica* from Malaysia. *Weed Research (Oxford)* 43:108–115
- Onstad DW, Gassmann AJ (2014) Concepts and Complexities of Population Genetics. In: Onstad DW (ed) *Insect Resistance Management - Biology, Economics and Prediction*, 2nd edition, Amsterdam: Elsevier, pp 149–183
- Page EC, Granger F, Tardif I, Rajcan, M, Laforest M, Nurse RE (2017) A chrono-geographical assessment of Canadian populations of *Conyza canadensis*. *WSSA Proceedings* pp 57:259

- Pavliđi N, Vontas J, Van Leeuwen T (2018) The role of glutathione-S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors. *Current Opinion in Insect Science* 27:97–102
- Perez-Jones A, Park KW, Polge N, Colquhoun J, Mallory-Smith CA (2007) Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. *Planta* 226:395–404
- Perotti VE, Larran AS, Palmieri VE, Martinatto AK, Alvarez CE, Tiesca D, Permingeat HR (2019) A novel triple amino acid substitution in the EPSPS found in a high-level glyphosate-resistant *Amaranthus hybridus* population from Argentina. *Pest Management Science* 75:1242–1251
- Pimentel D (2005) Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability* 7:229–252
- Pittendrigh BR, Margam VM, Walters JrKR, Steele LD, Olds BP, Sun L, Huesing J, Lee SH, Clark JM (2014) Understanding Resistance and Induced Response of Insects to Xenobiotics and Insecticides in the Age of „Omics“ and Systems Biology. In: Onstad DW (ed) *Insect Resistance Management-Biology, Economics and Prediction*, 2nd edition, Amsterdam: Elsevier pp 55–98
- Powles SB, Holtum JAM (1994) *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry*. Lewis Publishers/CRC Press, Boca Raton, Florida
- Powles SB, Preston C, Bryan IB, Jutsum AR (1997) Herbicide resistance: impact and management. *Advances in Agronomy* 58:57–93
- Powles SB, Shaner DL (2001) *Herbicide Resistance and World Grains*. CRC Press, Boca Raton, Florida
- Radosevich SR, Appleby AP (1973) Relative susceptibility of two common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) biotypes to six s-triazines. *Agron J* 65:553–556
- Radosevich SR, De Villiers OT (1976) Studies on the mechanism of s-triazine resistance in common groundsel. *Weed Sci* 24:229–232
- Radosevich SR, Holt JS (1984) *Weed Ecology-Implications for Management*. John Wiley and Sons, New York
- Rayan GF (1970) Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Sci* 18:614–617
- Robert L, Qingui M, Hovard K (2015) What can individuals do to reduce personal health risks from air pollution? *J Thorac Dis* 7(1):96–107
- Rosenheim JA, Tabashnik BE (1990) Evolution of pesticide resistance: interactions between generation time and genetic, ecological, and operational factors. *Journal of Economic Entomology* 83:1184–1193
- Rosenheim JA, Tabashnik BE (1991) Influence of generation time on the rate of response to selection. *American Naturalist* 137:527–541

- Rosenheim JA, Johnson MW, Mau RFL, Welter SC, Tabashnik BE (1996) Biochemical preadaptations, founder events, and the evolution of resistance in arthropods. *Journal of Economic Entomology* 89:263–273
- Roush RT, McKenzie JA (1987) Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annual Review of Entomology* 32:361–380
- Roush RT, Daly JC (1990) The Role of Population Genetics in Resistance Research and Management. In: Roush RT, Tabashnik BE (eds) *Pesticide Resistance in Arthropods*. Boston, Springer pp 97–152
- Roush RT, Tabashnik BE (eds) (1990) *Pesticide Resistance in Arthropods*. Boston, Springer
- Ruppel EG, Scot PR (1974) Strains of *Cercospora beticola* resistant to benomyl in the U.S.A. *Plant Disease Reporter* 58: 434–436. https://www.researchgate.net/publication/227336862_Cercospora_Leaf_Spot_Disease_of_Sugar_Beet/11.09.2018
- Russell PE (2003) Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management. FRAC Monograph No 3. CropLife International, Brussels, pp 56. http://www.frac.info/docs/default-source/publications/monographs/monograph-3.pdf?sfvrsn=62_9d419a_8/10.09.2018
- Roche BF, Muzik JT (1964) Ecological and Physiological study of *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. and the response of its biotypes to sodium 2,2-dichloropropionate. *Agron J* 56:155–160
- Rochecoste E (1962) Studies on the biotypes of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. *Weed Res* 2:136–145
- Saary LL, Cotterman JS, Primiani MM (1990) Mechanism of Sulfonylurea Herbicide Resistance in the Broadleaf Weed, *Kochia scoparia*. *Plant Physiol* 93:5–61
- Santlmann PW, Meadle AJ (1961) Variation in morphological characteristics and dalapon susceptibility within the species *Setaria lutescens* and *S. faberii*. *Weeds* 12:265–267
- Sawicki RM (1987) Definition, Detection and Documentation of Insecticide Resistance. In: Ford MG, Holloman DW, Khambay BPS, Sawicki RM (eds) *Combating Resistance to Xenobiotics: Biological and Chemical Approaches*, Chichester: Ellis Horwood Ltd, pp 105–117
- Sierotzki H, Kraus N, Assemat P, Stanger C, Cleere S, Windass J, Gisi U (2005) Evolution of resistance to QoI fungicides in *Plasmopara viticola* populations in Europe. In: Dehne H-W, Gisi U, Kuck K-H, Russell PE, Lyr H (eds) *Modern fungicides and anti-fungal compounds IV*. PCPS, Alton, UK, pp 73–88
- Silva A, Jander G, Samaniego H, Ramsey J, Figueroa C (2012) Insecticide resistance mechanisms in the green peach aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) I: a transcriptomic survey. *PLoS ONE* 7:e36366
- Simarmata M, Penner D (2008) The basis for glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) from California. *Weed Sci* 56:181–188

- Simpson GG (1953) The major features of evolution. Columbia Univ. Press.
- Smissaert HR (1964) Cholinesterase inhibition in spider mites susceptible and resistant to organophosphates. *Science* 143:129–131
- Souza-Machado V (1982) Inheritance and breeding potential of triazine tolerance and resistance in plants. In: LeBaron HM, Gressel J (eds) *Herbicide Resistance in Plants*. John Wiley & Sons, New York, pp 257–273
- Sparks TC, Nauen R (2015) IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiol* 121:122–128
- Stević M (2010) Osetljivost *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter na DMI i Qol fungicide u Srbiji. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd
- Stević M, Vukša P, Elezović I (2010) Resistance of *Venturia inaequalis* to demethylation inhibiting (DMI) fungicides. *Zemdirbyste-Agriculture* 97(4):65–72. https://www.researchgate.net/publication/299049045_Resistance_of_Venturia_inaequalis_to_demethylation_inhibiting_DMI_fungicides/11.09.2018
- Stević M, Tamaš N, Miletić N, Vukša P (2015) Different toxicity of the strobilurin fungicides kresoxim-methyl and trifloxistrobin to *Venturia inaequalis* isolates from Serbia. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 50(9):633-637. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26079336/> 11.09.2018
- Stević M, Pavlović B, Tanović B (2017) Efficacy of fungicides with different modes of action in raspberry spur blight (*Didymella applanata*) control. *Pesticides & Phytomedicine* 32(1):25-32. https://www.researchgate.net/publication/317712511_Efficacy_of_fungicides_with_different_modes_of_action_in_raspberry_spur_blight_Didymella_applanata_control/18.09.2018
- Scott KR, Putwain PD (1981) Maternal inheritance of simazine resistance in a population of *Senecio vulgaris*. *Weed Research* 21(3-4)137–140
- Tabashnik BE (1990) Modeling and Evaluation of Resistance Management Tactics. In: Roush RT, Tabashnik BE (eds) *Pesticide Resistance in Arthropods*. Boston: Springer, pp 153–182
- Tabashnik BE, Mota-Sanchez D, Whalon ME, Hollingworth RM, Carriere Y (2014) Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. *Journal of Economic Entomology* 107:496–507
- Takano H, Fernandes V, Adegas F, Oliveira R, Westra P, Gaines T, Dayan F (2019) A novel TIPT double mutation in *EPSPS* conferring glyphosate resistance in tetraploid *Bidens subalternans*. *Pest Management Science* 76(1):95–102
- Tanović B Ivanović M (2010) First Report of Occurrence of Benomyl Resistance in *Botrytis cinerea* Isolates on Raspberry in Serbia. *Plant Disease* 94(4):486. 2010. [https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-94-4-486C?](https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-94-4-486C?mobileUi=0/) mobile Ui=0/ 15.09.2018

- Trantel PJ, Wright TR, Heap IM (2020) Mutation in herbicide-resistant to EPTS synthase weeds. Online <https://www.weedscience.com> 5/25/2020
- Trkulja N, Ivanović Z, Popović T, Živković S, Oro V, Dolovac N, Boskovic J (2012) Existence of *Cercospora beticola* isolates resistant to benzimidazole and DMI fungicides in natural populations. International Symposium on Current Trends in Plant Protection, Belgrade 25-28th September. Proceedings, pp 367–372
- Trkulja N, Ivanović Z, Pfaf-Dolovac E, Dolovac N, Mitrović M, Toševski I, Jović J (2013) Characterisation of benzimidazole resistance of *Cercospora beticola* in Serbia using PCR-based detection of resistance-associated mutations of the b-tubulin gene. *Eur J Plant Pathol* 135:889-902
https://www.researchgate.net/publication/257316878_
- Trkulja, N, Pfaf-Dolovac E, Milosavljevic AG, Jović J, Mitrovic M, Tosevski I (2016) First Report of QoI Resistance in *Botrytis cinerea* Isolates Causing Gray Mold in Strawberry Fields in Serbia (News Item). *Plant Disease* 100(1):221
<https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-02-15-0209-PDN/15.09.2018>
- FAOSTAT (2015) Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome
- Faukner JS (1982) Breeding herbicide-tolerant crop cultivars by conventional methods. In: LeBaron HM, Grassel J (eds) *Herbicide Resistance in Plants*. John Wiley and Sons. New York
- Feyereisen R, Dermauw W, Van Leeuwen T (2015) Genotype to phenotype, the molecular and physiological dimensions of resistance to arthropods. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 12:61–77
- Forgash AJ (1984) History, evolution, and consequences of insecticide resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 22:178–186
- Fraaije BA, Burnett FJ, Clark WS, Motteram J, Lucas JA (2005) Resistance development to QoI inhibitors in populations of *Mycosphaerella graminicola* in the UK. In: Dehne HW, Gisi U, Kuck K-H, Russell PE, Lyr H (eds) *Modern fungicides and anti-fungal compounds IV*. BCPC, Alton UK, pp 63–71
- FRAC (2010) Recommendations for fungicide mixtures designed to delay resistance evolution. http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures---january-2010.pdf?sfvrsn=7e9d419a_4/10.09.2010
- FRAC (2018) FRAC code list 1: Fungicides sorted by FRAC code list. http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac_code_list_2018-final.pdf?sfvrsn=6144b9a_2/10.09.2018
- Fuchs A, Drandarevsk CA (1976) The likelihood of development of resistance to systemic fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 82(2):85–87

- Fuerst EP, Norman MA (1991) Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. *Weed Sci* 39:458–464
- Hamilton KS, Tucker H (1964) Response of selected and random plantings of Johnson-grass to dalapon. *Weeds* 12:220–227
- Hammerton JL (1966) Studies on wild species of the genus *Polygonum* L. III Variation in susceptible to 2-(2,4-dichlorophenoxy propionic acid within *P. lapathifolium*. *Weed Res* 6:132–141
- Han H, Yu Q, Widderick M, Powles S (2015) Target-site EPSPS Pro-106 mutations: sufficient to endow glyphosate resistance in polyploid *Echinochloa colona*? *Pest Management Science* : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.4038>
- Hardy NB, Peterson DA, Ross L, Rosenheim JA (2018) Does a plant-eating insect's diet govern the evolution of insecticide resistance? Comparative tests of the pre-adaptation hypothesis. *Evolutionary Applications* 11:739–747
- Harper JL (1956) The evolution of weeds in relation to resistance to herbicides. *Proc Brit Weed Contr Conf* 3:179–188
- Harper JL (1977) *Population Biology of Plants*. Academic Press, London
- Heap I (2019) The International Herbicide-Resistant Weed Database. Online, may 2020. Available www.weedscience.org
- Heidel-Fischer H, Vogel H (2015) Molecular mechanisms of insect adaptation to plant secondary compounds. *Current Opinion in Insect Science* 8:8–14
- Holliday RJ, Putwain PD (1980) Evolution of herbicide resistance in *Senecio vulgaris*, variation in susceptibility to simazine between and within population. *J Appl Ecol* 17:779–782
- Hollingworth RM, Dong K (2008) The Biochemical and Molecular Genetic Basis of Resistance to Pesticides in Arthropods. In: Whalon ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM (eds) *Global Pesticide Resistance in Arthropods*. Wallingford: CABI, pp 40–89
- Holm LG, Pancho JV, Herberger JP, Plucknett DL (1979) *A Geographical Atlas of World Weeds*. John Wiley and Sons, New York
- Holm LG, Yeo R (1981) The biology, control, and utilization of aquatic weeds. Part III. *Weeds Today* 12(1):7–10
- Holt JS, Stemler AJ, Radosevich SD (1981) Differential light responses of photosynthesis by triazine-resistant and triazine-susceptible *Senecio vulgaris* biotypes. *Plant Physiol* 67:744–747
- Hoy MA (1998) Myths, models and mitigation of resistance to pesticides, *Philosophical Transactions of the Royal Society B*: 1787–1795
- Callavo A, Sattin M (2012) Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum* selected in Italian perennial crops: bioevaluation, management and molecular bases of target-site resistance. *Weed Research (Oxford)* 52:16–24

- Carvalho LB, de Alves PL, da CA, González-Torralva F, Cruz-Hipolito HE, Rojano-Delgado AM, Prado R de, Gil-Humanes J, Barro F, Luque de Castro MD (2012) Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60:615–622
- Carvalho FP (2017) Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security* 6:48–60
- Castle SJ, Prabhaker N, Henneberry TJ, Toscano NC (2009) Host plant influence on susceptibility of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) to insecticides. *Bulletin of Entomological Research* 99:263–273
- Casida JE (2009) Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. *Chemical Research in Toxicology* 22:609–619
- Croft BA, Van de Baan HE (1988) Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. *Experimental and Applied Acarology* 4:277–300
- Croft BA (1990) Developing a Philosophy and Program of Pesticide Resistance Management. In: Roush RT, Tabashnik BE (eds) *Pesticide Resistance in Arthropods*. Boston: Springer, pp 277–296
- Chen JH, Huang C, Zhang S, Wei Z, Huang J, Chen Z, Wang X (2015) Mutations and amplification of *EPSPS* gene confer resistance to glyphosate in goosegrass (*Eleusine indica*). *Planta* 242:859–868
- Wakelin AM, Preston C (2006) A target-site mutation is present in a glyphosate resistant *Lolium rigidum* population. *Weed Res* 46:432–440
- Wang X, Puinean AM, O'Reilly AO, Williamson MS, Smelt CLC, Millar NS, Wu Y (2017) Mutations on M3 helix of *Plutella xylostella* glutamate-gated chloride channel confer unequal resistance to abamectin by two different mechanisms. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 86:50–57
- World Health Organization (WHO) (1957) Expert Committee on Malaria, Seventh Report, WHO Technical Report Series No. 125, Geneva: WHO
- Whalon ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM (2008) Analysis of Global Pesticide Resistance in Arthropods. In: Whalon ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM (eds) *Global Pesticide Resistance in Arthropods*. Wallingford: CABI, pp 5–31
- Whitehead CV, Switzer MC (1963) The differential response of strains of wild carrot to 2,4-D and related herbicides. *Canad J Plant Sci* 43:255–262
- Wybow N, Kosterlitz O, Kurlovs AH, Bajda S, Greenhalgh R, Snoeck S (2019) Long-term population studies uncover the genome structure and genetic basis of xenobiotic and host plant adaptation in the herbivore *Tetranychus urticae*. *Genetics* 211:1409–1427
- Yu Q, Cairns A, Powles S (2007a) Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. *Planta* 225:499–513

- Yu Q, Nelson JK, Zheng MQ, Jackson M, Powles SB (2007) Molecular characterisation of resistance to ALS-inhibiting herbicides in *Hordeum leporinum* biotypes. *Pest Management Science* 63:918–927
- Yu Q, Jalaludin A, Han H, Chen M, Sammons RD, Powles S (2015) Evolution of a Double Acid Substitution in the 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase in *Eleusine indica* Conferring High-Level Glyphosate Resistance. *Plant Physiology* 167:1440–1447
- Yuan JS, Tranel PJ, Stewart CN Jr (2007) Non-target-site herbicide resistance: a family business. *Trends Plant Sci* 12:6–13

Plant protection and resistance of harmful organisms

Vaskrsija Janjić, Siniša Mitrić, Dejan Marčić, Milan Stević

Summary

Cultivated plants are attacked and used as food by about 67.000 species of harmful organisms. Of that number, 900 species are insects and mites, 50.000 species are pathogenic microorganisms and 8.000 species are weed plants. In the countries with the intensive agricultural production it is considered that phytopathogenic microorganisms, harmful insects and weed decrease the yield for about 30%, whereas this reduction is more than 50% in countries with extensive production. Every year harmful organisms decrease the production of food which would be sufficient for nutrition of almost billion of people or the same amount of food which would be necessary to overcome the hunger in the world. The modern agrotechnical operations which are used in intensive production such as: monoculture, perfect preparation of the soil for planting, irrigation, fertilization, pruning, cultivating the high-yield species, cultivating in the inner space, mechanical harvesting and picking, storage in silos and many other measures and procedures which are used at cultivating of some species contribute greatly to creation of conditions for the optimal development of the harmful organisms. Nowadays, great and current problem has been the resistance of many harmful biological agents which regularly occur and which have been treated for decades by the same pesticide preparations they are now resistant to. Resistance of harmful organisms to the pesticides causes the wide range of problems and some of them are the following ones: for destruction of resistant biotypes of particular harmful organisms depending on the degree of resistance it is necessary to use multiple larger amounts of the pesticides than it is necessary when this phenomenon is not developed, because of use of the pesticides in the larger amounts per the area unit there is greater contamination of the environment and more expressive harmful consequences for the natural balance and at the end the increased use of pesticides per area unit due to achieving satisfactory efficiency causes the price increase of the production and reduction of the economical profitability of the pesticide use. This problem is not obvious only in our country, but it is present as even larger problem in the countries with the intensive agricultural production. Due to the massive resistance and decreased efficiency of existing and already used pesticides it is necessary to find out new pesticides with

specific and different mechanism of impact and huge resources, special chemicals and highly educated staff is necessary for their discovery, synthesis, testing, semi-industrial and industrial production. Mankind faced this problem in its sharp form during the last decades of the last century particularly in the developed countries.

Key words: Plant protection, pesticides, weed plants, arthropods, mushrooms, resistance, harmful organisms