

# ZAŠTITA BILJA PLANT PROTECTION





INSTITUT ZA ZAŠTITU BILJA I ŽIVOTNU SREDINU - BEOGRAD  
INSTITUTE FOR PLANT PROTECTION AND ENVIRONMENT - BELGRADE

# **ZAŠTITA BILJA PLANT PROTECTION**

Časopis „Zaštita bilja“ izdaje Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd.  
„Zaštita bilja“ izlazi godišnje u jednom volumenu od četiri pojedinačna broja.

---

„Plant Protection“ journal is published by the Institute  
for Plant Protection and Environment, Belgrade.  
The journal is published annually in one volume containing four issues.

---

**Godišnja pretplata:** za privatna lica u Srbiji 2.500,00 dinara, za ustanove i preduzeća u Srbiji, 3.500,00 dinara. Za pojedince u inostranstvu 40 USD, za preduzeća i ustanove u inostranstvu 80 USD.

**Subscription – Individuals:** 2.500,00 din. per year. Companies, institutions: 3.500,00 din. Per year, in Serbia. Individuals: 40 USD per year. Companies, institutions: 80 USD per year, for abroad.

Svu prepisku i pretplate slati na adresu izdavača sa naznakom (ČASOPIS).

All correspondance and subscription orders should be addressed to publisher (FOR JURNALS).

---

Uredništvo i administracija:  
Editorial and Business staff:

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu,  
Institute for Plant Protection and Environment,  
Teodora Dražzera 9, 11040 Beograd – Belgrade  
Srbija – Serbia

---

Post office box 33-79

**Telefon:** +381 11 2660-049, 2660-049, 2663-672

Fax: +381 11 2669-860



*D. brassicae* - larve u ljuskama  
*D. brassicae* - larvae in pod (*D. Graora*)

### **Glavni i odgovorni urednik – Editor in Chief**

Dr Nenad Dolovac, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu

---

### **Urednici – Editors**

Dr Milana Mitrović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu  
Dr Danijela Pavlović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu  
Dr Slobodan Kuzmanović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu

---

### **Redakcioni odbor – Editorial Board**

Prof. dr Radmila Petanović, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet, Beograd  
Dr Ivo Toševski, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Dr Tatjana Cvrković, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Dr Milana Mitrović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Dr Sanja Radonjić, Univerzitet Crne Gore – Biotehnički fakultet, Podgorica  
Prof. dr. Snježana Hrnčić, Univerzitet Crne Gore – Biotehnički fakultet, Podgorica  
Prof. dr Albert Fischer, University of California, Department of Plant Sciences  
Dr Danijela Pavlović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Dr Dragana Marisavljević, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Prof. dr Branka Krstić, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet, Beograd  
Prof. dr Aleksandra Bulajić, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet, Beograd  
Dr Slobodan Kuzmanović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Dr Tatjana Popović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Dr Svetlana Živković, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Dr Žarko Ivanović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Dr Violeta Oro, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
Dr Emil Rekanović, Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd  
Prof. dr Ljubinko Jovanović, Educons Univerzitet, Fakultet za Ekološku Poljoprivredu, S. Kamenica

---

## SADRŽAJ

### Naučni radovi

- Irena Krga, Danijela Pavlović, Ana Anđelković, Sanja Đurović, Dragana Marisavljević*  
OTPORNOST KOROVSKIH POPULACIJA U VOĆNJACIMA NA GLIFOSAT.....125-133
- Miljana Jakovljević, Andrea Kosovac, Oliver Krstić,  
Milana Mitrović, Jelena Jović, Ivo Toševski, Tatjana Cvrković*  
DIVERZITET FAUNE CIKADA PODFAMILIJE DELTOCEPHALINAE  
U AGROEKOSISTEMIMA SRBIJE I POTENCIJALNI VEKTORI FITOPLAZMI.....134-143
- Draga Graora, Ivan Sivčev, Lazar Sivčev, Wolfgang Büchs,  
Vladimir Tomić, Boris Dudić, Tanja Gotlin - Čuljak*  
BROJNOST I ŠTETNOST *DASINEURA BRASSICAE* (WINN.)  
U RAZLIČITIM SISTEMIMA GAJENJA ULJANE REPICE.....144-153
- Dragana Božić, Sava Vrbničanin, Danijela Pavlović,  
Ana Anđelković, Marija Sarić-Krsmanović*  
UTICAJ RAZLIČITIH TEMPERATURA NA  
KLIJANJE SEMENA *AVENA FATUA* L. I *AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA* L.....154-161
- Mladen Đorđević, Nenad Dolovac, Marija Ivanović,  
Jelena Damnjanović, Bogoljub Zečević*  
EFFECTIVENES OF ESSENTIAL OILS IN CONTROL OF  
*VERTICILLIUM DAHLIAE* IN VITRO.....162-168

## CONTENTS

### Scientific papers

- Irena Krga, Danijela Pavlović, Ana Anđelković, Sanja Đurović, Dragana Marisavljević*  
THE RESISTANCE OF ORCHARD WEED POPULATIONS TO GLYPHOSATE.....125-133
- Miljana Jakovljević, Andrea Kosovac, Oliver Krstić,  
Milana Mitrović, Jelena Jović, Ivo Toševski, Tatjana Cvrković*  
DIVERSITY OF AUCHENORRHYNCHA SPECIES OF SUBFAMILY DELTOCEPHALINAE  
IN SERBIAN AGROECOSYSTEMS AND POTENTIAL PHYTOPLASMA VECTORS .....134-143
- Draga Graora, Ivan Sivčev, Lazar Sivčev, Wolfgang Büchs,  
Vladimir Tomić, Boris Dudić, Tanja Gotlin - Čuljak*  
THE NUMBER AND HARMFULNESS OF DASINEURA BRASSICAE (WINN.)  
IN DIFFERENT OILSEED RAPE MANAGEMENT SYSTEMS.....144-153
- Dragana Božić, Sava Vrbničanin, Danijela Pavlović,  
Ana Anđelković, Marija Sarić-Krsmanović*  
INFLUENCE OF DIFFERENT TEMPERATURES ON GERMINATION OF WILD OAT  
(*AVENA FATUA* L.) AND COMMON RAGWEED (*AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA* L.).....154-161
- Mladen Đorđević, Nenad Dolovac, Marija Ivanović,  
Jelena Damnjanović, Bogoljub Zečević*  
EFIKASNOST ETERIČNIH ULJA U SUZBIJANJU *VERTICILLIUM DAHLIAE*  
PATOGENA PARADAJZA *IN VITRO*.....162-168





## OTPORNOST KOROVSKIH POPULACIJA U VOĆNJACIMA NA GLIFOSAT

IRENA KRGA<sup>1</sup>, DANIJELA PAVLOVIĆ<sup>2</sup>, ANA ANĐELKOVIĆ<sup>3</sup>, SANJA ĐUROVIĆ<sup>2</sup>,  
DRAGANA MARISAVLJEVIĆ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd

<sup>2</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd,

<sup>3</sup>Stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije  
e-mail: dulekaca@yahoo.com

### REZIME

Danas, u Svetu i kod nas, za suzbijanje korova u voćnjacima najviše se koriste herbicidi na bazi glifosata, glufosinat-amonijuma, dikvata i drugi. Intenzivna primena glifosata uticala je na pojavu rezistentnih korovskih vrsta što za posledicu ima smanjenu efikasnost. U našoj zemlji površine pod voćnim zasadima iznose 224 hiljade hektara što svakako ukazuje na veliku upotrebu herbicida i mogućnost da je došlo do razvoja rezistentnih populacija korova. Zbog toga su sakupljana semena nekoliko korovskih vrsta sa površina gde je bila višegodišnja intenzivna primena glifosata u voćnjacima (Indija, Brestovac, Šabac, Vršac, Sombor, Glogonjski Rit, Padinska Skela, Kosančić i Surčin). Biljke su gajene u kontrolisanim uslovima i na otvorenom polju. Biljni materijal je nakon uzorkovanja usitnjen u tečnom azotu i ekstrakcija šikiminske kiseline je urađena pomoću hlorovodonične kiseline (1 g biljnog materijala + 5 ml 1M HCL). Nakon 24 h očitavan je sadržaj šikiminske kiseline na tečnom hromatografu (HPLC). Analiza dobijenih rezultata je pokazala da su vrste *Amaranthus retroflexus* (lok. Šabac), *Abutilon theophrasti* (lok. Brestovac) i korovski *Helianthus annuus* (lok. G. Rit) razvile određeni stepen rezistentnosti prema glifosatu.

**Cljučne reči:** korovi, rezistentnost, šikiminska kiselina, voćnjak

### UVOD

Prisustvo korova u voćnjacima može uticati na rast stabala, početak i intenzitet cvetanja, prinos i kvalitet voća, kao i otpornost biljaka na niske zimske temperature (Majek i sar., 1993). Isti autori navode da je jako mali broj biljaka *Amaranthus hybridus* (2 biljke na 0,9 m<sup>2</sup>) uticao na rast voćaka i njihovo plodonošenje. Zbog toga se obavlja monitoring korovskih populacija i definiše strategija za njihovu kontrolu. Brza i blagovremena detekcija neefikasnog delovanja herbicida ključni je faktor da se izbegne finansijski problem (Burgos i sar., 2013). Danas, kao i mnogo decenija unazad u Svetu i kod nas, za suzbijanje korova u voćnjacima najviše se koriste herbicidi na bazi glifosata, parakvata, oksifluorfena, dikvata i drugi. Glifosat je neselektivni herbicid, širokog spektra delovanja, koji se primenjuje globalno, usled velike efikasnosti i ekonomičnosti u kontroli širokog spektra korova u razno-

vršnim poljoprivrednim uslovima (Baylis, 2000). Ovaj herbicid je, od momenta uvođenja u poljoprivredu od strane Monsanta 70-ih godina prošlog veka, transformisao poljoprivrednu proizvodnju (Baylis, 2000). Tokom prvih godina upotrebe nije bilo registrovanih slučajeva rezistentnosti i smatralo se malo verovatnim da će doći do evolucije vrsta rezistentnih na ovaj herbicid (Bradshaw i sar., 1997), međutim usled intenzivne primene glifosata došlo je do razvoja rezistentnosti kod nekoliko korovskih vrsta (Koger i sar., 2004). Danas je širom sveta registrovano više od 20 takvih vrsta (Heap, 2013). Većina registrovanih rezistentnih korovskih populacija razvila se u voćnjacima ili vinogradima i usevima tolerantnim na glifosat (Sansom i sar., 2013). Danas se smatra da je vrsta *Conyza canadensis* najšire rasprostranjena rezistentna vrsta sa registrovanim rezistentnim populacijama u Brazilu, Kini, Španiji i Češkoj (Nol i sar., 2012; Heap, 2013). Smanjena efikasnost glifosata na ovu vrstu u uslovima

voćnjaka zabeležena je u Grčkoj (Giannopolitis i sar., 2008). Prema nekim istraživanjima smatra se da su svi zabeleženi slučajevi rezistencije korovskih vrsta roda *Conyza* (*Conyza bonariensis* i *Conyza sumatrensis*) bili registrovani u uslovima voćnjaka i vinograda. Do razvoja rezistentnosti je došlo usled upotrebe suboptimalnih doza glifosata, neadekvatnog vremena primene i loše tehnike primene herbicida (Sansom i sar., 2013). U našoj zemlji proizvodnja voća je značajna jer postoje izvanredne mogućnosti za uspevanje gotovo svih voćnih vrsta. Površine pod voćnim zasadima iznose 224 hiljade hektara što svakako ukazuje na veliku upotrebu herbicida. Prema podacima Ministarstva poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstava RS za 2008. godinu, od ukupno uvezene količine herbicida (177,47 t) na glifosat otpada preko 20% (40 t) (www.mpt.gov.rs). Glifosat ostvaruje dejstvo na korove tako što inhibira biosintezu aromatičnih amino kiselina, time dovodeći do nekoliko metaboličkih poremećaja u funkcionisanju biljke (inhibicija proteinske aktivnosti i biosinteze sekundarnih produkata metabolizma) (Franz i sar., 1997) i narušava „put“ šikiminske kiseline (Duke i sar., 2003). Primarno mesto delovanja je enzim 5-enolpiruvilšikimat-3-fosfat sintaze (EPSPS) (*Steinrucken i Amrhein, 1980*). Ovaj enzim je uključen u biosintezu aromatičnih amino kiselina (triptofan, fenilalanin i tirozin) preko „puta“ šikiminske kiseline (Gressel, 2002). Uočeno je da kod osetljivih biljaka usled inhibicije EPSP sintaze glifosatom dolazi do uvećanja sadržaja šikiminske kiseline (Franz i sar., 1997; Hollander-Czytlo i Amrhein, 1983; Mollenhauer i sar., 1987; Lydon i Duke, 1988) što omogućava brzu detekciju rezistentnih vrsta korova na glifosat (Feng i sar., 2004; Koger i Reddy, 2005; Mueller i sar., 2003).

Cilj ovih istraživanja je bio da se proverí efikasnost glifosata u suzbijanju nekih korovskih vrsta u voćnjacima na teritoriji Srbije. Dobijeni odgovori o prisustvu rezistentnih korova putem brze i pouzdane metode mogu olakšati strategiju borbe sa prisutnim korovskim vrstama u voćnjacima.

## MATERIJAL I METODE

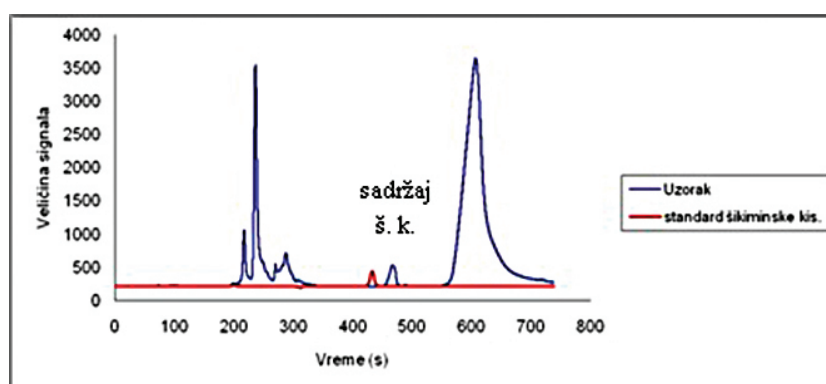
Seme korova (*Amaranthus retroflexus*, *Abutilon theophrasti*, *Ambrosia artemisiifolia*, *A. trifida*, *Avena fatua*, *Helianthus annuus* var. *ruderalis* i *Sorghum halepense*) je sakupljano u periodu Septembar-Oktobar 2010-2012 god. u voćnjacima, na teritoriji Srbije, sa dugom istorijom primene herbicida na bazi glifosata. Seme je do analize čuvano na temperaturi  $T=10-15^{\circ}\text{C}$ . Eksperimenti su urađeni u kontrolisanim uslovima u laboratoriji i delom na otvorenom prostoru (uslovi polja). Seme je sejano u saksije zapremine 0,5 L i čuvano u fitotronu (fotoperiod  $12^{\text{h}}/12^{\text{h}}$ , temperatu-

ra  $24^{\circ}\text{C}$ , vlažnost 60 %) do pojave klijanaca. Biljke su nakon toga čuvane na otvorenom prostoru i zalivane po potrebi. Primena herbicida Glifosav 480 SL (aktivna materija: glifosat,  $480\text{ g L}^{-1}$ ) u količini od  $4\text{ L ha}^{-1}$  je urađena kada su širokolisni korovi bili u fazi 4-6 listova, odnosno travni visine 15-20 cm. Uzorkovanje biljnog materijala (5 biljaka po tretmanu od svake biljne vrste) je obavljeno 2, 4 i 6 dana posle primene (DPP) herbicida. Biljni materijal je čuvan u zamrzivaču ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) do analize sadržaja šikiminske kiseline. Sadržaj šikiminske kiseline je određivan prema metodi Mueller i sar., 2003. Biljni materijal je usitnjen u tečnom azotu pomoću tučka i avana. Usitnjenom materijalu u količini 1 g je dodavana hlorovodonična kiselina 5 ml 1M HCL i mućkan je na šejkeru (100 rpm) 24 h. Nakon ekstrakcije šikiminske kiseline uzorci su profiltrirani i rastvoru je podešena pH vrednost na 3-3,5 sa 1M i 0,05M NaOH. Uzorcima (5 ml) je dodavan acetonitril (1 ml), urađeno je filtriranje na filteru od  $4,5\text{ }\mu\text{m}$  i filtrat je čuvan u frižideru na  $4^{\circ}\text{C}$  do analize. Merenje sadržaja šikiminske kiseline je urađeno na tečnom hromatografu HPLC (Hewlett Packard 1050 series, DAD (Diode Arrey Detector), Luna- NH2 kolona prečnika  $5\text{ }\mu\text{m}$ , protok  $1\text{ ml min}^{-1}$ ). Na osnovu dobijenih hromatograma tj. vrednosti površine i visine pika standarda šikiminske kiseline i ispitivanih uzoraka, izračunate su vrednosti ove kiseline u svakom uzorku i izražene u ppm (Grafik 1).

## REZULTATI I DISKUSIJA

Analiza dobijenih rezultata je pokazala da su populacije vrsta *A. retroflexus* (sa lok. Šabac), *Abutilon theophrasti* (sa lok. Brestovac) i korovskog *H. annuus* (sa lok. Glogonjski Rit) ispoljile izvesnu otpornost prema glifosatu. Uočen je trend blagog variranja i porasta sadržaja šikiminske kiseline, međutim vrednosti nisu bile mnogo veće od izmerenih u netretiranim biljkama. Analiza varijanse je potvrdila da se izmereni sadržaj šikiminske kiseline 6 DPP nije statistički značajno razlikovao od sadržaja izmerenog u kontrolnim biljkama (Tabela 1).

Konstatovana variranja 2 i 4 DPP (kod *A. retroflexus* 2 DPP 10.35 ppm i 4 DPP 16.093 ppm; kod *A. theophrasti* 2 DPP 3.121 ppm i 4 DPP 3.423 ppm i kod *H. annuus* 2 DPP 21.161 ppm i 4 DPP 12.697 ppm) ukazuju da su tretirane biljke pretrpele izvestan šok nakon primene herbicida ali su se aktiviranjem odbrambenih mehanizama oporavile (Grafik 2, 3 i 5). Nekada biljke reaguju tako što trenutno uvećaju količinu EPSPS ili pojačaju njenu aktivnost (Baerson i sar., 2002; Feng i sar., 1999). Takođe, ova trenutna slabost biljaka se može dovesti u vezu sa činjenicom da pored rezistentne forme EPSPS enzima u biljci je



**Grafikon 1.** Hromatogram šikiminske kiseline, standard i uzorak.  
**Graph 1.** Chromatogram of shikimic acid, standard and sample.

**Tabela 1.** Značajnost razlika u sadržaju šikiminske kiseline između kontrolnih i tretiranih biljaka korova nakon primene glifosata (LSD test).

**Table 1.** The significance of differences in the content of shikimic acid between control and treated weed plants after glyphosate treatment (LSD test).

| Korovi<br>Weeds                                   | Lokalitet<br>Locality | Nivo statističke značajnosti razlika<br>The level of statistically significant differences |             |             |
|---|-----------------------|--|-------------|-------------|
|   |                       | K-2 DPP  | K-4 DPP     | K-6 DPP     |
| <i>Amaranthus retroflexus</i>                     | Šabac                 | 0.00000***   | 0.00001***  | 0.324NS     |
| <i>Amaranthus retroflexus</i>                     | Indija                | 0.023**  | 0.0001***   | 0.0000***   |
| <i>Abutilon theophrasti</i>                       | Brestovac             | 0.041*   | 0.022*      | 0.315NS     |
| <i>Abutilon theophrasti</i>                       | Glogonjski Rit        | 0.0038***  | 0.021*      | 0.00077***  |
| <i>Helianthus annuus</i> var.<br><i>ruderalis</i> | Glogonjski Rit        | 0.011**  | 0.000035*** | 0.051NS     |
| <i>Ambrosia artemisiifolia</i>                    | Glogonjski Rit        | 0.00018***   | 0.852NS     | 0.0000***   |
| <i>Ambrosia trifida</i>                           | Kosančić              | 0.155NS  | 0.0003***   | 0.00004***  |
| <i>Avena fatua</i>                                | Radmilovac            | 0.000064***  | 0.001***    | 0.0000***   |
| <i>Sorghum halepense</i>                          | Padinska Skela        | 0.000001***  | 0.000003*** | 0.000001*** |

DPP-dani nakon tretmana; NS-razlike nisu statistički značajne;  $p < 0,05^*$ ;  $p < 0,01^{**}$ ;  $p < 0,001^{***}$ ; LSD test  
 DPP- days after treatment; NS-differences are not statistically significant;  $p < 0,05^*$ ;  $p < 0,01^{**}$ ;  $p < 0,001^{***}$ ; LSD test

prisutna i izvesna količina osetljive forme (Bourque i sar., 2002) ili je možda došlo do „parcijalnog isključivanja glifosata“ iz plastida čime se smanjuje njegov efekat na EPSPS (Feng i sar., 2004). Baerson i saradnici (2002) su izmereni visok početni nivo šikiminske kiseline kod biljaka *L. rigidum* (10x veći nego kod kontrole) objasnili pojačanom aktivnošću biljke da prevaziđe stanje stresa nastalo primenom glifosata.

Blaga tendencija nakupljanja šikiminske kiseline ( $b=0,073$ ) kod biljaka vrste *H. annuus* nam uka-

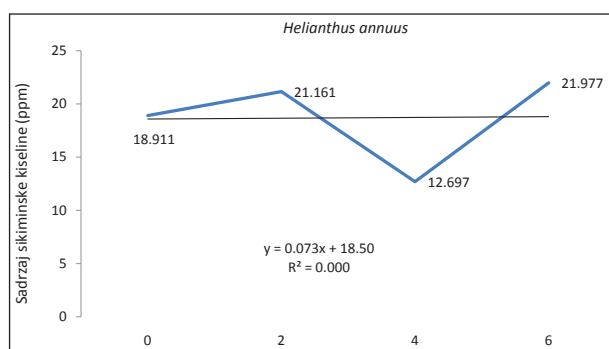
zuje na rezistentnost ove vrste prema glifosatu. Takođe, činjenica da nema statistički značajnih razlika u sadržaju šikiminske kiseline između tretiranih biljaka (6 DPP) i kontrole potvrđuje rezistentnost ove vrste (Grafik 2; Tabela 1).

Kod populacije *A. retroflexus* sa lokaliteta Indija uočava se osetljivost na glifosat, jer je sadržaj šikiminske kiseline u funkciji vremena pokazao jasnu tendenciju nakupljanja (Grafik 4).

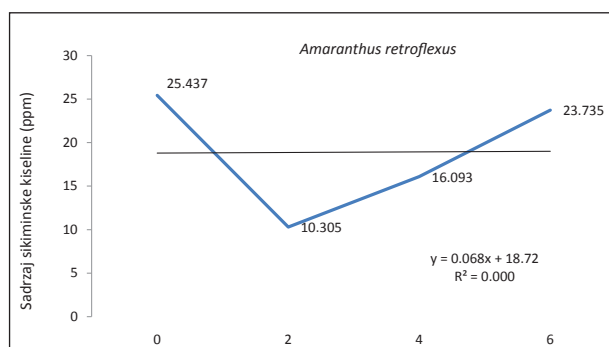
Takav trend je konstatovan i kod populacije *A. theophrasti* sa lokaliteta Glogonjski Rit (Grafik 6).



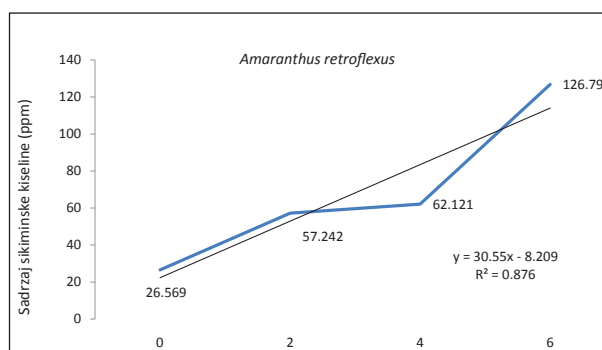
**Slika 1.** Ogled sa biljkama *A. fatua*.  
**Figure 1.** Experiment with *A. fatua* plants.



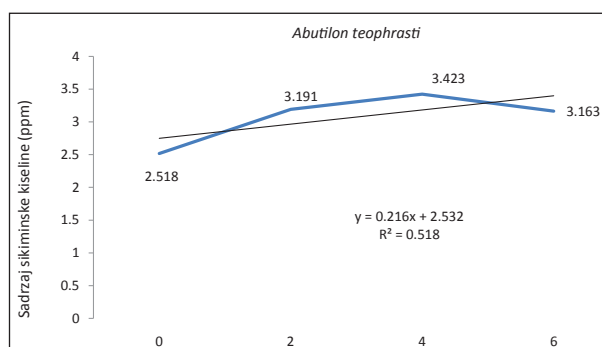
**Grafikon 2.** Sadržaj šikiminske kiseline posle primene 4L ha<sup>-1</sup> glifosata kod *H. annuus* (lok. G. Rit).  
**Graph 2.** Shikimate content after 4 L ha<sup>-1</sup> glyphosate of *H. annuus* (loc. G. Rit).



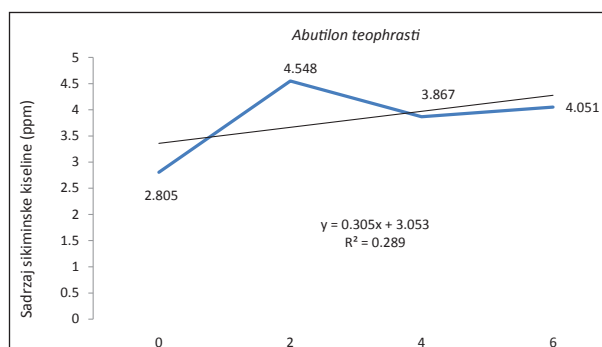
**Grafikon 3.** Sadržaj šikiminske kiseline posle primene 4 L ha<sup>-1</sup> glifosata kod *A. retroflexus* (lok. Šabac).  
**Graph 3.** Shikimate content after 4 L ha<sup>-1</sup> glyphosate of *A. retroflexus* (loc. Šabac).



**Grafikon 4.** Sadržaj šikiminske kiseline posle primene 4 L ha<sup>-1</sup> glifosata kod *A. retroflexus* (lok. Indija).  
**Graph 4.** Shikimate content after 4 L ha<sup>-1</sup> glyphosate of *A. retroflexus* (loc. Indija).



**Grafikon 5.** Sadržaj šikiminske kiseline posle primene 4 L ha<sup>-1</sup> glifosata kod *A. theophrasti* (lok. Brestovac).  
**Graph 5.** Shikimate content after 4 L ha<sup>-1</sup> glyphosate of *A. theophrasti* (loc. Brestovac).



**Grafikon 6.** Sadržaj šikiminske kiseline posle primene 4 L ha<sup>-1</sup> glifosata kod *A. theophrasti* (lok. G. Rit).  
**Graph 6.** Shikimate content after 4 L ha<sup>-1</sup> glyphosate of *A. theophrasti* (loc. G. Rit).

U toku prvih šest dana nakon primene glifosata uočena je tendencija porasta sadržaja u odnosu na kontrolu ( $b=0,305$ ), pri čemu je maksimum (4.548 ppm) zabeležen već drugog dana nakon primene herbicida (Grafik 6). Ovakav trend reakcije biljaka na primenu glifosata ukazuje da su biljke pokušale da prežive stres aktivnim metabolizmom, pa je četvrtog dana nakon primene herbicida uočen određeni pad (3.867 ppm) u sadržaju šikiminske kiseline u odnosu na prethodno merenje (2 DPP). Međutim, šestog dana nakon primene glifosata uočen je ponovni rast sadržaja (4.051 ppm) šikiminske kiseline, koji ukazuje na to da je ispitivana populacija osetljiva na glifosat.

Sadržaj šikiminske kiseline u tretiranim biljkama *A. artemisiifolia* tokom vremena ispitivanja takođe pokazuje trend rasta, kao i izraženu osetljivost biljaka na glifosat (Grafik 7). Sadržaj šikiminske kiseline izmeren drugog dana je bio 1.9x, četvrtog 1.1x i šestog dana 3.4x veći nakon primene glifosata u poređenju sa vrednostima izmerenim u kontroli. Smanjenje u koncentraciji šikiminske kiseline u biljkama 4 DPP (128.567 ppm) ukazuje na pokušaj biljaka da se vrata u normalno stanje nakon stresa izazvanog primenom herbicida. Međutim, vrednosti sadržaja kiseline u biljkama 6 DPP (395.822 ppm), pokazuju da one u tome nisu uspele. Obrada podataka analizom varijanse potvrđuje statistički značajne razlike u sadržaju šikiminske kiseline između kontrole i tretiranih biljaka 6 DPP (Tabela 1). Činjenica da se biosinteza aromatičnih aminokiselina odvija preko puta šikiminske kiseline (Gressel, 2002) i da bez njih nema sinteze belančevina (Devine i sar., 1993), odnosno rasta biljaka objašnjava zašto su biljke *A. artemisiifolia* i *A. trifida* propale 17 dana nakon primene glifosata. Nakupljena šikiminska kiselina ukazuje na to da se glifosat vezao za enzim EPSPS i da je zbog toga došlo do nakupljanja šikiminske kiseline.

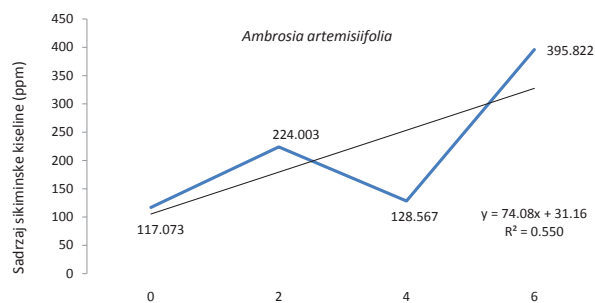
Kod vrste *A. trifida* promene u sadržaju šikiminske kiseline su bile još izraženije ( $b=287,3$ ), tako da je izmereni sadržaj šestog dana bio 18,7x veći (Grafik 8). Maksimalni sadržaj šikiminske kiseline kod obe vrste je zabeležen šestog dana nakon primene glifosata (395.822 ppm, odnosno 893.667 ppm).

Kod ispitivanih travnih vrsta postoji jasna tendencija nakupljnja šikiminske kiseline (Grafik 9 i 10). Konstatovana variranja količine šikiminske kiseline uočena 4 DPP kod *A. fatua* (izmere-

ni sadržaj 10.845 ppm) i 2 DPP kod *S. halepense* (izmereni sadržaj 98.241 ppm) opet potvrđuju činjenicu da biljka putem metabolizma ili drugih mehanizama pokušava da prevaziđe stanje stresa nastalo primenom herbicida. Međutim, značajno visok sadržaj šikiminske kiseline kod obe ispitivane vrste šestog dana posle primene glifosata (3x kod *A. fatua* (Slika 1) i 1.97x veći sadržaj kod *S. halepense* u odnosu na kontrolu) potvrđuje njihovu osetljivost na glifosat.

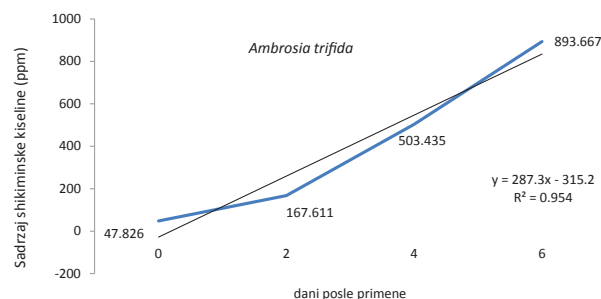
Brojni faktori mogu uticati na sadržaj šikiminske kiseline: veličina lisne površine (Shaner i sar., 2005), vreme uzorkovanja (Henry i sar., 2005), fenofaza razvoja biljaka (Dinelli i sar., 2006), ali isto tako njen sadržaj ne zavisi od toga da li je biljka rezistentna ili osetljiva na herbicid (Pavlović, 2010), da li je tkivo zelene ili braon (nekrotirano) boje (Singh i Shaner, 1998), starosti biljaka (Singh i Shaner, 1998) i drugih uticaja. Henry i saradnici (2007) su ukazali na činjenicu da je sadržaj šikiminske kiseline u korelaciji sa veličinom lisne površine. U vezi sa ovim oni su potvrdili veći sadržaj šikiminske kiseline posle primene glifosata u tkivu biljaka suncokreta nasuprot sadržaju izmerenom u tkivu pšenice i prosa. U našim eksperimentima ova činjenica nije potvrđena.

Glifosat je sporo-aktivan herbicid, što znači da je potrebno više dana dok se ne pojave prvi simptomi, a biljka propada tek za 10–20 dana. Vizuelni simptomi oštećenja mogu biti veoma slični simptomima nastalim usled delovanja herbicida iz grupe Acetil CoA karboksilaze i Acetolaktat sintetaze (Singh i Shaner, 1998). Upravo zbog ovih činjenica, primena metode merenja sadržaja šikiminske kiseline omogućava brzo utvrđivanje rezistentnosti korova na glifosat, odnosno ocenu efikasnosti primenjenog glifosata i dobru strategiju dalje kontrole korova. Suzbijanje korova u voćnjacima je značajan korak za dobru i efikasnu proizvodnju, jer su korovi domaćini brojnim patogenima, utiču na mikroklimu u zasadima, konkurenti su voćkama za hranljive materije i drugo (Welker i Glen, 1988, 1990; Belding i sar., 2004; Miller, 1983) te je zbog toga važan ozbiljan pristup menadžmentu o korovima. Zbog široke primene glifosata u otpornim usevima (GMO), voćnjacima, vinogradima, strništu i nepoljoprivrednim površinama i njegove dobre efikasnosti u primeni na širok spektar korova, treba ga sačuvati (Padgett i sar., 1996; Powles i Preston, 2006).



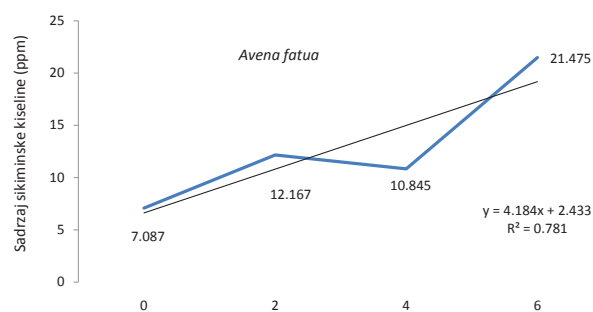
**Grafikon 7.** Sadržaj šikiminske kiseline posle primene 4 L ha<sup>-1</sup> glifosata kod *A. artemisiifolia* (lok. G. Rit).

**Graph 7.** Shikimate content after 4 L ha<sup>-1</sup> glyphosate of *A. artemisiifolia* (loc. G. Rit).



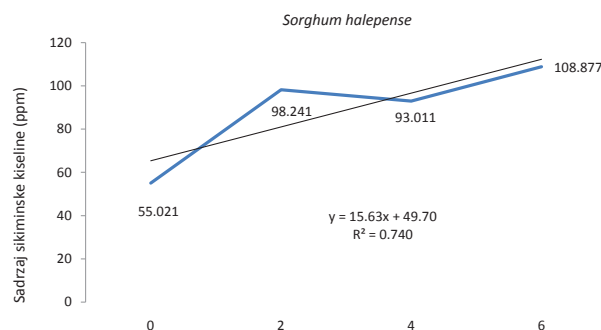
**Grafikon 8.** Sadržaj šikiminske kiseline posle primene 4 L ha<sup>-1</sup> glifosata kod *A. trifida* (lok. Kosačić).

**Graph 8.** Shikimate content after 4 L ha<sup>-1</sup> glyphosate of *A. trifida* (loc. Kosačić).



**Grafikon 9.** Sadržaj šikiminske kiseline posle primene 4 L ha<sup>-1</sup> glifosata kod *A. fatua* (lok. Radmilovac).

**Graph 9.** Shikimate content after 4 L ha<sup>-1</sup> glyphosate of *A. fatua* (loc. Radmilovac).



**Grafikon 10.** Sadržaj šikiminske kiseline posle primene 4 L ha<sup>-1</sup> glifosata kod *S. halepense* (lok. Padinska Skela).

**Graph 10.** Shikimate content after 4 L ha<sup>-1</sup> glyphosate of *S. halepense* (loc. Padinska Skela).

## ZAHVALNICA

Zahvaljujemo se Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS na finansijskoj podršci prilikom izvođenja ovih istraživanja (Projekat TR 31018).

## LITERATURA

Baylis, A.D. (2000): Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. *Pest. Manag. Sci.*, 56: 299–308.

Bradshaw, L.D., Padgett, S.R., Kimball, S.L., Wells, B.H. (1997): Perspectives on glyphosate resistance. *Weed Technol.*, 11: 189–198.

Belding, D.R., Majek, A.B., Lokaj, R.W.G., Hammerstedt, J., Ayeni, O.A. (2004): Orchard floor management influence on summer annual weeds and young peach tree performance. *Weed Technol.*, 18: 215–222.

Burgos, N.R., Tranel, P.J., Streibig, J.C., Davis, V.M., Shaner, D., Norsworthy, J.K., Ritz, C. (2013): Review: Confirmation of Resistance to Herbicides and Evaluation of Resistance Levels. *Weed Sci.*, 61(1): 4–20.

Bourque, J., Chen, Y. S., Heck, G., Humbeier, C., Reynolds, T., Tran, M., Ratliff, P. G., Sammans, D. (2002): In-

vestigation into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): resistance mechanism studies. Abstr. Weed Sci. Soc. Am., 42: 65.

Baerson, S. R., Rodriguez, D.J., Biest, N. A., Tran, M., You, J., Kreuger, R. W., Dill, G. M. (2002): Investigation the mechanism of glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science*, 50: 721-730.

Duke, S.O., Baerson, S.R., Rimando, A.M. (2003): Herbicides: Glyphosate. In *Encyclopedia of Agrochemicals* (Plimmer, J.R., Gammon, D.W., Ragsdale, N.N., eds.), Wiley, New York.

Devine, M. D., Hall, J. C., Romano, M. L., Marles, M. A. S. (1993): Diclofop and fenoxaprop resistance in wild oat is associated with an altered effect on the plasm membrane electrogenic potential. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 45: 167-177.

Dinelli, G., Marotti, I., Bonetti, A., Minelli, M., Catizone, P., Barnes, J. (2006): Physiological and molecular insight on the mechanisms of resistance to glyphosate in *Conyza canadensis* (L.) Cronq. biotypes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86(1): 30.

Franz, J.E., Mao, M.K., Sikorski, J.A. (1997): *Glyphosate: A Unique Global Herbicide*. ACS Monograph 189, American Chemical Society, Washington, DC, 653.

Feng, P. C. C., Tran, M., Chiu, T., Sammons, R. D., Heck, G. R., CaJacob, C. A. (2004): Investigations into glyphosate resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, absorption and metabolism. *Weed Science*, 52: 498-505.

Feng, P. C. C., Pratley, J. E., Bohn, J. A. (1999): Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum*. II Uptake, absorption and metabolism. *Weed Science*, 51: 443-415.

Giannopolitis, C.N., Travlos, I., Chachalis, D., Papageorgiou, J., Kazantzidou, A. (2008): Investigation of resistance to glyphosate in *Conyza* biotypes from Greece. In: *Abstracts 2008 15th Hellenic Weed Science Conference* (11-12 December, Thessaloniki, Greece), 44 (in Greek). Weed Science Society of Greece.

Gressel M.J. (2002): *Molecular biology of weed control*. Taylor and Francis, London, 169.

Heap, I. (2013): International survey of herbicide resistant weed, [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org).

Henry, W. B., Koger, C. H., Shaner, D. L. (2007): Shikimate accumulation in sunflower, wheat and proso millet after glyphosate application. *Weed Science*, 55: 1-5.

Henry, W. B., Koger, C. H., Shaner, D. L. (2005): Accumulation of shikimate in corn and soybean exposed to various rates of glyphosate . *Crop. Manag.*, Doi 1094/CM-1123-01-RS.

Hollander-Czytko, H., Amrhein, N. (1983): Subcellular compartmentation of shikimic acid and phenylalanine in buckwheat cell suspension cultures grown in presence of shikimate pathway inhibitors. *Plant Science*, 29, 89-96.

Koger, C.H., Poston, D.H., Hayes, R.M., Montgomery, R.F. (2004): Glyphosate-Resistant Horseweed (*Conyza canadensis*) in Mississippi. *Weed Technology*, 18 (3): 820-825.

Koger, C.H., Reddy, K. N. (2005): Role of absorption and translocation in the mechanism of glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). *Weed Science*, 53: 85-94.

Lydon, J., Duke, S. O. (1988): Glyphosate induction of elevated levels of hydroxybenzoic acids in higher plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 813-818.

- Majek, B.A., Neary, P.E., Polk, D.F. (1993): Smooth pigweed interference in newly planted peach trees. *Journal of production agriculture*, 6(2): 244-246.
- Mueller, T.C., Massey, J.H., Hayes, R.M., Main, C.L., Stewart, C.N. (2003): Shikimate accumulation in both glyphosate-sensitive and glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Crong.). *J. Agric. Food Chem.* 51: 680-684.
- Miller, S.S. (1983): Response of young „Topred Delicious“ apple trees to orchard floor management and fertilization (yield efficiency). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 108: 638-642.
- Mollenhauer, C., Smart, C.C., Amrhein, N. (1987): Glyphosate toxicity in the shoot apical region of the tomato plant. I. Plastid swelling is the initial ultrastructural feature following in vivo inhibition of 5-enolpyruvylshikimic acid 3-phosphate synthase. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 29, 55-35.
- Nol, N., Tsikou, D., Eid, M., Livieratos, I.C., Giannopolitis, C.N. (2012): Shikimate leaf disc assay for early detection of glyphosate resistance in *Conyza canadensis* and relative transcript levels of EPSPS and ABC transporter genes. *Weed Research*, 52: 233-241.
- Pavlović, D. (2010): Osetljivost biljaka na glifosat: Morfo-anatomski, fiziološki i biohemijski aspekt. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Padgett, S. R., Re, D. B., Barry, G. F., Eichholtz, D. E., Delannay, X., Fuchs, R. L., Kishore, G. M., Fraley, R. T. (1996): New weed control opportunities: Development of soybeans with roundap ready gene. In *Herbicide resistance crops: Agricultural, environmental, economic, regulatory and technical aspects* (Duk, S. O., ed.), CRC Press, Boca Raton, 53-84.
- Powles, B.S., Preston, C. (2006): Evolved glyphosate resistance in plants: biochemical and genetic basic of resistance. *Weed Technology*, 20: 282-289.
- Sansom, M., Saborido, A.A., Dubois, M. (2013): Control of *Conyza* spp. with Glyphosate – A Review of the Situation in Europe. *Plant Protect. Sci.*, 49 (1): 44-53.
- Shaner, D. L., Nadler-Hassar, T., Henry, W. B., Koger, C. H. (2005): A rapid in vivo shikimate accumulation assay with excised leaf discs. *Weed Science*, 53: 769-774.
- Singh, B. K., Shaner, D. L. (1998): Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate-resistant plants. *Weed Technology*, 12, 527-530.
- Steinrucken, H.C., Amrhein, N. (1980): The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 94, 1207-1212.
- Welker, W.V., Glenn, D.M. (1988): Growth response of young peach trees and changes in soil characteristics with sod and conventional planting systems. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 113: 652-656.
- Welker, W.V., Glenn, D.M. (1990): Peach tree growth as influenced by grass species used in a killed sod planting system. *Hort. Science*, 25: 514-515.
- www.mpt.gov.rs

**(Primljeno: 30.10.2013.)**  
**(Prihvaćeno: 26.11.2013.)**



## THE RESISTANCE OF ORCHARD WEED POPULATIONS TO GLYPHOSATE

IRENA KRGA<sup>1</sup>, DANIJELA PAVLOVIĆ<sup>2</sup>, ANA ANDELKOVIĆ<sup>3</sup>, SANJA ĐUROVIĆ<sup>2</sup>, DRAGANA MARISAVLJEVIĆ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Biology, Belgrade

<sup>2</sup>Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

<sup>3</sup>Scholar of the Ministry of Education, Science and Technological Development  
of the Republic of Serbia  
e-mail: dulekaca@yahoo.com

### SUMMARY

Nowadays, both worldwide and in Serbia, for weed eradication in orchards mostly herbicides based on glyphosate, glufosinate-ammonium, diquat and others are used. Intensive glyphosate application has led to the development of resistant weed species, which has consequently resulted in a decrease in its effectiveness. In our country, areas under orchards amount to 224.000 hectares, which certainly points to a significant herbicide use and a possibility that weed resistant populations have developed. For this reason, seeds of several weed species from areas where glyphosate has been intensively used for years were collected (localities: Indjija, Brestovac, Šabac, Vršac, Sombor, Glogonjski Rit, Padinska Skela and Surčin). Plants were grown in controlled conditions and in the open field. Plant material was then crushed using liquid nitrogen, and the extraction of shikimic acid was performed using hydrochloric acid (1 g of plant material + 5 ml 1M HCl). 24 hours later the amount of shikimic acid was detected using high-pressure liquid chromatography. The analysis of the obtained results showed that species *Amaranthus retroflexus* (loc. Šabac), *Abutilon theophrasti* (loc. Brestovac) and wild *Helianthus annuus* (loc. G. Rit) have developed a certain degree of glyphosate resistance.

**Key words:** weeds, resistance, shikimate, orchard

(Received: 30.10.2013.)

(Accepted: 26.11.2013.)

## DIVERZITET FAUNE CIKADA PODFAMILIJE DELTOCEPHALINAE U AGROEKOSISTEMIMA SRBIJE I POTENCIJALNI VEKTORI FITOPLAZMI

MILJANA JAKOVLJEVIĆ, ANDREA KOSOVAC, OLIVER KRSTIĆ, MILANA MITROVIĆ,  
JELENA JOVIĆ, IVO TOŠEVSKI, TATJANA CVRKOVIĆ

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Odsek za štetočine bilja, Zemun  
e-mail: miljka06@gmail.com

### REZIME

Istraživanje diverziteta cikada podfamilije Deltocephalinae sprovedeno je u periodu od 2004. do 2010. godine u vinogradima na lokalitetima Vršac, Topola, Rajac i Jasenovik i usevima kukuruza u južnom Banatu. Jedinke različitih vrsta podfamilije Deltocephalinae su sakupljane u zasadima i usevima, kao i na okolnoj vegetaciji. Najbrojnija vrsta na svima lokalitetima bila je *Psammotettix alienus* (Dahlbom, 1850). Manje brojne vrste ove podfamilije bile su vrste *Euscelis incisus* (Kirschbaum, 1858), *Neoaliturus fenestratus* (Herrich-Schäffer, 1834) i *Errastunus ocellaris* (Fallén, 1806), dok je procentualna zastupljenost vrste *Doratura impudica* Horváth, 1897 bila znatno manja. Od predstavnika podfamilije Deltocephalinae, vrste koje su zabeležene u južnom Banatu su *Arocephalus languidus* (Flor, 1861), *Euscelis distinguendus* (Kirschbaum, 1858) i *Metalimnus steini* (Fieber, 1869). U vinogradima Jasenovika kao najdominantnija vrsta javljala se vrsta *N. fenestratus*.

**Ključne reči:** cikade, Deltocephalinae, diverzitet, vektori, fitoplazme

### UVOD

Cikade (Hemiptera: Auchenorrhyncha) predstavljaju brojnu, široko rasprostranjenu i veoma značajnu grupu insekata u mnogim prirodnim i antropogenim ekosistemima. Kao fitofagni insekti, sreću se na različitim gajenim biljkama, šumskoj vegetaciji i korovskim biljkama. Biljke oštećuju u periodu ovipozicije, tokom ishrane i lučenjem produkata metabolizma. Hraneći se sokovima iz ćelija floema utiču na smanjen prirast i slabljenje fiziološke kondicije napadnute biljke. Ozbiljne štete nanose kao prenosioци biljnih patogena iz grupe fitoplazmi, virusa i bakterija (Cvrković, 2009).

Obzirom da se hrane sokovima iz ćelija floema, a imajući u vidu da fitoplazme naseljavaju floem biljaka domaćina, cikade su poznati i značajni vektori koji mogu da prenesu jednu ili više fitoplazmi. Do sada je vektorska uloga utvrđena kod vrsta iz familija Cicadellidae, Cixiidae, Delphacidae i Dactylopharidae, među kojima ima monofagnih, oligofagnih i polifagnih

nih vrsta (Weintraub i Beanland, 2006).

Cikade se prema načinu ishrane i tipu monofagnosti mogu podeliti na obligatne, fakultativne i slučajne, a prema štetnosti, na vrste koje ishranom nanose direktne štete i vrste koje, kao vektori prouzrokovala različitim oboljenja nanose indirektnu štetu (Alma i sar., 2002).

Fitoplazme predstavljaju grupu prokariotskih organizama bez ćelijskog zida iz klase Mollicutes. Prenose se putem kalemljenja, parazitskih cvetnica i insekata vektora. Razvoj molekularnih metoda omogućio je utvrđivanje i karakterizaciju fitoplazmi u biljkama i insektima vektorima, sagledavanje etiologije i epidemiologije mnogih, do tada neobjašnjanih biljnih bolesti, uključujući i nekoliko karantinskih bolesti ekonomski značajnih gajenih biljaka (Cvrković, 2009).

Cikade poseduju određene karakteristike, koje ih čine pogodnim za prenošenje fitoplazmi. Selektivna ishrana floemskim sokovima biljaka, čini ih efikasnim vektorima patogena koji su vezani za to

tkivo. Takođe, njihova ishrana nije destruktivna za biljku, što izaziva uspešnu inokulaciju vaskularnog sistema domaćina (Cvrković, 2009).

Važan činilac u epidemiologiji bolesti uzrokovanih fitoplazmama je prilagođenost i interakcija između insekata-vektora i fitoplazmi. Da bi bile unete u biljku, fitoplazme moraju da nasele pljuvačne žlezde insekta vektora i da se tu aktivno umnožavaju da bi prilikom njegove ishrane putem pljuvačke bile unete u floemsko tkivo biljke (Weintraub i Beanland, 2006). Međutim, cikade iako usvoje fitoplazmu prilikom ishrane na inficiranoj biljci, ne znači da su sposobne da je prenesu na zdrave biljke (Vega i sar., 1994). Kompleksna interakcija između vektora, biljke i fitoplazme dovodi do visokog stepena koevolutivne adaptiranosti i specifičnosti između ovih organizama (Weintraub i Beanland, 2006). Ipak, pojedine fitoplazme mogu da prenose i različite, evolutivno udaljene vrste cikada. Takođe, pojedini vektori mogu da prenose dve ili više različitih fitoplazmi i oni se često nazivaju univerzalnim vektorima (npr. *Euscelidius variegatus* (Kirschbaum, 1858)).

Istraživanja sastava i strukture zajednica cikada u agroekosistemima fokusirana su na njihovu ulogu kao vektora biljnih bolesti, prvenstveno fitoplazmi (Weintraub and Beanland, 2006). Praćenje dinamike populacija cikada i njihovih sezonskih pomeranja ukazuje na sve veću brojnost populacija ovih insekata na gajenim biljkama i na njihovo sezonsko pomeranje sa nativnih biljaka staništa na gajene biljke. Ovakav trend praćen je širenjem areala pojedinih polifagnih vrsta na račun adaptacija i ishrane na određenim biljnim kulturama (Langer and Maixner 2004).

O prisustvu cikada na zeljastim i drvenastim biljkama u različitim ekosistemima na teritoriji Srbije pisali su Tanasijević (1966, 1967) i Janković (1975, 1978). Najveći broj vrsta zabeležen je u lucerištima i deteliništima, kao i na livadama u planinskim predelima. Većina registrovanih vrsta u Srbiji su polifagne i nisu vezane za određeni agroekosistem (Jović i sar., 2010).

Prema literaturnim podacima, u vinogradarskim regionima Evrope javlja se nekoliko desetina vrsta cikada (Alma i sar., 2002). Fitoplazmatična oboljenja na vinovoj lozi široko su rasprostranjena i nazivaju se žutila vinove loze. Dosadašnja istraživanja u vinogradima Srbije potvrdila su prisustvo dva oboljenja iz grupe prouzrokovana žutila vinove loze, *Flavescence dorée* (FD) fitoplazme i *Bois noir* (BN) fitoplazme (Mitrović i sar., 2006; Filippin i sar., 2009). Epidemiologija žutila vinove loze je usko povezana sa vrstama cikada prisutnim u vinogradima i njihovom biologijom. Do sada dominantan iden-

tifikovani vektor FD fitoplazme je cikada *Scaphoideus titanus* Ball, 1932 čije prisustvo je utvrđeno u svim vinogradarskim regionima Srbije (Krnjajić i sar., 2007). Iz tog razloga se ukazala potreba za istraživanjem brojnosti i raznovrsnosti cikada u vinogradima širom Srbije (Cvrković i sar., 2010).

Tokom istraživanja epidemiologije fitoplazmi povezanih sa vinovom lozom, nova fitoplazma iz 16SrII grupe je detektovana u biljci *Picris hieracoides* L., 1753 (Asteraceae) koja predstavlja čestu korovsku biljku u vinogradima Srbije (Mitrović i sar., 2011). To je bio prvi nalaz fitoplazme iz 16SrII grupe u *P. hieracoides*, kao i prvi nalaz o prisustvu ove fitoplazmatske grupe u Srbiji i jugoistočnoj Evropi (Mitrović i sar., 2011). Za nekoliko vrsta cikada je dokazano da su vektori fitoplazmi iz 16SrII grupe. *Neolaliturus fenestratus* (Herrich-Schäffer, 1834) je široko rasprostranjena vrsta cikada u Evropi, može se naći na napuštenim poljima i vinogradima i hrani se biljkama iz familije Asteraceae (Nickel, 2003). U jugoistočnoj Srbiji ova vrsta je blisko povezana sa biljkom *P. hieracoides* i dokazani je vektor 16SrII fitoplazme (Mitrović i sar., 2012).

Podfamilija Deltocephalinae sadrži preko 6200 vrsta rasprostranjenih širom sveta, što je čini, na osnovu broja opisanih vrsta, najvećom podfamilijom u okviru Cicadellidae. Predstavnici ove podfamilije se hrane floemskim sokom velikog broja vaskularnih biljaka, a vrste mogu biti monofagne i polifagne. Ovo je ekonomski veoma značajna grupa koja sadrži brojne vektore poljoprivrednih biljnih patogena (Weintraub i Beanland, 2006). Više od 75% svih eksperimentalno potvrđenih vektora fitoplazmi pripadaju podfamiliji Deltocephalinae. Nije iznenađujuće što većina vektora potiče baš iz ove podfamilije jer su ove vrste cikada česte u travnatim ekosistemima, a mnoge fitoplazme su vezane upravo za biljke familije Poaceae, koje istovremeno predstavljaju i biljke domaćine pomenutih cikada (Wilson i Weintraub, 2007).

Zbog nedovoljne istraženosti faune cikada u agroekosistemima Srbije, cilj istraživanja jeste da se pokaže postojeća brojnost i diverzitet vrsta podfamilije Deltocephalinae u vinogradima u Topoli, Vršcu, Rajcu i Jasenoviku i u usevima kukuruza na lokalitetima u južnom Banatu. Utvrđivanje vektorske uloge nekih predstavnika podfamilije Deltocephalinae i njihova povezanost sa određenim fitoplazmatskim grupama i podgrupama je još jedan cilj istraživanja koji dovodi do boljeg upoznavanja cikada navedene podfamilije kao i njihove povezanosti sa određenim biljnim domaćinima i patogenima koje mogu u sebi da nose i da prenesu. Takođe, može se napraviti korelacija između prisutnih vrsta cikada i lokaliteta na

kome su sakupljene, uključujući i podatke o prisustvu određenih fitoplazmi u biljkama na tim lokalitetima. Time će se upotpuniti cela priča o vektorskoj ulozi pojedinih vrsta i korelacija sa određenim fitoplazmatskim grupama i biljkama domaćinima.

## MATERIJAL I METODE

Za istraživanje diverziteta faune cikada izabrana su tri vinograda u centralnoj, severnoj i istočnoj Srbiji na lokalitetima Vinča (Topola, N44°13.532' E020°40.224'), Vršački vinogradi (N45°05.921' E21°20.621') i Rajac (Negotin, N44°07.298' E022°34.334'), vinograd u Jasenoviku u jugoistočnoj Srbiji kao i usevi kukuruza u južnom Banatu.

U vinogradima Vršca, Rajca i Topole, u kojima je praćen sastav i brojnost cikada, utvrđeno je prisustvo BN fitoplazme. Za potvrdu prisustva fitoplazme iz 16SrXII-A grupe koja prouzrokuje bolest BN na vinovoj lozi u periodu od 2004. do 2007. godine biljke su uzorkovane metodom transekta, koji je polazio od jednog ugla vinograda, a završavao dijagonalno, na suprotnom uglu. Sakupljanje uzoraka biljaka koje su ispoljavale simptome žutila ili crvenila, vršeno je od početka juna do kraja septembra. Listovi vinove loze sa pojedinačnih čokota (5-10 po biljci), stavljeni su u plastične zip-kese, koje su zatim obeležene i u poljskom frižideru na temperaturi od 8 do 11°C prenete u laboratoriju gde su uzorci čuvani na -20°C do ekstrakcije DNK. Ekstrahovana DNK analizirana je na prisusvo fitoplazmi PCR metodom.

Kao kontrola služio je vinograd u lokalitetu Zemun (N44°50.389' E20°24.377'), u kome nije utvrđeno prisustvo fitoplazme u biljkama i insektima.

U toku 2009. i 2010. godine analiza faune cikada vršena je u vinogradarskim regionima jugoistočne Srbije (Jasenovik, Niški okrug), gde je prethodno utvrđeno prisustvo fitoplazmi iz 16SrII, 16SrV i 16SrXII-A podgrupa. Sakupljanje cikada vršeno je od 1. maja do 1. septembra u vinogradima i na utrinama oko vinograda na lokalitetu Jasenovik. U intervalima od 15 dana, cikade su sakupljane usnim aspiratorima i košenjem entomološkom mrežom sa biljaka. Sakupljeni uzorci su čuvani u 96% etanolu na temperaturi od 4 do 8°C.

Istraživanja diverziteta i brojnosti cikada u usevima kukuruza sa simptomima crvenila kukuruza prouzrokovanog fitoplazmom iz 16SrXII-A podgrupe vršena su na tri lokaliteta u južnom Banatu (test lokaliteti). Lokaliteti su odabrani na osnovu literaturnih podataka o epifitotičkoj pojavi simptoma crvenila kukuruza (Šutić i sar., 2002/2005) u blizini sela Kovačica (N45°10.202' E20°37.079'), Uzdin (N45°11.354' E20°40.983') i Samoš (N45°11.278' E20°45.219'). U

usevima kukuruza u području u kome pojava simptoma crvenila nije zabeležena, istraživanja su vršena na dva lokaliteta: u blizini sela Dobanovci (N44°50.426' E20°13.848') i na eksperimentalnom polju Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu, Odseka za štetočine bilja u Zemunu (kontrolni lokaliteti).

Sakupljanje cikada u usevima kukuruza vršeno je na svakih 15 dana od 1. maja do 1. septembra, tokom 2005. i 2006. godine. Unutar polja kukuruza cikade su sakupljane u pet kvadrata (10 x 10 m) međusobno udaljenih 5m po dubini polja, dijagonalno raspoređenih od jednog ugla ka suprotnom uglu polja. Sakupljanje je vršeno pomoću usnog aspiratora direktno sa biljaka kukuruza ili entomološkom mrežom košenjem. Sakupljene cikade su čuvane u 80% rastvoru etanola u plastičnim tubicama zapremine 2 ml (Eppendorf, Nemačka). U terenskim uslovima cikade su čuvane u mobilnom frižideru na 8-11°C, a u laboratorijskim na 4°C.

Determinacija cikada sakupljenih tokom istraživanja u vinogradima i u usevima kukuruza izvršena je na osnovu morfoloških karakteristika i građe genitalija (Holzinger i sar., 2003; Biedermann i Niedringhaus, 2004).

Iz svakog primerka sakupljenih insekata u vinogradima Topole, Vršca i Rajca ekstrahovane su ukupne nukleinske kiseline, po modifikovanom CTAB protokolu ekstrakcije opisanom od strane Gatineau i sar. (2001). Ekstrahovani uzorci insekata analizirani su PCR metodom. U cilju detekcije prisustva i utvrđivanja tipa fitoplazme koja inficira vinovu lozu na kojoj su cikade sakupljane, analize su urađene univerzalnim prajmerima za detekciju 16S rRNK regiona svih poznatih fitoplazmi. Specifično utvrđivanje prisustva stolbur fitoplazme izvršeno je detekcijom Stoll1 regiona ovog patogena. Posle umnožavanja i utvrđivanja prisustva fitoplazmi uzorci su analizirani RFLP metodom. Ovim analizama utvrđeno je u kojim uzorcima su prisutne fitoplazme 16SrV grupe (kojoj pripada FD), a u kojima fitoplazme 16SrXII grupe (kojoj pripada BN). Specifična detekcija stolbur fitoplazme u vinovoj lozi i cikadama vršena je umnožavanjem Stoll1 regiona koji je specifičan za genom stolbur fitoplazme.

Prilikom ekstrakcije insekata sakupljenih u vinogradu u Jasenoviku, jedinke svake vrste su organizovane u grupe od po dve ili četiri jedinke. DNK tako organizovanih insekata je ekstrahovana CTAB metodom opisanom od strane Gatineau i sar. (2001). Prisustvo fitoplazmi u sakupljenom insekatskom materijalu je utvrđeno uz pomoć PCR metode amplifikacijom 16S rRNK regiona. Amplifikovani produkti nested PCR-a su analizirani RFLP metodom radi utvrđivanja fitoplazmatskih grupa i podgrupa

u analiziranim uzorcima. Zbog već potvrđenog prisustva 16SrII grupe u biljci *P. hieracioides* (Mitrović i sar., 2011), RFLP analiza je omogućila utvrđivanje ove fitoplazme u sakupljenim jedinkama *N. fenestratus*.

## REZULTATI

Sastav i brojnost cikada praćena je u vinogradima Rajca, Topole i Vršca u periodu od 2004. do 2007. godine a u vinogradu u Jasenoviku tokom 2009. i 2010. godine.

Metodom košenja i usisavanja cikada sa vinove loze i korovskih biljaka u vinogradima i na utrini u neposrednoj blizini vinograda u Vršcu, Topoli i Rajcu, sakupljena je ukupno 4971 jedinka. Kvalitativnom analizom sakupljenog materijala sa sva tri obrađena lokaliteta determinisano je ukupno 49 vrsta cikada iz 8 familija. Familija Cicadellidae je na svim lokalitetima bila zastupljena sa najvećim brojem vrsta (30), odnosno sa više od 70% od ukupnog broja registrovanih vrsta. U okviru ove familije, najzastupljenije su bile vrste podfamilije Deltocephalinae, sa 20 registrovanih vrsta (Tabela 1).

**Tabela 1.** Registrovane vrste cikada podfamilije Deltocephalinae u vinogradima u kojima je prisutno oboljenje *Bois noir*.

**Table 1.** Planthoppers and leafhoppers species of subfamily Deltocephalinae in vineyards with presence of *Bois noir* disease.

| Br. | Vrste cikada podfamilije Deltocephalinae               |
|-----|--|
| 1.  | <i>Scaphoideus titanus</i> Ball, 1932                  |
| 2.  | <i>Fieberiella septentrionalis</i> Wagner, 1963        |
| 3.  | <i>Jassargus obtusivalis</i> (Kirschbaum, 1868)        |
| 4.  | <i>Errastunus ocellaris</i> (Fallén, 1806)             |
| 5.  | <i>Neoliturus fenestratus</i> (Herrich-Schäffer, 1834) |
| 6.  | <i>Mocydia crocea</i> (Herrich-Schäffer, 1837)         |
| 7.  | <i>Psammotettix alienus</i> (Dahlbom, 1850)            |
| 8.  | <i>Psammotettix confinis</i> (Dahlbom, 1850)           |
| 9.  | <i>Euscelis incisus</i> (Kirschbaum, 1858)             |
| 10. | <i>Goniagnathus brevis</i> (Herrich-Schäffer, 1835)    |
| 11. | <i>Macrosteles</i> sp.                                 |
| 12. | <i>Platymetopius major</i> (Kirschbaum, 1868)          |
| 13. | <i>Recilia schmidtgeni</i> (Wagner, 1939)              |
| 14. | <i>Doratura impudica</i> Horváth, 1897                 |
| 15. | <i>Allygidius commutatus</i> (Fieber, 1872)            |
| 16. | <i>Graphocrærus ventralis</i> (Fallén, 1806)           |
| 17. | <i>Ophiola decumana</i> (Kontkanen, 1949)              |
| 18. | <i>Streptanus confinis</i> (Reuter, 1880)              |
| 19. | <i>Mocuellus collinus</i> (Boheman, 1850)              |
| 20. | <i>Allygus</i> sp.                                     |

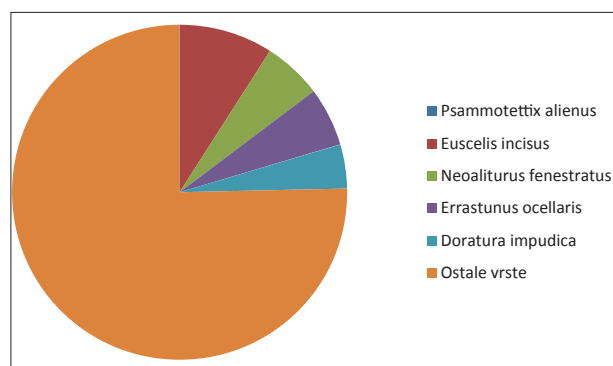
Sastav faune cikada u tri analizirana vinograda, bio je sličan u svim istraživačkim godina-

ma. Najzastupljenija vrsta na sva tri lokaliteta je iz podfamilije Deltocephalinae, *Psammotettix alienus* (Dahlbom, 1850) (29,4%). Nešto manje brojne vrste ove podfamilije bile su vrste *Euscelis incisus* (Kirschbaum, 1858) (6,4%), *N. fenestratus* i *Errastunus ocellaris* (Fallén, 1806) (do 4,2%), dok je procentualna zastupljenost vrste *Doratura impudica* Horváth, 1897 između 2,5 i 3,3%. Svaka od ostalih vrsta bila je zastupljena sa manje od 2% (Grafikon 1).

U vinogradima Srbije je česta vrsta *S. titanus* koja predstavlja štetočinu u vinogradima Evrope i Male Azije. Monofagna je vrsta i hrani se biljkama roda *Vitis*. Prema podacima iz literature ova cikada je dominantni vektor fitoplazme, prouzrokovala zlatastog žutila listova vinove loze, *Flavescence dorée* koja je poprimila epidemijske razmere sa teškim ekonomskim posledicama za pogođena područja. Širenje bolesti u epidemiološkom smislu bilo je povezano, pre svega, sa širenjem vektora ove fitoplazme – *S. titanus* (Magud i Toševski, 2004).

Svi larvalni uzrasti, kao i imago, hrane se na naličju listova vinove loze, isisavajući sadržaj floema, pri čemu direktnih šteta, usled ishrane gotovo da nema. Značajnija je njena indirektna štetnost, kao vektora FD fitoplazme (Cravedi i sar. 2000).

Kao dominantan vektor pomenute fitoplazme, vrsta *S. titanus* utiče na širenje ove opasne bolesti u vinogradima širom Srbije i Evrope. U epidemiološkom smislu, pojava i širenje vektora su od



**Grafikon 1.** Sastav faune cikada u vinogradima na lokalitetima Vršac, Topola i Rajac.

**Graph. 1.** Structure of fauna of cicads in the vineyards on localities Vršac, Topola and Rajac.

suštinskog značaja za kontrolu ove bolesti, dok je poznavanje biologije vrste i praćenje areala rasprostranjenja neophodno u cilju njenog suzbijanja (Magud i Toševski, 2004).

Tokom 2004. godine prvi put su objavljeni podaci o prisustvu FD fitoplazme, kao i njenog vektora *S. titanus* na području Srbije (Magud i Toševski, 2004). Istraživanja sprovedena u periodu od 2005. do 2007.

godine su utvrdila dramatičnu fitosanitarnu situaciju u vinogradima inficiranim zlatastim žutilom u Srbiji (Desančić i Krnjajić, 2005; Krnjajić i sar., 2007).

*Scaphoideus titanus* ima jednu generaciju godišnje, a prezimljava u stadijumu jajeta. Preliminarna istraživanja fenologije *S. titanus* u Srbiji, ukazuju na početak piljenja larvi polovinom maja, dok se prva imaga javljaju u trećoj dekadi juna, što odgovara vremenu od 35–40 dana, neophodnom za razviće larvi do adulta. Imaga su prisutna u prirodi do kraja septembra. Sve larve koje se hrane na fitoplazmatičnim biljkama postaju infektivne već na kraju L3 stupnja, a sposobnost da prenose fitoplazmu zadržavaju do kraja života (Magud i Toševski, 2004).

Vrsta *P. alienus* bila je zastupljena u izrazito visokoj brojnosti u sva tri vinogradarska regiona zaražena stolbur fitoplazmom. Ova vrsta vezana je za sunčana, kserotermna staništa, staništa pod intezivnim antropogenim dejstvom, a posebno za visoko nađubrene livade i oranice. Česta je i na staništima pod antropogenim uticajem, posebno u ratarskim kulturama (Nickel, 2003). Kao glavne biljke domaćini vrste *P. alienus* navode se razne vrste fam. Poaceae, što je u skladu sa pojavom velikog broja jedinki ove vrste na biljkama utrine oko vinograda i u usevima kukuruza.

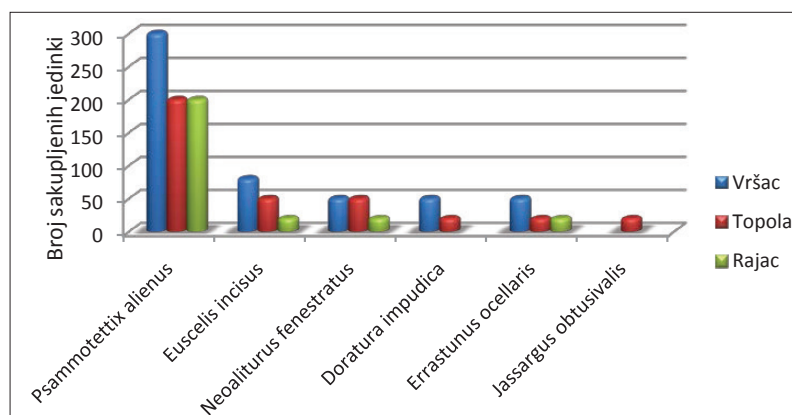
U svim analiziranim lokalitetima pod vinogradima, vrsta *P. alienus* je od 15. maja do sredine juna, imala srednju brojnost, da bi se zatim povećavala i dostizala maksimum oko 1. jula. Nakon 15. jula brojnost joj je opadala, ali je tokom cele vegetacije bila prisutna u vinogradima.

Dinamika populacije vrste *E. incisus* u vinogradima Srbije bila je relativno konstantna tokom cele vegetacije. Kao izrazito polifagna vrsta, česta je na sunčanim, umereno vlažnim i vlažnim staništima, uglavnom na livadama i pašnjacima, napuštenim poljima, u vrtovima i parkovima. Domaćini ove cikade su vrste familije Fabaceae i različite vrste trava. Na većim

nadmorskim visinama prezimljava kao jaje i ima jednu generaciju godišnje (Nickel, 2003). U Srbiji ova vrsta prezimljava u stadijumu larve i imaga i ima dve generacije godišnje. Izražen je sezonski dimorfizam, koji se ogleda u različitoj obojenosti imaga i larvi.

U svim analiziranim lokalitetima vinograda vrsta *E. incisus* je bila prisutna u srednjoj brojnosti tokom cele vegetacije, sa dva maksimuma u Vršcu (15. maja i 1. jula) i jednim maksimumom u Topoli i Rajcu (1. jula). Posle 1. avgusta, brojnost joj se ponovo povećavala u Vršcu i u Topoli, dok je u Rajcu pred kraj vegetacije bila konstantna.

U vinogradu na teritoriji Topole, konstatovano je prisustvo 44 vrste cikada, u Vršcu 40 a u Rajcu 43 vrste. Sakupljeno je ukupno 780 jedinki u 2006. i 960 jedinki u 2007. godini. Broj sakupljenih primeraka pojedinačnih vrsta cikada kretao se do 203 za 2006. i do 230 za 2007. godinu u Topoli, 739 cikada u 2006. i 871 u 2007. godini u Vršcu i 719 jedinki u 2006. i 902 u 2007. godini u Rajcu. Dominantna vrsta na sva tri lokaliteta bila je *P. alienus*, sa više od 200 sakupljenih primeraka u toku svake godine u Topoli, više od 300 po godini u Vršcu i 157 primeraka u 2006. i 230 u 2007. godini u Rajcu. Od predstavnika podfamilije Deltocephalinae u Topoli srednju brojnost su pokazale vrste *E. incisus* i *N. fenestratus* (više od 30 jedinki), a nešto manja brojnost (od 10–30 jedinki) se javila kod vrste *D. impudica*, *E. ocellaris*, *Jassargus obtusivalis* (Kirschbaum, 1868). Druga vrsta po brojnosti u Vršcu bila je vrsta *E. incisus* sa 70–90 sakupljenih primeraka. Od ostalih cikada podfamilije Deltocephalinae na ovom lokalitetu registrovane su tri vrste čija je brojnost bila iznad 30 jedinki (*E. ocellaris*, *D. impudica*, *N. fenestratus*). U Rajcu vrste *E. ocellaris*, *E. incisus* i *N. fenestratus* su bile zastupljene sa po dvadesetak jedinki, dok su ostale vrste učestvovala u ukupnom broju sa po nekoliko primeraka (Grafikon 2).



**Grafikon 2.** Najzastupljenije vrste cikada u vinogradima na lokalitetima Vršac, Topola i Rajac.  
**Graph. 2.** The most common species of cicads in the vineyards on localities Vršac, Topola and Rajac.

Cikade koje su sakupljane u vinogradima u Vršcu, Topoli i Rajcu, analizirane su PCR metodom, na prisustvo stolbur fitoplazme. Ukupno je ekstrahovano i analizirano 3020 jedinki 49 vrsta cikada. Iako najzastupljenija na svim lokalitetima, vrsta *P. alienus* (29,4%), nema uticaja na prenošenje BN fitoplazme u vinogradima. Takođe, ni vrsta *E. incisus*, koja je bila zastupljena sa 6,4% u vinogradima, nema ulogu u epidemiologiji ove fitoplazme.

Među sakupljenim cikadama podreda Auchenorrhyncha u i u okolini vinograda u Jasenoviku, tokom dve godine, identifikovana je 31 vrsta iz sedam familija. *Neoliturus fenestratus* je bila najdominantnija vrsta na lokalitetu, kao i najčešća vrsta sakupljena na *P. hieracioides*, sa ukupno 189 jedinki. Srednju brojnost pokazala je i vrsta *P. alienus* (66), dok su ostale vrste podfamilije Deltocephalinae pokazale znatno manju brojnost.

Deset vrsta cikada sakupljenih u Jasenoviku je bilo pozitivno na prisustvo fitoplazmi. Među predstavnicima podfamilije Deltocephalinae, pozitivne su bile vrste *E. ocellaris*, *J. obtusivalvis*, *Mocuellus collinus* (Boheman, 1850), *Mocydia crocea* (Herrich-Schäffer, 1837) i *P. alienus* koje su bile inficirane 16SrI-C podgrupom. 31 jedinka vrste *N. fenestratus* je bila inficirana 16SrII fitoplazmatskom grupom (Tabela 2).

Prilikom analize diverziteta i populacione di-

namike insekata iz grupe Auchenorrhyncha u usevima kukuruza u Srbiji registrovano je prisustvo 33 vrste cikada iz 6 familija i 28 rodova. Među tri analizirana lokaliteta u južnom Banatu, gde je prisutna pojava simptoma crvenila kukuruza, nije uočena razlika u diverzitetu i brojnosti vrsta. Kontrolni lokaliteti gde pojava crvenila kukuruza nije zabeležena, imali su između sebe sličan sastav i strukturu zajednica cikada. Razlike u sastavu zajednica cikada i brojnosti vrsta uočene su između lokaliteta u južnom Banatu i kontrolnih lokaliteta.

U analiziranim poljima kukuruza, među najbrojnijim vrstama cikada bila je vrsta *P. alienus*. Brojnost ove vrste bila je relativno konstantna tokom sezone u usevima kukuruza. Ova cikada je na biljkama kukuruza i okolne utrine bila prisutna od početka maja do početka septembra. Uočena su dva maksimuma u brojnosti populacija *P. alienus* u usevima kukuruza početkom juna i avgusta, ukazujući na postojanje 2 generacije godišnje koje se preklapaju. Brojnost *P. alienus* je bila veća na lokalitetima u južnom Banatu gde je crvenilo kukuruza prisutno. Na ovim lokalitetima je veća brojnost registrovana unutar kvadrata utrine nego na biljkama kukuruza. Kontrolni lokaliteti gde pojava crvenila kukuruza nije zabeležena, imali su između sebe sličan sastav i strukturu zajednica cikada. Razlike u sastavu zajednica cikada i brojnosti vrsta uočene su između lokaliteta u južnom Banatu i

**Tabela 2.** Fitoplazme identifikovane u cikadama podfamilije Deltocephalinae sakupljene u i oko vinograda u Jasenoviku u jugoistočnoj Srbiji.

**Table 2.** Identified phytoplasmas in planthoppers and leafhoppers species of subfamily Deltocephalinae collected in and around a vineyard on locality Jasenovik in south-eastern Serbia.

| Br. | Vrste cikada podfamilije Deltocephalinae               | 16Sr RNK podgrupa fitoplazmi |
|-----|--|------------------------------|
| 1.  | <i>Allygus mixtus</i> (Fabricius, 1794)                |                              |
| 2.  | <i>Errastunus ocellaris</i> (Fallén, 1806)             | 16SrI-C                      |
| 3.  | <i>Euscelis incisus</i> (Kirschbaum, 1858)             |                              |
| 4.  | <i>Fieberiella septentrionalis</i> Wagner, 1963        |                              |
| 5.  | <i>Goniagnathus brevis</i> (Herrich-Schäffer, 1835)    |                              |
| 6.  | <i>Graphocraerus ventralis</i> (Fallén, 1806)          |                              |
| 7.  | <i>Doratura impudica</i> Horváth, 1897                 |                              |
| 8.  | <i>Jassargus obtusivalvis</i> (Kirschbaum, 1868)       | 16SrI-C                      |
| 9.  | <i>Mocuellus collinus</i> (Boheman, 1850)              | 16SrI-C                      |
| 10. | <i>Mocydia crocea</i> (Herrich-Schäffer, 1837)         | 16SrI-C                      |
| 11. | <i>Mocydiopsis intermedia</i> Remane, 1961             |                              |
| 12. | <i>Mocydiopsis</i> sp.                                 |                              |
| 13. | <i>Neoliturus fenestratus</i> (Herrich-Schäffer, 1834) | 16SrII-E                     |
| 14. | <i>Psammotettix alienus</i> (Dahlbom, 1850)            | 16SrI-C                      |

**Tabela 3.** Registrovane vrste cikada podfamilije Deltocephalinae na kukuruзу u južnom Banatu i okolini Beograda.

**Table 3.** Planthoppers and leafhoppers species of subfamily Deltocephalinae in maize fields of South Banat and Belgrade surrounding.

| Br. | Vrste cikada podfamilije Deltocephalinae              |
|-----|---|
| 1.  | <i>Arocephalus languidus</i> (Flor, 1861)             |
| 2.  | <i>Athysanus argentarius</i> Metcalf, 1955            |
| 3.  | <i>Errastunus ocellaris</i> (Fallén, 1806)            |
| 4.  | <i>Euscelis distinguendus</i> (Kirschbaum, 1858)      |
| 5.  | <i>Euscelis incisus</i> (Kirschbaum, 1858)            |
| 6.  | <i>Graphocraerus ventralis</i> (Fallén, 1806)         |
| 7.  | <i>Jassargus obtusivalvis</i> (Kirschbaum, 1868)      |
| 8.  | <i>Macrostes lividus</i> (Edwards, 1894)              |
| 9.  | <i>Macrostes ossiannilssoni</i> (Lindberg, 1954)      |
| 10. | <i>Macrostes quadripunctulatus</i> (Kirschbaum, 1868) |
| 11. | <i>Metalimnus steini</i> (Fieber, 1869)               |
| 12. | <i>Mocydia crocea</i> (Herrich-Schäffer, 1837)        |
| 13. | <i>Mocydiopsis parvicauda</i> Ribaut, 1939            |
| 14. | <i>Ophiola decumana</i> (Kontkanen, 1949)             |
| 15. | <i>Psammotettix alienus</i> (Dahlbom, 1850)           |
| 16. | <i>Recilia schmidtgeni</i> (Wagner, 1939)             |

kontrolnih lokaliteta. Razlika je takođe bila prisutna u sastavu cikada u analiziranim kvadratima unutar polja kukuruza i utrine. Od predstavnika podfamilije Deltocephalinae vrste koje su zabeležene samo na lokalitetima u južnom Banatu su *Arocephalus languidus* (Flor, 1861), *Euscelis distinguendus* (Kirschbaum, 1858) i *Metalimnus steini* (Fieber, 1869). Sa druge strane, vrste ove podfamilije zabeležene samo na kontrolnim lokalitetima su *Athysanus argentarius* Metcalf, 1955 i *Macrosteles lividus* (Edwards, 1894). Ove vrste su registrovane samo kao pojedinačni primerci (Tabela 3).

### DISKUSIJA

Kvalitativna i kvantitativna analiza sakupljenih cikada u vinogradima na lokalitetima Rajac, Topola i Vršac sprovedena tokom 2006. i 2007. godine ukazala je na izražen diverzitet ove faune. Na osnovu morfoloških karakteristika i građe genitalija determinisano je ukupno 49 vrsta cikada iz 8 familija. Najzastupljenija je bila familija Cicadellidae sa 30 vrsta. Analizom sastava i strukture zajednica cikada po lokalitetima utvrđeno je da su različite vrste bile prisutne u odnosu na geografski položaj i klimatske prilike u određenom vinogorju. Najbrojnija cikada na sva tri lokaliteta je vrsta *P. alienus*, a u manjem procentu je zastupljena i vrsta *E. incisus*. Među vrstama podfamilije Deltocephalinae čija je brojnost bila ispod 5%, dve su se izdvojile kao brojnije *N. fenestratus* i *E. ocellaris*, u odnosu na ostale vrste čija brojnost se kretala između 2,5 i 3,3% (*D. impudica*).

U kontrolnom vinogradu u Zemunu zabeleženo je ukupno 39 vrsta cikada. Sastav faune se razlikovao u odnosu na vinograde zaražene BN fitoplazmom. Međutim, diverzitet i brojnost vrsta koje pripadaju podfamiliji Deltocephalinae je bio veoma sličan između zaraženih i kontrolnog vinograda. Dominantna vrsta, kao i na ostalim lokalitetima, bila je *P. alienus*, sa oko 150 sakupljenih primeraka u toku svake godine. Manje brojna vrsta bila je *E. incisus* (više od 30 jedinki), dok je 10-30 jedinki sakupljeno za vrste: *N. fenestratus*, *E. ocellaris*, *D. impudica* i *J. obtusivalis*. Brojnost ostalih vrsta je bila ispod 10.

Među cikadama koje su identifikovane u tri analizirana vinograda u Srbiji nalazi se osam vrsta iz podfamilije Deltocephalinae za koje je utvrđeno da su vektori fitoplazmi u prirodnim ekosistemima i agroekosistemima. To su: *S. titanus*, *Fieberiella septentrionalis* Wagner, 1963, *N. fenestratus*, *E. incisus*, *P. alienus*, *J. obtusivalis*, *E. ocellaris*, *M.*

*collinus*. Rezultati kvalitativne analize faune Auchenorrhyncha i prisustvo kako već potvrđenih, tako i potencijalnih cikada vektora fitoplazmi, ukazuju na potencijalne nove epidemiološke lance fitoplazmi u vinogradima u Srbiji. To nameće ne samo kompleksniji pristup rešavanju problema fitoplazmi na vinovoj lozi u Srbiji, već generalno ukazuje da je strategija nadzora i suzbijanja ovih bolesti pre svega entomološki problem. Istraživanje sastava i strukture zajednica cikada, zbog toga, predstavlja metod izbora u cilju sagledavanja postojećih ili potencijalnih interakcija između fitoplazmi, cikada vektora i biljaka domaćina (Cvrković i sar., 2010).

*Neotaliturus fenestratus* je najdominantnija vrsta sakupljena u vinogradima Jasenovika. Razvija dve generacije godišnje pri čemu se druga generacija javlja tokom kasnog avgusta, znatno je brojnija i prezimljava na rozetama biljke *P. hieracioides*. Prisustvo fitoplazmi iz 16SrII-E podgrupe je zabeleženo u oko 50% sakupljenih jedinki vrste *N. fenestratus* koja je dokazani vektor ove fitoplazme. *Neotaliturus fenestratus* je dokazani vektor koji prenosi fitoplazme iz 16SrIX grupe na šargarepu i salatu u Iranu (Salehi i sar. 2007). U vinogradima Izraela (Orenstein i sar., 2003), Austrije (Riedle-Bauer i sar., 2006) i Španije (Batlle i sar. 2000), *N. fenestratus* je registrovan da prenosi fitoplazmu iz 16SrXII-A grupe. Stoga se postavlja pitanje vremena kada će se i u Srbiji desiti da polifagna vrsta kao što je *N. fenestratus* prenese fitoplazme iz različitih grupa sa korova kojima se primarno hrani u vinograde i na povrtarske kulture.

U istraživanjima sastava i strukture zajednice cikada na kukuruzu u južnom Banatu i diverziteta cikada na široj teritoriji Srbije registrovano je prisustvo ukupno 33 vrste. Razlike u sastavu zajednica cikada i brojnosti vrsta uočene su između lokaliteta u južnom Banatu i kontrolnih lokaliteta. Od predstavnika podfamilije Deltocephalinae vrste koje su zabeležene samo na lokalitetima u južnom Banatu su *A. languidus*, *E. distinguendus* i *M. steini*. Sa druge strane, vrste ove podfamilije zabeležene samo na kontrolnim lokalitetima su *A. argentarius* i *M. lividus*. U analiziranim poljima kukuruza, među najbrojnijim vrstama cikada bila je vrsta *P. alienus*.

Istraživanja diverziteta cikada, njihovih životnih strategija i preferentnih biljaka domaćina u agroekosistemima od izuzetnog su značaja za sagledavanje epidemioloških lanaca brojnih bolesti uzrokovanih fitoplazmama koje ugrožavaju biljnu proizvodnju, ali i za predviđanje izbijanja epidemija novih bolesti.



## LITERATURA

- Alma, A., Soldi, G., Tedeschi, R., Marzachiš, C. (2002): Role of *Hyalesthes obsoletus* Signoret (Homoptera: Cixiidae) in the transmission of grapevine *Bois noir* in Italy. In: Proceedings of the Second Italian Meeting on Phytoplasma Diseases, 57–58. Ed. M. Barba. Roma, Italy: Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale Roma.
- Battle, A., Angeles Martínez, M. & Laviña, A. (2000) : Occurrence, distribution and epidemiology of Grapevine Yellows in Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 106: 811–816.
- Biedermann, R. and Niedringhaus, R. (2004): Die Zikaden Deutschlands-Bestimmungstabellen für alle Arten. Scheessel, WABV, p.409.
- Cravedi, P., Aldini, R. N. (2000): Occurrence of the *Flavescence dorée* vector *Scaphoideus titanus* in Oltrepo pavese, Italy vineyards. *Plant Pathology*, 27: 56–60.
- Cvrković, T. (2009): Diverzitet faune cikada u vinogradima Srbije i njihova uloga u prenošenju *Bois noir* fitoplazme. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Cvrković, T., Mitrović, M., Jović, J., Krnjajić, S., Krstić, O., Toševski, I. (2010): Diverzitet cikada (Hemiptera: Auchenorrhyncha) u vinogradima Srbije. *Zaštita bilja*, 61(3): 273, 217–232.
- Desančić, M., Krnjajić, S. (2005): Strategija suzbijanja *Scaphoideus titanus*. VII Savetovanje o zaštiti bilja, Soko Banja, 15–18. novembar 2005 (Zbornik rezimeja), 91–92.
- Filippin, L., Jović, J., Cvrković, T., Forte, V., Clair, D., Toševski, I., Boudon-Padieu, E., Borgo, M., & Angelini, E. (2009): Molecular characteristics of phytoplasmas associated with 'Flavescence dorée' in clematis and grapevine and preliminary results on the role of *Dictyophara europaea* as a vector. *Plant Pathology*, 58: 826–837.
- Gatineau, F., Larrue, J., Clair, D., Lorton, F., Richard-Molard, M., Boudon-Padieu, E. (2001): A new natural planthopper vector of stolbur phytoplasma in the genus *Pentastiridius* (Hemiptera: Cixiidae). *European Journal of Plant Pathology*, 107: 263–271.
- Holzinger, W. E., Kammerkander, I. and Nickel, H. (2003): The Auchenorrhyncha of Central Europe, Fulgomorpha, Cicadomorpha Excl. Cicadellidae. Leiden: Brill Academic Publishers, p.673.
- Janković, Lj. (1975): Fauna Homoptera: Auchenorrhyncha SR Srbije. Zbornik radova o entomofauni SR Srbije, I. Srpska akademija nauka i umetnosti, 133–153.
- Janković, Lj. (1978): Nov prilog fauni Homoptera: Auchenorrhyncha SR Srbije. Zbornik radova o entomofauni SR Srbije, II. Srpska akademija nauka i umetnosti, 133–153.
- Jović, J., Cvrković, T., Mitrović, M., Krstić, O., Krnjajić, S., Toševski I. (2010): Sastav i struktura zajednica cikada u usevima kukuruza u južnom Banatu. *Zaštita bilja*, 61 (3): 273, 233–247.
- Krnjajić, S., Mitrović, M., Cvrković, T., Jović, J., Petrović, A., Forte, V., Angelini, E., Toševski, I. (2007): Occurrence and distribution of *Scaphoideus titanus* Ball – multiple outbreaks of *Flavescence dorée* in Serbia. *Bulletin of Insectology*, 60 (2): 197–198.
- Langer, M., Maixner, M. (2004): Molecular characterisation of grapevine yellows associated phytoplasmas of the stolbur-group based on RFLP-analysis of non-ribosomal DNA. *Vitis*, 43: 191–200.
- Magud, B., Toševski, I. (2004): *Scaphoideus titanus* Ball. (Homoptera, Cicadellidae), nova štetočina u Srbiji. *Biljni lekar/Plant Doctor*, XXXII, 5/2004.

- Mitrović, M., Milićević, J., Cvrković, T., Krnjajić, S., Borgo, M., Angelini, E., Toševski, I. (2006): Detekcija fitoplazme zlatastog žutila vinove loze *Flavescence dorée* u populacijama pavitine *Clematis vitalba* (Vitaceae) u Srbiji. VIII Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, 27.11.-01.12.2006., Zbornik rezimea: 106-107.
- Mitrović, M., Toševski, I., Krstić, O., Cvrković, T., Krnjajić, S., Jović, J. (2011): A strain of phytoplasma related to 16SrII group in *Picris hieracioides* L. in Serbia. *Bulletin of Insectology*, 64: S241-S242.
- Mitrović, M., Jović, J., Cvrković, T., Krstić, O., Trkulja, N., Toševski, I. (2012): Characterisation of a 16SrII phytoplasma strain associated with bushy sturn of hawkweed oxtongue (*Picris hieracioides*) in south-eastern Serbia and the role of the leafhopper *Neoliturus fenestratus* (Deltocephalinae) as a natural vector. *European Journal of Plant Pathology*, 134: 647-660.
- Nickel, H. (2003): The leafhopper and planthoppers of Germany (Hemiptera, Auchenorrhyncha): Patterns and strategies in a highly diverse group of phytophagous insects. Pensoft Publ. 2003.
- Orenstein, S., Zahavi, T., Nestel, D., Sharon, R., Barkalifa, M., & Weintraub, P. G. (2003): Spatial dispersion patterns of potential leafhopper and planthopper (Homoptera) vectors of phytoplasma in wine vineyards. *Annals of Applied Biology*, 142: 341-348.
- Riedle-Bauer, M., Tiefenbrunner, W., Otreba, J., Hanak, K., Schildberger, B., & Regner, F. (2006): Epidemiological observations on Bois Noir in Austrian vineyards. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 56: 177-181.
- Salehi, M., Izadpanah, K., Siampour, M., Bagheri, A., & Faghihi, S. M. (2007): Transmission of 'Candidatus Phytoplasma aurantifolia' to Bakraee (*Citrus reticulata* Hybrid) by Feral Hishimonus phycitis Leafhoppers in Iran. *Plant Disease*, 91: 466.
- Šutić, D., Tošić, M., Starović, M., Stanković, R., Tomić, T. (2002): O crvenilu kukuruza. *Zaštita bilja* 53 (2-3): 57-73 (štampano 2005).
- Tanasijević, N. (1966): Novi prilog poznavanju cikada (Hom., Auchenorrhyncha) Jugoslavije. *Zaštita bilja*, 89-92: 205-212.
- Tanasijević, N. (1967): Značaj cikada (Homoptera: Auchenorrhyncha) u poljoprivredi i šumarstvu. *Agrohemija*, 1-2: 73-78.
- Vega, F.E., Davis, R.E., Dally, E.L., Barbosa, P., Purcell, A.H., Lee I.-M. (1994): Use of a biotinylated DNA probe for detection of the aster yellows mycoplasma-like organism in *Dalbulus maidis* and *Macrostelus fascifrons* (Homoptera: Cicadellidae). *Florida Entomology*, 77: 330-334.
- Weintraub, P.G., Beanland, L. (2006): Insect vectors of phytoplasmas. *Annual Review of Entomology*, 51: 91-111.
- Wilson, R.M. and Weintraub, G.P. (2007): An introduction to Auchenorrhyncha phytoplasma vectors. *Bulletin of Insectology*, 60(2): 177-178.

(Primljeno: 20.10.2013.)  
(Prihvaćeno: 28.11.2013.)

## DIVERSITY OF AUCHENORRHYNCHA SPECIES OF SUBFAMILY DELTOCEPHALINAE IN SERBIAN AGROECOSYSTEMS AND POTENTIAL PHYTOPLASMA VECTORS

MILJANA JAKOVLJEVIĆ, ANDREA KOSOVAC, OLIVER KRSTIĆ, MILANA MITROVIĆ,  
JELENA JOVIĆ, IVO TOŠEVSKI, TATJANA CVRKOVIĆ

*Institute for Plant Protection and Environment, Department of Plant Pests, Zemun, Serbia*  
*e-mail: miljka06@gmail.com*

### SUMMARY

Diversity of the cicads from the subfamily Deltocephalinae have been investigated in Serbia, over a period of 2004–2010 in vineyards on localities Vršac, Topola, Rajac and Jasenovik and maize fields of South Banat. Individuals of different species belonging to a subfamily Deltocephalinae were collected in plantations and crops, as well as from a surrounding vegetation. The most abundant species on all localities was *Psammotettix alienus* (Dahlbom, 1850). Less numerous species of the subfamily were *Euscelis incisus* (Kirschbaum, 1858), *Neoliturus fenestratus* (Herrich-Schäffer, 1834) and *Errastunus ocellaris* (Fallén, 1806), while the percentage representation of *Doratura impudica* Horváth, 1897 was much lower. Among the representatives of the subfamily Deltocephalinae, species that have been recorded in the South Banat were *Arocephalus languidus* (Flor, 1861), *Euscelis distinguendus* (Kirschbaum, 1858) and *Metalimnus steini* (Fieber, 1869). In vineyards of Jasenovik as the most dominant species occurred *N. fenestratus*.

**Key words:** cicads, Deltocephalinae, diversity, vectors, phytoplasmas

**(Received: 20.10.2013.)**

**(Accepted: 28.11.2013.)**

## BROJNOST I ŠTETNOST *DASINEURA BRASSICAE* (WINN.) U RAZLIČITIM SISTEMIMA GAJENJA ULJANE REPICE

DRAGA GRAORA<sup>1</sup>, IVAN SIVČEV<sup>2</sup>, LAZAR SIVČEV<sup>2</sup>, WOLFGANG BÜCHS<sup>3</sup>,  
VLADIMIR TOMIĆ<sup>4</sup>, BORIS DUDIĆ<sup>4</sup>, TANJA GOTLIN - ČULJAK<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd

<sup>2</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

<sup>3</sup>Julius Kühn-Institut, Institute for Crop and Soil Science, Braunschweig

<sup>4</sup>Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd

<sup>5</sup>Univerzitet u Zagrebu, Poljoprivredni fakultet, Zagreb

e-mail: dgraora@agrif.bg.ac.rs

### REZIME

Proučavanje *Dasineura brassicae* (Winn.) (Diptera: Cecidomyiidae), sprovedeno je na severu Srbije, tokom 2011. godine, u konvencionalnom, integralnom i organskom sistemu gajenja uljane repice (*Brasica napus* L.), kao i 2011/12. godine, na ozimoj pšenici koja je u plodoredu sa uljanom repicom. Vrsta razvija dve generacije godišnje a prezimljava kao larva u kokonu u zemljištu. Imigracija imaga prve generacije traje od početka cvetanja uljane repice 12. aprila (BBCH 60-62), do postizanja konačne veličine ljuske, 26. maja (BBCH 77-78). Ženka polaže jaja u ljuske koje se deformišu i pucaju, semenke ispadaju, što ima za posledicu smanjenje prinosa uljane repice. Oštećenost ljusaka u tri sistema gajenja uljane repice iznosi 2,5-11,6%. Postoji statistički značajna razlika između brojnosti larava i imaga *D. brassicae* u integralnom u odnosu na konvencionalni i organski sistem gajenja uljane repice. Utvrđeno je da *D. brassicae* polaže jaja u zdrave ljuske i da nema korelacije sa *Ceutorhynchus obstrictus* (Marsham). Zbog malog procenta ekloziranih imaga (0,57-1,5%) u kasnoj fenofazi domaćina, druga generacija *D. brassicae* u našim uslovima nema značaja u proizvodnji uljane repice. Na ozimoj pšenici, tokom druge godine istraživanja, nije registrovana eklozija imaga mušice kupusne ljuske, što upućuje na trajanje dijapauze duže od jedne godine.

**Ključne reči:** *Dasineura brassicae*, *Brasica napus*, *Ceutorhynchus obstrictus*

### UVOD

Mušica kupusne ljuske (*D. brassicae*) je rasprostranjena u većini evropskih zemalja. Ubraja se u 6 najznačajnijih štetočina uljane repice koje u različitim fenofazama oštećuju različite biljne delove (Alford et al., 2003). Oštećenja prouzrokuje, pre svega na ljuskama ozime i prolećne uljane repice, ali i na drugim vrstama iz familije Brassicaceae.

U infestiranim ljuskama larve enzimski razlažu unutrašnje tkivo (Kazda et al., 2005), prouzrokujući promenu boje ljusaka, njihovo krivljenje i pucanje, što rezultuje preranim ispadanjem semen-

ki. Usled napada ove vrste zabeleženi su gubici semena uljane repice i do 82% (Williams, 2010).

U mnogim zemljama je poslednjih decenija postala ekonomski značajna vrsta, a štete na uljanoj repici registrovane su u Letoniji (Grantina et al., 2012), u Velikoj Britaniji (Ferguson et al., 2004), u Nemačkoj (Büchs and Katzur, 2005; Aljmlj, 2007), u Litvaniji (Vaitelyte et al., 2011), u Švedskoj (Nilsson et al., 2004), u Češkoj (Šedivy and Vašak, 2002; Kazda et al., 2005; Pavela et al., 2007).

*D. brassicae* je na području Srbije, tokom tridesetpetogodišnjih faunističkih istraživanja (1965-2000), registrovana kao potencijalno opasna šteto-

čina na *Brassica oleracea* i *B. napus* u većem broju lokaliteta (Simova-Tošić et al., 2000), dok je posljednjih godina utvrđena na uljanoj repici na području Bačke u maloj brojnosti (Milovac et al., 2011).

Različiti podaci inostranih autora o značaju i štetnosti ove vrste kao i o različitom vremenu i načinu njenog suzbijanja inicirali su naša istraživanja, budući da su znanja o ovoj vrsti malobrojna i veoma oskudna. Cilj rada bio je da se utvrdi broj generacija *D. brassicae* i njihov značaj u proizvodnji uljane repice sa različitim sistemima gajenja, da se prouči korelacija vrste sa *C. obstrictus* kao i da se utvrdi potreba i vreme suzbijanja ove štetočine.

### MATERIJAL I METODE

Proučavanje *Dasineura brassicae* obavljeno je u toku 2011. godine na uljanoj repici i 2011/12. godine na ozimom pšenici koja je u plodoredu sa uljanom repicom. Istraživanja su obavljena u lokalitetu Stari Žednik kod Subotice gde je uljana repica gajena na tri eksperimentalna polja veličine po 1,5 ha, sa konvencionalnim, integralnim i organskim načinom gajenja.

Konvencionalni način gajenja obuhvata duboko oranje, setvu semena tretiranog fungicidima i insekticidima, gustinu setve od 4,2 kg/ha, standardno međuredno rastojanje (12 cm), primenu herbicida posle setve a pre nicanja useva, primenu mineralnih đubriva i insekticida.

Integralni način gajenja obuhvata prekrivanje polja organskom materijom, setvu semena tretiranog fungicidima, gustinu setve od 4,2 kg/ha, standardno međuredno rastojanje (12 cm), primenu mi-

neralnih đubriva i primenu insekticida i herbicida na osnovu pragova štetnosti.

Organski način gajenja obuhvata duboko oranje, setvu ne tretiranog semena, gustinu setve od 6 kg/ha, međuredno rastojanje 36 cm, mehaničko suzbijanje korova i odsustvo primene pesticida i mineralnih đubriva.

Uljana repica je posejana 17. 09. 2010. a požnjena 22. 06. 2011. godine. Ozima pšenica je posejana 20. 10. 2011 a požnjena 21. 06. 2012. godine.

Tokom proleća (7. 04. 2011, BBCH 55-57) u cilju suzbijanja štetnih vrsta rilaša iz roda *Ceutorhynchus* u organskom sistemu gajenja primenjen je insekticid Spinosad 96 gr/ha a.i. dok su na konvencionalnom i integralnom sistemu gajenja (25. 03. 2011, BBCH 22-25) primenjeni insekticidi Chlorpyrifos + Cypermethrin (500 gr/ha a.i. + 50 gr/ha) i Cypermethrin 40 gr/ha a.i.

U cilju registrovanja imigracije imaga prve generacije *D. brassicae* na svakom oglednom polju sa različitim sistemom gajenja korišćene su žute lovne posude. Klopke su postavljene početkom oktobra 2010 (BBCH 12-13) po sredini svakog polja na četiri mesta na rastojanju od 50 m. Tokom proleća posude su pomerane nagore da bi uvek bile iznad useva i vidljive za insekte (Slika 1).

Procenat oštećenosti ljustaka i brojnost larava *D. brassicae* po ljustci, utvrđivana je disekcijom svih ljustaka na glavnoj cvasti, sa po 5 biljaka, u fenofazi BBCH 71-73, u sva tri sistema gajenja.

U cilju praćenja vremena odlaska odaslih larava *D. brassicae* na čaurenje u zemljište, ispod biljaka je na svakoj oglednoj parceli postavljeno po 8



**Slika 1.** Žuta lovna posuda.  
**Figure 1.** Yellow Water Trap (orig.).



**Slika 2.** Levkasta lovna posuda.  
**Figure 2.** Funnel trap (orig.).



**Slika 3.** Fotoeklektor kavezi.  
**Figure 3.** Emergence traps (orig.).

levkastih lovnih posuda počevši od fenofaze BBCH 65 do žetve (Slika 2).

Izletanje imaga 2 generacije *D. brassicae* iz zemljišta praćeno je sa fotoeklektor kavezima. Na svakoj oglednoj parceli je postavljeno po 8 klopki počevši od fenofaze BBCH 68. Fotoeklektor kavezi su bili u polju uljane repice sve do njene žetve a nakon toga, od setve do žetve ozime pšenice (Slika 3). Pregled klopki je obavljan svakih 7 do 14 dana. Fenofaze razvoja uljane repice (BBCH) date su po Weber i Bleiholder (1990).

U cilju obrade rezultata primenjene su metode analize varijanse (ANOVA) i Tuckey test u slučaju kada su ispoljene značajne ili vrlo značajne razlike.

## REZULTATI

*D. brassicae* razvija dve generacije godišnje a prezimljava kao larva u kokonu u zemljištu. Početak imigracije imaga prve generacije zabeležen je sredinom aprila, početkom cvetanja uljane repice (BBCH 60-62). Imigracija imaga je dosta razvučena i traje do kraja maja (BBCH 77-78). Ženka polaže jaja u ljuske u čijoj unutrašnjosti se razvijaju larve, hraneći se unutrašnjim tkivom, ne oštećujući semenke (Slika 4). Usled ishrane larava ljuske zadebljavaju, menjaju boju od žute do smeđe, često se krive, deformišu, suše i pucaju (Slike 5 i 6). Iz oštećenih ljusaka, semenke prerano ispadaju što značajno utiče na smanjenje prinosa prilikom žetve.

Disekcijom ljustaka 3. maja (BBCH 71-73), utvrđeno je 2,5 – 11,6%, oštećenih ljustaka pri čemu je najveći procenat oštećenja zabeležen u integralnom a najmanji u organskom sistemu gajenja. Prosečan broj larava po ljusci iznosi 3,7 – 26,3 sa najvećom brojnošću u integralnom a najmanjom u konvencionalnom sistemu gajenja. Po ljusci, maksimalno je zabeležena 61 a minimalno dve larve.



**Slika 4.** *D. brassicae* - larve u ljuskama.  
**Figure 4.** *D. brassicae* - larvae in pod (orig.).



**Slika 5.** *D. brassicae* - simptomi na ljusci.  
**Figure 5.** *D. brassicae* - symptoms in a pod (orig.).

Prilikom pregleda napadnutih ljustaka (BBCH 71-73), posebna pažnja je bila usmerena na utvrđivanje prisustva oštećenja od rilaša kupusove ljuske, *Ceutorhynchus obstrictus* (syn. *C. assimilis*) koja se smatraju značajnim za intenzitet napada *D. brassicae*. Ovom prilikom oštećenja od rilaša nisu uočena. Od 773 pregledane ljuske samo u jednoj je registrovana larva *C. obstrictus*. Pojedinačno prisustvo *C.*

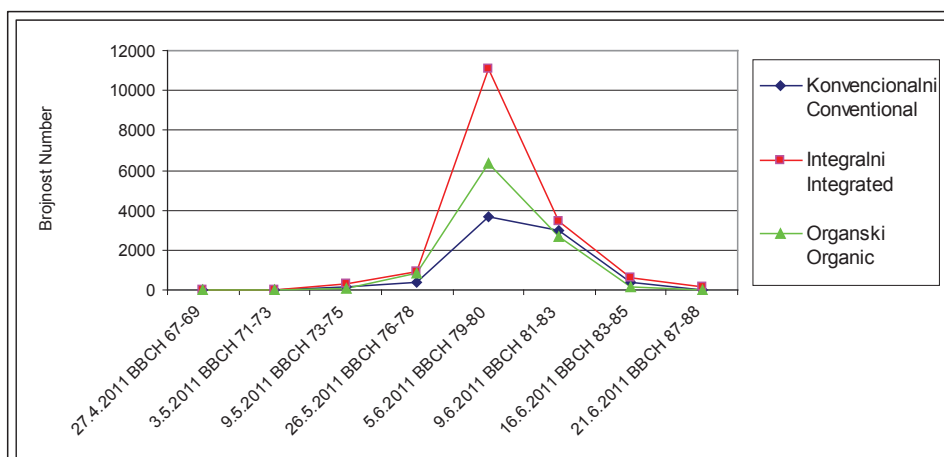


**Slika 6.** *D. brassicae* - oštećene ljuske uljane repice.  
**Figure 6.** *D. brassicae* - damaged pods of oilseed rape (orig.).

**Tabela 1.** Prosečna brojnost larava i imaga *D. brassicae* u različitim sistemima gajenja uljane repice.  
**Table 1.** Mean number of the *D. brassicae* larvae and imagines in different oilseed rape management systems.

| Sistemi gajenja uljane repice<br>(Management systems)                             | Konvencionalni<br>(Conventional) | Integralni<br>(Integrated) | Organski (Organic) | F     | p       |
|---|----------------------------------|----------------------------|--------------------|-------|---------|
| Prosečna brojnost larava<br><i>D. brassicae</i> ± standardna greška<br>Mean ± SEM | 7546.75±830.06b                  | 16488±2161.52a             | 9267.75±1860.43b   | 7,653 | p=0.003 |
| Prosečna brojnost imaga<br><i>D. brassicae</i> ± standardna greška<br>Mean ± SEM  | 33.75±3.92b                      | 77.0±13.32a                | 35.75±9.46b        | 6,331 | p=0.007 |

Prosečne vrednosti sa različitim slovima (a,b) ukazuju na značajne razlike, ANOVA,  $p < 0.05$   
Mean values with different letters (a,b) indicate significant differences, ANOVA,  $p < 0.05$

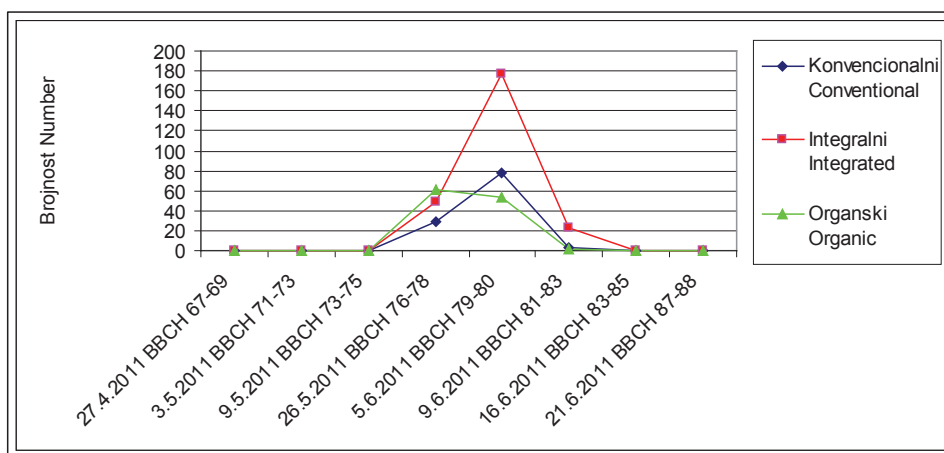


**Grafikon 1.** Prosečna brojnost larava *D. brassicae* u levkastim lovnim posudama/m<sup>2</sup> u periodu 27. 04. – 21. 06. 2011. god. (BBCH 67-69 – BBCH 87-88) u različitim sistemima gajenja uljane repice.

**Graph. 1.** Mean number of *D. brassicae* larvae/m<sup>2</sup> in funnel traps in period 27. 04. – 21. 06. 2011 (BBCH 67-69 – BBCH 87-88) in different oilseed rape management systems.

**Tabela 2.** Ukupan broj larava u levkastim lovnim posudama i ekloDIRANIH imaga u fotoeklektor kavezima/m<sup>2</sup> *D. brassicae* u periodu 27. 04. – 21. 06. 2011 (BBCH 67-69 – BBCH 87-88) u različitim sistemima gajenja uljane repice.  
**Table 2.** Total number of larvae *D. brassicae* in funnel traps and hatching imagines in emergence cages/m<sup>2</sup> in period 27. 04. – 21. 06. 2011 (BBCH 67-69 – BBCH 87-88) in different oilseed rape management systems.

| Sistemi gajenja uljane repice<br>Management systems | Larve u levkastim lovnim posudama<br>Dropping larvae | EkloDIRANA imaga<br>Hatching imagines | Uspešnost reprodukcije (%)<br>Reproduction success (%) |
|---|--|---------------------------------------|--|
| Konvencionalni<br>Conventional                      | 60362,0  | 874,9                                 | 1,4  |
| Integralni<br>Integrated                            | 131904,0   | 1995,9                                | 1,5  |
| Organski<br>Organic                                 | 74124,0  | 426,7                                 | 0,57   |



**Grafikon 2.** Prosečna brojnost imaga *D. brassicae* u fotoeklektor kavezima/m<sup>2</sup> u periodu 27. 04. – 21. 06. 2011 (BBCH 67-69 – BBCH 87-88) u različitim sistemima gajenja uljane repice.

**Graph. 2.** Hatching rate (ind/m<sup>2</sup>) of the second generation of *D. brassicae* in period 27. 04. – 21. 06. 2011 (BBCH 67-69 – BBCH 87-88) in different oilseed rape management systems.



*obstrictus*, sa jedne strane i velika brojnost larava *D. brassicae* u ljuskama, sa druge strane, nameće zaključak da *D. brassicae* polaže jaja u zdrave ljuske pa korelacija između ove dve vrste nije utvrđena.

Nakon završenog razvića, larve kroz napukle ljuske padaju na zemlju. Brojnost larava koje padnu na zemlju i vreme napuštanja ljusaka prikazano je na Grafikonu 1.

Prve larve koje su završile razviće i pale na zemlju, zabeležene su u levkastim lovnim posudama 3. maja (BBCH 71-73) u sva tri sistema gajenja. Brojnost larava se povećava sve do 5. juna (BBCH 79-80), kada je zabeležena maksimalna brojnost. U narednom periodu brojnost larava se smanjuje sve do 21. juna (BBCH 87-88), kada su evidentirane poslednje larve u levkastim lovnim posudama, odnosno, sve larve su napustile ljuske i dospale u zemljište.

U usevu uljane repice brojnost larava *D. brassicae* se vrlo značajno razlikuje između različitih sistema gajenja. Larve su bile brojnije u integralnom nego u organskom i konvencionalnom sistemu gajenja. Postoji statistički značajna razlika između integralnog i konvencionalnog i integralnog i organskog sistema gajenja dok između konvencionalnog i organskog sistema gajenja nema statistički značajne razlike (Tabela 1).

Uočeno je da najveći deo populacije larava prve generacije prezimljava a samo mali broj nastavlja razviće, obrazujući lutku iz koje eklodira imago druge generacije.

Eklozija imaga druge generacije i njihova brojnost praćena je fotoeklektor kavezima (Grafikon 2.)

Eklozija imaga druge generacije *D. brassicae* u fotoeklektor kavezima zabeležena je 26. maja (BBCH 76-78) u sva tri sistema gajenja. Najveća brojnost imaga zabeležena je 5. juna (BBCH 79 - 80) dok je prestanak eklozije registrovan 9. juna (BBCH 81-83) u vreme kada je postalo vrlo toplo i sušno. Period eklozije imaga druge generacije iznosi 14 dana.

Brojnost eklodiranih imaga *D. brassicae* se vrlo značajno razlikuje između različitih sistema gajenja. Imaga *D. brassicae* su bila brojnija u integralnom nego u organskom i konvencionalnom sistemu gajenja pa je ispoljena statistički značajna razlika (Tabela 1).

U cilju utvrđivanja procenta izletelih imaga, upoređena je ukupna brojnost larava prve generacije u levkastim lovnim posudama i brojnost eklodiranih imaga druge generacije u fotoeklektor kavezima po svakom sistemu gajenja (Tabela 2).

Ukupan broj larava u levkastim lovnim posudama iznosi 60362,0 - 131904,0 m<sup>2</sup>, pri čemu je najveća brojnost zabeležena u integralnom a najmanja

u konvencionalnom sistemu gajenja. Ukupan broj eklodiranih imaga u fotoeklektor kavezima iznosi 426,7 - 1995,9/m<sup>2</sup>, sa najvećom brojnošću u integralnom a najmanjom u organskom načinu gajenja uljane repice. Uočava se da je u svakom sistemu gajenja uljane repice brojnost eklodiranih imaga znatno manja u odnosu na brojnost larava koje dospevaju u zemljište i iznosi 0,57 - 1,5%. Na osnovu dobijenih podataka, malog procenta eklodiranih imaga (0,57 - 1,5%) u periodu od 26. maja do 9. juna (BBCH 76-78 do BBCH 81-83), utvrđeno je da druga generacija *D. brassicae* ne prouzrokuje značajna oštećenja na uljanoj repici.

Pregledom fotoeklektor kaveza tokom leta 2011. kao i naredne 2012. god. tokom razvoja pšenice, sve do njene žetve, nije utvrđena eklozija mušice ni u jednom sistemu gajenja, što upućuje na zaključak da najveći deo prezimljujućih larava prve generacije ima dijapauzu koja traje više od jedne godine.

Sprovedena tretiranja insekticidima protiv štetnih vrsta rilaša iz roda *Ceutorhynchus* u uljanoj repici, krajem marta i početkom aprila nisu uticala na brojnost mušice kupusne ljuske, čija je imigracija zabeležena nakon primene preparata i prestanka njihovog delovanja.

## DISKUSIJA

*D. brassicae* na ozimom uljanoj repici, razvija dve generacije kao i u većini evropskih zemalja (Alford et al., 2003; Williams et al., 1987; Ferguson et al., 2004; Aljmlji, 2007). Utvrđeno je da imago prve generacije naseljava uljanu repicu od sredine aprila do kraja maja u fenofazi BBCH 60-62 do BBCH 77-78. Dug period imigracije imaga prve generacije, od mesec i po dana, u Hrvatskoj (Maceljski, 1983), Švedskoj (Nilsson et al., 2004), Engleskoj (Williams et al., 1987), obezbeđuje veoma nežnim i kratkoživućim mušicama pronalaženje adekvatne fenofaze bilo ozime ili prolećne uljane repice za svoj razvoj, pri čemu je ozima uljana repica značajnije napadnuta (Axelsen, 1992; Alford et al., 2003).

Brojnost larava i imaga *D. brassicae* je statistički značajno veća u integralnom nego u konvencionalnom i organskom sistemu gajenja uljane repice. Jedan od razloga je veća zakorovljenost polja u integralnom sistemu gajenja što uslovljava produženo vreme cvetanja uljane repice, odnosno, duži ovipozicioni period mušice. Takođe, blizina polja na kojima je u prethodnim godinama gajena uljana repica kao i smer duvanja vetra kojim se nakon eklozije vrsta prenosi, utiču na različitu disperziju vrste.

Na napadnutim biljkama *D. brassicae* prouzrokuje oštećenost ljusaka uljane repice od 2,5-

11,6% sa prosečnim brojem larava 3,7 - 26,3 po ljsuci. Ženka polaže jaja u zdrave ljsuke a korelacija sa *C. obstrictus* nije utvrđena. Slična zapažanja su zabeležena u Češkoj (Kazda et al., 2005), za razliku do drugih literaturnih podataka gde je registrovana korelacija između ove dve vrste (Ahman, 1987; Alford et al., 2003; Pavela et al., 2007; Aljmli, 2007; Williams, 2010).

Različiti procenat oštećenja ljsuka zabeležen je i u drugim zemljama kao što su Rumunija (Bucur and Rosca, 2011), Hrvatska (Maceljski et al., 1980), Letonija (Grantina et al., 2012), Nemačka (Büchs and Katzur, 2004), pri čemu su najveća oštećenja od 86% zabeležena u Češkoj (Pavela et al., 2007). Povećanje površina pod uljanom repicom u mnogim zemljama, uslovalo je povećanje brojnosti populacija *D. brassicae*, što nameće potrebu hemijskog suzbijanja ove štetočine (Kazda et al., 2005; Pavela et al., 2007; Vaitelyte et al., 2011; Petraitiene et al., 2012) imajući u vidu da oštećenost ljsuka od 21% prouzrokuje gubitak prinosa od 34% (Bracken, 1987 loc. cit. Aljmli, 2007).

Svakako, hemijska zaštita je veoma otežana zbog kratkog života mušice, dugog perioda imigracije u OSR, ograničenog izbora pogodnih insekticida za primenu u fenofazi cvetanja. U nekim zemljama, poput Velike Britanije, preporučuje se primena insekticida u periodu cvetanja ozime repice (Williams and Ferguson, 2010) dok su u Letoniji (Grantina et al., 2012) preparati primenjeni u fazi obrazovanja cvasti BBCH 51-55 i potom u fazi cvetanja BBCH 59-62 ispoljili značajnu efikasnost. U Češkoj su najbolji rezultati postignuti primenom insekticida u fazi precvetavanja uljane repice (67-68 BBCH), odnosno u vreme pojave imaga druge generacije, čije larve nanose ekonomski značajne štete (Kazda et al., 2005; Pavela et al., 2007).

Tretiranje koje je sprovedeno krajem marta (25. 03. 2012, BBCH 22-25) u cilju suzbijanja štet-

nih vrsta iz roda *Ceutorhynchus*, nije imalo uticaja na brojnost *D. brassicae* jer je izvedeno znatno pre njene imigracije. Mišljenja smo da bi primena još jednog tretmana, protiv *Meligethes aeneus*, čiji je maximum pojave zabeležen 7. aprila (BBCH 55-57), ukoliko se prekorače pragovi štetnosti, uticala na smanjenje brojnosti populacija *D. brassicae*. U Litvaniji je smanjenje broja infestiranih ljsuka od *C. obstrictus* i *D. brassicae* postignuto primenom jednog ili dva tretiranja u cilju suzbijanja *M. aeneus* u fenofazi BBCH 50-59 (Petraitiene et al., 2012). Druga generacija mušice kupusne ljsuke je zabeležena u niskoj brojnosti (0,57-1,5%) u fenofazi 76-78 do 81-83, i nije značajna u proizvodnji uljane repice u našoj zemlji. Takođe, visoka brojnost (98,5-99,4%) larava koje ostaju u u kokonu tokom tekuće i naredne godine upućuje na višegodišnju dijapauzu vrste, koja može da traje i do pet godina (Williams et al., 1987; Alford et al., 2003; Nilsson et al., 2004; Williams and Cook, 2010; Williams, 2010).

Pojava imaga druge generacije u niskoj brojnosti verovatno predstavlja jednu od strategija opstanka vrste u različitim vremenskim uslovima. Poznato je da eklozija imaga *D. brassicae*, naročito u sušnim godinama, može biti malobrojna ili potpuno izostati (Nilsson et al., 2004), što je zabeleženo u postojećim uslovima, veoma toplog i sušnog leta tokom 2011. godine. Osim toga, niska stopa izletanja imaga može biti uslovljena potencijalnim efektom prirodnih neprijatelja, kako predatora (Williams et al., 2010) tako i parazitoida (Ferguson et al., 2010).

## ZAHVALNICA

Istraživanja u ovom radu realizovana su u okviru projekta SEEERA NET 051 i III 46008 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## LITERATURA

- Alford, D. V., Nilsson, C., Ulber, B. (2003): Insect pests of oilseed rape crops. In: Biocontrol of oilseed rape pests (ed. D. V. Alford), Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, pp. 9-42.
- Aljmli, F. (2007): Classification of oilseed rape visiting insects in relation to sulphur supply. Dissertation. Technische Universität Braunschweig, 143 p.
- Ahman, I. (1987): Oviposition site characteristics of *Dasineura brassicae* Winn. (Dipt., Cecidomyiidae). J. Appl. Ent., 104: 85-91.
- Axelsen, J. A (1992): The population dynamics and mortalities of the pod gall midge (*Dasineura brassicae*

Winn.) (Dipt., Cecidomyiidae) in winter rape and spring rape (*Brassica napus* L.) in Denmark. J. Appl. Entomol., 114: 463–471.

Büchs, W., Katzur, K. (2004): Cultivation techniques as means to control pests in organic oilseed rape production. Integrated Protection in Oilseed Crops IOBC/wprs Bulletin Vol. 27(10): 225–236.

Büchs, W., Katzur, K. (2005): Regulierung von Schadinsekten durch pflanzenbauliche Maßnahmen im ökologischen Rapsanbau. Sektion 8 – Entomologie im Pflanzen- und Vorratsschutz PP221, V08-17.

Bucur, A., Rosca, I. (2011): Research regarding biology of rape pests. Scientific Papers, UASVM Bucharest, Series A, Vol. LIV, pp. 356–359.

Ferguson, A.W., Campbell, J.M., Warner, D.J., Watts, N.P., Schmidt, J.E.U., Williams, I.H. (2004): Phenology and spatial distributions of *Dasineura brassicae* and its parasitoids in a crop of winter oilseed rape: Implications for integrated pest management. IOBC/wprs Bull 27(10): 243–252.

Ferguson, A., Williams, I., Castle, L. and M. Skellern (2010): Key Parasitoids of the Pests of Oilseed Rape in Europe: A Guide to Their Identification. In: Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests, (ed. I. Williams), 77–114. Springer, London, New York.

Grantiņa, I. (2012): Brassica stem and pod weevil (*Ceutorhynchus* spp.) and brassica pod midge (*Dasineura brassicae*) biology, ecology and economical importance in Latvia. Doctoral thesis. Latvia University of Agriculture, Faculty of Agriculture, pp. 1–46.

Kazda, J., Baranyk, P., Nerad, D. (2005): Bionomic and economic meaning of brassica pod midge (*Dasineura brassicae* Winnertz) in new technologies of winter rape cultivation. Scientia agriculturae bohemica, 36, (4): 121–133.

Maceljski, M. (1983): *Dasyneura brassicae*. U: Priručnik izveštajne i prognozne službe zaštite poljoprivrednih kultura (ed. D. Čamprag), str. 311–312. Savez društava za zaštitu bilja Jugoslavije, Beograd.

Maceljski, M., Balarin, I., Danon, V. (1980): The results of investigations of the appearance and noxiousness of insects on rape in Yugoslavia. Plant Protection, 154: 317–324.

Milovac, Z., Keresi, T., Mitrovic, P., Martinkovic, R., Marjanović, J. A. (2011): Prisustvo pipe kupusne ljuške (*Ceutorhynchus obstrictus*) i mušice kupusne ljuške (*Dasineura brassicae*) na uljanoj repici tokom 2011. godine. XI savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, 28.11.–2. 2011. Zbornik rezimea, 113–114.

Nilsson, C., Vimarlund, L., Gustafsson, G. (2004): Long term survival of Brassica Pod Midge (*Dasineura brassicae*) populations. IOBC/wprs Bull. 27(10): 299–305.

Pavela, R., Kazda, J., Herda, G. (2007): Influence of application term on effectiveness of some insecticides against brassica pod midge (*Dasineura brassicae* Winn.). Plant Protection Sciences, 43: 57–62.

Petraitienė, E., Brazauskienė, I., Vaitelyte, B. (2012): The effect of insecticides on pest control and productivity of winter and spring oilseed rape (*Brassica napus* L.). Insecticides - Advances in Integrated Pest Management, Chapter 15:1–25.

Simova – Tošić, D., Skuhrava, M., Skuhravy, V. (2000): Gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) of Serbia. Acta entomologica serbica, 5 (1/2): 47–93.

Šedivy, J., Vašák, J. (2002): Differences in flight activity of pests on winter and spring oilseed rape. Plant Protect. Sci., 38: 138–144.

Vaitelyte, B., Petraitiene, E., Šmatas, R., Brazauskiene, I. (2011): Control of *Meligethes aeneus*, *Ceutorhynchus assimilis* and *Dasineura brassicae* in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Žemdirbyste=Agriculturae*, 98 (2): 175-182.

Weber, E., Bleiholder, H. (1990): Erläuterungen zu den BBCH-Dezimal - Codes für die Entwicklungsstadien von Mais, Raps, Faba-Bohne, Sonnenblume und Erbse – mit Abbildungen. *Gesunde Pflanzen*, 42, 308–321.

Williams, I. H. (2010): The major insect pests of oilseed rape in Europe and their management: an overview. In: *Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests* (ed. I. H. Williams), pp. 1-45, London, New York.

Williams, I. H., Martin, A.P., Kelm, M. (1987): The phenology of the emergence of brassica pod midge (*Dasineura brassicae* Winn.) and its infestation of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *J. Agr. Sci.*, 108: 579–589.

Williams, I., Cook, S. (2010): Crop Location by Oilseed Rape Pests and Host Location by Their Parasitoids. In: *Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests* (ed. I. H. Williams), pp. 215-244, London, New York.

Williams, I., Ferguson, A. (2010): Spatio-Temporal Distributions of Pests and Their Parasitoids on the Oilseed Rape Crop. In: *Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests* (ed. I. H. Williams), pp. 245-271, London, New York.

Williams, I., Ferguson, A., Kruus, M., Veromann, E., Warner, D. (2010): Ground beetles as predators of oilseed rape pests: Incidence, spatio-temporal distributions and feeding. In: *Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests* (ed. I. H. Williams), pp. 115-149, London, New York.

**(Primljeno: 05.11.2013.)**  
**(Prihvaćeno: 02.12.2013.)**

## THE NUMBER AND HARMFULNESS OF *DASINEURA BRASSICAE* (WINN.) IN DIFFERENT OILSEED RAPE MANAGEMENT SYSTEMS

DRAGA GRAORA<sup>1</sup>, IVAN SIVČEV<sup>2</sup>, LAZAR SIVČEV<sup>2</sup>, WOLFGANG BÜCHS<sup>3</sup>,  
VLADIMIR TOMIĆ<sup>4</sup>, BORIS DUDIĆ<sup>4</sup>, TANJA GOTLIN - ČULJAK<sup>5</sup>

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade

<sup>2</sup>Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

<sup>3</sup>Julius Kühn-Institut, Institute for Crop and Soil Science, Braunschweig

<sup>4</sup>University of Belgrade, Faculty of Biology, Belgrade

<sup>5</sup>University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Zagreb

e-mail: dgraora@agrif.bg.ac.rs

### SUMMARY

The study of *Dasineura brassicae* (Winn.) (Diptera: Cecidomyiidae), was conducted in northern Serbia, in the 2011, in conventional, integrated and organic system of cultivation of oilseed rape (*Brassica napus* L.), and in 2011/12 on the winter wheat, which was in rotation with oilseed rape. Pest develops two generations per year and overwinters as a larva in a cocoon in the soil. Immigration of adults of the first generation lasts from the beginning of flowering, April 12 (BBCH 60-62), up to achieving the final size pods, May 26 (BBCH 77-78). The female lays eggs in pods that can warp and crack, the seeds fall out, resulting in a decrease in the yield of oilseed rape. Infestation pods of oilseed rape from 3 different cropping systems is 2.5 to 11.6%. There is a statistically significant difference between the mean number of larvae and adults of *D. brassicae* in an integrated with respect to the conventional and organic oilseed rape management cropping system. It was found that *D. brassicae* lays eggs in undamaged pods and that there is no correlation with *Ceutorhynchus obstrictus* (Marsham). Due to the low number of adults and their appearance in the late stage of oilseed rape development second generation of *D. brassicae* is of no importance for the production. During the second year of study, in winter wheat fields, emergence of *D. brassicae* is not registered indicating the duration of diapause for more than one year.

**Key words:** *Dasineura brassicae*, *Brassica napus*, *Ceutorhynchus obstrictus*

(Received: 05.11.2013.)

(Accepted: 02.12.2013.)

## UTICAJ RAZLIČITIH TEMPERATURA NA KLIJANJE SEMENA *AVENA FATUA L. I AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA L.*

DRAGANA BOŽIĆ<sup>1</sup>, SAVA VRBNIČANIN<sup>1</sup>, DANIJELA PAVLOVIĆ<sup>2</sup>,  
ANA ANDELKOVIĆ<sup>3</sup>, MARIJA SARIĆ-KRSMANOVIĆ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet Beograd-Zemun

<sup>2</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

<sup>3</sup>Stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije

<sup>4</sup>Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd-Zemun

### REZIME

Poznavanje ekologije semena korova je značajno za procenu potencijala invazivnosti neke korovske vrste, kao i za osmišljavanje efikasnih programa za suzbijanje korova. Divlji ovas (*Avena fatua L.*) i ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia L.*) su dve veoma rasprostranjene korovske vrste na području Srbije, pa je stoga neophodno poznavanje ekologije semena ovih vrsta. Klijavost njihovog semena je ispitivana na različitim temperaturama (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 i 40°C). Na osnovu svakodnevnog praćenja broja klijalih semena izračunata je stopa klijavosti, a 7 dana nakon postavljanja eksperimenta određen je finalni procenat klijavosti. Procenat klijavosti *A. fatua* je bio najveći pri temperaturi od 10°C (90%), a najmanji pri temperaturi od 35°C (6,87%), dok je stopa klijavosti bila najveća na temperaturi od 25°C (7,9 klijalih semena/dan), a najmanja na temperaturi od 30°C (0,79 klijalih semena/dan). Nasuprot tome, procenat klijavosti *A. artemisiifolia* je bio najveći pri temperaturi od 25°C (30%), a najmanji pri temperaturi od 40°C (2,08%), dok na temperaturama od 5 i 10°C seme nije klijalo. Stopa klijavosti je bila najveća na temperaturi od 30°C (7,84 klijalih semena/dan), a najmanja na temperaturi od 40°C (0,7 klijalih semena/dan).

**Ključne reči:** temperature, divlji ovas (*Avena fatua L.*), ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia L.*), klijavost

### UVOD

U agroekosistemu banka semena u zemljištu sadrži veliki broj semena različitih korovskih vrsta (Forcella i sar., 1992). Podaci o klijavosti tih semena mogu biti veoma korisni za predviđanje potencijala širenja i invazivnosti, kao i za definisanje efikasnih programa za suzbijanje korova (Forcella i sar., 1992; Norsworthy i Oliveira, 2007). Generalno, klijavost semena zavisi od uslova sredine i osobina samog semena, kao i od njihove interakcije. Jedna od značajnih karakteristika semena koja direktno utiče na sposobnost klijanja jeste dormantnost, čiju klasifikaciju zasnovanu na povezanosti ove osobine i temperature je predložio Vegis (1964). Prema ovoj kla-

sifikaciji semena se na osnovu dormantnosti mogu razvrstati u tri kategorije: nedormantno (klija 100% na svim temperaturama), termički dormantno (klija 0-100% na niskim, ali ne na visokim temperaturama) i dormantno (ne klija ni na jednoj temperaturi dok se dormantnost ne prekine) seme. Interakcije genetičkih i fizioloških karakteristika, kao i njihove interakcije sa faktorima spoljašnje sredine, mogu prekinuti dormantnost semena ili delovati stimulatивно na proces klijanja (Murdosch i Ellis, 1992).

Svaka biljna vrsta za klijanje zahteva specifične uslove sredine (Baskin i Baskin, 1998), uključujući vlažnost zemljišta, temperaturu, dostupnost kiseonika, prisustvo/odsustvo svetlosti, mikrobiološku aktivnost i sadržaj nitrata u zemljištu (Baskin i Baskin, 1990;

Oryokot i sar., 1997). Smatra se da je temperatura jedan od najznačajnijih faktora za proces klijanja (Forcella, 1998; Simpson, 1990). Osim toga, za klijanje semena nekih vrsta neophodne su temperaturne fluktuacije (Thomson i Grime, 1983; Baskin i Baskin, 1998). Tako su Thomson i Grime (1983) ispitivali uticaj fluktuacija temperature na klijavost semena 112 korovskih vrsta (*Agropyrum repens* (L.) Beauv., *Mentha arvensis* L., *Polygonum lapathifolium* L., *P. persicaria* L., *Rumex crispus* L. i dr.) pri čemu je uočeno postojanje stimulativnog efekta temperaturnih promena (ili fluktuacija temperature) na 46 ispitivanih vrsta (*P. persicaria* L., *Linaria vulgaris* Mill., *Juncus articulatus* L., *Lycopus europaeus* L. i dr.). Kao posledica uticaja različitih faktora i njihovih interakcija na klijanje semena, za populacije iste vrste mogu se dobiti različiti rezultati o klijavosti semena. Tako su, izučavajući dejstvo temperature u interakciji sa svetlošću, Taylorson i Hendricks (1969) konstatovali da seme vrste *Amaranthus retroflexus* L. dobro klija nakon izlaganja niskim temperaturama, kao posledica inhibicije aktivnosti fitohroma. Za istu vrstu, Gallagher i Cardin (1998) su utvrdili da je potreba za odgovarajućom svetlošću, kako bi došlo do klijanja, izraženija na 20°C nego na temperaturi od 30°C, dok su druga istraživanja ukazala na to da seme ove vrste najuspešnije klija na visokim temperaturama (35°C) i bez prethodnog izlaganja svetlosti (Taylorson i Hendricks, 1969).

Klijavost semena ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia* L.) zavisi od različitih faktora, uključujući temperaturu (Willemsen, 1975a; Baskin i Baskin, 1977b; Shrestha i sar., 1999, Ristić i sar., 2008) svetlost (Bazzaz, 1970; Pickett i Baskin, 1973; Baskin i Baskin, 1980; Jovanović i sar., 2007), vlažnost (Raynal i Bazzaz, 1973), dormantnost (Pickett i Baskin, 1973; Baskin i Baskin, 1977a; Milanova i Nakova, 2002) i dr. Seme ove vrste klija na temperaturama od 6 do 32°C, a optimum postiže na 20–22°C. Iako pripada grupi kasnoprolećnih vrsta, ambrozija može da se adaptira i klija u rano proleće kako na ruderalnim staništima (DiTommaso, 2004), tako i na njivama (Bassett i Crompton, 1975). Takođe, može da klija i pod uslovima koji su nepovoljni za druge vrste, kao što je visoka zaslanjenost zemljišta (DiTommaso, 2004), dok osvetljavanje semena povećava klijavost (Ristić i sar., 2008). Seme ambrozije ne može da klija neposredno posle opadanja sa matere biljke, usled veoma izražene primarne dormantnosti (Baskin i Baskin, 1980, Milanova i Nakova, 2002), koja se prekida nakon stratifikacije (izlaganja niskim temperaturama), tokom zimskog perioda (Samimy i Khan, 1983; Milanova i Nakova, 2002). Semena koja ne kliju nakon prekida primarne dormantnosti ulaze u sekundarnu dormantnost, za čije prekidanje je ne-

ophodna ponovna stratifikacija (Willemsen, 1975a).

Za razliku od ambrozije, divlji ovas (*Avena fatua* L.) je ranoprolećna vrsta, koja klija i niče tokom jeseni i proleća pri minimalnim temperaturama od 1–2°C, mada je optimalna temperatura za njeno klijanje 16–20°C. Prema nekim istraživanjima 74–92% semena ove vrste dospelih u zemljište nestane (propadne ili iskljija) nakon prve godine (Miller i Nalewaja, 1990; Zorner i sar., 1984). Nasuprot tome, pojedina istraživanja ukazuju da seme divljeg ovasa može klijeti 2, odnosno 5 godina nakon dospevanja u zemljište (Banting, 1966; Miller i Nalewaja, 1990). Za ovu vrstu je tipična veoma izražena dormantnost semena, zbog čega je korišćena kao model biljka za ispitivanje dormantnosti (Adkins i Simpson, 1988; Foley, 1992). Prihrana useva azotnim đubrivima osim što značajno povećava kompetitivnu sposobnost divljeg ovasa u odnosu na pšenicu (Ross i Acker, 2005, Carlson i Hill, 1985), smanjuje dormantnost njegovog semena, što posebno dolazi do izražaja nakon kultiviranja zemljišta u proleće (Sexsmith i Pittman, 1962; Hilton, 1984). Do sličnih zaključka su došli Callow i sar. (1999) prilikom ispitivanja uticaja kalijumovih đubriva na kompetitivnu sposobnost divljeg ovasa. Fennimore i sar. (1998) su uočili da od interakcije genotipa i temperature klijanja zavisi adaptivna sposobnost ove vrste, što joj omogućava da opstane u različitim ekosistemima. Takođe, Sawhney i Naylor (1980) ističu da genetske karakteristike različitih populacija divljeg ovasa utiču na sposobnost adaptacije na različite ekološke uslove.

Uprkos brojnim ispitivanjima klijavosti semena korovskih biljaka, složenost procesa klijanja i njegova zavisnost od različitih biotičkih i abiotičkih činilaca, i dalje nameće potrebu za ovakvim istraživanjima. Stoga je cilj ovog rada bio da se ispita klijavost dve (ambrozija i divlji ovas) za naše područje ekonomski veoma važne korovske vrste.

## MATERIJAL I METODE

Za potrebe istraživanja, zrelo seme ambrozije je prikupljeno na ruderalnom staništu na lokalitetu Čestereg tokom oktobra 2010. godine, a seme divljeg ovasa pre žetve pšenice na lokalitetu Radmilovac u junu 2011. godine. Seme je čuvano na sobnoj temperaturi (20–30°C) do početka eksperimenta. Pre početka eksperimenta 30 dana je držano na temperaturi od 3±0,5°C. Klijavost je ispitivana u mraku u inkubatorima (Vinder CE i Memmert) na sledećim temperaturama: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 i 40°C. Semena su naklijavana u Petri kutijama na vlažnom filter papiru (10 ml destilovane vode). Za ispitivanje klijavosti divljeg ovasa u Petri kutije je dodato po 10

semena, dok je u slučaju ambrozije dodato po 30 semena. Svaka varijanta je bila zastupljena u 8 ponavljanja, a ogled je ponavljen dva puta. Klijavost semena (broj klijalih semena) je praćena svakodnevno u intervalu od 7 dana. Poslednjeg dana eksperimenta određen je finalni procenat klijavosti, dok je stopa klijavosti izračunata pomoću formule:

$$M = n_1/t_1 + n_2/t_2 + \dots + n_x/t_x$$

gde je  $n_1, n_2, \dots, n_x$  broj klijalih semena u vremenima  $t_1, t_2, \dots, t_x$  iskazanim u danima (Maguire, 1962). Statistička obrada podataka je urađena pomoću t-testa u softverskom paketu STATISTICA 5.0.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Generalno, klijavost semena (Tabela 1) divljeg ovsa (6,87-90%) je bila znatno bolja od klijavosti semena ambrozije (0-30%). Poznato je da se obe vrste odlikuju veoma izraženom dormantnošću semena (Williensen i Rice, 1972; Foley, 1992), pa je stoga jedan od mogućih razloga za slabije klijanje ambrozije upravo dormantnost. Mada je utvrđeno da izlaganje semena ove vrste niskim temperaturama (4-5°C) dovodi do prekida primarne dormantnosti (Ballard i sar., 1996; Williensen i sar., 1975), u ovom slučaju slaba klijavost je zabeležena uprkos izlaganju niskoj temperaturi tokom perioda od 30 dana. Osim toga, moguće objašnjenje za slabu klijavost ambrozije jeste i to što je seme naklijavano u mraku, a prethodna istraživanja su pokazala da seme ove vrste bolje klija na svetlosti (Ristić i sar., 2008). Takođe, Bazzaz (1970) i Williensen (1975) ukazuju da ukoliko se semena ambrozije u mraku izlože temperaturama koje su povoljne za klijanje na svetlu, ali su niske za klijanje u mraku, takva semena gube sposobnost klijanja i ulaze u sekundarnu dormantnost. Čak i pri vrlo niskoj temperaturi 5±2 °C osvetljavano seme ove vrste je dostiglo klijavost od oko 15% (Jovanović i sar., 2007). Osim toga, Ward i sar. (1977) su pokazali da klijavost ove vrste može biti limitirana brojnim faktorima. Takođe, brojna istraživanja su pokazala da isti faktor spoljašnje sredine može imati različit efekat na različite populacije iste vrste (Beckstead i sar., 1996; Milberg i Andersson, 1997).

Dobijeni rezultati ukazuju da seme divljeg ovsa bolje klija na nižim, a ambrozije na višim temperaturama, što je i bilo očekivano s obzirom da ambrozija pripada grupi kasnoprolećnih, a divlji ovas grupi ranoprolećnih korova. U Tabeli 1 se jasno vide razlike u klijanju semena ovih vrsta, pri čemu je maksimalna klijavost divljeg ovsa zabeležena na 10°C, a ambrozije na 25°C. Nasuprot tome, minimalna klijavost divljeg ovsa je zabeležena na 35°C, a ambrozije na 40°C, dok na najnižim temperaturama (5 i 10°C) seme ove vrste nije klihalo.

Na osnovu svakodnevnih očitavanja klijavosti ispitivanih korovskih vrsta izračunate su stope klijavosti (Tabela 2), koje ukazuju na dinamiku klijanja semena. Dobijeni rezultati su pokazali da stopa klijavosti nije u saglasnosti sa utvrđenim % klijavosti semena. Naime, uprkos tome što je klijavost divljeg ovsa bila znatno bolja na nižim temperaturama najveća stopa klijavosti je utvrđena za temperaturu od 25°C (7,9 klijalih semena/dan), dok je minimalna vrednost stope (0,79 klijalih semena/dan) utvrđena za temperaturu od 30°C. U slučaju ambrozije najveća stopa klijavosti (7,84 klijalih semena/dan) je ostvarena na temperaturi od 30°C, dok je na 40°C stopa (0,7 klijalih semena/dan) bila najniža.

Prethodna istraživanja (Fernandez-Quinantila i sar., 1990) klijavosti semena divljeg ovsa su potvrdila da klijavost zavisi od temperaturnih uslova. Osim toga, Foley (1994) je pokazao da temperature mogu i indirektno uticati na klijavost semena, preko uticaja na njegovo sazrevanje. Naime, on je utvrdio da temperature veće od 40°C obezbeđuju najbolje sazrevanje semena, što se dalje odražava na klijanje. U našem istraživanju najveći procenat klijavosti (90 %) je zabeležen na temperaturi od 10°C, a najmanji (6,87 %) na temperaturi od 35°C (Tabela 1), što je u skladu sa istraživanjima koja potvrđuju uticaj temperature na klijanje semena (Sermons i sar., 2008; Sarić i sar., 2012; Dinelli i sar., 2013). Dejstvo temperature na proces klijanja semena *A. fatua* i *A. ludoviciana* ispitivali su Fernandez-Quinantila i sar. (1990), pri čemu su utvrdili da je klijavost semena *A. fatua* na temperaturama nižim od 10°C lošija, a na temperaturama višim od 20°C bolja u poređenju sa *A. ludoviciana*. Analiza (t-test) podataka o klijavosti semena divljeg ovsa na različitim temperaturama je pokazala statistički značajne razlike ( $P < 0,01$ ) u klijavosti između različitih temperatura u većini slučajeva. Klijavost je bila slična ( $P > 0,01$ ) na temperaturama od 30, 35 i 40°C, a osim toga značajnih razlika u klijavosti nije bilo između 10 i 15°C, kao ni između 20 i 25°C (Tabela 3).

Maksimalna klijavost ambrozije (30%) na temperaturi od 25°C saglasna je sa rezultatima prethodnih istraživanja o uticaju temperature na klijanje semena ove vrste. Naime, Pickett i Baskin (1973) su nakon 11 nedelja stratifikacije najbolju klijavost ambrozije zabeležili na temperaturi od 25°C, pri čemu je seme naklijavano na svetlosti. Slično tome, Dinelli i sar. (2013) su pokazali da je temperatura od 25°C bila optimalna za klijanje različitih populacija ambrozije, ali je u ovom slučaju seme naklijavano u uslovima smene svetlosti i mraka (12/12h). Kada je u pitanju minimalna temperatura za klijanje ambrozije, isti autori su utvrdili da ova temperatura zavisi od osetljivi-



**Tabela 1.** Uticaj različitih temperatura na klijanje (%) semena divljeg ovsa i ambrozije.

**Table 1.** The effect of different temperatures on the germination percentage of wild oat and ragweed seeds.

| Temperatura °C           | 5     | 10 | 15    | 20    | 25    | 30    | 35    | 40    |
|--------------------------|-------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <i>A. fatua</i>          |       |    |       |       |       |       |       |       |
| % klijavosti             | 31,87 | 90 | 85,62 | 73,75 | 70,62 | 8,75  | 6,87  | 11,87 |
| <i>A. artemisiifolia</i> |       |    |       |       |       |       |       |       |
| % klijavosti             | 0     | 0  | 13,54 | 26,87 | 30    | 23,33 | 18,12 | 2,08  |

**Tabela 2.** Uticaj različitih temperatura na stopu klijavosti semena divljeg ovsa i ambrozije.

**Table 2.** The effect of different temperatures on the rate of germination of wild oat and ragweed seeds.

| Temperatura °C           | 5    | 10   | 15   | 20   | 25   | 30   | 35   | 40   |
|--------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| <i>A. fatua</i>          |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Stopa klijavosti         | 1,52 | 5,66 | 7,75 | 7,88 | 7,90 | 0,79 | 1,12 | 1,04 |
| <i>A. artemisiifolia</i> |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Stopa klijavosti         | 0    | 0    | 1,15 | 5,12 | 6,67 | 7,84 | 5,86 | 0,7  |

**Tabela 3.** Statistička značajnost razlika klijavosti semena divljeg ovsa, t-test.

**Table 3.** Statistically significant differences of wild oat seed germination, t-test.

| T (°C) | 5   | 10  | 15  | 20  | 25  | 30 | 35 |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|
| 10     | *** |     |     |     |     |    |    |
| 15     | *** | ns  |     |     |     |    |    |
| 20     | **  | **  | *   |     |     |    |    |
| 25     | **  | **  | *   | ns  |     |    |    |
| 30     | **  | *** | *** | *** | **  |    |    |
| 35     | **  | *** | *** | *** | *** | ns |    |
| 40     | *   | *** | *** | *** | *** | ns | ns |

p<0,01\*, p<0,001\*\*, p<0,0001\*\*\*, p>0,01, ns-razlike nisu statistički značajne (differences are not statistically significant)

vosti populacija na glifosat i kreće se od 4,4 do 5,7°C. Nasuprot tome, seme populacije koja je ispitivana u ovom radu nije klijalno na tako niskim temperaturama, a najniži % klijavosti je zabeležen na temperaturi od 40°C. Statistička analiza podataka (Tabela 4) je potvrdila da temperatura značajno utiče na klijanje ambrozije, na šta ukazuje poređenje klijavosti semena na različitim temperaturama (t-test). Naime, razlike u klijavosti između temperatura u većini slučajeva su bile statistički značajne (P<0,01), izuzev između temperatura 20 i 25°C, kao i 20 i 30°C.

Rezultati istraživanja prikazani u ovom radu

**Tabela 4.** Statistička značajnost razlika klijavosti semena ambrozije, t-test.

**Table 4.** Statistically significant differences of ragweed seed germination, t-test.

| T (°C) | 5   | 10  | 15  | 20  | 25  | 30  | 35  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 10     | *** |     |     |     |     |     |     |
| 15     | *** | *** |     |     |     |     |     |
| 20     | *** | *** | **  |     |     |     |     |
| 25     | *** | *** | **  | ns  |     |     |     |
| 30     | *** | *** | **  | ns  | **  |     |     |
| 35     | *** | *** | *   | **  | **  | *   |     |
| 40     | **  | *   | *** | *** | *** | *** | *** |

p<0,01\*, p<0,001\*\*, p<0,0001\*\*\*, ns-razlike nisu statistički značajne (differences are not statistically significant)

pružaju detaljne podatke o klijavosti semena divljeg ovsa i ambrozije, koji mogu biti veoma korisni za predviđanje potencijala širenja i invazivnosti ovih vrsta, kao i za definisanje efikasnih programa za njihovo suzbijanje.

### ZAHVALNICA

Istraživanja čiji su rezultati prikazani u ovom radu su realizovana zahvaljujući projektu Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije (projekat broj III 46008) i projektu FP7-REGPOT-AREA 316004.

## LITERATURA

- Adkins, S.W., Simpson, G.M. (1988): The physiological basis of seed dormancy in *Avena fatua*. IX. Characteristics of two dormant tates. *Physiol. Plant.*, 73: 15-20.
- Ballard, T.O., Foley, M.E., Bauman, T.T. (1996): Germination, viability and protein changes during cold stratification of giant ragweed (*Ambrosia trifida* L.) seed. *J.Plant. Physiol.*, 62: 1-5.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C. (1977a): Dormancy and germination in seeds of common ragweed with reference to Beal's buried seed experiment. *American Journal of Botany*, 64: 1174-1176.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C. (1977b): Role of temperature in the germination ecology of three summer annual weeds. *Oecologia*, 30: 377-382.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C (1980): Ecophysiology of secondary dormancy in seeds of *Ambrosia artemisiifolia*. *Ecology*, 61: 475-480.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M. (1990): Role of temperature and light in the germination ecology of buried seeds of *Potentilla recta*. *Ann. Appl. Biol.*, 117: 611-616.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M. (1998): Seeds: Ecology, Biogeography and Evaluation of Dormancy and Germinations. Academic, San Diego, 27-124, 185-200.
- Bazzaz, F.A. (1970): Secondary dormancy in the seeds of the common ragweed *Ambrosia artemisiifolia*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 97: 302-305.
- Bassett, I.J., Crompton, C.W. (1975): The biology of Canadian weeds *Ambrosia artemisiifolia* L. and *A. psilostachya* DC. *Can. J. Plant Sci.*, 55: 463-476.
- Banting, J.D. (1966): Studies on the persistence of *Avena fatua*. *Can. J. Plant. Sci.*, 46: 129-140.
- Beckstead, J., Meyer, S.E., Allen, P.S. (1996): *Bromus tectorum* seed germination: between-population and between year variation. *Canadian Journal of Botany*, 71: 875-882.
- Carlson, H.L., Hill, J.E. (1985): Wild oat (*Avena fatua*) competition with spring wheat: effects of nitrogen fertilization. *Weed Science*, 34: 29-33.
- Callow, K.A., Derksen, D.A., Grant, C.A., Van Acker, R.C. (1999): The impact of monoammonium phosphate and potassium chloride on wild oat (*Avena fatua* L.) competition in zero-till spring wheat and flax. 21st Annual Manitoba-North Dakota Zero Tillage Workshop, Manitoba-North Dakota Zero-tillage Association, Canada, 57-59.
- DiTomaso, A. (2004): Germination behavior of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) populations across a range of salinities. *Weed Science*, 52: 1002-1009.
- Dinelli, G., Marotti, I., Catizone, P., Bosi, S., Tanveer, A., Abbas, R.N., Pavlovic, D. (2013): Germination ecology of *Ambrosia artemisiifolia* L. and *Ambrosia trifida* L. biotypes suspected of glyphosate resistance. *Cent. Eur. J. Biol.*, 8 (3): 286-296.
- Foley, M.E. (1992): Effects of soluble sugars and gibberellic acid in breaking dormancy of excised wild oat (*Avena fatua*) embryos. *Weed Scienc*, 40: 208-214.
- Foley, M.E. (1994): Temperature and Water Status of Seed Affect After-ripening in Wild Oat (*Avena fatua* L.). *Weed Science*, 42: 200-204.

- Fennimore, S.A., Nyquist, W.E., Shaner, G.E., Mayers, S.P., Foley, M.E. (1998): Temperature response in wild oat (*Avena fatua* L.) generations segregating for seed dormancy. *Heredity*, 81: 674-682.
- Fernandez-Quinantilla, C.F., Andujar, J.L.G., Appleby, A.P. (1990): Characterization of the germination and emergence response to temperature and soil moisture of *Avena fatua* and *A. sterilis*. *Weed Research*, 30 (4): 289-295.
- Forcella, F., Wilson, R.G., Renner, K.A., Dekker, J., Harvey, R.G., Alm, D.A., Buhler, D.D., Cardina, J. (1992): Weed seed banks of the U.S. Corn Belt: magnitude, variation, emergence and application. *Weed Sci.*, 40: 636-644.
- Forcella, F. (1998): Real-time assessment of seed dormancy and seedling growth for weed management. *Seed Sci. Res.*, 8: 201-209.
- Gallagher, R.S., Cardin, J. (1998): Phytochrome-mediated *Amaranthus* germination II: development of very low fluence sensitivity. *Weed Science*, 46: 53-58.
- Hilton, J.R. (1984): The Influence of Light and Potassium Nitrate on the Dormancy and Germination of *Avena fatua* L. (Wild Oat). *Seed and its Ecological Significance*. *New Phytologist*, 96 (1): 31-34.
- Jovanovic, V., Janic, V., Nikolic, B. (2007): Seme ambrozije. In *Ambrozija* (Janjić, V., Vrbničanin, S., eds.). *Herbološko društvo Srbije*, Beograd, 95-102.
- Maguire, J.D. (1962): Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, 2: 176-177.
- Milanova, S., Nakova, R. (2002): Some morphological and bioecological characteristics of *Ambrosia artemisiifolia* L. *Herbologia*, 3: 113-121.
- Milberg, P., Andersson, L. (1997): Seasonal variation and light sensitivity in buried seeds of eight annual weed species. *Canadian Journal of Botany*, 75: 1998-2004.
- Miller, S.D., Nalewaja, J.D. (1990): Influence of burial depth on wild oats (*Avena fatua*) seed longevity. *Weed Technology*, 4: 514-517.
- Murdoch, A.J., Ellis, R.H. (1992): Longevity, viability and dormancy. In: *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*, (Fenner, M., ed), Wallingford, Great Britain, CAB International, pp. 193-229.
- Norsworthy, J.K., Oliveira, M.J. (2007): Light and temperature requirements for common cocklebur (*Xanthium strumarium*) germination during after-ripening under field conditions. *Weed Science*, 55: 227-234.
- Oryokot, J.O.E., Hunt, L.A., Murphy, S., Swanton, C.J. (1997): Simulation of pigweed (*Amaranthus* spp.) seedling emergence in different systems. *Weed Science*, 45: 684-690.
- Pickett S.T., Baskin J.M. (1973): The role of temperature and light in the germination behavior of *Ambrosia artemisiifolia*, *Bull. Torrey Bot. Club*, 100: 165-170.
- Raynal, D.J., Bazzaz, F.A. (1973): Establishment of early successional plant populations on forest and prairie soil. *Ecology*, 54: 1335-1341.
- Ristic, B., Bozic, D., Pavlovic, D., Vrbnicanin, S. (2008): Klijavost semena ambrozije pri razlicitim uslovima svetlosti i temperature. *Acta herbologica*, 17 (1): 175-180.
- Ross, M.D., Acker, R.C.V. (2005): Effect of nitrogen fertilizer and landscape position on wild oat (*Avena fatua*)

- interference in spring wheat. *Weed Science*, 53 (6): 869-876.
- Sexsmith, J.J., Pittman, U.J. (1962): Effect of nitrogen fertilizers on germination and stand of wild oats. *Weeds*, 11: 99-101.
- Sawhney, R., Naylor, J.M. (1980): Influence of temperature on germination behavior of nondormant families. *Can. J. Bot.*, 58, 578-581.
- Sarić, M., Božić, D., Pavlović, D., Vrbničanin, S., Elezović, I. (2012): Temperature effects on common cocklebur (*Xanthium strumarium* L.) seed germination. *Romanian Agricultural Research*, 29: 389-393.
- Sermons, S.M., Burton, M.G., Rufty, T.W. (2008): Temperature response of benghal dayflower (*Commelina benghalensis*): implications for geographic range. *Weed Science*, 56: 707-713.
- Simpson, G.M. (1990): Seed dormancy in grasses. Great Britain, Cambridge, University press, pp. 297.
- Sharma, M.P., McBeath, D.K., Vanden Born, W.H. (1977): Studies on the biology of wild oats. II. Growth. *Can. J. Plant Sci.*, 57: 811-817.
- Samimy, C., Khan, A.A. (1983): Effect of field application of growth regulators on secondary dormancy of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) seeds. *Weed Science*, 31: 299-303.
- Srestha, A., Roman, E.S., Thomas, A.G., Swaton, J.C. (1999): Modeling germination and shoot-radicle elongation of *Ambrosia artemisiifolia*. *Weed Science*, 47: 557-562.
- Thomson, C.R., Grime, J.P. (1983): A comparative study of germination responses to diurnally-fluctuating temperatures. *J. Appl. Ecol.*, 20: 141-156.
- Taylorson, R.B., Hendricks, S.B. (1969): Action of phytochrome during prechilling of *Amaranthus retroflexus* L. seeds. *Plant Physiol.*, 44: 821-825.
- Vegis, A. (1964): Dormancy in higher plants. *Ann. rev. Plant Physiol.* 15: 141-156.
- Williensen, R.W. (1975): Effect of stratification temperature and germination temperature on germination and the induction of secondary dormancy in common ragweed seeds. *Am. J. Bot.*, 62: 1-5.
- Williensen, R.W., Rice, E.L. (1972): Mechanism of seed dormancy in *Ambrosia artemisiifolia*. *Am. J. Bot.*, 59: 248-257.
- Williensen, R.W. (1975a): Effect of stratification temperature and germination temperature on germination and the induction of secondary dormancy in common ragweed seeds. *American Journal of Botany*, 62: 1-5.
- Ward, N.I., Roberts, E., Brools, R.R. (1977): Lead uptake by seedlings of *Lolium perenne* and *Trifolium repens*. *N.Z.J. Sci.*, 20: 311-316.
- Zorner, P.S., Zimdahl, R.L., Schweizer, E.E. (1984): Sources of viable seed loss in buried dormant and non-dormant populations of wild oat (*Avena fatua* L.) seed in Colorado. *Weed Research*, 24: 143-150.

(Primljeno: 01.11.2013.)  
(Prihvaćeno: 03.12.2013.)

## INFLUENCE OF DIFFERENT TEMPERATURES ON GERMINATION OF WILD OAT (*AVENA FATUA* L.) AND COMMON RAGWEED (*AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA* L.)

DRAGANA BOŽIĆ<sup>1</sup>, SAVA VRBNIČANIN<sup>1</sup>, DANIJELA PAVLOVIĆ<sup>2</sup>,  
ANA ANDELKOVIĆ<sup>3</sup>, MARIJA SARIĆ-KRSMANOVIĆ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade-Zemun

<sup>2</sup>Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

<sup>3</sup>Scholar of the Ministry of Education, Science and Technological Development  
of the Republic of Serbia

<sup>4</sup>Institute of Pesticides and Environmental Protection, Belgrade-Zemun

### SUMMARY

A good understanding of seed ecology of weed species is important in evaluating the invasibility potential of some weed species, and in constructing efficient programmes for the eradication of weeds. Wild oat (*Avena fatua* L.) and common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) are two widespread weed species in the territory of Serbia, so the knowledge of their seed ecology is a necessity. Germination of their seeds was examined at different temperatures (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 i 40°C). Germination rates were calculated based on everyday monitoring of the number of germinated seeds, and 7 days after the initiation of the experiment, the final germination percent was determined. Percent of germinated seeds of *A. fatua* was highest at 10°C (90%), and lowest at 35°C (6,87%), while the germination rate was highest at 25°C (7,9 germinated seeds/day), and lowest at 30°C (0,79 germinated seeds/day). In contrast, the germination percent for *A. artemisiifolia* was highest at 40°C (2,08%), while no germination was registered at 5 - 10°C temperature range. The germination rate of common ragweed was highest at 30°C (7,84 germinated seeds/day), and lowest at 40°C (0,7 germinated seeds/day).

**Key words:** temperature, wild oat (*Avena fatua* L.), ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.), germination

(Received: 01.11.2013.)

(Accepted: 03.12.2013.)

## EFFECTIVENES OF ESSENTIAL OILS IN CONTROL OF *VERTICILLIUM DAHLIAE* IN VITRO

MLADEN ĐORĐEVIĆ<sup>1</sup>, NENAD DOLOVAC<sup>2</sup>, MARIJA IVANOVIĆ<sup>3</sup>,  
JELENA DAMNJANOVIĆ<sup>1</sup>, BOGOLJUB ZEČEVIĆ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Vegetable Crops, Smederevska Palanka, Serbia

<sup>2</sup>Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia

<sup>3</sup>University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia  
e-mail: mladendj1981@hotmail.com

### SUMMARY

Volatile phase of essential oils of *Mentha piperita*, *Petroselinum crispum*, *Eucalyptus citriodora*, *Pinus sylvestris*, *Rosmarinus officinalis*, *Pimpinella anisum* and *Origanum vulgare* were tested for their effectiveness in control of *Verticillium dahliae*, *in vitro*. Percentage of inhibition of radial growth was calculated four days after exposure of mycelia to volatiles of essential oils. Also MIC and MFC were determined as well seven i.e. fourteen days after exposure. Highest value of inhibition expressed essential oil of *O. vulgare* with MIC and MFC applied at 0,04µl/ml of air, followed by essential oils of *P. anisum* (MIC – 0,1µl/ml of air, MFC – 0,3µl/ml of air). Essential oil of *E. citiodora* expressed MIC and MFC applied at 0,6µl/ml of air, while essential oil of *M. piperita* expressed only MIC when applied at 0,3µl/ml of air. Essential oils of *P. sylvestris*, *R. officinalis* and *P. crispum* din not express MIC or MFC even when applied at highest rate.

**Key words:** essential oils, control, *Verticillium dahliae*, tomato

### INTRODUCTION

Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is one of the most important vegetable crop worldwide. Due to antioxidant properties of its main components it is known as health stimulating fruit and it's used fresh as well as processed (Glogovac et al., 2010; Radzevičius et al., 2009). Tomato production is threatened by numerous fungal pathogens, every year (Đorđević et al., 2012a). *Verticillium dahliae* is one of them. This is soil pathogen that can affect the quality and quantity of tomato production for fresh consumption or for seed production (Bhat and Subbarao, 1999; Garcia, 2011; Ivanović and Ivanović, 2001).

The most efficient control of this pathogens was with methyl-bromide. However, due to negative impact on the ozone layer, this substance has been banned for use (Guillino et al., 2002). Taking

methyl-bromide out of picture there was not any substance efficacy enough to take its place (Bell, 2000; Ioannou, 2000; Ivanović and Ivanović, 2007). Guillino et al. (2002) researched the chlor-picrin as a substitute for methyl-bromide, since they have been applied together in order to intensify the impact of methyl-bromide, but they did not obtain the results with satisfactory efficiency on these and other soil pathogens.

Taking into consider the growing need to preserve ecosystems and a growing awareness of the possible harmful effects of chemicals, it was necessary to find a long-term solution without the harmful impact on the ecosystem, on one hand, and to protect this important manufacturing, on the other. Applying the biological control of these pathogens is the solution (De Veger et al., 1995; Fravel, 2005; Paulitz and Belanger, 2001; Postma et al., 2003; Ramezani, 2008). One of the possible ways of bi-

ological control is the appliance of essential oils of some aromatic and medicinal plants. Since the plants are the source of large number of substances with fungicide and fungistatic effect, they could be the mentioned solution (Aslan et al., 2010; Isman, 2000; Tanović et al., 2005; Wilson et al., 1997). Many researches explored the influence of essential oils plants on fungi, pathogens of plants and fungi important for food industry, proved that these plant compounds could be the solution (Aslam et al., 2010; Paarveen et al., 2010; Đorđević et al., 2011, 2012b, 2013a, 2013b ; Tanović et al., 2009; Veljić et al., 2009; Zhang et al., 2009).

The aim of this study was to examine the effect of essential oils on *Verticillium dahliae* tomato pathogen, i.e. to find the toxicity of seven essential oils *in vitro* and to find the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC), which would give us the necessary information so we could further research their effect *in vivo*.

## MATERIAL AND METHODS

### Pathogen

Tomato pathogen *Verticillium dahliae*. was isolated from tomato plants and identified as tomato pathogen by inoculation and re-isolation and belong to phytopathogen collection of Institute for Vegetable Crops, Smederevska Palanka, Serbia.

### Antifungal effect of essential oils

Effect of seven essential oils of the following plants: *Mentha piperita*, *Petroselinum crispum*, *Eucalyptus citriodora*, *Pinus sylvestris*, *Rosmarinus officinalis*, *Pimpinella anisum* and *Origanum vulgare* to mentioned pathogens have been researched. The effect has been determined by exposure of pathogen to volatile phase of oils (Tanović et al., 2009; Soylu et al., 2006). Mycelial plug of the pathogen (5x5mm) was transmitted to the center of petri plate (R = 9 cm), after which the petri plate has been turned upside down. Oils were inflicted on a sterile paper disk (R = 0.5 cm), located at the centre of petri plates, and 0.04, 0.06, 0.1, 0.15, 0.3 and 0.6 µl/ml of air in petri plate has been applied. In order to facilitate the contact of volatile phase of oils and pathogens, petri plates were kept upside down. The plates were covered with self-adhesive foil to prevent release of oil vapors out of the plates. Petri plates were kept at 23°C. Petri plates with a drop of sterile distilled water instead of oil, were used

as control. After four days, the growth of colonies has been measured and on the basis of these values the degree of inhibition of colony growth has been calculated. Seven days after this trail the inhibitory effect of oil on the pathogen has been determined. The concentration of oil that completely inhibited the growth of the pathogen mycelium was considered fungistatic and the lowest such value was determined as the minimum inhibitory concentration (MIC). The petri plates in which an inhibitory effect was found, were ventilated in a sterile laminar flow of air over a period of 30 minutes in order to completely remove a volatile oil phase, and then the petri plates were kept for seven days in a thermostat on the same temperature as previously. This is done to determine the lethal concentration of oil. The concentration of oil in which there is no appearance of growth of pathogens mycelium after 7 days after ventilation was taken as fungicidal. The lowest such concentration was the minimum fungicidal concentration (MFC).

### Statistical analysis

All trials have been set twice with five replications of each oil concentration. Percentage of inhibition of mycelia growth was calculated using following formula:

$(\%) = (g_c - g_t / g_c) \times 100$ , where  $g_c$  is growth of mycelium in control plates,  $g_t$  growth of mycelium in treated plates.

## RESULTS

### Antifungal activity of essential oils

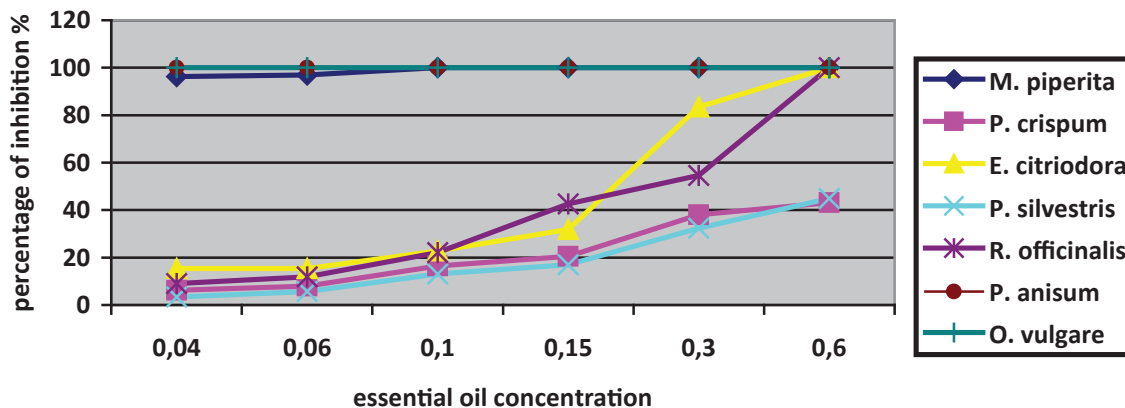
The obtained results showed that oils had different level of inhibition of mycelia growth of researched pathogen in different concentrations. Highest percent of inhibition of mycelial growth of *Verticillium dahliae* expressed oils of *O. vulgare* and *P. anisum* with 100% inhibition in the lowest applied concentration of 0,04 µl/ml of air. Essential oil of *M. piperita* has completely inhibited the growth of mycelia of this pathogen when applied in concentration of 0,3 µl/ml of air, and oils of *R. officinalis* and *E. citriodora* had the same effect at concentration 0,6 µl/ml of air (Figure 1.).

### Toxicity of essential oils

Measurements of growth of pathogen mycelia seven days after treatment showed that essential

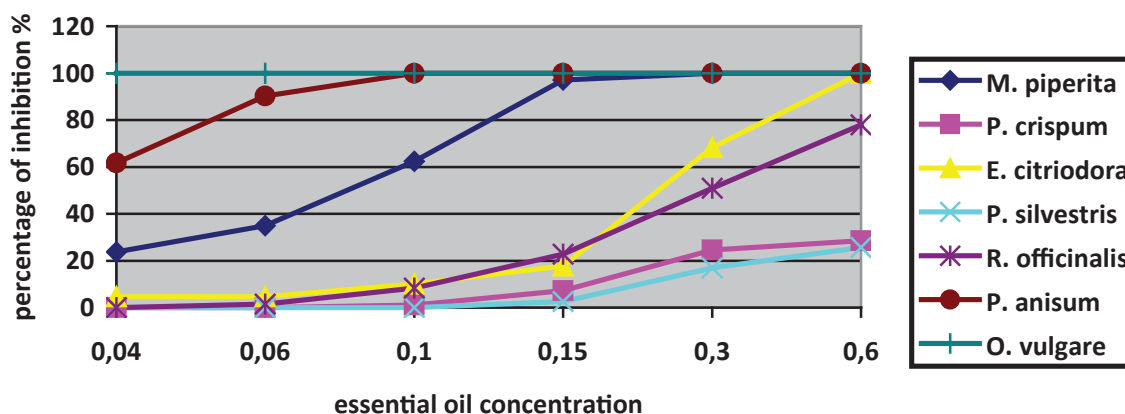
oils had different degree of toxicity to this pathogen (Figure 2). Essential oil of *O. vulgare* expressed MIC and MFC at lowest applied concentration 0,04  $\mu\text{l/ml}$  of air. Essential oil of *P. anisum* expressed MIC applied at 0,1  $\mu\text{l/ml}$  of air while MFC had when applied at 0,3  $\mu\text{l/ml}$  of air. Essential oil of *M. piperita* expressed only MIC when applied at 0,3  $\mu\text{l/ml}$  of

air while MFC value was not determined even when applied at highest concentration rate. Meanwhile, essential oil of *E. citriodora* expressed MIC and MFC both when applied at 0,6  $\mu\text{l/ml}$  of air. Essential oils of *R. officinalis*, *P. silvestris* and *P. crispum* did not expressed MIC or MFC even when applied at highest concentration rate.



**Figure 1.** Effect of volatile phase of essential oils of growth on *Verticillium dahliae* after 4 day exposure *in vitro*.

**Slika 1.** Uticaj isparljivih faza etarskih ulja na porast *Verticillium dahliae* nakon 4 dana izlaganja *in vitro*



**Figure 2.** Effect of volatile phase of essential oils of growth on *Verticillium dahliae* after 7 days exposure *in vitro*.

**Slika 2.** Uticaj isparljivih faza etarskih ulja na porast *Verticillium dahliae* nakon 7 dana izlaganja *in vitro*



## DISCUSSION

Antimicrobial activity of essential oils of aromatic and medicinal plants has been recognized for long time. They show strong inhibition effect to many different fungi. Strong antimicrobial effect of some essential oils has been previously reported (Feng and Zheng, 2007; Lee et al., 2007; Pradhanang et al., 2003; Soylyu et al., 2006; Tanović et al., 2004, 2005, 2009; Veljić et al., 2009; Džamić et al., 2008a, 2008b). Comparison of results of different studies is difficult because of differences in plant extract composition and in methodologies of assessments of microbial activity (Arslan and Dervis, 2010). Results of this research showed that some of the tested oils can suppress growth of mycelia of *Verticillium dahliae*, *in vitro*. Essential oils of *O. vulgare* and *P. anisum* expressed highest antifungal activity against mentioned tomato pathogen. Volatile compounds of *O. vulgare* essential oil has been reported as strong inhibitor of mycelia growth of some soil-borne pathogens *Fusarium solani* var. *coeruleum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, where pathogens were totally inhibited at minimum concentrations (Arslan and Dervis, 2010; Đorđević et al., 2013a; Daferera et al., 2003; Lee et al., 2007; Soylyu et al., 2006). Essential oil of *P. anisum* was highly effective in control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* with MIC 0,3 µl/ml of air, as well as *M. piperita* with MIC 0,3µl/ml of air (Đorđević et al., 2013a). Essential oil of *P.anisum* was reported to be fungicidal for *Botrytis cinerea* at 0,16 µl/ml of air, as well as the essential oil of *M. piperita* (Tanović et al.,

2005). Research of Đorđević et al. (2013b) indicated fungicidal effect of essential oil of *P. anisum* on *B. cinerea* when applied at 0,1 µl/ml of air, while oil of *M. piperita* expressed both MIC and MFC applied at 0,15µl/ml of air. Essential oils of *O. vulgare* and *P. anisum* were highly effective in inhibition of *Alternaria alternata*, especially *O. vulgare* with MIC and MFC applied at 0,04µl/ml of air (Đorđević et al., 2012b).

There are other studies, as well, that indicated effectiveness of these and other essential oils to food-borne diseases as well (López et al., 2007; Đorđević et al., 2012a, 2012b).

Although there were studies that tried to identify mode of action of these essential oils it is still not completely understood (Adams et al., 1996; Chang et al., 2001; Ultee et al., 2002).

Due to the fact that the main compounds of the *O. vulgare* essential oil are carvacrol, thymol, c -terpinene and p-cymene, we can assume that these compounds are the main holders of antimicrobial activity and carriers of the mode of action of this oil (Daferera et al., 2003; Soylyu et al., 2006).

The results of this research indicate that essential oils of *oreganum* and *anise* have potential to suppress this pathogen, *in vitro*. Therefore these oils could be used for control of *V. dahliae*, *in vivo* and the plant rich with these oils could be an important part of biological control strategy.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research was part of project III46008, supported by Ministry of Education and Science of Republic of Serbia.

## REFERENCES

- Adams, S., Kunz, B., Weidenbörner, M. (1996): Mycelial deformations of *Cladosporium herbarum* due to the application of eugenol and carvacrol. *Journal of Essential Oil Res.*, 8: 535-540.
- Arslan, M., Dervis, S. (2010): Antifungal activity of essential oils against three vegetative-compatibility groups of *Verticillium dahliae*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 26: 1813-1821.
- Aslam, A., Naz, F., Arshad, M., Qureshi, R., Rauf, C.A. (2010): *In vitro* antifungal activity of selected medicinal plant diffusates against *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina*. *Pak. J. Bot.*, 42 (4): 2911-2919.
- Bell, C.H. (2000): Fumigation in the 21<sup>st</sup> century. *Crop Protection*, 19: 563-569.
- Bhat, R.G., Subbarao, K.V. (1999): Host range specificity in *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*. 89: 1218-1225.
- Chang, S.T., Chen, P.F., Chang, S.C. (2001): Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 77: 123-127.

- Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.G. (2003): The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection*, 22: 39-44.
- De Weger, L.A., van der Bij, A.J., Dekkers, L.C., Simons, M., Wijffelman, C.A., Lugtenberg, B.J.J. (1995): Colonization of rhizosphere of cropplants by plant-beneficial pseudomonads. *FEMS Microbiol Ecol.*, 17: 221-228.
- Đorđević, M., Šević, M., Mijatović, M., Todorović, G., Kostić, M. (2011): *In vitro* effectiveness of different essential oils in control of *Alternaria alternata*. *Zaštita bilja*, Vol 62 (3): 159-168.
- Đorđević, M., Dolovac, N., Đorđević, R., Trkulja, N., Damnjanović, J., Zdravković, J., Mijatović, M. (2012a): Effect of race 3 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* on some tomato cultivars. *Zaštita bilja*, 63 (1):22-28.
- Đorđević, M., Mijatović M., Đorđević R., B. Zečević, Kostić M. (2012b): Alternative control of *Alternaria alternata* using essential oils *in vitro*. 7th CMAPSEEC, 27.-31. May, Subotica, Proceedings: 357 – 361.
- Đorđević, M., Damnjanović, J., Šević, M., Kostić, M., Pavlović, S., Marković, T., Zečević, B. (2013): Biological control of *Botrytis cinerea*, pathogen of vegetables, using different essential oils *in vitro*. International conference on natural products utilization: from plants to pharmacy shelf, 3-6. November, Bansko, Bulgaria, Book of abstracts: 111.
- Dordjevic, M., Djordjevic, O., Djordjevic, R., Mijatovic, M., Kostic, M., Todorovic, G., Ivanovic, M. (2013a): Alternative approach in control in tomato pathogen by using essential oils *in vitro*. *Pak. J. Bot.*, 45 (3): 1069-1072.
- Džamić A., Soković M., Ristić M., Grujić-Jovanovic S., Vukojević J., Marin P.D. (2008a): Chemical composition and antifungal activity of *Salvia sclerea* (Lamiaceae) essential oil. *Arch. Biol. Sci.*, 60 (2): 233-237.
- Džamic, A., Sokovic, M., Ristic, M.S., Grujic-Jovanovic, S., Vukojevic, J., Marin, P.D. (2008b): Chemical composition and antifungal activity of *Origanum heracleoticum* essential oil. *Chem. of Natural Compounds*. 44 (5): 659-660.
- Feng, W., Zheng, X. (2007): Essential oils to control *Alternaria alternata in vitro* and *in vivo*. *Food control*, 18:,1126-1130.
- Fravel, D. (2005): Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu.Rev. Phytopathol.*, 43: 337-358.
- Garcia, M., Arriagada, C., Garcia-Romera, I., Ocampo, J.A. (2011): Are plant cell wall hydrolysing enzymes of saprobe fungi implicated in the biological control of the *Verticillium dahliae* pathogenesis? *Crop Protection*, 30: 85-87.
- Glogovac, S., Takač, A., Gvozdanović-Varga, J. (2010): Tomato (*L. esculentum* Mill.) genotypes variability of fruit traits. *Genetika*, 42 (3): 397-406.
- Gullino, M.L., Minuto, A., Gilardi, G., Garibaldi A., Ajwa, H., Duafala, T. (2002): Efficacy of preplant soil fumigation with chloropicrin for tomato production in Italy. *Crop Protection*, 21: 741-749.
- Ioannou, N. (2000): Soil solarization as a substitute for methyl bromide fumigation in greenhouse tomato production in Cyprus. *Phytoparasitica*, 28: 248-256.
- Isman, M.B. (2000): Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608.
- Ivanović, M., Ivanović, D. (2001): Mikoze i pseudomikoze biljaka. 2<sup>nd</sup> eds. De-eM-Ve, Beograd.
- Ivanović, M., Ivanović, M. (2007): Ima li alternative metil bromidu? *Biljni Lekar*, 35: 609-615.

- Lee, S.O., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Cho, K.Y., Kim, J.C. (2007): Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soilborne plant pathogenic fungi. *Plant Pathol. J.*, 23 (2): 97-102.
- López, P., Sanchez, C., Batlle, R., Nerín, C. (2007): Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *J. of Agric. and Food Chem.*, 55: 4348-4356.
- Parveen, R., Azmi, A.M., Tariq, R.M., Mahmood, S.M., Hijazi, M., Mahmud, S., Naqvi, S.N.H. (2010): Determination of antifungal activity of *Cedrus deodora* root oil and its compounds against *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *Pak. J. Bot.* 42 (5): 3645-3649.
- Paulitz, T., Belanger, R. (2001): Biological control in greenhouse systems. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 39: 103-133.
- Postma, J.M., Montanari, M., van den Boogert, P.H.J.F. (2003): Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost. *Eur. J. Soil. Biol.*, 39: 157-163.
- Pradhanang P.M., Momol M.T., Olson S.M., Jones J.B. (2003): Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *Plant Dis.*, 87: 423-427.
- Radzevičius, A., Karkleliene, R., Viškelis, P., Bobinas, Č., Bobinaite, R., Sakalauskiene, S. (2009): Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit quality and physiological parameters at different ripening stages of Lithuanian cultivars. *Agron. Res.*, 7: 712-718.
- Ramezani, H. (2008): Biological control of root-rot of eggplant caused by *Macrophomina phaseolina*. *American-Eurasia J. Agric. & Agric. Environ. Sci.*, 4 (2): 218-220.
- Soylu, E.M., Soyly, S., Kurt, S. (2006): Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*, 161: 119-128.
- Tanović, B., Milijašević, S., Obradović, A., Todorović, B., Rekanović, E., Milikić, S. (2004): *In vitro* efekti etarskih ulja iz začinskih i lekovitih biljaka na patogene koji se prenose zemljištem. *Pestic. Phytomed.*, 19: 233-240.
- Tanović, B., Milijašević, S., Todorović, B., Potočnik, I., Rekanović, E. (2005): Toksičnost etarskih ulja za *Botrytis cinerea* Pers. *in vitro*. *Pestic. Phytomed.*, 20: 109-114.
- Tanović, B., Potočnik, I., Delibašić, G., Ristić, M., Kostić, M., Marković, M. (2009): *In vitro* effect of essential oils from aromatic and medicinal plants on mushroom pathogens: *Verticillium fungicola* var. *fungicola*, *Mycogone perniciosa*, and *Cladobotryum* sp. *Arch. Biol. Sci.*, 61 (2): 231-237.
- Ultee, A., Bennik, M.H., Moezelaar, R. (2002): The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 1561-1568.
- Veljić, M., Đurić, A., Soković, M., Ćirić, A., Glamočlija, J., Marin, P.D. (2009): Antimicrobial activity of methanol extracts of *Fontinalis antipyretica*, *Hypnum cupressiforme*, and *Ctenidium molluscum*. *Arch. Biol. Sci.*, 61 (2): 225-229.
- Wilson, C.L., Solar, J.M., El Ghauth, A., Wisniewski, M.E. (1997): Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 81: 204-210.
- Zhang, J.W., Li, S.K., Wu, W.J. (2009): The main chemical composition and *in vitro* antifungal activity of the essential oils of *Ocimum basilicum* Linn. var. *pilosum* (Wild) Benth. *Molecules.*, 14: 273-278.

(Received: 02.11.2013.)

(Accepted: 12.12.2013.)

## EFIKASNOST ETERIČNIH ULJA U SUZBIJANJU *VERTICILLIUM DAHLIAE* PATOGENA PARADAJZA *IN VITRO*

MLADEN ĐORĐEVIĆ<sup>1</sup>, NENAD DOLOVAC<sup>2</sup>, MARIJA IVANOVIĆ<sup>3</sup>,  
JELENA DAMNJANOVIĆ<sup>1</sup>, BOGOLJUB ZEČEVIĆ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut za Povrtarstvo, Smederevska Palanka

<sup>2</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški Fakultet, Beograd  
e-mail: mladendj1981@hotmail.com

### REZIME

Ispitiavana je efikasnost isparljive faze eteričnih ulja *Mentha piperita*, *Petroselinum crispum*, *Eucaliptus citriodora*, *Pinus sylvestris*, *Rosmarinus officinalis*, *Pimpinella anisum* i *Origanum vulgare* u inhibiciji porasta micelije patogena *Verticillium dahliae* u *in vitro* uslovima. Procenat inhibicije radialnog porasta izračunavan je četiri dana od izlaganja micelije dejstvu para eteričnih ulja.. Takođe, izračunavana je i minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) sedam dana nakon izlaganja kao i minimalna fungicidna koncentracija (MFC) četrnaest dana od izlaganja dejstvu para. Najveći procenat inhibicije pokazalo je ulje *O. vulgare* sa MIC i MFC primenjenim već u najnižoj koncentraciji 0,04µl/ml vazduha, za kojim sledi ulje *P. anisum* (MIC – 0,1µl/ml of air, MFC – 0,3µl/ml of air). Eterično ulje *E. citriodora* ostvarilo je MIC i MFC primenjeno u koncentraciji 0,6µl/ml vazduha, dok je eterično ulje *M. piperita* pokazalo samo MIC i to primenjeno u konc. 0,3µl/ml vazduha. Eterična ulja *P. sylvestris*, *R. officinalis* i *P. crispum* nisu pokazala zadovoljavajući nivo inhibicije a samim tim nisu imala ni MIC ni MFC vrednost.

**Ključne reči:** eterična ulja, kontrola, *Verticillium dahliae*, paradajz

(Primljeno: 02.11.2013.)

(Prihvaćeno: 12.12.2013.)



## UPUTSTVO AUTORIMA

Časopis "Zaštita bilja" objavljuje naučne radove, pregledne radove i prethodna saopštenja iz oblasti zaštite bilja. Radovi se štampaju na srpskom ili engleskom jeziku. Uz radove na engleskom jeziku štampa se i rezime na srpskom jeziku. Rukopis (1)otkucan sa duplim proredom sadrži: zaglavlje, naslov, imena autora i adrese, rezime, ključne reči, tekst rada (sa poglavljima: uvod, materijal i metode, rezultati, diskusija, zahvalnica, literatura i rezime sa ključnim rečima), tabele i grafikone, fotografije i crteže.

**ZAGLAVLJE** – u gornjem, desnom uglu upisuje se kategorizacija rada. **NASLOV** – pisan velikim slovima (bold) treba da bude kratak, jasan, bez skraćenica. Ne navoditi istovremeno ime vrste na srpskom i na latinskom jeziku. **APSTRAKT** – treba da sadrži najviše 200 reči teksta. **KLJUČNE REČI** – treba navesti do 6 ključnih reči. **TEKST** – treba da sadrži poglavlja: UVOD, MATERIJAL I METODE, REZULTATI, DISKUSIJA, LITERATURA i REZIME ( na srpskom i engleskom jeziku istog sadržaja) sa ključnim rečima. LITERATURA se navodi na posebnoj stranici, po abecednom redu. Npr. Arsenijević, M., Draganić M., Knežević Tatjana (1996): Vrste nekadašnjeg roda *Helminthosporium* utvrđene u Jugoslaviji (1992-1995). Zaštita bilja, 216: 93-119. Citat iz knjige navesti prema primeru: Dhingra O. D., Sinclair, J. B. (1955): Basic Plant Pathology Methods. CCR Press Inc., Baco Raton, pp. 355-360. U tekstu, na kraju citata, navesti autore na sledeći način: (Matijević 1994; Stojanović i Borić, 1990; Manojlović i sar., 1998). REZIME sa ključnim rečima treba da je na engleskom i srpskom i daje se na posebnim stranicama na kraju teksta i treba da sadrži ime autora i naziv ustanove.

Naslov poglavlja u radu (prvi nivo naslova) pisati centrirano, velikim slovima, boldovano.

Podnaslov (drugi nivo naslova) pisati centrirano, prvo slovo veliko, ostala slova mala, boldovano, sa jednim redom razmaka od teksta na koji se odnosi.

Podnaslov (treći nivo naslova) pisati od početka reda, prvo slovo veliko, ostala slova mala. Pisati zakošeno (italik), sa jednim redom razmaka od teksta na koji se odnosi.

Podnaslov (četvrti nivo naslova) pisati na početku reda zakošenim slovima (italik), s tim da je sastavni deo teksta na početku reda i od njega odvojen crticom.

**TABELE I GRAFIKONI** – Tabele i grafikoni se daju na posebnim stranicama. U rukopisu označiti mesto za tabele i grafikone. Naslove tabela i grafikona obavezno dati prvo na srpskom, pa na engleskom jeziku, a ako je rukopis na engleskom, onda prvo navesti engleski, pa srpski tekst naslova.

**FOTOGRAFIJE I CRTEŽI** – Fotografije i crteži treba da su kontrastni i oštri. Na poledini fotografija i crteža grafitnom olovkom označiti njihov broj, ime autora i skraćeni naslov rada. Pri tome, na posebnim stranicama priložiti pune naslove na srpskom i engleskom jeziku, uz podatke o imenu autora i naslovu rada.

### Ostale napomene

Radovi se recenziraju. Na zahtev urednika, redakciji časopisa dostaviti rad na disketi sa upisanim imenom autora i naziv fajla. Radovi se mogu dostaviti poštom na adresu Teodora Dražera 9, 11040 Beograd, ili putem e-mail adrese glavnog urednika časopisa: ndolovac@yahoo.com. Rukopis pripremiti u MS Word for Windows (.doc) ili Rich Text Formatu (.rtf). Pored toga, dostaviti dva primerka rukopisa. Merne jedinice izražavati u Internacionalnom sistemu jedinica (SI). Stranice u tekstu obavezno obeležiti brojevima, a rukopis, ovako pripremljen za štampu, slati Redakciji časopisa, uz propratno pismo autora. Treba napisati i skraćenu verziju naslova rada radi njegovog upisivanja na neparnim stranicama. Poštujući gore navedena pravila ubrzavate objavljivanje svog rada i doprineti kvalitetu časopisa.

## INSTRUCTION TO AUTHORS

The "Plant Protection" publishes scientific papers, review papers and scientific notes from plant protection field. The papers are printed in Serbian or English.

A manuscript, double-spaced printed, contains: chapter, title, the name of an author and addresses, abstract, key words, text (including the chapters: introduction, material and methods, results, discussion, acknowledgements, references and summary followed by key words), tables and graphs, photographs and drawings.

**CHAPTER** – the top, right-hand corner is reserved for categorization of the paper.

**TITLE** – in capital letters (bold) ought to be short, clear, without abbreviations. It is desirable to use the name of species either in Serbian or in Latin.

**ABSTRACT** – should contain most 200 words of the text. **KEY WORDS** – there must be up to 6 key words. **TEXT** – ought to be divided into the following chapters: INTRODUCTION, MATERIAL AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, REFERENCES and SUMMARY (in English and Serbian of the same contents) followed by key words. **REFERENCES** – is quoted on the separate sheet of paper in alphabetical order. Follow the example bellow: Arsenijević, M., Draganić, M., Knežević Tatjana (1996): Cultivars of the former gender *Helminthosporium* determined in Yugoslavia (1922-1955). Plant Protection, 216: 93 – 119. A quotation originated from a book should follow the example bellow: Dhingra, O. D., Sinclair, J. B. (1955): Basic Plant Pathology Methods, CCR. Press Inc, Baco Raton, pp. 335 -360. In text, at the end of the quotation, the authors are to be quoted such as the example bellow: (Matijević, 1994; Stojanović and Borić, 1990; Manojlović et al., 1998). SUMMARY, followed by key words, should be in English and Serbian and given on the separate sheets of paper at the end of the text, containing the author's name and the name of the institution.

The title of chapter in paper (the first rank of title) should be centred and written in capital letters (bold).

Subchapter (the second rank of title) should be centered and written in first capital letter (bold), single-spaced from the text it refers to.

Subchapter (the third rank of title) should be written at the beginning of the line in first capital letter (italic), single-spaced from the text it refers to.

Subchapter (the fourth rank of title) should be written at the beginning of the line (italic), separated from the rest of the text by a hyphen.

**TABLES AND GRAPHS** – Tables and graphs should be given on the separate pages. In manuscript, a space for tables and graphs should be marked. The titles of the tables and graphs ought to be first in Serbian then in English, and if the script is in English, then English version comes first followed by Serbian name of the titles.

**PHOTOGRAPHS AND DRAWINGS** – Photographs and drawings should be clear and sharp. At the back of the photos and drawings, their number, the name of an author and shorten version of the paper should be marked by pencil. On the separate sheet of papers, full titles in Serbian and English should be added along with information about the author's name, and the title of the paper.

### Additional notes

The papers are reviewed. On the editor's request, the paper should be addressed to the Board on a diskette labeled with the name of the author and a file to Teodora Drajzera 9, 11040 Belgrade, or by e-mail: ndolovac@yahoo.com. A manuscript should be prepared in MS Word for Windows (.doc) or Rich Text Format (.rtf). In addition, two copies of the printed text should be sent to the Board. International System of Units (SI) is required. Pages of the text must be marked in numbers and the manuscript prepared for printing in this way should be sent to the Board with accompanying author's letter. The shorten version of the title of the paper is also required to be printed on odd pages.

Following the aforementioned rules, you will make publishing of your paper quicker and contribute to better quality of the journal.

EDITORIAL Board for "Plant Protection"

CIP – Katalogizacija u publikaciji  
Narodna biblioteka Srbije, Beograd

632.9

ZAŠTITA bilja = Plant protection / Institut za zaštitu bilja i  
životnu sredinu; glavni i odgovorni urednik Nenad Dolovac,  
God. 1, br. 1 (1950) – Beograd: Institut za zaštitu bilja i  
životnu sredinu, 1950 – (Beograd: Press d.o.o.). – 28 cm.

Tromesečno  
ISSN 0372-7866 = Zaštita bilja  
COBISS.SR-ID 870660





