

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 356/4 -7.1.
Датум: 30.01.2013. године

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на извештај о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. став 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду (“Гласник Универзитета” број 131/06), дате сагласност на извештај о урађеној докторској дисертацији кандидата мр ПРЕДРАГА МИЛОВАНОВИЋА.

Кандидат **мр ПРЕДРАГ (Мијалко) МИЛОВАНОВИЋ**, пријавио је докторску дисертацију под називом: «ОСЕТЉИВОСТ РЕПИЧНОГ СЈАЈНИКА (*Meligethes aeneus* F.) НА ИНСЕКТИЦИДЕ РАЗЛИЧИТИХ МЕХАНИЗАМА ДЕЛОВАЊА»,

из научне области Заштита биља.

Универзитет је дана 07.12.2011. године, својим актом 02 број 06-8226/8 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: «ОСЕТЉИВОСТ РЕПИЧНОГ СЈАЈНИКА (*Meligethes aeneus* F.) НА ИНСЕКТИЦИДЕ РАЗЛИЧИТИХ МЕХАНИЗАМА ДЕЛОВАЊА И МОГУЋНОСТ СУЗБИЈАЊА»,

Комисија за оцену и одбрану дисертације мр ПРЕДРАГА МИЛОВАНОВИЋА, образована је на седници одржаној 24.10.2012. године, одлуком Факултета број 356/1-5.3. у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област

1. др Ибрахим Елезовић, редовни професор, Пестициди,
2. др Петар Кљајић, виши научни сарадник, Пестициди,
3. др Оливера Петровић Обрадовић, ванредни професор, Ентомологија и Пољопривредна зоологија
4. др Новица Милетић, доцент, Пестициди,
5. др Ђорђе Гламочлија, редовни професор, Ратарство.

Наставно-научно веће факултета прихватило је извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, на седници одржаној 30.01.2013. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 356/4-7.1.
Датум: 30.01.2013. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 73. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 30.01.2013. године, донело је

ОДЛУКУ

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднео **мр ПРЕДРАГ МИЛОВАНОВИЋ** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«ОСЕТЉИВОСТ РЕПИЧНОГ СЈАЈНИКА (*Meligethes aeneus* F.) НА ИНСЕКТИЦИДЕ РАЗЛИЧИТИХ МЕХАНИЗАМА ДЕЛОВАЊА И МОГУЋНОСТ СУЗБИЈАЊА».**

II Универзитет је дана 07.12.2011. године, својим актом 02 број 06-8226/8 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Popović T., **P. Milovanović**, G. Aleksić, V. Gavrilović, M. Starović, M. Vasić and J. Balaž (2012): Application of semi-selective mediums in routine diagnostic tests of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* on common bean seeds. Scienta Agricola, v. 69, n.4. p. 265-270.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Ибрахиму Елезовићу, редовном професору у пензији, Институту за фитомедицину, Студентској служби и архиви.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Београд-Земун
Наставно-научно веће

Предмет: Оцена урађене докторске дисертације мр Предрага Миловановића

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр. 356/1-5.3 од 24.10.2010. године именована је Комисија за оцену и одбрану урађене докторске дисертације кандидата мр Предрага Миловановића под насловом: „Осетљивост репичиног сјајника (*Meligethes aeneus* F.) на инсектициде различитих механизма деловања и могућност сузбијања“.

Комисија у саставу: др Ибрахим Елезовић, редовни професор у пензији (ментор), др Петар Кљајић, научни саветник (Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд-Земун), др Оливера Петровић - Обрадовић, редовни професор, др Новица Милетић, доцент и др Ђорђе Гламочлија, редовни професор, прегледала је докторску дисертацију и о томе подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација мр Предрага Миловановића написана је на 146 страна и садржи 34 табеле, 39 графикона и 8 оригиналних фотографија. Испред основног текста налази се извод са кључним речима на српском и енглеском језику као и приказ садржаја. Дисертација се састоји од следећих поглавља: Увод (1-3), Преглед литературе (4-26), Материјал и методе (27-38), Резултати (39-99), Дискусија (99-113), Закључци (114-116) и Литература (117-146). Поглавља Преглед литературе, Материјал и методе, Резултати и Дискусија садрже потпоглавља и поднасловe.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1 Увод

У уводу кандидат указује на значај репичиног сјајника (*Meligethes aeneus* F.), штеточине озигме уљане репице код нас. Губици у приносу семена које наноси ова штетна врста достижу 50-60%, а забележене су штете и до 80%. Највеће штете наносе одрасли инсекти који током исхране оштећују неотворене цветне пуполке у потпуности изједајући цветне елементе. Интензитет напада утврђује се визуелним прегледом вршних цвасти, а праг штетности зависи од бројности имага репичиног сјајника и фенофазе развоја уљане репице. Мониторинг популације репичиног сјајника односно зависност бројности инсеката од фенофазе развоја уљане репице и климатских услова значајно доприноси правовременом предузимању хемијских мера сузбијања и смањењу губитака у укупном приносу.

Аутор наводи значај примене инсектицида, као јединог ефикасног начина сузбијања репичиног сјајника. Данас су најчешћи у примени инсектициди из групе пиретроида и органофосфата, а чести су и инсектициди из групе неоникотиноида. О ефикасности инсектицида различитих механизма деловања за сузбијање репичиног сјајника постоји доста литературних података у свету. Аутор такође наводи и недостатке примене хемијских мера сузбијања услед могућности прилагођавања штеточине на њихово деловање, односно појаву

смањене осетљивости и резистентности. Обзиром да се у свету, а и код нас, за сузбијање ове штеточине најчешће користе пиретроиди то је и појава резистентности најизраженија управо на инсектициде из те групе. Повишен ниво цитохром Р450 монооксигеназа, који су главни ензимски системи укључени у оксидативни метаболизам инсектицида, указују на могућу појаву резистентности на примењиване инсектициде.

Циљ ове докторске дисертације био је да се:

- на неколико локалитета у Србији утврди време појаве, бројност и динамика популација репичиног сјајника у осетљивим фенофазама развића озиме уљане репице и утврди достизање прагова штетности који ће допринети оптимизацији предузимања хемијских мера сузбијања,
- испитивањем ефикасности инсектицида различитих механизма деловања у усевима озиме уљане репице у пољским условима добију резултати који ће послужити као основа за рационалнију примену хемијских мера сузбијања репичиног сјајника у пракси,
- утврђивањем нивоа осетљивости домаћих популација репичиног сјајника на инсектициде различитог механизма деловања добиће се егзактни подаци о ефикасности инсектицида и осетљивости популација на инсектициде; утврђени параметри LD₅₀, односно LC₅₀ и LD₉₅, односно LC₉₅ ће се, као први такви резултати добијени у Србији, упоређивати са резултатима до којих су дошли истраживачи у другим државама и регионима,
- утврђивањем нивоа активности цитохром Р450 монооксигеназа укаже на степен досадашње изложености испитиваних популација репичиног сјајника инсектицидима и омогући праћење развоја резистентности на инсектициде, првенствено из групе пиретроида.

2.2 Преглед литературе

Преглед литературе обухвата неколико целина. Аутор наводи таксономску припадност и номенклатуру репичиног сјајника, домаћине, распрострањеност, морфологију, штете, биологију и екологију, оштећења на домаћину, фитосанитарни значај, детекцију и инспекцију, сузбијање и резистентност.

Репичин сјајник спада у раздео: *Eukaryota*, царство *Metazoa*, тип *Arthropoda*, класу *Insecta*, ред *Coleoptera*, фамилију *Nitidulidae*. Ова врста је у Европи позната од XIX века. Главни домаћини *M. aeneus* су разне врсте рода *Brassica* и *Sinapis*, а најбоље је проучена штеточина уљане репице. Широко је распрострањена инсекатска врста на подручју целе Европе, Северне Африке, источно кроз централну Азију до руског Далеког истока и Монголије, у западним државама Северне Америке и крајњем југу северног дела Мексика. Присутан је у Србији и свим бившим југословенским републикама.

Репичин сјајник има једну генерацију годишње. Презимљава као имаго, крај путева, на ивицама шума, најчешће под стеољом у храстовим, грабовим или брезовим шумама као и ливадама. После зимске хибернације, имага излазе из земље у време када температура земљишта пређе 8°C, а ваздуха 12°C, хранећи се доступним поленом цвета различитих коровских биљака, након чега прелећу на парцеле под уљаном репицом, у време формирања цветних пупољака. У потрази за поленом прегризају чашичне и круничне листиће пупољка и улазе у унутрашњост пупољка, где се хране, изједајући прашнике и оштећујући тучак. У овом периоду репичин сјајник изазива највеће економске штете на уљаној репици будући да оштећује цветне пупољке на централном стаблу, јер 60-70% цветова се налази на централном стаблу што је највећи део приноса. Оплођене женке полажу по јаја у младе, неотворене цветне пупољке. Ларве се пиле 5-7 дана након полагања јаја и хране се као и имага, унутрашњим органима цветова, али изазивају много мање штете. Ларва је по исхрани монофагна, специјализована за купусњаче. Потпуно одрасла ларва спушта се у земљу, где се закопава и претвара у лутку. Нови имаго се појављује 6-8 недеља након полагања јаја, обично крајем јуна или почетком јула и храни се пре презимљавања. Крајем лета (август) повлаче се на презимљавање.

Штетност репичиног сјајника првенствено зависи од: његове бројности на терминалној цвасти, времена његове појаве у односу на развој цветних пупољака, периода који протекне од момента насељавања репичиног сјајника до цветања, способности регенерације која зависи од сорте, примењене агротехнике, временских прилика и др.

Традиционално, сузбијање имага репичиног сјајника у усеу уљане репице укључује примену хемијских мера заштите. Седамдесетих година прошлог века за сузбијање су у примени били циклодиени, органохлорни инсектициди, ДДТ, карбамати и органофосфати, релативно су перзистентни, већином високо токсини и опасни за корисне инсекте. Пиретроиди су увршени у примену осамдесетих година прошлог века. Данас је у примени широк спектар инсектицида, карбаматни карбофуран, пиримикарб, органофосфатни инсектициди (фосалон), пиретроиди (алфа-циперметрин, циперметхрин, делтаметхрин, ламбда-цихалотхрин, тау-флувалинат и зета-циперметхрин) и неоникотиноиди. Код нас су регистровани препарати на бази алфа-циперметрина, бета-цифлутрина, бифентрина, делтаметрина, ендосулфана, есфенвалерата, фенвалерата, фоксима, фосалона, хлорпирифос + циперметрин, ламбда-цихалотрина и пиримифос-метила.

Константан и високо селективан притисак различитих инсектицида за сузбијање репичиног сјајника последњих година је резултирао широком појавом резистентности ове штетне врсте према већини активних супстанци у европским земљама. Резистентност на инсектициде се развија много брже него што је потребно да се уведу нови инсектициди у продају, за којима је последњих година све већа потреба, па се препоручује стални мониторинг нивоа осетљивости репичиног сјајника према свим примењиваним инсектицидима. Честа примена пиретроида створила је проблем у већини европских земаља јер је дошло до развоја резистентности популације на целу групу ових инсектицида. За утврђивање резистентности на инсектициде су данас у примени разни биотестови, који као резултате дају одговарајуће дозе инсектицида довољне да изазову смртност 50 и 90% испитиване популације, а пружају и могућност откривања промена у проценту смртности током одређеног временског периода, као и настанак резистентности. Повишени нивои ензима P450 монооксигеназа или глутатион S-трансфераза указују на убрзану разградњу ксенобиотика и смањену осетљивост на инсектициде.

2.3 Материјал и методе рада

У овом поглављу, аутор даје детаљан опис метода које су коришћене у раду. Огледи су извођени у пољским и лабораторијским условима.

2.3.1 Утврђивање динамике појаве популација *M. aeneus*

Динамика популације репичиног сјајника на усевима озиме уљане репице је праћена на основу времена насељавања усева уљане репице и бројности имага у осетљивим фенофазама развоја усева озиме уљане репице. Појава и присуство имага репичиног сјајника као и њихова бројност утврђивана је комбиновањем метода сакупљања инсеката помоћу жутих водених клопки (Моегиске-ови судови) и отресања имага са вршних цвасти уљане репице (Beating method) у три локалитета: Ковин, Смедерево и Пожаревац. Методе праћења примењиване су од средине марта до краја маја, односно у време када се уљана репица налазила у фенофазама развоја BBCH 30-77. Преглед усева вршен је сваких седам дана.

2.3.2 Ефикасност инсектицида у пољским условима

Испитивање ефикасности инсектицида различитих механизма деловања за сузбијање имага *M. aeneus* вршено је у пољским условима током три вегетационе сезоне у локалитетима Ковин, Смедерево и Пожаревац. Огледи су вршени са инсектицидима различитих механизма деловања, пиретроидима (ламбда-цихалотрин, алфа-циперметрин, бифентрин), органофосфатима (пиримифос-метил), комбинацијом органофосфата и пиретроида (хлорпирифос + циперметрин) и неоникотиноидима (тиаклоприд). Огледи су постављени према методи EPPO PP 1/178(3), *Meligethes aeneus* on rape (OEPP/EPPO, 2004) и PP 1/152(3) Design and analysis of efficacy evaluation trials (OEPP/EPPO, 1999). Резултати испитивања су статистички обрађени у COSTAT програму, анализом варијансе (ANOVA), а поређења средњих вредности извршена су помоћу Данкановог теста и најмање значајне разлике (LSD) на прагу значајности 0,05. Ефикасност коришћених инсектицида израчуната је помоћу формуле Henderson-Tilton (1955).

2.3.3 Осетљивост *M. aeneus* на инсектициде

Осетљивост популације репичиног сјајника на инсектициде је проучавана на јединкама из локалитета Ковин, Смедерево и Пожаревац. За огледе су коришћени:

- 1) тест наношења инсектицида на зидове посуда (Adult Vial Test, IRAC, 2009),
- 2) тест потапања цветних пупољака (Dipping test, Thieme et al., 2008),
- 3) квантификација цитохром Р450 монооксигеназа (Omura и Sato, 1964a.).

Тест наношења инсектицида на зидове посуда (Adult Vial test) и тест потапања цветних пупољака (Dipping test) су вршени у стакленим бочицама, унутрашње површине 48 cm² у које су додавани испитивани инсектициди (ламбда-цихалотрин, алфа-циперметрин, бифентрин, пиримифос-метил, комбинацијом хлорпирифос + циперметрин и тиаклоприд) примењени у препорученим (100%) и смањеним дозама примене (75%, 50%, 25%, 10% и 5%).

Квантификација цитохром Р450 монооксигеназа вршена је током 2010. године. Хомогенизацијом 2 г прикупљених адулта *M. aeneus* са 4 мл калијум фосфатног пуфера (pH 7,6 50mM) добијен је хомогенат који је центрифугиран два пута. Талог је ресуспендован у 4 ml Трис пуфер-у и у њега је додаван угљен моноксид у трајању од 30 секунди, до засићења. Скенирање је вршено помоћу спектрофотометра у спектралном опсегу 400-500 nm.

2.3.4. Обрада података

Резултати бројности имага *M. aeneus* статистички су обрађени анализом варијансе (ANOVA), а упоређења средњих вредности извршена су помоћу Данкановог теста и најмање значајне разлике (LSD) на прагу значајности 0,05.

Резултати испитивања ефикасности инсектицида су статистички обрађени у COSTAT програму, анализом варијансе (ANOVA), а поређења средњих вредности извршена су помоћу Данкановог теста и најмање значајне разлике (LSD) на прагу значајности 0,05. Ефикасност коришћених инсектицида израчуната је помоћу формуле Henderson-Tilton (1955).

Резултати испитивања осетљивости на инсектициде су приказани као проценат смртности, и кориговани су према смртности у нетретираној контроли, коришћењем формуле по Abbott-у (Abbott, 1925) и обрађени пробит анализом (Finey, 1971) у циљу добијања коригованих вредности ефикасности LD₅₀, односно LC₅₀ и LD₉₅, односно LC₉₅ и нагиба *ld-p* и *lc-p* линија. Коришћењем шеме 'susceptibility rating scheme' тестиране популације *M. aeneus* су сврставане у следеће категорије: високо осетљива, осетљива, средње резистентна, резистентна и високо реизистентна. Подаци о резистентности популације репичиног сјајника према испитиваним инсектицидима су добијени и према израчунатим факторима резистентности.

Резултати квантификације цитохром Р450 монооксигеназа су очитани у делу спектра од 450 и 490 nm и из апсорбционих јединица су се уз корекцију разлике преко корекционог фактора од 91 преводили у квантитативне вредности укупног садржаја цитохром Р450 (nmol/ml) или његове концентрације у протеинима (nmol/mg протеина).

2.4 Резултати

Ово поглавље представља најважнији део ове докторске дисертације и подељено је у три целине. Резултати добијени у истраживањима приказани су сажетим и концизним табелама и графиконима који јасно илуструју најважније делове истраживања.

2.4.1 Утврђивање динамике појаве популација *M. aeneus*

Прва запажања презимелих имага репичиног сјајника у усевима озиме уљане репице бележена су када је репица била у фенофази пораста стабла (ВВСН 30-31). Током априла месеца (фенофаза ВВСН 50-59) бројност имага се значајно повећавала, а највећа бројност имага је достигнута у фенофази зелено-жутих пупољака (ВВСН 57-59), током које је утврђена следећа бројност имага: у локалитету Ковин, 277 (2008), 317 (2009) и 309 (2010); у локалитету Смедерево, 155 (2008), 183 (2009) и 129 (2010); у локалитету Пожаревац 80 (2008), 155 (2009) и 135 (2010). Током периода цветања (мај месец, ВВСН 60-69), бројност је опадала и свако следеће пребројавање било на статистички нижем нивоу од претходог. Крајем маја месеца бројност јединки *M. aeneus* је била на статистичком нивоу као код првог пребројавања.

Густина популације репичиног сјајника по цвасти је била највиша у фенофази зелено-жутих пупољака (ВВСН 57-59). Период формирања пупољака је најдуже је трајао током 2009. (29 дана), када је и бројност била највећа; у локалитету Ковин бележена је бројност од 5,8 имага по цвасти. Бројност имага у локалитету Ковин је током 2008. била нешто мања, 4,4

имага/цваст, а 2010. је била 3,5 имага/цваст. У локалитету Смедерево бројност је била највећа у 2009. године и износила је 3,4 имага/цваст, у 2008. године је била 3,3 имага/цваст, а у 2010. године 2,8 имага/цваст. У локалитету Пожаревац бројност је била подједнака током све три године посматрања, у 2008. године била је 2,9 имага/цваст, у 2009. године 2,8 имага/цваст и у 2010. 2,5 имага/цваст. Период формирања пупољака је најдуже је трајао током 2009. године (29 дана), када је и бројност била највећа; у локалитету Ковин забележена је бројност од 5,8 имага по цваст.

2.4.2 Ефикасност инсектицида у пољским условима

Резултати испитивања ефикасности су показали да су сви пиретроиди и органофосфати у свим локалитетима (Ковин, Смедерево, Пожаревац) током 2008. и 2009. године испољили високу ефикасност, преко 90%, при оцени извршеној три дана након апликације инсектицида; код неоникотиноида - тиаклоприда, ефикасност је у локалитету Пожаревац такође била висока, преко 90%, док је локалитетима Ковин и Смедерево била нешто нижа, од 85-90%. Највећу ефикасност током свих огледа испољила је комбинација хлорпирифос + циперметрин, 94-99% и пиримифос-метил 93-99%, а затим следе пиретроиди (87-100%) и неоникотиноид (85-95%). Седам дана после третмана, популација репичиног сјајника је почела да се обнавља у усеву озиме уљане репице па је ефикасност тестираних инсектицида опадала, крећући се од 75% па навише.

2.4.3 Осетљивост *M. aeneus* на инсектициде

Према двогодишњим резултатима Adult-Vial теста дозе које су изазивале смртност 95% имага репичиног сјајника биле су код:

- ламбда-цихалотрина 0,003-0,047 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, до смртности је долазило код свих испитиваних популација при препорученој дози и у нижој дози, 75% од препоручене, а у појединим случајевима смртност је бележена и при 50% од препоручене дозе (Ковин 2009, Смедерево 2009, Пожаревац 2009, Смедерево 2010, Пожаревац 2010), а бележен је и један случај високе смртности при најнижој испитиваној дози, 5% од препоручене (Пожаревац 2010);
- алфа-циперметрина 0,03-0,09 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, до смртности код свих испитиваних популација долазило је при препорученој дози, а код већине случајева смртност је забележена и при 75% од препоручене дозе (Ковин, 2009.; Смедерево, 2009.; Пожаревац, 2009.; Смедерево, 2010.; Пожаревац, 2010), код два случаја и при 50% од препоручене дозе (Смедерево, 2010.; Пожаревац, 2010);
- бифентрина 0,04-0,16 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, до смртности код већине испитиваних популација долазило је при препорученој дози, у два случаја до смртности је дошло при нижој дози, 75% од препоручене (Смедерево, 2010.; Пожаревац, 2010) и у три случаја код 50% од препоручене (Ковин, 2009.; Смедерево, 2009.; Пожаревац, 2009); код популације из локалитета Ковин током 2010. године вредност LD_{95} је била нешто мало изнад препоручене дозе и износила је 0,16 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$;
- пиримифос-метила 0,17-0,87 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, до смртности код свих испитиваних популација долазило је при препорученој дози али и у смањеним дозама, 75% и 50% и 25% од препоручене, у једном случају и 10% од препоручене (Ковин, 2010) и једном случају 5% од препоручене (Смедерево, 2009);
- хлорпирифос + циперметрина 0,14-0,81 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, до смртности код свих испитиваних популација долазило је при препорученој дози, али и у смањеним дозама, 75% и 50% и 25% од препоручене, а у два случаја код 10% од препоручене (Ковин, 2010.; Пожаревац, 2010) и два случаја код 5% од препоручене дозе (Ковин, 2009.; Смедерево, 2009);
- тиаклоприда 0,25-1,06 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, до смртности код већине испитиваних популација долазило је при препорученој дози (Смедерево, 2009.; Пожаревац, 2009.; Смедерево, 2010.; Пожаревац, 2010) и 75% смањеној дози (Пожаревац, 2009.; Смедерево, 2010.; Пожаревац, 2010); код популација из локалитета Ковин током обе године испитивања вредности LD_{95} су биле изнад препоручене дозе, односно износиле су 1,06 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ у 2009. години и 1,03 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ у 2010. години.

На основу остварених резултата и критеријума за оцену осетљивости репичиног сјајника на инсектициде (Susceptibility rating scheme, IRAC, 2009), тестиране популације се

сврставају у другу групу тј. осетљиве. Фактори резистентности су били испод 1 и указују да није дошло до развоја резистентности.

Према трогодишњим резултатима Dipping теста концентрације испитиваних инсектицида које су изазивале смртност 95% имага репичиног сјајника су код:

- ламбда-цихалотрина 0,02-0,04 mg/L, до смртности је долазило при препорученој концентрацији код испитиваних популација из локалитета Смедерево и Пожаревац; код популације из локалитета Ковин су током све три године испитивања вредности LC_{95} су биле изнад препоручене, односно износиле су 0,03 mg/L у 2008. и 2010. и 0,04 mg/L у 2009. години;
- алфа-циперметрина 0,01-0,07 mg/L, до смртности код испитиваних популација долазило је при препорученој концентрацији (Смедерево, 2008.; Смедерево, 2010.; Пожаревац, 2010), код два случаја смртност је бележена и при 75% од препоручене концентрације (Пожаревац, 2008.; Ковин, 2009) и код два случаја код 50% од препоручене концентрације (Ковин, 2008.; Смедерево, 2009); више концентрације од препоручене бележене су код популације Пожаревац 2009. године - 0,04 mg/L и код популације Ковин 2010. године - 0,07 mg/L;
- бифентрина 0,036-0,06 mg/L, до смртности код испитиваних популација долазило је при препорученој концентрацији (Смедерево, 2008.; Пожаревац, 2008.; Пожаревац, 2009.; Пожаревац, 2010), а само у једном случају при смањеној концентрацији 75% од препоручене (Ковин, 2008); више концентрације од препоручене бележене су код популација Ковин 2009. године, Ковин 2010. године, Смедерево 2009. године и Смедерево 2010. године где је LC_{95} износила 0,06 mg/L;
- пиримифос-метила 0,11-0,52 mg/L; до смртности код свих испитиваних популација дошло је при препорученој концентрацији али и у смањеним, 75% и 50% од препоручене, код три случаја код 25% (Пожаревац, 2008.; Ковин, 2009.; Ковин, 2010) и код једног случаја при 10% (Ковин, 2008); код популација Смедерево 2008. године, Смедерево 2009. године, Пожаревац 2009. године и Пожаревац 2010. године вредности LC_{95} су биле ниже од најниже испитиване концентрације;
- хлорпирифос + циперметрин 0,12-0,35 mg/L; до смртности код свих испитиваних популација дошло је при препорученој концентрацији (100%) али и у смањеним, 75% и 50% од препоручене, код четири случаја код 25% (Смедерево, 2008.; Ковин, 2009.; Пожаревац, 2009.; Смедерево, 2010) и 2 случаја код 10% (Ковин, 2008; Пожаревац, 2008); код популација Смедерево 2009. године, Ковин 2010. године и Пожаревац 2010. године вредности LC_{95} су биле ниже од најниже испитиване концентрације;
- тиаклоприда 0,14-1,06 mg/L, до смртности код само два случаја је дошло при препорученој концентрацији (Ковин, 2008.; Смедерево, 2009); код свих осталих случајева смртност 95% адулта је забележена при вишим концентрацијама од препоручене.

Израчунати фактори резистентности су били испод 1, на основу чега је утврђено да нема резистентности код испитиваних популација.

Укупни садржај цитохрома P450 код популација репичиног сјајника из локалитета Ковин је био 3,39 nmol/ml, а концентрација цитохрома P450 у протеинима је била 0,402 nmol/mg протеина; код популација из локалитета Смедерево 2,12 nmol/ml, концентрација P450 у протеинима 0,251 nmol/mg протеина; код популација из локалитета Пожаревац 1,64 nmol/ml, концентрација P450 у протеинима 0,194 nmol/mg протеина. Добијени резултати показују да код испитиваних популација није дошло до резистентности према примењиваним инсектицидима.

2.5. Дискусија

У овом поглављу кандидат дискутује сопствене резултате упоређујући их са резултатима других аутора који су радили на сличним испитивањима.

Прва појава имага репичиног сјајника је у севима озиме уљане репице у локалитетима Ковин, Смедерево и Пожаревац бележена крајем марта месеца, почетком фенофазе пораста стабла (BBCH 30-31). У то време, максималне дневне температуре су биле око 15-20°C, а минималне од 4-7° С. Највећа бројност имага је достигнута у фенофази BBCH 57-59, а током маја месеца у фенофази цветања (BBCH 61-69) регистровано је опадање у бројности; крајем маја месеца (BBCH 71-77) бројност имага М. аенеус је била врло ниска.

Резултати испољене ефикасности инсектицида добијени током 2008. године су показали да су сви испитивани инсектициди испољили високу ефикасност која се кретала од

90-100% приликом оцено изведене три дана после третмана и 80-92% седам дана након третмана. Током 2009. године код испитиваних инсектицида ефикасност је била такође висока и кретала се од 89-99% приликом оцено изведене три дана после третмана и 79-93% седам дана након третмана. Ефикасност инсектицида током 2010. године се кретала од 85-95% приликом оцено изведене три дана после третмана и 76-87% седам дана након третмана. Тенденција опадања ефикасности испитиваних инсектицида се мора узети у обзир за даља проучавања у циљу предвиђања смањене осетљивости популација репичиног сјајника на инсектициде код нас.

Резултати Adult-Vial теста показују да је код свих испитиваних инсектицида у препорученим дозама у већини случајева остварена смртност 95% јединки имага репичиног сјајника, што је индиковано израчунавањем вредности LD₉₅. Такође се може истаћи да није било измене у нивоу осетљивости испитиваних популација репичиног сјајника у испитиваном периоду. Тестиране популације се сврставају у другу групу тј. осетљиве, а популација из локалитета Ковин најмање је осетљива.

Према добијеним резултатима Dipping теста може се истаћи да је код тестираних популација у већини случајева смртност 95% адулта изазвана применом препоручених доза инсектицида.

Према добијеним резултатима може се истаћи да код испитиваних популација из локалитета Ковин, Смедерево и Пожаревац углавном нису развијени механизми детоксикације, да су испитиване популације осетљиве, јер је долазило до потпуне смртности приликом примене препоручених доза код већине испитиваних инсектицида.

Поређењем резултата добијених извођењем AVT и Dipping теста може се закључити да смо прецизније податке добили применом AVT и да се ова метода као примењљивија може препоручити у будућем раду за слична испитивања. Највећу ефикасност у оба испитивања теста испољили су органофосфати, затим пиретроиди, док је код неоникотиноида долазило у појединим случајевима до смањене осетљивости.

Према резултатима укупног садржаја цитохрома P450 који се кретао од 1,64-3,39 nmol/ml и концентрације која је била од 0,194- 0,402 nmol/mg протеина, утврђено је да су испитиване популације *M. aeneus* осетљиве и да није дошло до резистентности код ове штетне инсекатске врсте на примењиване инсектициде у Србији.

Кандидат истиче да на основу добијених резултата у раду нису утврђене резистентне популације репичиног сјајника на инсектициде у Србији, али напомиње да је испитивања неопходно даље наставити због раширене резистентности у већини европских земаља.

2.6. Закључак

На основу изложених резултата и њиховог разматрања кандидат закључује да:

- Репичин сјајник, *M. aeneus* је најштетнија инсекатска врста у усевама озиме уљане репице код нас;
- Врста *M. aeneus* насељава усева озиме уљане репице у фенофази пораста стабла ВВСН 30-31, што се у нашим климатским условима дешава у марту месецу;
- Највећа бројност имага *M. aeneus* остварена је у усева озиме уљане репице у фенофази зелено-жутих пупољака, ВВСН 57-59 (април). Бројност популације репичиног сјајника по цвасти је у свим локалитетима и свим годинама истраживања прелазила економске прагове штетности;
- Највећа бројност имага *M. aeneus* била је у локалитету Ковин током све три године посматрања, затим у локалитету Смедерево, а у локалитету Пожаревац бројност је била најнижа;
- У каснијим фенофазама развоја озиме уљане репице (ВВСН 61-69) бројност и штетност репичиног сјајника значајно опадају, што се у нашим агроеколошким условима дешава у мају месецу;
- Резултати испитивања ефикасности инсектицида су током трогодишњих пољских огледа показали да је ефикасност испитиваних инсектицида три дана након третмана висока и кретала се од 85-100%;
- Време примене испитиваних инсектицида за сузбијање репичиног сјајника у усева озиме уљане репице у корелацији је са највећом бројношћу популације током свих огледа ;

- Седам дана после третмана испитиваним инсектицидима у пољским условима, популација репичиног сјајника је почела да се обнавља у усеву озиме уљане репице па је ефикасност тестираних инсектицида опадала, крећући се од 75% па навише;
- Тестирањем токсичности инсектицида на *M. aeneus* (Adult Vial тест) током две године испитивања утврђено је да је код свих испитиваних инсектицида испољена висока токсичност у препорученим дозама, а да је до највеће токсичности долазило 24 часа после излагања имага депозиту;
- Дозе које су изазивале смртност 95% имага репичиног сјајника (Adult Vial тест) су биле: код ламбда-цихалотрина 0,003-0,047 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, бифентрина 0,04-0,16 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, пиримифос-метила 0,17-0,87 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, комбинације хлорпирифос + циперметрина 0,14-0,81 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$;
- Према критеријумима за оцену осетљивости репичиног сјајника на инсектициде, тестиране популације се сврставају у другу групу тј. осетљиве. Популација из локалитета Ковин се показала као најмање осетљива;
- Вредности израчунатих фактора резистентности добијених Adult Vial тестом код испитиваних инсектицида су били испод 1 и указали да нема резистентности код испитиваних популација репичиног сјајника;
- Тестирањем токсичности инсектицида на *M. aeneus* (Dipping test) током три године испитивања утврђено је да је код свих испитиваних инсектицида испољена токсичност у препорученим концентрацијама, а да је до највеће токсичности долазило 24 часа после излагања имага депозиту;
- Концентрације инсектицида које су изазивале смртност 95% имага (Dipping test) биле су: код ламбда-цихалотрина 0,02-0,04 mg/L, алфа-циперметрина 0,01-0,07 mg/L, бифентрина 0,036-0,06 mg/L, пиримифос-метила 0,11-0,52 mg/L, комбинације хлорпирифос + циперметрина 0,12-0,35 mg/L и код тиаклоприда 0,14-1,06 mg/L;
- Вредности израчунатих фактора резистентности добијених Диппинг тестом су били испод 1 и указали да нема резистентности код испитиваних популација репичиног сјајника;
- Укупан садржај цитохром Р450 монооксигеназа код испитиваних популација репичиног сјајника из локалитета Ковин, Смедерево и Пожаревац прикупљених током 2010. године се кретао од 1,64-3,39 nmol/ml;
- Концентрација цитохром Р450 монооксигеназа код испитиваних популација репичиног сјајника из локалитета Ковин, Смедерево и Пожаревац прикупљених током 2010. године кретала се од 0,194-0,402 nmol/mg протеина;
- Према вредностима укупног садржаја цитохром Р450 и концентрације у протеинима, утврђено је да су све испитиване популације осетљиве на примењиване инсектициде и да није забележена резистентност код ове штетне инсекатске врсте на примењиване инсектициде.

2.7. Литература

Кандидат је у раду цитирао укупно 285 референци. Већина цитираних радова су објављени у последње две деценије и представљају селекцију најзначајнијих радова објављених у овој области.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Анализом изложених резултата и њиховог разматрања, те поређењем прихваћеног и реализованог програма истраживања као и хипотеза од којих се пошло, констатујемо да су обављена сва планирана истраживања. Примењујући одговарајуће методе и технике, мр Предраг Миловановић је у оквиру постављеног циља и програма рада, веома успешно обавио експериментални део истраживања, што је и документовао у резултатима дисертације. Утврдио је да је у усевама озиме уљане репице врста *Meligethes aeneus* била најбројнија у фенофази зелено-жутих пупољака, ВВСН 57-59; да је у сва три локалитета и у све три године истраживања прелазила економске прагове штетности. Ефикасност испитиваних инсектицида три дана након третмана била је висока и кретала се од 85-100%; недељу дана након третмана ефикасност инсектицида је опадала и износила је од 75% па навише. Концентрације инсектицида које су изазивале смртност 95% имага (Dipping test) биле су: код ламбда-цихалотрина 0,02-0,04 mg/L, алфа-циперметрина 0,01-0,07 mg/L, бифентрина 0,036-0,06 mg/L,

пиримифос-метила 0,11-0,52 mg/L, комбинације хлорпирифос + циперметрина 0,12-0,35 mg/L и код тиаклоприда 0,14-1,06 mg/L.

Вредности израчунатих фактора резистентности добијених Дипинг тестом и Adult Vial тестом су били испод 1 и указали да нема резистентности код испитиваних популација репичиног сјајника. Укупан садржај цитохром Р450 монооксигеназа код испитиваних популација из три локалитета током 2010. год. кретао се од 1,64-3,39 nmol/ml. Према вредностима укупног садржаја цитохром Р450 и концентрације у протеинима, утврђено је да су све испитиване популације осетљиве на примењиване инсектициде и да није забележена резистентност.

Ова доктораска дисертација представља оригиналан научни рад, чији резултати дају значајан допринос како са научног тако и са практичног аспекта и указују да је због утврђене резистентности репичиног сјајника на инсектициде у већини европских земаља неминовно праћење осетљивости ове штетне инсекатске врсте према примењиваним инсектицидима и код нас. Оцењујемо да ова дисертација представља заокружену научну целину испитивања осетљивости репичиног сјајника на инсектициде различитог механизма деловања (пиретроиде, органофосфате и неоникотиноиде) код нас и отвара нове правце истраживања од значаја за могућности сузбијања ове економски веома важне штеточине озиме уљане репице.

Имајући у виду наведено, предлагемо Научно-наставном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да усвоји позитивну оцену докторске дисертације мр Предрага Миловановића под насловом: **"Осетљивост репичиног сјајника (*Meligethes aeneus* F.) на инсектициде различитих механизма деловања и могућност сузбијања"** и позове докторанта да је јавно брани.

У Београду, 08.11.2012. године

Чланови Комисије:

1. Др Ибрахим Елезовић, редовни професор у пензији (ментор)
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
2. Др Петар Кљајић, научни саветник
Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд
3. Др Оливера Петровић-Обрадовић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
4. Др Новица Милетић, доцент
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
5. Др Ђорђе Гламочлија, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

Рад кандидата **Предрага Миловановића** у часопису са импакт фактором:

Popović T., **P. Milovanović**, G. Aleksić, V. Gavrilović, M. Starović, M. Vasić and J. Balaž (2012): Application of semi-selective mediums in routine diagnostic tests of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* on common bean seeds. Scienta Agricola, v. 69, n.4. p. 265-270.