



UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET



BIOPESTICIDI

Slavica M. Vuković
Dragana B. Šunjka



UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

BIOPESTICIDI

(za predmet Korovi i biopesticidi)

UDŽBENIK

dr Slavica Vuković i dr Dragana Šunjka

Novi Sad, 2021. godina

EDICIJA OSNOVNI UDŽBENIK

Osnivač i izdavač edicije

Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet
Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8
Godina osnivanja 1954.

Glavni i odgovorni urednik edicije

dr Nedeljko Tica, redovni profesor
Dekan Poljoprivrednog fakulteta

Članovi komisije za izdavačku delatnost

dr Branislav Vlahović, redovni profesor – predsednik
dr Ivana Davidov, vanredni profesor – član
dr Dejan Beuković, docent – član
dr Ksenija Mačkić, docent – član

Autori

dr Slavica M. Vuković, vanredni profesor
dr Dragana B. Šunjka, vanredni profesor

Glavni i odgovorni urednik

dr Nedeljko Tica, redovni profesor
Dekan Poljoprivrednog fakulteta

Recenzenti

dr Sanja Lazić, redovni profesor
dr Petar Kljajić, naučni savetnik

Naslovna fotografija

Dragan Močević

Izdavač

Univerzitet u Novom Sadu Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Zabranjeno preštampavanje i fotokopiranje. Sva prava zadržava izdavač.

Štampanje ovog udžbenika je odobrilo Nastavno-naučno veće
Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu na sednici od 20.12.2021. godine,
broj odluke: 1000-1945/2/14

Tiraž

20 primeraka

Mesto i godina štampanja

Novi Sad, 2021.

ISBN 978-86-7520-543-2

CIP – Katalogizacija u publikaciji Biblioteke Matice srpske, Novi Sad



PREDGOVOR

Izdavanjem prvog udžbenika iz predmeta „Korovi i biopesticidi“, deo Biopesticidi, za studente osnovnih studija, studijskog programa Organska poljoprivreda, Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, namera nam je bila da prikazemo savremeni pristup i saznanja u oblasti zaštite bilja i da ukažemo na značaj primene biopesticida, kao alternativu hemijskim sredstvima za zaštitu bilja, kako u organskoj, tako i u integralnoj i konvencionalnoj poljoprivrednoj proizvodnji. Usled nedostatka odgovarajućeg udžbenika na gorepomenutom predmetu, a u nameri da se studentima omogući lako savladavanje gradiva, autori su pristupili izradi ovog udžbenika. Publikacija je napisana u skladu sa aktuelnim nastavnim planom i programom Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu.

Udžbenik sadrži uvodni deo koji se odnosi na osnovne definicije, značaj i podelu biopesticida, zatim oblike formulacija biopesticida, mehanizme delovanja biofungicida, bioinsekticida, bionematocida, bioherbicida, zaštita bilja u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji, status biopesticida u zaštiti bilja, procena rizika primene biopesticida i zakonske regulative iz oblasti biopesticida. Pri pisanju ovog udžbenika korišćene su brojne starije i novije publikacije, rezultati stranih i domaćih autora, kao i sopstvena iskustva iz ove oblasti.

Osim studentima Organske poljoprivrede, udžbenik je namenjen i studentima drugih studijskih programa Poljoprivrednog fakulteta – Fitomedicina, Voćarstvo i vinogradarstvo, Ratarstvo i povrtarstvo i Pejzažna arhitektura, a svakako i onima koji rade u nastavi, nauči ili privredi. Prema našim saznanjima, udžbenik „Biopesticidi“ je prvi univerzitetski udžbenik na temu biopesticida u zaštiti bilja u zemlji i regionu, te može poslužiti studentima Poljoprivrednih fakulteta drugih univerziteta.

Zahvaljujemo se recenzentima, dr Sanji Lazić i dr Petru Kljajiću, koji su značajno doprineli objavljivanju ovog udžbenika i pozitivno ocenili rukopis. Zahvaljujemo se našim saradnicima na nesebičnoj pomoći tokom izrade udžbenika. Posebnu zahvalnost dugujemo našim profesorima fitofarmacije, izvanrednim mentorima, pedagogima i stručnjacima. Autori će biti zahvalni na svim sugestijama, kritikama i ukazivanju na moguće propuste i greške.

Novi Sad, decembar 2021. godine

Autori

Izvod iz recenzije

Veliki broj naučnih istraživanja prikazanih u udžbeniku se odnosi na proučavanje, odnosno iznalaženje novih, efikasnih i stabilnih biopesticida. Udžbenik je zasnovan na savremenim naučnim i stručnim dostignućima u oblasti fitofarmacije i proučavanjima biopesticida.

prof. dr Sanja Lazić

Udžbenik je namenjen svima koji treba da se upoznaju sa biopesticidima i njihovom primenom u zaštiti bilja, kako onima koji su uključeni u nastavu, tako i onima koji rade u nauci i privredi. Posebno je istaknut značaj primene biopesticida kao proizvoda za zaštitu bilja u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji.

dr Petar Kljajić

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. BIOPESTICIDI	6
2.1. Podela biopesticida.....	8
2.1.1. Mikrobiološki pesticidi	9
2.1.2. Biohemijski pesticidi.....	11
2.1.3. Makrobiološki pesticidi	29
3. FORMULACIJE BIOPESTICIDA	33
3.1. Čvrste formulacije	35
3.2. Tečne formulacije.....	38
3.3. Formulacije za posebne namene.....	41
3.4. Razvoj novih formulacija biopesticida.....	41
4. BIOFUNGICIDI	44
4.1. Biofungicidi na bazi gljiva	51
4.2. Biofungicidi na bazi kvasaca	58
4.3. Biofungicidi na bazi bakterija.....	58
4.4. Biofungicidi na bazi biljnih produkata, etarskih ulja i biljnih ekstrakata	65
5. BIOINSEKTICIDI	70
5.1. Bioinsekticidi na bazi gljiva.....	73
5.2. Bioinsekticidi na bazi bakterija	78
5.3. Bioinsekticidi na bazi virusa.....	84
5.4. Bioinsekticidi na bazi protozoa	90
5.5. Bioinsekticidi na bazi biljnih produkata (botanički insekticidi)	90
5.6. Makrobiološki bioinsekticidi (insekti, grinje, nematode).....	90
6. BIONEMATOCIDI.....	109
6.1. Bionematocidi na bazi gljiva	110
6.2. Bionematocidi na bazi bakterija.....	112
7. SEMIOSUPSTANCE	114
8. BIOHERBICIDI	119
8.1. Bioherbicidi na bazi biljnih ekstrakata.....	127
8.2. Bioherbicidi na bazi etarskih ulja	129
8.3. Bioherbicidi na bazi gljiva.....	132
8.4. Bioherbicidi na bazi bakterija	136

8.5. Bioherbicidi na bazi virusa.....	137
8.6. Makrobiološki bioherbicidi.....	138
9. REGULATORI RASTA BILJAKA	139
10. ZAŠTITA BILJA U ORGANSKOJ POLJOPRIVREDNOJ PROIZVODNJI	142
10.1. Ostala sredstva za zaštitu bilja koja se koriste u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji	151
10.2. Pojmovi od značaja za ispravnost i zdravstvenu bezbednost poljoprivrednih proizvoda.....	156
11. STATUS BIOPESTICIDA U ZAŠTITI BILJA.....	159
12. PROCENA RIZIKA PRIMENE BIOPESTICIDA.....	164
13. ZAKONSKE REGULATIVE U OBLASTI BIOPESTICIDA.....	172
14. LITERATURA.....	177

1. UVOD

BIOPESTICIDI

Sa razvojem i intenziviranjem poljoprivrede, u prvom redu zbog uvođenja agrohemikalija, kao posledice javljaju se kontaminacija životne sredine i ugrožavanje zdravlja ljudi i životinja. Zbog toga je čovečanstvo suočeno sa traženjem novih puteva u cilju proizvodnje dovoljne količine kvalitetne hrane bez negativnih efekata. Da bi se mogući nepovoljni efekti primene pesticida na životnu sredinu, sveli na najmanju moguću meru, potrebno je voditi računa o brojnim činiocima koji mogu da smanje rizik od zagađenja sredine, a da pri tome efikasnost njihove primene bude zadovoljavajuća.

Među agrohemikalijama (mineralna i kompleksna đubriva, pesticidi, aditivi i druga pomoćna sredstva), pesticidi (proizvodi hemijskog, biološkog porekla ili proizvodi biotehnologije, koji se koriste za suzbijanje štetnih organizama) po značaju zauzimaju vodeće mesto u poljoprivrednoj proizvodnji.

Prema teoretskim razmatranjima s početka osamdesetih godina prošlog veka, uvođenje i upotreba pesticida u poljoprivredi su obrazloženi kao neminovnost jer je za ubrzano rastući broj stanovnika na planeti Zemlji posle II svetskog rata, bilo neophodno proizvodnju hrane podići na viši nivo i u kvantitativnom i kvalitativnom smislu. Svetska populacija ljudi do 2050. godine će nastaviti da raste, a sa tim i broj potrošača hrane, što zahteva povećanje proizvodnje kako u poljoprivredi tako i u preradi, a to je moguće ostvariti efikasnom zaštitom bilja, odnosno primenom pesticida i drugih dostignuća biotehnologije i genetskog inženjeringa.

Zaštita bilja u savremenoj poljoprivrednoj proizvodnji gotovo u potpunosti se oslanja na primenu sredstava za zaštitu bilja, i to pre svega hemijskih jedinjenja za suzbijanje prouzrokovaca bolesti, štetočina, korova i drugih štetnih organizama. Njihova dugogodišnja primena i uspešno rešavanje problema prisustva neželjenih organizama, dovela je do situacije u kojoj su poljoprivredni proizvođači gotovo u potpunosti prestali razmišljati o tradicionalnim metodama zaštite bilja i zamenili ih pesticidima.

Proizvodnja hrane, uz permanentni zahtev za što višim prinosima, predstavlja imperativ savremene poljoprivredne proizvodnje. Prema zvaničnim podacima FAO, ukoliko se pesticidi ne bi koristili samo u toku jedne godine, bolesti, štetni insekti i korovi smanjili bi svetsku proizvodnju hrane za 25-30%, a gubici uskladištenih proizvoda povećali bi se za 10-15%.

Međutim, intenzivna i/ili neadekvatna primena pesticida, odnosno sredstava za zaštitu bilja, dovela je do niza posledica, kako po samu poljoprivrednu proizvodnju, tako i po životnu sredinu i zdravlje ljudi. Primena hemijskih sredstava istog mehanizma delovanja koji su u dužem

vremenskom periodu uspešno kontrolisali brojnost štetnih organizama, stvorila je selekциони pritisak na ciljani organizam što je dovelo do povećane otpornosti, a kasnije i do pojave rezistentnih populacija. Rezistentnost je nasledna stečena sposobnost individua u populaciji da prežive delovanje pesticida u koncentraciji u kojoj bi, pod normalnim uslovima, pesticid bio efikasan. Nastanak rezistentnih populacija je sličan Darwin-ovoj teoriji evolucije, što znači da kada veoma osetljivu populaciju izložimo jakom pritisku pesticida stepen uginuća je vrlo visok. Ali, izvestan procenat individua u populaciji nosi rezistentan/ne gene, usled čega one preživljavaju delovanje pesticida i posle izvesnog vremenskog perioda ove individue postaju dominantne u populaciji, odnosno dolazi do razvoja rezistentnosti.

Izostanak efikasnosti pesticida zbog promene osetljivosti populacije štetnog organizma i razvoja rezistentosti, kao i neophodna uzastopna primena drugog sredstva da bi se zaštitio usev, predstavlja gubitak kako za poljoprivrednog proizvođača, tako i za hemijsku kompaniju. Uz to, značajno je i zagađenje životne sredine koje bi se pravovremenom reakcijom moglo izbeći.

Rezultati mnogobrojnih studija o prisustvu pesticida u životnoj sredini doveli su do zabrane primene perzistentnih jedinjenja, a takođe i do potrebe kontinuiranog praćenja njihovih ostataka u zemljištu, vodi i poljoprivrednim proizvodima.

Odgovarajući kvalitet zemljišta i vode predstavlja osnovu za proizvodnju zdravstveno bezbedne hrane. Međutim, intenzivna upotreba sredstava za zaštitu bilja poslednjih decenija dovela je do nagomilavanja njihovih ostataka u životnoj sredini, s obzirom da preparati prilikom aplikacije ne dolaze u kontakt samo sa usevom i ciljnim organizmom, već deo pada na tlo i spiranjem dolazi do nižih slojeva zemljišta i podzemnih voda. Dalja sudbina pesticida u životnoj sredini zavisi, pre svega, od njihove perzistentnosti, ali i od osobina zemljišta i vode sa kojima dolazi u kontakt. Pojava pesticida u površinskim i podzemnim vodama je od posebnog značaja, s obzirom da, osim uloge u poljoprivrednoj proizvodnji, one predstavljaju i izvore vode za piće.

Takođe, intenzivna primena pesticida dovela je nagomilavanja njihovih ostataka i u poljoprivrednim proizvodima. Ostaci koji se nalaze u hrani čine jedan od najznačajnijih problema savremene poljoprivrede. Veliki broj, ali i količina, sintetičkih organskih materija danas se široko upotrebljava u poljoprivrednoj proizvodnji, a neke od ovih supstanci se sporo razgrađuju

nakon primene u biljnom tkivu te kao metaboliti (ili osnovna jedinjenja) mogu predstavljati potencijalnu opasnost za čoveka. Programi praćenja ostataka pesticida u hrani koji se kontinuirano sprovode osiguravaju potrošače od izloženosti nepoželjnom nivou ostataka pesticida. Pored ovog, postoje i druge vrste nepravilne upotrebe pesticida kao što su povećana doza ili nepoštovanje karence (vremenski period od poslednjeg tretiranja do berbe). Da bi se primena pesticida redukovala, neophodno je zaštitu bilja sprovoditi drugim, altentativnim merama.

Razvoj modernih tehnologija, tehničkih rešenja i aktivnosti različitih naučnih oblasti i disciplina je sve više prisutan. Nove, savremene biotehnologije su skoro neshvatljivih dometa, praćene zasluženim raspravama ne samo od stručne javnosti, već i u oblasti etike i filozofije, do političkih i ekonomsko-socijalnih sfera. Potencijali biotehnologije u poljoprivredi, posebno ostvarenja u oblasti zaštite bilja, dobila su neobično veliki značaj u celom svetu. Jedni od njih su genetski modifikovani organizmi (GMO), ili GMO tehnologije koje su stvarnost u zaštiti bilja. Danas, kada se govori o GMO biljkama, ne misli se samo na genetsku manipulaciju kod pet, u svetu vodećih, gajenih biljnih vrsta (pšenica, kukuruz, soja, pirinač i pamuk), nego i na druge gajene vrste (uljana repica, šećerna repa, krompir, paradajz, duvan i druge).

Navedeno zahteva neprestana i sveobuhvatna izučavanja odgovora živih organizama (korisni i štetni efekti), kako na različite agrohemijske, tako i na proizvode biotehnologija, i svakako obaveznu procenu rizika istih i to ne samo u delovanju na čoveka i životinje, nego i na životnu sredinu.

Da bi se zaštita bilja realizovala sa što manje rizika, u primenu je neophodno uvesti biopesticidne preparate, bilo kao alternativu hemijskim pesticidima ili isključivu meru u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji.

Danas je u svetu veoma popularna hrana proizvedena po principima organske poljoprivrede, koja se proizvodi na sve većim površinama, dok je kod nas tek u povoju, iako imamo povoljne uslove za razvoj takve proizvodnje. Cilj ove proizvodnje je da se proizvede hrana visokog kvaliteta uz očuvanje ekosistema i održavanja plodnosti zemljišta. Razvoj organske proizvodnje zavisi od znanja, svesti o potrebi očuvanja prirodnih resursa i životne sredine, ali i od ekonomskih činilaca, tržišta, kao i podsticajnih sredstava.

U zemljama EU prodaja organskih proizvoda je utrostručena. Najveće tržište organskih proizvoda je u Nemačkoj i Francuskoj, najveći potrošači

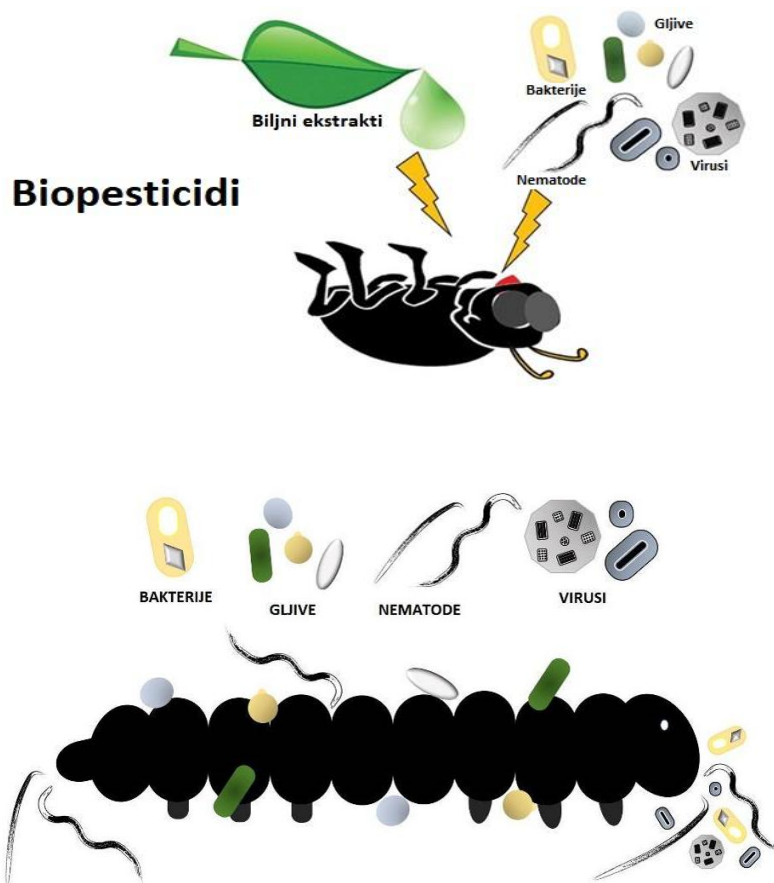
organskih proizvoda su Švajcarci, a Danska ima najveći udeo organskih proizvoda na tržištu od 8,4%. Zahvaljujući stimulativnim merama vlade i ceni koja je za proizvode iz organske proizvodnje 25-30% veća u odnosu na one konvencionalno proizvedene, cilj Danske je da celokupnu poljoprivrednu proizvodnju pretvori u organsku i biodinamičku.

Zaštita bilja u organskoj proizvodnji ne predstavlja prostu zamenu sredstava za zaštitu bilja koja se primenjuju u konvencionalnoj poljoprivredi, onima dozvoljenim u organskoj proizvodnji. Primarni izbor u suzbijanju štetnih organizama u organskoj poljoprivredi moraju biti preventivne mere – pravilno postupanje sa biljnim ostacima i odgovarajuće mere higijene, gajenje otpornih sorti, zdrav sadni i semenski materijal, pravilna ishrana useva, plodored, korisni organizmi, mešanje biljnih vrsta, formiranje zaštitnih pojaseva, odgovarajuće vreme setve, izbor parcele, i druge agrotehničke, mehaničke i biološke mere. Sve navedeno primenjuje se u cilju održavanja nivoa štetnih organizama ispod praga ekonomske štetnosti, a tek ukoliko postoji opravdan razlog i neophodnost primenjuju se biopesticidi, ili hemijski pesticidi koji su dozvoljeni za primenu u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji. Dakle, suštinu zaštite bilja čine metode integralne zaštite uz primenu različitih bioloških sredstava, odnosno biopesticida.

2. BIOPESTICIDI

BIOPESTICIDI

Biopesticidi su proizvodi za zaštitu bilja na bazi živih organizama i proizvodi koje sintetišu živi organizmi (Slika 1). Kao alternativa primeni konvencionalnih sintetičkih pesticida, poslednjih godina raste interesovanje za ekološki prihvatljivije, prirodne proizvode, sa izraženim pesticidnim delovanjem. Pored primene u organskoj poljoprivredi, intenzivno se radi na uvođenju ovih jedinjenja u integralnu, kao i u konvencionalnu poljoprivrednu proizvodnju.



Slika 1. Šematski prikaz – biopesticidi na bazi živih organizama ili njihovih proizvoda¹

Prednosti biopesticida su brojne: prirodno poreklo; manja toksičnost od konvencionalnih, hemijskih sredstava za zaštitu bilja; uticaj samo na ciljnu grupu štetoina za razliku od hemijskih, koji mogu da utiču i na korisne insekte, ptice i sisare; kraćih su karenci i radnih karenci; mogu se

primenjivati u raznim tipovima biljne proizvodnje. Ova jedinjenja se brzo razgrađuju u životnoj sredini, a rezultat su manja izloženost biljke pesticidu i manje negativno delovanje na životnu sredinu, a samim tim doprinose očuvanju biodiverziteta, budući da su biopesticidi selektivnijeg delovanja od hemijskih preparata.

Pored ovog, primena bioloških agenasa u programima integralne zaštite bilja omogućava razvoj održive poljoprivredne proizvodnje i smanjuje potrebu za hemijskim sredstvima. Vrlo je značajna i činjenica da su njihovi mehanizmi delovanja obično drugačiji od mehanizama delovanja konvencionalnih sredstava za zaštitu bilja, čime mogu pomoći u suzbijanju rezistentnih populacija štetnih organizama, kao i u pripremi antirezistentne strategije i upravljanju osetljivošću suzbijanih vrsta na hemijska sredstva (Cawoy et al., 2011).

Osim prednosti, biopesticidi poseduju i određene nedostatke: teže se uvode u primenu, imaju užu spektar delovanja, sporije deluju od hemijskih sredstava, deluju preventivno (biofungicidi), imaju kraći rok trajanja, mogu biti inkompatibilni sa drugim jedinjenjima, zahtevaju višekratnu primenu i sniženje pragova štetnosti.

Biopesticidi čine svega 4-5% globalnog tržišta pesticida, ali se procenjuje da bi ovaj udeo u narednom periodu mogao da se poveća na oko 20% (Isman, 2015).

2.1. Podela biopesticida

Osnovna podela biopesticida:

- mikrobiološki (mikroorganizmi),
- biohemijski (prirodne materije dobijene od živih organizama),
- makrobiološki (insekti, grinje, nematode) (Šema 1).

Biopesticidi se razvrstavaju prema aktivnoj supstanci koju mogu da čine grupe živih organizama (gljive, bakterije, virusi, kvasci, protozoe, nematode, grinje, insekti), etarska ulja ili biljni ekstrakti.

Prema vrsti štetnih organizama koje suzbijaju, biopesticidi se dele na biofungicide, bioinsekticide, bioakaricide, bionematocide, bioherbicide. Grupe biopesticida koje su najviše zastupljene u zaštiti bilja su biofungicidi i bioinsekticidi.

Šema 1. Podela biopesticida

MIKROBIOLOŠKI PESTICIDI	BIOHEMIJSKI PESTICIDI	MAKROBIOLOŠKI PESTICIDI
<ul style="list-style-type: none"> • bakterije • gljive • virusi • protozoe 	<ul style="list-style-type: none"> • komponente iz <ul style="list-style-type: none"> • biljaka • životinja • minerala • insekata 	<ul style="list-style-type: none"> • insekti • grinje • nematode

2.1.1. Mikrobiološki pesticidi

Mikrobiološki pesticidi sadrže odabrane rodove određenih vrsta ili mešavine različitih, gljiva, bakterija, virusa ili protozoa. Ovi korisni organizmi produkuju i vitamine, enzime i biljne hormone koji mogu delovati na imuni sistem biljaka, povećavajući njihovu otpornost ili predstavljajući konkurenciju štetnim organizmima. Postoji značajan interes za eksploataciju prirodnih organizama, kao što su bakterije, gljive i virusi za suzbijanje prouzrokovača oboljenja, štetočina i korova. Imaju široku primenu i čine oko 30% ukupne proizvodnje i prodaje biopesticida. Specifičan mehanizam delovanja biopesticida na bazi mikroorganizama zasnovan je na borbi za prostor i hranu, direktnom antagonizmu u odnosu na rast ciljnog organizma i imunizaciji biljke domaćina (Grahovac, 2014). Mikroorganizmi u preparatima moraju imati izraženu moć kompeticije sa autohtonom mikrobnom populacijom, visok stepen sposobnosti preživljavanja i adaptacije na novonastale uslove u kojima treba da ostvare svoju najbolju efikasnost.

Pojedini mikrobiološki pesticidi mogu lako da se formulišu, poput entomopatogenih gljiva *Paecilomyces* spp. i *Pseudomonas chlororaphis*, koje se drže u sintetičkom medijumu. U slučajevima kada se mikroorganizmi ne

moгу formulisati na sintetičkom medijumu, koristi se alternativni domaćin ili čak ćelijske kulture ili kultura tkiva (Montesinos, 2003).

Prva faza otkrivanja agensa za biološku zaštitu je izolacija i ispitivanje njegove efikasnosti *in vitro* i *in vivo*. Preduslov za komercijalni razvoj je optimizovanje uslova koje mikroorganizam zahteva za maksimalnu produkciju metabolita antagonističke aktivnosti (Nunes, 2012).

Najznačajniji faktori u procesu gajenja mikroorganizma koji direktno utiču na produkciju aktivnih supstanci su: sastav podloge (izvori ugljenika, azota i fosfora) kao i trajanje kultivacije, budući da ove komponente u najvećem broju slučajeva predstavljaju sekundarne proizvode metabolizma. Optimizacija predstavlja postupak pronalaženja neophodnih uslova koje je potrebno ispuniti da bi se postigao najbolji rezultat u datoj situaciji. Veliki deo istraživanja u nauci i inženjerstvu, a pogotovo u industriji je empirijski. Upotreba statističkih metoda planiranja može znatno povećati efikasnost samog eksperimenta i dovesti do boljih i pouzdanijih zaključaka. Eksperiment ima veoma važnu ulogu pri razvoju novih proizvoda, kao i razvoju i poboljšanju procesa proizvodnje. Zbog toga, on zauzima centralno mesto u nauci, naročito danas, zbog kompleksnosti problema sa kojima se nauka suočava (Lazić, 2004).

Proizvodnja mikrobioloških preparata se odvija kroz nekoliko faza:

- Izolacija mikroorganizama;
- Ispitivanje svojstava mikroorganizama;
- Ispitivanje efikasnosti mikroorganizama u kontrolisanim, polukontrolisanim i u poljskim uslovima;
- Standardizacija proizvodnje;
- Proizvodnja komercijalnog mikrobiološkog preparata.

Mikroorganizmi koji se koriste za proizvodnju preparata se najčešće izoluju iz zemljišta, kao i iz supstrata kao što su biljka, voda, mleko, meso i sl. Izolacija i dobijanje čiste kulture mikroorganizama je složen i dugotrajan proces koji podrazumeva primenu određenih metoda i aseptične tehnike u laboratorijskim uslovima. Nakon dobijanja čiste kulture, vrši se njihova karakterizacija na osnovu brojnih kriterijuma. Ispituju se mnoga morfološka, biohemijska, odgajivačka, kao i genetička svojstva dobijenih izolata (Hajnal-Jafari i sar., 2020).

2.1.2. Biohemijski pesticidi

Biohemijski pesticidi su supstance prirodnog porekla koje suzbijaju štetne organizme netoksičnim mehanizmima. Oni poseduju prirodne komponente iz biljaka, životinja, minerala, insekata, itd. Predstavljaju produkte metabolizma mikroorganizama i biljaka (toksini, kristali, spore i antibiotici), koji štite gajene biljke delujući antagonistički na prouzrokovaoče bolesti, štetne insekte, nematode i korove, pri čemu su bezopasni po ljude i ekološki bezbedni. Najznačajniji biohemijski pesticidi su botanički pesticidi, odnosno derivati biljaka.

Botanički pesticidi podrazumevaju primenu etarskih ulja i biljnih ekstrakta u zaštiti bilja. Odavno je poznato da biljke poseduju brojne odbrambene mehanizme kojima se štite od napada raznih štetočina, a upotreba biljnih ekstrakta u suzbijanju štetnih organizama smatra se starom koliko i zaštita bilja (Zibae, 2011). Pojedini mehanizmi se baziraju na postojanju različitih supstanci sa pesticidnim svojstvima. Zbog toga, brojni istraživači, kako u svetu tako i kod nas, proučavaju potencijalnu pesticidnu aktivnost raznih supstanci izolovanih iz različitih biljnih delova ili organa (Tabela 1).

Tabela 1. Biljne vrste sa bioaktivnim komponentama

	Biljna vrsta	Biljni deo koji se koristi	Aktivne komponente	Biološka aktivnost
1.	<i>Abies balsamea</i>	list	juvabion	regulator rasta
2.	<i>Aconitum ferox</i>	cela biljka	pseudakonitin, hazmakonitin, indakonitin, bihakonitin, diacetyl pseudakonitin	insekticidno
3.	<i>Acorus calamus</i>	list	trans-asaron, cis-asaron, izoasaron	repeletno, antifeeding
4.	<i>Adhatoda vasica</i>	list	vasicin, vasicinon, vasicinol, limonen	insekticidno, antifeeding

5.	<i>Aegle marmelos</i>	list	limonen, α pinen, sabinen, ocimen i p-kariofilen	deterenti, fungicidno
6.	<i>Allium sativum</i>	lukovica	dialildi-sulfid, dialiltri-sulfid	insekticidno
7.	<i>Allium cepa</i>	lukovca, list	kvercetin i fenolna jedinjenja	insekticidno
8.	<i>Andrographis paniculata</i>	list	andrografolid	insekticidno
9.	<i>Anethum sowa</i>	list, seme, stablo	karvon, dilapiol	insekticidno
10.	<i>Anacardium occidentale</i>	ljuska ploda	fenolne komponente	insekticidno
11.	<i>Annonar eticulata</i>	koren, stablo, list, seme	anonain, liriodenin, retikulin	insekticidno
12.	<i>Annona squamosa</i>	plodovi i seme	anonacin, anonin, anoneliptin, asimicin, anonidin	repelentno, antifeeding
13.	<i>Aquilaria malaccensis</i>	prah	α -gvajen, kariofelenoksid, eudesmol	repelentno
14.	<i>Argemone maxicana</i>	list	protopin nitrat, berberin nitrat, ceril alcohol, ϕ -sitostero	protektivno
15.	<i>Artemisia vulgarisa</i>	list	1,8 - cineol, kamfor, α - terpineol	insekticidno, repelentno
16.	<i>Artemisia capillaris</i>	list	bornil-acetat, kapilarin, kapilen	deterentno
17.	<i>Azadirachta indica</i>	list	limonoidi, azadirahhini, salanin, nimbin	insekticidno, regulator rasta, antifeeding
18.	<i>Bambusa arundinacea</i>	izdanci	benzojeva kiselina, cijanogenig lukozid	insekticidno

BIOPESTICIDI

19.	<i>Bixa orellana</i>	seme	biksin	repelentno
20.	<i>Brassica comprastis</i>	seme	2 – fenil-etil-izotiocijanat	smanjenje plodnosti
21.	<i>Butea monosperma</i>	cvet	halkoni i auron	insekticidno
22.	<i>Caesalpina crista</i>	seme	karajin, masne kiseline	insekticidno, repelentno, antifeeding
23.	<i>Calotropis procera</i>	list	mlečni sok sa otrovnim jedinjenima	antifeeding
24.	<i>Camellia spp.</i>	list	šikiminska kiselina, kofein, tanini	insekticidno, repelentno
25.	<i>Cannabis sativa</i>	list	resinoid-tetrahidrokanabinol	protektivno
26.	<i>Capsicum frutescens</i>	plod	kapsaicin	insekticidno
27.	<i>Carica papaya</i>	list	karpain	insekticidno
28.	<i>Cassia nigricans</i>	list	emodin	insekticidno
29.	<i>Cassia occidentalis</i>	list	emodin	insekticidno
30.	<i>Cassia alata</i>	seme	kasiaksanton, kampferol i glikozidi, aloemodin, hrizofanol, izohrizofanol, α – sitosterol, reinfisicion	inhibitor metamorfoze
31.	<i>Cassia tora</i>	list	hrizofan-9-antron	antifeeding
32.	<i>Catharanthus roseus</i>	cela biljka	nekoliko alkaloida	insekticidno, antifeeding

33.	<i>Chenopodium anthelminticum</i>	seme	askaridol	insekticidno
34.	<i>Chrysanthemum spp.</i>	cvet	piretrini I i II, cinerini I i II, jasmolini I i II	antifeeding
35.	<i>Cinchona officinalis</i>	kora	kinin, kinidin, cinchonin, cinchonidin	insekticidno
36.	<i>Cinnamomum camphora</i>	svi drvenasti delovi	ulje kamfora	insekticidno
37.	<i>Citrus limon</i>	list, plod	limonin, nomilin, obakunon	antifeeding
38.	<i>Citrus spp.</i>	list, grančice, kora	citropin, dl-limoneni, linalol, glukozidi, kisliline, terpeni	insekticidno
39.	<i>Cymbopogon spp.</i>	list	y-kardien, elemicin, cital	insekticidno, repelentno
40.	<i>Curcuma longa</i>	koren	kurkumen, termeron, dehidro-termeron, α -felandren	repelentno, protektivno
41.	<i>Curcuma longa</i>	list	α -felandren	inhibitor rasta, larvicidno
42.	<i>Datura metel</i>	list	hioscin	antifeeding
43.	<i>Derris elliptica</i>	koren	rotenone, dihidrorotenon	insekticidno
44.	<i>Eucalyptus hybrid</i>	list	1,8-cineol, α -felandren, linalil-izovalerat, izoamil-izovalerat	antifeeding
45.	<i>Eucalyptus globulus</i>	lista	1,8-cineol, kariofilen, α -felandren, β -eudesmol	protektivno

BIOPESTICIDI

46.	<i>Eucalyptus rostrata</i>	list	1,8-cineol, α -felandren	insekticidno (smanjenje plodnosti)
47.	<i>Euphorbia antiqorum</i>	mlečni sok	mlečni sok sa 4-6,4% kaučuka	antifeeding
48.	<i>Foeniculum vulgare</i>	list	fenikularin	repelentno
49.	<i>Ginkgo biloba</i>	list	derivati salicilne kiseline, biobalid, ginkolid a i b	deterentno
50.	<i>Glycine max</i>	list	gliceolini, daidzein	antifeeding
51.	<i>Hidrocarpus spp.</i>	seme	hidrokarpna kiselina, galna kiselina i druge masne kiseline	repelentno (smanjuje ovipoziciju)
52.	<i>Ipoema carnea</i>	list	etarsko ulje sa alantolaktonom	insekticidno
53.	<i>Jatropha carcus</i>	list, seme	isoviteksin, viteksin, β -sitosterol, masne kiseline	protektivno, repelentno
54.	<i>Lantana camera</i>	list	kariofilen, cineol, β -pinen	protektivno
55.	<i>Lawsonia inermis</i>	list	tanini, saponini, antrahinon flavonoidi, glukozidi, alkaloidi	antifeeding
56.	<i>Lycopersicon hirsutum</i>	list	2-tridekanon, trans-kariofilen	repelentno
57.	<i>Melia azedarach</i>	list	tetraterpenoidi, tosendanin, meliandiol, melianon, meliantriol, nimbolidin a, volkensin	antifeeding, smanjenje ovipozicije i plodnost
58.	<i>Mentha spicata</i>	cvetni vrhovi	cineol, karvon, kariofilen, mentol	antifeeding

59.	<i>Moringa oleifera</i>	list	niazirin, niazirinin	inhibitor rasta
60.	<i>Nerium oleander</i>	list	kardiotonik, oleandrin, neridin	inhibitor ovipozicije
61.	<i>Nicotiana tabacum</i>	seme	nikotin, nornikotin, anabazin	insekticidno, antifeeding
62.	<i>Ocimum basilicum</i>	list, seme	juvocimen I i II, linalol, metilkavikol, eugenol, metal-eugenol, geraniol, geranijal, neral	antifeeding
63.	<i>Ocimum sanctum</i>	list, seme	linalol, kavikol, eugenol, eugenol-metiletar, cineol, kariofilen	insekticidno, repelentno
64.	<i>Parthenium hysterophorus</i>	cela biljka	partenin, 1,8-cineol, koronopilin	deterent, inhibitor rasta
65.	<i>Piper nigrum</i>	plod, seme	piperin, piperitin	insekticidno, repelentno
66.	<i>Plumbago zeylanica</i>	list, koren	pumbagin, juglon	repelentno, antifeeding
67.	<i>Pongamia pinnata</i>	list	karanjin	insekticidno
68.	<i>Pidium guajava</i>	list	ϕ-sitosterol, maslinska kiselina, gujavalinska kiselina	insekticidno, repelentno
69.	<i>Ricinus communis</i>	list, seme	ricinin, masne kiseline	repelentno
70.	<i>Sapindus mukorossi</i>	seme	saponini	insekticidno
71.	<i>Sesamum indicum</i>	koren	sezamin, sezamolin, sesangolin	antifeeding
72.	<i>Tagetes minuta</i>	cvet	tertienil-(β, β', 5', β'-tertiofen), e-ocimenon	insekticidno, repelentno

BIOPESTICIDI

73.	<i>Tephrosia purpurea</i>	koren, seme	ratenoidi	insekticidno
74.	<i>Tephrosia vogelii</i>	list	ratenoidi	insekticidno
75.	<i>Vinca rosea</i>	list	toksični alkaloidi, fenoli	repelentno
76.	<i>Vetiveria zizanioides</i>	koren	α-vetiven, azulen	inhibitor rasta, repelentno
77.	<i>Vitex negundo</i>	list, seme	rotundial	insekticidno, repelentno
78.	<i>Zanthoxylum monophyllum</i>	kora	zantofilin	deterentno
79.	<i>Zanthoxylum monophyllum</i>	plod	1,8-cineol, trans-sabinenhidrat, cis-sabinenhidrat	insekticidno
80.	<i>Zinziber officinal</i>	rizom	gingerdion, paradol, gingerol	antifeeding, inhibitor rasta

Autori Gringe i Ahmed (1988) navode da preko 2000 različitih biljnih vrsta sadrže supstance sa potencijalnim pesticidnim delovanjem. Kada se te supstance ekstrahuju iz biljke, dobijaju se botanički ili biljni pesticidi. Botanički pesticidi su ekološki prihvatljiviji, jer se brzo razgrađuju u prirodi i manje su opasni za prirodne neprijatelje i neciljane organizme.

Pored etarskih ulja i biljnih ekstrakata u biohemijske pesticide ubrajaju se i semiosupstance.

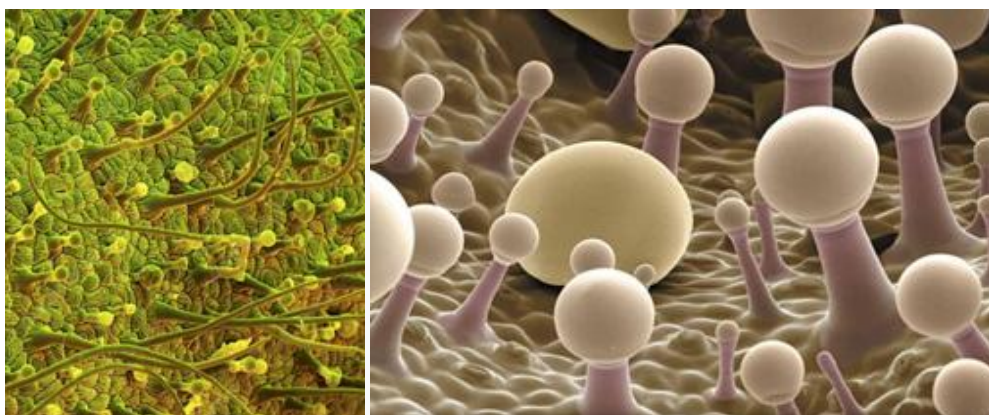
Etarska ulja

Etarska ulja predstavljaju složenu smešu ugljovodonika, alkohola, ketona, aldehida, kiselina, estara i drugih alifatičnih, acikličnih, heterocikličnih jedinjenja. U biljkama se najčešće nalaze u slobodnom stanju, ali mogu biti prisutna i u obliku glikozida, a često i drugih veoma složenih jedinjenja.

To su proizvodi biljaka, koji se sintetišu i sakupljaju u posebnim sekretornim strukturama koje mogu biti na površini (sekretorne trihome) ili u unutrašnjosti (sekretorne ćelije, šupljine, kanali) biljke (Slika 2 i 3).

Etarska ulja se mogu nalaziti u svim delovima biljake, ali u njima nisu raspoređena ravnomerno, pri čemu u listu, korenu, cvetu i plodu su sadržane najveće koncentracije istih. Zastupljeni su u jako malim količinama, svega oko 1% od ukupne mase biljke. Kao sekundarni metaboliti etarska ulja su važna za opstanak biljaka, jer privlače insekte oprašivače, štite biljke od mikroorganizama i odbijaju druge štetne vrste.

Sadrže veoma složenu kombinaciju prirodno aktivnih sastojaka, čija količina, prisutnost i specifičnost smeše zavise od tipa zemljišta, geografskog regiona u kome biljke rastu, klime, nadmorske visine, načina ubiranja, čuvanja i postupka dobijanja (Miletić i sar., 2013).



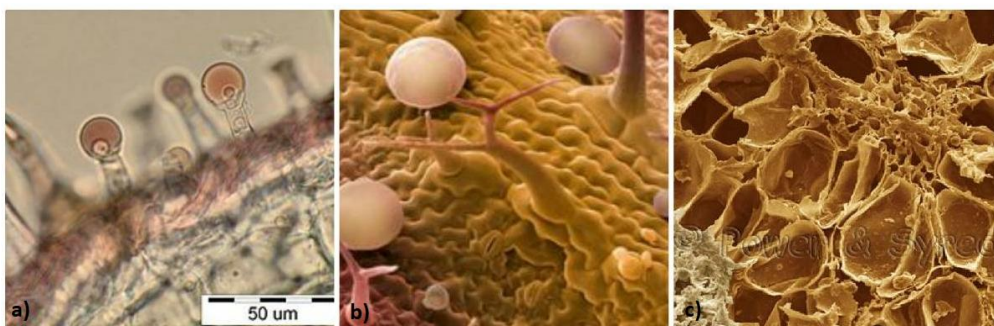
Slika 2. Sekretorne trihomi sa etarskim uljem na površini lista žalfije (*Salvia officinalis*)²

Etarska ulja su tečnosti, ali u prirodi, kao takva, nisu postojana, pošto se prirodni antioksidansi prilikom izdvajanja ulja veoma brzo razgrađuju. Zbog toga se ona pri skladištenju moraju čuvati na tamnom mestu i u staklenim posudama sa poklopcem. Etarska ulja su bezbojna, isparljiva, bistra i slabo obojena. Pojedina etarska ulja su specifično obojena (npr. etarsko ulje cimeta i karanfilića su smeđecrvena). Ona su lipofilna, dobro se rastvaraju u nepolarnim organskim rastvaračima (petroletar, etar, heksan, ksilen, metilenhlorid, toluen), koncentrovanom i apsolutnom etanolu i masnim uljima. U vodi se ne rastvaraju.

Postoji mogućnost dobijanja vodenih rastvora hidrosolubilnih sastojaka etarskih ulja, koji se dobijaju npr. kao sporedni produkti, prilikom izolovanja etarskih ulja destilacijom vodenom parom ili izmućkavanjem

etarskih ulja vodom. Ovako dobijeni vodeni rastvori nazivaju se aromatične vode. Miris etarskih ulja potiče od sastojaka sa kiseoničnim funkcionalnim grupama. On je intenzivan čak i kada su ovi sastojci zastupljeni u niskim koncentracijama (etarsko ulje limuna). Vrste koje pripadaju fam. *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Lauraceae*, *Zingiberaceae*, *Myrthaceae*, *Rutaceae*, *Apiaceae*, *Pinaceae* su najbogatije etarskim uljima. Preradom, prečišćavanjem i drugim tehnološkim postupcima se dobijaju esencijalna ulja, koja nisu toksična za sisare, ptice i ribe. Postoji oko 17500 aromatičnih vrsta biljaka koje najčešće pripadaju porodicama poput: *Mirtaceae*, *Lauraceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Zingiberaceae* i *Piperaceae*.

Esencijalna ulja se nakupljaju u svim vrstama vegetativnih i reproduktivnih organa kao što su cvet (drvo bergamota i tuberoza), lišće (citronela, eukaliptus), kora (cimet), stablo (ružino drvo, sandalovo drvo), koren (vetiver), rizomi (kurkuma, đumbir), plod (anis, zvezdasti anis) i seme (muskatni oraščić). Interesantno je to da se u različitim ili čak i u istim delovima jedne biljke, može naći sličan ili potpuno drugačiji sastav etarskog ulja (zeleni i zreo plod). Etarska ulja nastaju aktivnošću endogenih i egzogenih sekretornih biljnih tkiva. Tkiva se mogu javiti kao pojedinačne ćelije u parenhimu (*Lauraceae*, *Zingiberaceae*), kao šupljine žlezdanog epitela (*Rutaceae*, *Myrtaceae*) ili kao kanali (*Apiaceae*). Nekada se mogu naći u vidu žlezda i žlezdanih dlaka (Slika 3) (Duduk et al., 2010).



Slika 3. Žlezdane dlake na listovima žalfije (a)³; sekretorne ćelije lavande (b)⁴; sekretorne ćelije muskatnog oraščića (c)⁵

Glavni sastojci esencijalnih ulja biljaka od značaja za primenu u zaštiti bilja su terpeni, fenilpropani, kumarini i drugi.

Terpeni su lako isparljive frakcije etarskih ulja, oni s 10 ugljenikovih atoma su svrstani u monoterpena, dok seskviterpeni i diterpeni pripadaju teže isparljivim frakcijama.

Monoterpeni su sadržani skoro u svim do sada izdvojenim etarskim uljima. Delovanje monoterpena je različito, tako neki od njih imaju antiseptično, drugi antivirusno ili antibakterijsko svojstvo, a mogu delovati i na insekte.

Prema hemijskoj strukturi mogu biti:

Ugljovodonici sa pesticidnim delovanjem kao limonen (izolovan iz citrusa – limun), α i β pinen, nezasićeni ugljovodonici su najvažniji predstavnici monoterpena sa pinanskom strukturom (izolovani iz bora).

Alkoholni derivati su linalol izolovan iz više biljaka (fam. Lamiaceae, Lauraceae, Rutaceae i dr.), mentol (rod *Mentha sp*), α terpineol sadržan u borovom ulju i čajnom drevetu (*Melaleuca leucadendra*), geraniol (ulja palmarosa, ružino, geraniuma, limuna i dr.) deluje kao akaricid i borneol iz vrsta *Artemisia vulgaris*, *Dipterocarpus retusus* i dr.

Fenoli su timol iz timijana (*Thymus vulgaris*) i karkavol iz origana (*Origanum majorana*).

Aldehidi su citronella iz vrste *Cymbopogon citrates*, geranial i neral iz citrusa.

Ketoni su kamfor iz karanfilića (*Syzygium aromaticum*) i pulegon (biljke iz fam. Lamiaceae). *Estar* kao linelacetat iz lavande (*Lavandula angustifolia*).

Seskviterpeni su terpeni koji se od monoterpena razlikuju po broju ugljenikovih atoma i spektru delovanja na ciljane organizme. Oni predstavljaju frakcije etarskih ulja sa višim tačkama ključanja i prema hemijskoj strukturi mogu biti:

Ugljovodonici kao zingiber prisutan je u etarskom ulju đumbira (*Zingiber officinale*) i ima izraženo antiviralno, antibakterijsko i antifungalno delovanje, a utvrđeno je antifeeding i ovicidno delovanje na pasuljev žižak (*Callosobruchus maculatus*). Kedren je prisutan u ulju kedra (*Cedrus sp.*) i zbog jakog mirisa ima repelentno delovanje na insekte, naročito komarce. Kariofilen je seskviterpen, prisutan u etarskom ulju karanfilića (*Sizygium aromaticum*), konoplje (*Canabis sativa*), ruzmarina (*Rosmarinus officinalis*) i hmelja (*Humulus lupulus*). U skorije vreme je utvrđeno njegovo nematocidno delovanje na *Meloidogyne incognita*. Seskviterpeni su prisutni i u etarskom ulju kamilice (*Matricaria chamomilla*) i nekih ruža (*Rosa sp.*).

Alkoholi su bisabolol, izolovan iz kamilice (*M. chamomilla*) i *Myoporum crassifolium* a zingiberol iz đumbira (*Z. officinale*).

Aldehyd kao valerenal izolovan iz valerijane (*Valeriana officinalis*).

Keton je valeranon iz valerijane.

Fenilpropani u biljakama su prisutni u manjoj meri. Najzastupljeniji je eugenol, prisutan je u etarskom ulju biljke oraščića (*Myristica fragrans*), cimeta (*Cinnamomum verum*), karanfilića (*S. aromaticum*), lovora (*Laurus nobilis*) i bosiljka (*Ocimum basilicum*). Eugenol se koristi kao akaricid (u lečenju *Sarcoptes scabiei* var. *suis*, šuge kod svinja), atraktant za insekte, a deluje i kao analgetik i antiseptik.

Kumarini su retko prisutni kod biljaka, mogu se naći samo u etarskim uljima nekih biljaka iz fam. *Apiaceae* i *Rutaceae*.

Nedostaci primene etarskih ulja kao sredstava za zaštitu bilja je njihova velika isparljivost, zbog čega imaju ograničeno ili relativno kratko delovanje u poljskim uslovima, što za posledicu ima ponavljanje tretiranja, odnosno veći broj aplikacija u odnosu na hemijska sredstva. U laboratorijskim ogledima je dokazano da su brojni prirodni neprijatelji osetljivi na delovanje etarskih ulja, tako da predatori i parazitoidi ne dolaze na tretiranu biljku nekoliko dana nakon tretiranja, a i tada postoji mogućnost rezidualnog delovanja na njih.

Postupci dobijanja etarskih ulja

Preparati na bazi biljaka su proizvodi koji se dobijaju od sirovina biljnog porekla, primenom specifičnih postupaka kao što su: destilacija, ceđenje, ekstrakcija, frakcionisanje, prečišćavanje, koncentrisanje, fermentacija. Prilikom izdvajanja etarskih ulja iz biljaka, uobičajena su četiri postupka: a) destilacija, b) hladno presovanje, c) ekstrakcija pomoću organskih rastvarača i d) superkritična ekstrakcija.

a) Destilacija je postupak dobijanja etarskih ulja iz biljnog materijala. Dobijanje etarskih ulja destilacijom datira još iz starog Egipta, Indije i Persije. Postoje tri načina i to: destilacija vodom, destilacija vodenom parom, destilacija vodom i vodenom parom.

Destilacija vodom je postupak pri kom je biljni materijal potopljen u ključalu vodu, ili pliva po njoj. Formirana vodena para odnosi lako isparljive aromatične komponente iz materijala do kondenzatora. Ovaj postupak ne daje etarsko ulje dobrog kvaliteta, jer dolazi do degradacije estara iz biljnog

materijala, a i velika količina vode se gubi putem isparavanja, pa dolazi do sabijanja biljnog materijala. Vodena para, nastala pri ključanju vode, često nije zasićena ili je pak pregrejana, što otežava kondenzaciju, a samim tim i razdvajanje etarskih ulja i vode. Stepenn iskorišćenja je relativno mali. Ovaj način destilacije se veoma retko koristi, a biljne vrste koje se podvrgavaju ovakvom tretmanu su: lavanda, majčina dušica i ruža.

Destilacija vodenom parom je jedan od najčešće korišćenih postupaka za dobijanje etarskih ulja iz biljnog materijala. Proporučuje se u slučajevima kada polazna sirovina sadrži relativno visok procenat etarskog ulja i kada su komponente stabilne na visokim temperaturama, odnosno za ulja sa višom tačkom ključanja. Ako je sadržaj ulja ispod 0,1%, ili je neka komponenta rastvorljiva u vodi, postupak se ne preporučuje.

Destilacija vodom i vodenom parom je prikladna za sudove zapremine do 300 l. U ovom slučaju znatno je manji kontakt biljnog materijala i vode nego u prethodnom primeru. Vreme destilacije za jednu šaržu je kraće nego kod destilacije s vodom. Etarska ulja dobijena destilacijom iz biljnog materijala nazivaju se sirova ulja. Ova ulja sadrže čestice sirovine, ili druge mehaničke nečistoće, koje se uklanjaju filtriranjem, dok se prisutna voda uklanja dekantovanjem. Za duže čuvanje ulja potrebno je ukloniti vodu dodavanjem bezvodnog natrijumsulfata (Pekić, 1983).

b) Hladno presovanje je postupak koji se koristi kod proizvodnje ulja iz kore limuna, pomorandže, grejpfruta i mandarine, jer se njihovi rezervoari ulja nalaze u spoljašnjim sunderastim slojevima. Presovanje se vrši pomoću mašina koje ljušte koru sa ovih plodova, iz koje se zatim pod pritiskom izdvaja ulje. Dobijeni tečni proizvod predstavlja smešu vode i etarskog ulja. Ulja dobijena ovim postupkom lako oksidišu, te se čuvaju na nižoj temperaturi i u tamnim bocama.

c) Ekstrakcija pomoću organskih rastvarača može biti na nekoliko načina.

Ekstrakcija u biljnim ili životinjskim mastima. Postupak kod koga se biljni materijal uroni u biljnu ili životinjsku mast i ostavi da u njoj stoji neko vreme, nakon čega se ekstrakcijom alkoholom izdvajaju etarska ulja. Pored postupka maceracije poznat je i postupak anfleraž (najstarija tehnika za izolovanje etarskih ulja iz cvetova ruža, jasmína, pomorandžinog cveta i dr.)

gde se na staklene ploče nanosi sloj prečišćene masti, na koju se stavljaju cvetovi (Pekić, 1983).

Ekstrakcija pomoću organskih rastvarača. Ekstrakcija ulja organskim rastvaračima primenjuje se za biljni materijal koji sadrži termolabilna jedinjenja. Proces ekstrakcije se odvija u kolonskom uređaju, pri čemu se biljni materijal nalazi na perforiranoj pregradi.

Naime, materijal se više puta ispira organskim rastvaračem. Na ovaj način se iz biljnog materijala izdvajaju materije kao što su: nearomatični voskovi, pigmenti i visoko isparljive aromatične komponente. Dobijeni rastvor, koji sadrži rastvarač i rastvorene komponente, se nakon ekstrakcije filtrira. Rastvarač se iz filtrata uklanja destilacijom pri sniženom pritisku i temperaturi, čime se dobija mirisna masa kao željeni proizvod. Mirisna masa sadrži najčešće oko 55% isparljivih ulja. Ona se dalje tretira sa etanolom da bi se etarsko ulje odvojilo od masnih ulja i drugih nepoželjnih materija. Na ovaj način se dobijaju fina etarska ulja koja se najčešće koriste u industriji parfema i kozmetičkoj industriji. Prednost ovakvog postupka dobijanja etarskih ulja je u tome što ulja zadržavaju prirodan miris na biljku od koje se dobijaju. Negativna strana ovog postupka je što u dobijenom ulju mogu ostati tragovi organskog rastvarača.

d) Superkrična ekstrakcija je ekstrakcija pomoću tečnog gasa (najčešće CO₂) ili superkričnog fluida, pošto se koriste fluidi koji se nalaze na temperaturi i pritisku iznad njihovih kritičnih vrednosti. Tečni CO₂ se može koristiti kao vrlo inertan, bezbedan "tečni rastvarač", koji vrlo efikasno ekstrahuje aromatične komponente iz biljnog materijala. Prednost ovog postupka u odnosu na klasičnu ekstrakciju organskim rastvaračima je u tome što se CO₂ nakon kontakta sa materijalom ne zadržava u produktu, pošto se na normalnoj temperaturi i pritisku pretvara u gas i odvodi u atmosferu. Istovremeno, etarsko ulje dobijeno superkričnom ekstrakcijom ima bogatiji, intenzivniji miris, u odnosu na ono dobijeno ekstrakcijom organskim rastvaračima, jer se ovim postupkom ekstrahuje više aromatičnih komponenti iz biljke. Pomoću tečnog CO₂ mogu se dobiti i neke aromatične komponente iz delova biljaka koji nemaju esencijalna ulja, kao što su npr. seme crvenog šipka ili nevena. Mora se konstatovati da investicioni i operativni troškovi ovog postupka nisu mali, ali je on pogodan za ekstrakciju mnogih svetlih ulja, kao što je slučaj kod jasmína (Sovilj i Spasojević, 2001).



Biljni ekstrakti

Biljni ekstrakti su u tehnološkom smislu najstariji i najjednostavniji vid proizvoda na bazi biljaka. Poznato je preko milion biljaka od kojih se širom sveta prave ekstrakti za razne namene (medicinske, prehrambene, poljoprivredne). Biljne ekstrakte odlikuje jednostavnost u načinu pripreme i niska cena koštanja. Upotreba pomenutih ekstrakata ima sve veću primenu, pa je pored medicine sve veći interes i za upotrebu u zaštiti bilja, kao alternativa sintetičkim pesticidima jer se mogu koristiti kao ekološki bezbedniji i često u sklopu integralnih mera i organske poljoprivredne proizvodnje. U medicinskoj i farmaceutskoj praksi i nauci su dobro poznati ekstrakti na bazi ricinusa (*Ricinus comunis*) čije ulje iz semena se koristi za lečenje oboljenja kože; kurkume (*Curcuma longa*) čiji ekstrakti imaju antibiotsko i antikancerogeno dejstvo, a pomaže i u lečenju hroničnih srčanih oboljenja; aloe (*Aloe vera*) za lečenje bolesti i opekotina na koži, jačanje imunog sistema; lavande (*L. angustifolia*) za lečenje posekotina i ogrebotina, kožnih bolesti ali i u domaćinstvu kao repelent za moljce odeće i neem (*Azadirachta indica*) kao antiseptik, snižava holesterol, leči dijabetes, ali se korsiti i kao insekticid.

Pored primene u medicinske svrhe biljni ekstrakti su korišćeni i u borbi protiv insektata. Još 400 godina pre nove ere, dečije vaši su uklanjane upotrebom praha dobijenog iz buhača (*Tanacetum cinerariifolium*), dok je prvi botanički insekticid primenjen u XVII veku i to u obliku izmrvljenog lišća duvana. Od davinana se smatralo da biljka dragoljub (*Tropaeolum majus*) posejan pored voćke i obmotan oko nje u velikoj meri smanjuje prisustvo biljnih vaši, a takođe i kopriva (*Urtica dioica*).

Prednosti biljnih ekstrakata za primenu u poljoprivredi su te što se relativno brzo razlažu, samim tim umanjuju rizik od rezidua u hrani, a usled prisustva brojnih biološki aktivnih materija koje su sadržane u jednom ekstraktu, štetni organizmi teško ili sporo razvijaju rezistentnost. Veliki broj ekstrakata je i selektivan prema neciljanim i korisnim organizmima i bezbedniji su za zdravlje ljudi, životinja i okolinu.

Proučavajući različite biljne vrste, otkriveno je mnoštvo korisnih jedinjenja koja se mogu koristiti kao biopesticidi, a njih je moguće sintetisati kao hemijske analoge i od velikog su značaja za agrohemijску industriju, pogotovo ako je u pitanju nova biološki aktivna supstanca.

Postupci dobijanja biljnih ekstrakata

Priprema biljnog ekstrakta je veoma jednostavna pri dobijanju sirovog ekstrakta. Međutim, u tehnologiji izrade komercijalnog ekstrakta koriste se diskontinuirani procesi (maceracija, digestija, turbo-ekstrakcija), kontinuirani procesi (perkolacija, reperkolacija) i cirkulatorne ekstrakcije. Savremeniji procesi podrazumevaju ekstrakciju superkritičnim fluidima, mikrotalasnu i ultrazvučnu ekstrakciju pri čemu se kao sredstvo za ekstrakciju najčešće koriste različite koncentracije alkohola, manje polarni (acetone, heksan, etar i drugi) ili polarniji rastvarači (propilen glikol, glicerol i drugi), masna ili mineralna ulja.

Sirovi ekstrakt se dobija putem nekoliko procesa:

Odstranjivanje balastnih materija iz sirovog ekstrakta vrši se taloženjem pomoću olovo-acetata, sedimentacijom pri niskim temperaturama, zagrevanjem i dodavanjem drugih selektivnijih rastvarača.

Koncentrisanje (odstranjivanje rastvarača) podrazumeva delimično ili potpuno uklanjanje rastvarača. U tačnoj sredini dolazi do degradacije aktivnih sastojaka, pa samim tim i do kvalitativnih i kvantitativnih promena sastava ekstrakta. Uklanjanjem rastvarača postiže se veća stabilnost i ekonomičnost, pošto se isti rastvarač može ponovo koristiti.

Konzervisanje je neophodno kod vodenih ekstrakata, jer vrlo često sadrže ugljene hidrate i proteine i predstavljaju idealan medijum za razvoj mikroorganizama. Za razliku od njih, alkoholni ekstrakt, kod kojih je koncentracija etanola veća od 15% ili propilenglikola veća od 30%, pokazuju efekat samokonzervisanja. S obzirom da se ekstrakti često koriste za izradu drugih proizvoda, mora se naznačiti vrsta konzervansa zbog moguće inkompatibilnosti sa komponentama unutar preparata.

Iako je najjednostavniji način dobijanja pesticida iz biljke sirovi ekstrakt, da bi se u potpunosti ispoljila toksikološka i ekotoksikološka svojstva, unapređuju se metode formulisanja ekstrakata u oblike povoljnije za upotrebu i transport, pa se na tržištu mogu naći granule, prašiva, kvašljivi praškovi, vodeni alkoholni ekstrakti, sapuni, koncentracije za emulziju, masna ulja, tinkture i etarska ulja.

Danas se teži da svi biljni ekstrakti (za medicinsku, kozmetičku, prehrambenu upotrebu kao i za primenu u fitomedicini) budu standardizovani što je sa proizvodno-tehnološkog i farmakološkog aspekta od izuzetne važnosti. Standardizovani ekstrakti predstavljaju ekstrakte konstantnog sadržaja aktivnih komponenti ili konstantnog sastava.

Semiosupstance

Semiosupstance su biohemijske supstance koje proizvode biljke, insekti ili životinje kako bi bile detektovane (prepoznate) od strane drugog organizma i kako bi u tom istom organizmu izazvali određenu reakciju. Mnogim vrstama su semiosupstance od vitalnog značaja za samo preživljavanje. Semiosupstance se dele na alelosupstance i feromone.

Alelosupstance deluju na jednu ili više vrsta koje se razlikuju od vrste koja ih proizvodi. Od poznatih alelosupstanci, isparljive materije slične onima koje odaje izvor hrane (biljke ili životinje), su značajne u kontroli štetočina. Atraktanti za ishranu – kairomoni – su alelosupstance koje proizvodi jedna vrsta u korist druge koja će da se hrani. Na primer, ugljen dioksid koji odaju ljudi i životinje služe kao kairomon ženki komarca koja traga za krvnim obrokom. Nasuprot tome, alomoni su alelosupstance koje koriste one koje ih proizvode. Na primer, eksudati koji odbijaju predatore su alomoni.

Feromoni su klasa semiosupstanci koje insekti i druge životinje oslobađaju kako bi komunicirali sa jedinkama svoje vrste (specifične su za vrstu i deluju samo u okviru nje). Osnova funkcionisanja ovih supstanci, jeste da oni napuštaju organizam koji ih proizvodi kako bi putem vazduha ili vode došli do drugog organizma koji ih prepoznaje i reaguje. Kod insekata, feromoni se detektuju pomoću antena na glavi. Ovi signali mogu biti efikasni u detekciji udaljenog partnera za parenje, i u nekim slučajevima, mogu biti vrlo perzistentni, zadržavati se na određenom mestu i ostati aktivni više od nekoliko dana. Perzistentniji, dugotrajniji feromoni se koriste za obeležavanje granica teritorije određene vrste ili u obeležavanju izvora hrane. Ostali, kratkotrajni signali se koriste za trenutni prenos jednokratne poruke kao što je upozorenje o postojećoj opasnosti (predator i sl.) ili obaveštenje o kratkom periodu spremnosti za reprodukciju. Feromoni

moгу biti različite hemijske strukture i imati različite funkcije. Prema tome, oni mogu varirati od malih hidrofobnih molekula do vodorastvorljivih peptida.

U poslednjih 50 godina, naučnici su identifikovali feromone kod preko 1.500 različitih vrsta insekata. Kod insekata, feromoni imaju široku primenu u poljoprivredi, šumarstvu i komunalnoj higijeni i širom sveta postoje kompanije koje su specijalizovane za otkrivanje, proizvodnju i prodaju proizvoda na bazi feromona. Niz procesa u ponašanju i biologiji insekata su pod uticajem feromona. Međutim, u suzbijanju štetnih insekata najčešće se koriste feromoni koji privlače mužjaka za parenje (seksualni feromoni) ili koji prizivaju jedinke date vrste na mesto koje je pogodno za ishranu ili za poleganje jaja (agregacioni feromoni). Ostali feromoni regulišu zajednicu i reproduktivni razvoj socijalnih insekata (pčele, termiti), alarmiraju u slučaju opasnosti (mravi, pčele), obeležavaju tragove (mravi) itd.

Najznačajnija uloga feromona u zaštiti bilja je monitoring populacije određene vrste insekata kako bi se utvrdilo njihovo prisustvo ili odsustvo u određenom regionu, i da li je njihova brojnost dovoljno visoka, da bi primena hemijskih mera za njihovo suzbijanje bila ekonomski opravdana (da li su dostigli ekonomski prag štetnosti). Monitoring se intenzivno primenjuje u komunalnoj higijeni, za kontrolu bubašvaba, u suzbijanju štetočina uskladištenih zrnениh proizvoda, i u međunarodnom širenju značajnijih štetnih vrsta kao što su gubar (*Lymantria dispar*), voćna muva (*Ceratitis capitata*), itd.

Značajna primena je i masovno hvatanje insekata u klopke. Masovno smanjivanje gustine insekatske populacije značajno doprinosi smanjenju štete koji dati insekti prouzrokuju. Masovno hvatanje insekata u klopke pomoću feromona pokazalo se kao vrlo efikasno protiv jabučnog smotavca (*Cydia pomonella*), značajne štetočine jabuke i kruške.

Treća, značajna primena feromona podrazumeva ometanje parenja insekata. Ovakva primena feromona se najuspešnije pokazala u suzbijanju raznih štetnih vrsta moljaca. Ova metoda zasniva se na dispergovanju sintetičkog, seksualnog feromona širom useva/zasada koji odvlače mužjaka od ženki koje čekaju na oplođenje. Kao što ženke gubara često nisu u mogućnosti da lete, te one otpuštaju feromone kako bi ih mužjak lokalizovao. Često se i mužjaci namamljuju u klopku sa sintetičkim feromonom, u kojoj se nalazi feromon na mestu kroz koje su mužjaci

primorani da prođu, feromon se zadržava na nogama mužjaka, te kada izađu iz klopke, oni sami disperguju feromon prilikom kretanja, i ostavljaju „lažni trag“ ostalim mužjacima.

Četvrti način primene feromona jeste namamljivanje insekata u klopke sa otrovom – insekticidom. Na primer početkom XX veka, zatrovani mamci su korišćeni u kontroli skakavaca. Skakavci su namamljeni u klopku u kojoj se nalazila hrana tretirana insekticidom koji se na bilo koji drugi način nije mogao primeniti, a da njegova primena bude efikasna, ekonomična i bezbedna. Copping (2009) je opisao 74 semiosupstance koje se koriste u strategijama prekida parenja, mamljenja i ubijanja ili strategiji praćenja insekata.

2.1.3. Makrobiološki pesticidi

Biološka kontrola podrazumeva upotrebu prirodnih neprijatelja u suzbijanju štetnih organizama. Prirodni neprijatelji su prisutni u prirodi, ali je često za njihovo uspešno delovanje u agroekosistemima potrebno izvršiti introdukciju ili ih redovno primenjivati kada se za to ukaže potreba.

U makrobiološke pesticide se ubrajaju zoofagne vrste kao što su: insekti, grinje, nematode, i dr. U suzbijanju štetočina najčešće se koriste insekti, grinje i nematode koji su, zavisno od načina života, podeljeni na predatore, parazite i parazitoide te se često nazivaju prirodni neprijatelji. Prirodni neprijatelji su regulatori dinamike populacije svih štetočina. Predatorstvo je oblik odnosa među vrstama koji je pozitivan za jednu, a negativan za drugu vrstu. Predatori odmah ubiju svoju žrtvu i njome se hrane. Prema tipu ishrane najčešće su polifagni, te postoji opasnost od ishrane i nekim korisnim vrstama. Nasuprot tome, parazitizam je pozitivan, ali i obavezan za jednu, a negativan za drugu vrstu. Paraziti se dele na ektoparazite i endoparazite. Po izlasku endoparazita nastupa smrt domaćina te se zbog toga ne nazivaju pravim parazitima već parazitoidima. Parazitoidi žive na račun jedne razvojne faze domaćina pa se tako razlikuju jajni parazitoidi, parazitoidi larvi, lutki ili imaga. Parazitoidi su visokospecifični za određenu štetočinu, te je veoma mala opasnost od napada na korisne insekte. Procenjuje se da parazitoidnih insekata ima preko 600 000 vrsta i da mnoge insekatske vrste imaju neku parazitoidnu vrstu. Najveći broj pripada redu Hymenoptera. Čak 75% vrsta toga reda svrstava se u parazitoide. Postoje

podaci koji govore o tome da se već dvadeset vrsta parazitoida u svetu komercijalno uzgaja u svrhu biološke kontrole različitih vrsta insekata u plastenicima i staklenicima. Tako u organskoj poljoprivredi postoje značajne mogućnosti korišćenja biopesticida gde spadaju i predatori i parazitoidi, tj. insekti koji se hrane štetnim insektima.

Najpoznatiji predatori su iz familija Coccinelida (bubamare), koji se pre svega hrane lisnim vašima. U toku svog života jedna bubamara pojede više stotina lisnih vaši i na taj način značajno smanjuje njihovu brojnost. Ishrana bubamara bazirana je i na drugim štetnim insektima. Takođe značajni su i predatori kao što su zlatooke (Chrysopidae), zatim stenice (Anthocoridae), vilinski konjic (Odonata), trčuljci (Carabidae) i dr. Zlatooke su predatori biljnih vaši. Više vrsta stenica hrane se tripsima u zaštićenom prostoru kao i lisnim vašima, i to belom leptirastom vaši i crvenim paukom. Stenice roda *Macrolohus* koriste se za suzbijanje jaja i larvi bele leptiraste vaši. Predatorska galica se koristi za suzbijanje lisnih vaši u zatvorenom prostoru, čija larva za 7-14 dana pojede 5 do 30 biljnih vaši. Parazitoidi su brojniji od predatora. Njihova uloga u regulisanju brojnosti štetnih insekata je velika. Oni polažu jaja u telo štetnih insekata ili na površini telesnog omotača. Po piljenju, larve parazitoida se hrane domaćinom. Prema razvojnem stadijumu gde parazitiraju, svrstani su u: parazitoide jaja, larve, lutke i imaga. Najvažniji parazitoidi su muve iz familije Tachinidae, čije larve žive u telu parazitiranih insekata i parazitoidne osice iz familija Ichneumonidae, Braconidae i Chalcididae. Da li će jedan parazitoid da bude uspešan na terenu zavisi pre svega od toga da li je prisutan u pravo vreme i na pravom domaćinu odnosno populaciji domaćina. Ukoliko se prenamnožio onda parazitoizam neće biti uspešan. Parazitoid u početku treba da parazitira najmlađe uzraste larvi, da ne dozvoli domaćinu da dostigne polnu zrelost da se razmnožava i proširi svoje potomstvo. Paraziti su vrste koje žive na račun domaćina i ostaju u životu i posle smrti domaćina. Za suzbijanje bele leptiraste vaši koristi se parazitna osa *Encarsia formosa*. Vrste iz roda Trihogramma su jajni paraziti brojnih gusenica štetnih leptira. Pogodne su za suzbijanje raznih sofica u povrtarskim usevima.

Prve nematode za koje je zapaženo da parazitiraju na insektima registrovane su još u 17. veku, ali je tek 1930. godine razmotrena mogućnost komercijalne upotrebe ovih organizama u suzbijanju štetočina u poljoprivredi. Prva entomopatogena nematoda, koja je primenjena za

suzbijanje štetnih insekata, bila je *Steinernema carpocapsae*. Ova vrsta je pre oko 50 godina prvi put komercijalno primenjena u Australiji u zasadima ukrasnog bilja za suzbijanje korenove pipe (*Otiorynchus sulcatus*), ali i u zasadima crne ribizle za suzbijanje ribizlinog savijača (*Synanthedon tipuliformis*). Od tada je broj identifikovanih entomopatogenih nematoda značajno povećan, pa je samo iz zemljišnih insekata determinisano 83 različite vrste entomopatogenih nematoda. Determinisanjem novih vrsta entomopatogenih nematoda upotrebom molekularnih tehnika, povećao se i broj vrsta koje su pronašle praktičnu primenu u suzbijanju različitih štetnih insekata (Hazir et al., 2003). Entomopatogene nematode su ispoljile visok nivo efikasnosti u suzbijanju brojnih štetnih insekata, među kojima su predstavnici iz redova Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Blattodea, Heteroptera i Orthoptera. One se uspešno primenjuju za suzbijanje zemljišnih štetočina, kao i štetočina koje su aktivne iznad površine zemljišta. Ipak, najveća efikasnost se postiže u kontroli insekata, koji makar jedan deo svog životnog ciklusa provode u zemljištu. Brojna istraživanja ukazuju na efikasnu primenu entomopatogenih nematoda u suzbijanju poljoprivrednih štetočina kao što su: veliki borov surlaš (*Hylobius abietis*), breskvin smotavac (*Grapholita molesta*), kukuruzna zlatica (*Diabrotica virgifera virgifera*), žilogriz (*Capnodis tenebrionis*) i veliki breskvin staklokrilac (*Synanthedon exitiosa*). Pored navedenih štetnih insekata, entomopatogene nematode se primenjuju i u suzbijanju štetočina u zatvorenom prostoru kao što su: leptirasta vaš (*Bemisia tabaci*), kupusni moljac (*Plutella xylostella*), moljac paradajza (*Tuta absoluta*) i kalifornijski trips (*Frankliniella occidentalis*). Postoje primeri uspešne primene entomopatogenih nematoda u suzbijanju štetočina koje se razvijaju na nadzemnim biljnim organima kao što su: crveni surlaš palmi (*Rhynchophorus ferrugineus*) i jabukin smotavac (*Cydia pomonella*) (Ivezić, 2020).

Entomopatogene nematode iz porodica *Steinernematidae* i *Heterobabditidae* žive u raznim tipovima zemljišta u simbiozi s bakterijama. Simbiotske bakterije nematodama tokom njihovog razvoja u insektu osiguravaju hranu i pomažu im u bržem svladavanju domaćina koji uginu za 24-48 h nakon parazitiranja. Nematode se primenjuju direktno na površini zemljišta, zalijevanjem ili prskanjem. Za dobru efikasnost entomopatogene nematode trebaju vlagu, u suvom zemljištu dolazi do njihovog isušivanja i one ugini. Aplikacija se odvija kad su štetočine u najosetljivijoj fazi (faza larve). Entomopatogene nematode se mogu primeniti sa standardnom opremom za

zaštitu bilja i kompatibilne su sa većinom sredstava za zaštitu bilja, ali se mogu primeniti i kroz sisteme za navodnjavanje (Rovesti i Deseo, 1991). Interakcija s pesticidima zavisi od vrste nematode, ali i aktivne supstance, doze i vremena primene, iako u većini slučajeva ne postoji inhibitori uticaj pesticida na delovanje nematoda (Koppenhooper and Grewal, 2005). Entomopatogene nematode odlikuju brojne osobine koje ih čine izrazito pogodnim biološkim agensima, pre svega širok spektar domaćina, aktivno traženje domaćina, ubijanje domaćina u roku od 48 sati, jednostavno laboratorijsko gajenje i terenska aplikacija, dugoročna efikasnost, kompatibilnost sa većinom hemijskih sredstava i bezbednost po životnu sredinu (Kaya, 1990). Brojna istraživanja su pokazala da je primena entomopatogenih nematoda bezbedna po sisare, bilo da se nematode unesu hranom, ubrizgavaju ili inhaliraju (Boemare et al., 1996). Takođe, utvrđeno je da njihovo prisustvo u zemljištu ne zagađuje životnu sredinu i da nisu opasne po druge zemljišne organizme (Capinera et al., 1982). O njihovoj bezbednosti po životnu sredinu govori podatak da se u mnogim zemljama poput Indije, Australije, Sjedinjenih Američkih Država, ali i u mnogim evropskim zemljama ne zahteva registracija entomopatogenih nematoda (Ehlers, 2005). Entomopatogene nematode se komercijalno proizvode i distribuiraju u velikom broju zemalja širom Zapadne Evrope, Australije, Azije i Severne Amerike. U mnogim zemljama je primena ovih organizama i dalje eksperimentalnog karaktera u cilju utvrđivanja njihove efikasnosti u suzbijanju različitih štetnih organizama. Najveći nedostatak je relativno visoka cena koštanja ovih bioloških agenasa u odnosu na hemijska sredstva za zaštitu bilja, stoga je njihova upotreba ograničena na specifična tržišta i pretežno se primenjuju u usevima visoke vrednosti u razvijenim zemljama (Hazir, 2003). Ukoliko se uzmu u obzir sve prednosti primene entomopatogenih nematoda, kao što su bezbednost po ljude i životnu sredinu, redukcija upotreba hemijskih pesticida, stimulisanje aktivnosti drugih prirodnih neprijatelja i povećani biodiverzitet u ekosistemu, upotreba ovih prirodnih neprijatelja je svakako više nego opravdana (Divya and Sankar, 2009).

3. FORMULACIJE BIOPESTICIDA

BIOPESTICIDI

Formulisanje je proces prevođenja aktivne supstance u proizvod koji može da se koristi u praktičnim uslovima, uz obezbeđenje efikasne, bezbedne i ekonomične zaštite biljaka, biljnih proizvoda i dr. Formulacija je fizička smeša jedne ili više biološki aktivnih supstanci s neaktivnim (inertnim) razređivačima (ako su formulacije čvrste) ili rastvaračima (ako su formulacije tečene), uz dodatak drugih nepesticidnih materija (površinski aktivne materije adhezita, disperzita, stabilizatora i dr.) (Šovljanski i Lazić, 2007). Pri izradi biopesticidnih preparata od izuzetnog su značaja određena svojstva aktivne supstance i drugih komponenata koje ulaze u sastav preparata, a to su: rastvorljivost u vodi, fotostabilnost, higroskopnost, viskoznost, isparljivost, postojanost u alkalnoj i kiseloj sredini, termostabilnost i niz drugih svojstva.

Formulisanje biopesticida ima za cilj da obezbedi stabilnost organizma, odnosno jedinjenja koje ulazi u sastav preparata, tokom proizvodnje, distribucije i skladištenja, prilikom rukovanja i primene preparata. Pored ovog, neophodno je zaštititi biološki agens/jedinjenje od uticaja spoljašnje sredine, omogućiti povećanje aktivnosti organizma prilikom njegove reprodukcije, kontakta ili interakcije sa ciljnim organizmima. Sve navedeno postiže se dodavanjem odgovarajućih nepesticidnih jedinjenja (Vuković i Šunjka, 2020).

Formulisanje ovakvih proizvoda predstavlja izazov, s obzirom da takve formulacije moraju ispuniti niz ciljeva kao što su efikasnost, ekološka prihvatljivost, postojanost nakon primene, ravnomerna raspodela po tretiranom objektu. Nivo kiseonika, vlage, kao i pH vrednost u formulacijama moraju biti usklađeni kako bi se poboljšao rok trajanja, a dodatan probem može predstavljati eksplozivnost prouzrokovana gasovima koje oslobađa mikroorganizam (Burgas, 1998). Od posebnog značaja, kada je komercijalni uspeh ovakvih formulacija u pitanju, je sposobnost mikroorganizma da preživi i zadrži mogućnost razmnožavanja u uslovima primene, sposobnost jedinjenja da zadrži pesticidna svojstva, sposobnost održavanja roka trajanja i efikasnosti, tržišna cena, jednostavnost rukovanja i primena (Keswani et al., 2016). Formulisanje biopesticida je potrebno prilagoditi postojećoj opremi za primenu sredstava za zaštitu bilja (Boyetchko et al., 1999), te se u većini slučajeva ovaj proces odvija na isti način kao proizvodnja sintetičkih pesticida.

Primena etarskih ulja kao biopesticida od izuzetnog je značaja, s obzirom na utvrđenu pesticidnu aktivnost etarskih ulja većeg broja biljnih vrsta.

Međutim, imajući u vidu njihovu isparljivost, slabu rastvorljivost u vodi i sposobnost oksidacije, formulisanje biopesticida na bazi etarskih ulja predstavlja veliki izazov. Danas, ovo je moguće prevazići uvođenjem odgovarajućih pomoćnih supstanci u procesu formulisanja (Ibrahim, 2019).

Razvoj novih nosača mikro i nano veličina doveo je do pojave sredstava za mikro i nanoinkapsulaciju aktivnih jedinjenja, a kao najšire korišćeni izdvajaju se polimeri (prirodne ili veštačke materije koje se sastoje od velikih molekula sačinjenih od povezanih serija jednostavnih monomera).

Na ovaj način jedinjenja se štite od razgradnje i gubitaka isparavanjem, a očekuje se i veća stabilnost i efikasnost ovih vrsta formulacija, što se postiže inkapsuliranjem etarskih ulja u nanoemulzijama (Ibrahim, 2019). S druge strane, ustanovljeno je da nanoformulacije pokazuju veću specifičnost (niska toksičnost prema ne ciljnim organizmima u poređenju sa drugim komercijalnim formulacijama), a povećanjem perzistentnosti, odnosno postojanosti aktivne supstance na mestu nanošenja preparata, smanjuje se i količina primene biopesticida.

S obzirom na njihovo agregatno stanje, formulacije biopesticida se dele na čvrste, tečne i formulacije za posebne namene.

3.1. Čvrste formulacije

Čvrste formulacije (Slika 4) se proizvode pomoću različitih tehnologija, kao što su sušenje raspršivanjem, sušenje smrzavanjem ili sušenje na vazduhu sa ili bez upotrebe fluidnog sloja. Proizvode se dodavanjem veziva, sredstava za dispergovanje, okvašivača (Tadros, 2005; Knowles, 2008). Svaki tip formulacije se proizvodi na specifičan način.

Najznačajnije čvrste formulacije su:

- prašivo za zaprašivanje (DP),
- prašivo za tretiranje semena (DS),
- granule (GR),
- mikro granule (MG),
- kvašljivi prašak (WP),
- vododisperzibilne granule (WG).



Slika 4. Čvrste formulacije biopesticida: GR –granule, WG-vododisperzibilne granule, WP-kvašljivi prašak (foto: Vuković)

Dok se biopesticidi formulisani kao DP, DS, GR i MG direktno primenjuju, primena vododisperzibilnih granula (WG) i kvašljivog praška (WP) podrazumeva njihovo dispergovanje u odgovarajućoj količini vode (Knowles, 2005).

Prašiva (DP) su formulisana sorpcijom aktivne supstance na fino mlevenom, čvrstom mineralnom prahu (talk, glina, itd.) sa veličinom čestica od 50 do 100 μm . Prah se može nanositi direktno, bilo mehanički ili ručno. Inertni sastojci za ovu formulaciju su sredstva protiv stvrdnjavanja, ultra ljubičasta zaštita i lepljivi materijali za poboljšanje adsorpcije. Koncentracija aktivne supstance (organizma) u prašivu je obično 10%.

Ovo je stara formulacija koja se koristila mnogo godina pre nego što su granule razvijene i sve manje se koristi zbog negativnog uticaj na zdravlje korisnika (Knowles, 2005). Neodostaci ove formulacije su što obrazuje prašinu tokom primene, a određene količine i odlaze s ciljane površine (otprašivanje), takođe dolazi do nehomogene primene na ciljanu površinu, a postoji i opasnost za izvođača radova ili prisutne osobe.

Prašiva za tretiranje semena (DS) formulisana su mešanjem aktivne supstance, nosača praha i pratećih sastojaka kako bi se olakšalo prijanjanje preparata na omotače semena. Ova vrsta formulacije primenjuje se na seme tako što se seme pomeša sa preparatom formulisanim da se lepi za njih. Prašiva za tretiranje semena su vrlo stari oblik formulacije, tradicionalni oblik proizvoda za oblaganje semena, a sadrže i crveni pigment kao sigurnosni pokazatelj za tretirano seme (Woods, 2003).

Granule (GR) su slične formulacijama prašiva, osim što su zrnaste čestice veće i teže. Grube čestice (opseg veličine 100-1000 mikrona za granule i 100-600 mikrona za mikro granule) su napravljene od mineralnih materijala (kaolin, atapulgit, silicijum-dioksid, škrob, polimeri, suva đubriva i ostaci mlevenih biljaka) (Tadros, 2005). Koncentracija aktivne supstance (organizama) u granulama se kreće od 5-20%. Aktivna supstanca ili oblaže spoljnu stranu granula ili se apsorbira u njih. Granulirani proizvodi su vrlo jednostavno proizvedeni, njihova aktivna supstanca se prerađuje mešanjem mešavine praha sa malom količinom vode da bi se dobila pasta koja se zatim istiskuje i po potrebi suši. Drugi način proizvodnje je nanošenje tečne aktivne supstance na grubo upijajući materijal. Nakon toga granule se mogu premazati smolama ili polimerima kako bi se kontrolisala efikasnost nakon nanošenja. Granulirani biopesticidi se uglavnom koriste za nanošenje preparata na zemljište radi suzbijanja korova, nematoda i insekata koji žive u zemljištu ili za usvajanje putem korena biljaka. Jednom naneti preparati u obliku granula, polako oslobađaju svoju aktivnu supstancu, a nekim granulama je potrebna vlaga iz zemlje da bi oslobodile aktivnu supstancu (Knowles, 2005).

Kvašljivi prašak (WP) je čvrsta formulacija koja se primenjuje nakon razređenja vodom do terenske koncentracije, pri čemu se dobija suspenzija (dvofazni sistem, koji čini čvrsta materija dispergovana u vodi). Kvašljivi prašak se proizvodi mešanjem aktivne supstance sa površinski aktivnim materijama, sredstvima za vlaženje i dispergovanje i inertnim nosačima, nakon čega sledi mlevenje do potrebne veličine čestica (oko 5 mikrona). Ova formulacija preparata, zbog mogućeg otprašivanja, može značajno uticati na bezbednost proizvođača, što može dovesti do udisanja i iritacije kože i očiju ako se ne preduzmu mere predostrožnosti. Iz ovih razloga i zbog prašine tokom nanošenja, kvašljivi prašak se postepeno zamenjuje formulacijom vododisperzne granule, koje se disperguju u vodi, a koje su najčešće korišćene formulacije pesticida (Knowles, 2005). Prednosti ove formulacije biopesticida, su njihova dugotrajnost, stabilnost pri skladištenju, dobra homogenost i pogodno nanošenje pomoću konvencionalne opreme za tretiranje (Brar et al., 2006).

Vododisperzibilne granule (WG) se primenjuju nakon dispergovanja u vodi, pri čemu se dobija suspenzija. Granule se disperguju u vodi i formiraju

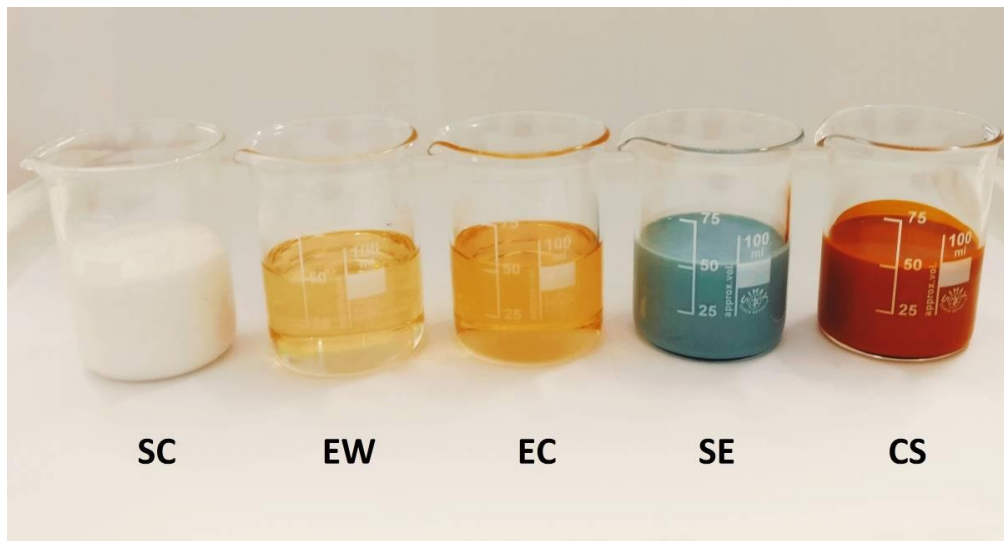
jednoličnu suspenziju sličnu onoj koju stvara WP formulacija. Ova formulacija je razvijena kako bi se prevazišli problemi od prašenja i otprašivanja praškastih formulacija. Granule koje se mogu dispergovati u vodi mogu se formulirati pomoću različitih tehnika, kao što su ekstrudirana granulacija, granulacija u fluidnom sloju, sušenje raspršivanjem itd. Preparati u obliku WG, sadrže sredstvo za vlaženje i dispergovanje slično onima koje se koriste u WP formulaciji. Proizvodnja vododisperzibilnih granula je obično skuplja od proizvodnje starijih vrsta formulacija (prašiva, kvašljivog praška), ali njihova sigurnost i veća pogodnost u primeni čine ih i dalje poželjnim za mnoge korisnike (Knowles, 2008).

3.2. Tečne formulacije

Tečne formulacije (Slika 5) biopesticida proizvode se na bazi vode, ulja, polimera ili njihovih kombinacija. Među najznačajnije tečne formulacije spadaju:

- vodeni rastvori (AS),
- koncentrovan rastvor (SL),
- koncentrovana suspenzija (SC),
- emulzija ulje u vodi (EW),
- emulzija voda u ulju (EO),
- koncentrat za emulziju (EC),
- uljna disperzija (OD),
- suspoemulzija (SE),
- suspenzija kapsula (CS).

Formulacije na bazi vode (SC, SE, CS) zahtevaju dodavanje inertnih sastojaka, poput stabilizatora, adhezita, površinski aktivnih materija, boje, jedinjenja protiv smrzavanja. S druge strane, formulacije koje sadrže neisparljive rastvarače, uključujući ulja (kao što je uljna disperzija), pomažu proces aplikacije i zadržavanja proizvoda na tretiranom objektu i poboljšavaju vezivanje spora (Gašić i Tanović, 2013).



Slika 5. Tečne formulacije biopesticida: SC-koncentrovana suspenzija, EW-emulzija ulje u vodi, EC-koncentrat za emulziju, SE-suspoemulzija, CS-suspenzija kapsula (foto: Žunić)

Vodeni rastvor (AS) je tečna homogena formulacija, koja se primenjuje kao pravi rastvor aktivne supstance, bez razređivanja. Nasuprot emulziji ili suspenziji, rastvorom se postiže najpovoljnija prevlaka preko tretiranih biljaka. Nakon primene, štetni organizmi bivaju prekriveni homogenim slojem, tankom, finom prevlakom biopesticida.

Koncentrovan rastvor (SL) je homogena tečna formulacija, koja se posle razređivanja vodom primenjuje kao pravi rastvor. Kao i vodeni rastvor, i koncentrovan rastvor formira finu prevlaku preko tretirane biljke i u poređenju sa prethodnim predstavlja ekonomičniji oblik formulacije.

Koncentrovana suspenzija (SC) je smeša fino mlevenih, čvrstih čestica aktivne supstance raspršenih u tečnoj fazi, obično u vodi. Primenjuje se nakon razblaženja vodom pri čemu daje radnu tečnost u obliku suspenzije. Kako bi se osigurala potrebna stabilnost, sastav koncentrovane suspenzije je složen i sadrži sredstva za vlaženje/dispergovanje, sredstva za zgušnjavanje, sredstva protiv pene, itd. Proizvedena je mokrim postupkom mlevenja sa raspodelom veličine čestica u rasponu od 1-10 mm. Tokom procesa mlevenja, inertni sastojci adsorbovani na površinama čestica

sprečavaju ponovno agregaciju malih čestica. Budući da tečne formulacije u sebi sadrže vodu, nude mnoge prednosti, kao što su jednostavno merenje, ravnomerno nanošenje, niža toksičnost za rukovaoca i okolinu i ekonomičnost. Zbog toga je postala veoma popularna vrsta formulacije (Knowles, 2005).

Emulzije se sastoje od kapljica tečnosti raspršenih u drugoj tečnosti koja se ne meša (veličina kapljica dispergovane faze kreće se od 0,1 do 10 mm). Emulzija može biti ulje u vodi (EW), što je normalna emulzija, ili voda u ulju (EO), inverzna emulzija. Obe formulacije se mešaju sa vodom pre upotrebe. Da bi se izbegla nestabilnost, važan je pravilan izbor emulgatora za stabilizaciju. U slučaju inverznih emulzija, gubici usled isparavanja prilikom tretiranja su minimalni jer je ulje spoljna faza formulacije (Brar et al., 2006).

Koncentrat za emulziju (EC) je tečna homogena formulacija koja se primenjuje kao emulzija nakon razblaživanja vodom. U biopesticidnim preparatima kao rastvarač se koristi biljno ulje, a dodatkom emulgatora i drugih komponenti koje povećavaju kvašljivost, omogućeno je mešanje s vodom.

Uljna disperzija (OD) je disperzija čvrstih čestica aktivne supstance u nevodenoj tečnosti namenjena razređivanju pre upotrebe. Nevodena tečnost je najčešće ulje, najbolji izbor je neka vrsta biljnog ulja. Na taj način se može poboljšati ponovno učvršćivanje, širenje i prodiranje. Ova formulacija se proizvodi na isti način kao i koncentrovana suspenzija. Inertne sastojke za ovu vrstu formulacije treba pažljivo odabrati kako bi se sprečili problemi sa nestabilnošću (Vernner, 2007).

Suspoemulzija (SE) je smeša suspenzije i emulzije. Ova formulacija je veoma zahtevna za formulisanje, jer je potrebno razviti homogenu komponentu emulzije istovremeno sa komponentom suspenzije čestica koja će ostati stabilna u konačnoj formulaciji preparata. Neophodan je pažljiv izbor odgovarajućih sredstava za dispergovanje i emulgovanje da bi se prevazišao problem heteroflokulacije između čvrstih čestica i kapljica ulja. Pored toga, neophodno je ispitivanje stabilnosti tokom skladištenja ove

formulacije (Knowles, 2008). Uprkos složenosti ove formulacije, upotreba i značaj suspoemulzija je veliki i trend je da se one što više koriste.

Suspenzija kapsula (CS) je stabilna suspenzija mikrokapsulirane aktivne supstance u vodenoj kontinuiranoj fazi, namenjena razređivanju vodom pre upotrebe. Bioagens kao njegov aktivni sastojak enkapsuliran je u kapsule (obloge) od želatina skroba, celuloze i drugih polimera. Na taj način bioagens je zaštićen od ekstremnih uslova okoline (UV zračenje, kiša, temperatura, itd.), a njegova rezidualna stabilnost je poboljšana zbog sporog (kontrolisanog) otpuštanja aktivne supstance. Najčešće primenjivani metod inkapsulacije koristi princip međufazne polimerizacije. Kapsulacija u mikrokapsule intenzivno se koristi da bi se manjim veličinama i visokom efikasnošću proizveli biopesticidni preparati na bazi gljiva (Brar, 2006). Suspenzije mikrokapsula treba stabilizovati površinski aktivnim sredstvima, zgušnjivačima i aditivima. Uprkos jasnim prednostima ove formulacije sa kontrolisanim oslobađanjem, njen komercijalni razvoj je prilično spor, delom kao posledica složenosti formulacije, a delom visokih proizvodnih troškova (Chen et al., 2013).

3.3. Formulacije za posebne namene

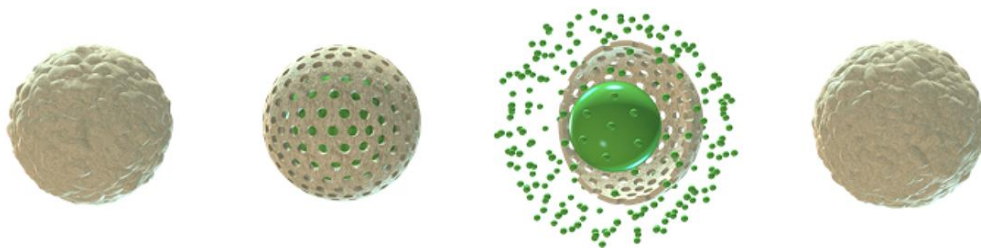
Tečnost za primenu ultra malih zapremina (UL) je formulacija sa vrlo visokom koncentracijom aktivne supstance koja je izuzetno rastvorljiva u tečnosti kompatibilnoj sa usevima (tečnost ultra male zapremine). UL preparati nisu namenjeni za razblaživanje vodom pre upotrebe i često sadrže površinski aktivne agense i aditive za kontrolu nanošenja. Tečnosti za primenu ultra malih zapremina lako se transportuju i koriste. Tečni biopesticidi UL mogu se formulirati na sličan način koristeći suspendovano sredstvo za biokontrolu kao aktivni sastojak (Woods, 2003).

3.4. Razvoj novih formulacija biopesticida

Sve veći zahtevi za bezbednijim preparatima namenjenim zaštiti bilja vode ka izboru formulacija biopesticida sa dobrom efikasnošću i stabilnošću. Biopesticidi pružaju ekološki prihvatljive alternative hemijskim pesticidima,

ali se suočavaju sa nizom izazova u svom razvoju, proizvodnji i primeni. Istraživanje njihove proizvodnje, formulacije i primene moglo bi u velikoj meri pomoći u komercijalizaciji biopesticida. Sa razvojem i unapređenjem formulacija biopesticida intenziviraće se njihova primena u budućnosti. Upotreba biopesticida sa pomoćnim sredstvima pojačava njihovu aktivnost i ta činjenica otvorila je nove mogućnosti za dalji razvoj u toj oblasti. Izbor odgovarajuće formulacije može poboljšati stabilnost preparata, pojačati i proširiti aktivnost i može umanjiti uticaj spoljašnjih faktora na bio-agenase. Biopesticidi se smatraju moćnim alatom za razvoj racionalnije strategije upotrebe pesticida, a budući biopreparati trebalo bi da poboljšaju ravnotežu između efikasnosti, troškova proizvodnje i primene (Khater, 2012). Trendovi koji se odnose na vrstu formulacija biopesticida verovatno bi prešli put od kvašljivog praška i koncentrovane suspenzije do vododisperzibilnih granula koje se disperguju u vodi, iz bezbednosnih razloga, i od jednokomponentnih do višekomponentne formulacije. Bioenkapsulacija je novija tehnologija proizvodnje biopreparata gde se mikroorganizmi inkapsuliraju tj. stavljaju u kapsulu koja ih fizički štiti od brojnih uticaja sredine, i obezbeđuje postepeno i produženo oslobađanje u zemljište. Brzina oslobađanja mikroorganizama iz matriksa je u direktnoj korelaciji sa biološkom aktivnosti mikroorganizama. Kapsule se mogu skladištiti na sobnoj temperaturi, a vreme skladištenja se značajno može produžiti dodavanjem nutrijenata u kapsulu. Kod biopreparata na bazi kapsula smanjena je mogućnost kontaminacije. Za inkapsulaciju mikroorganizama koriste se različiti materijali, prirodni i sintetički polimeri kao što su: agar i agaroz, škrob, kukuruzni sirup, poliakrilamid i poliuretan od veštačkih materijala. Takođe, jedna od novijih tehnologija formulisanja biopesticida je mikroenkapsulacija (aktivna supstanca se ubacuje u polimer, veličina kapsula je 2-50 μm , ili 1-2 μm), koja omogućava kontrolisano otpuštanje aktivne komponente nakon primene preparata. Kapsula ne erodira tokom postupka oslobađanja, terpeni izlaze kroz pore, koje se otvaraju hidratacijom, pore se ponovo zatvaraju kada kapsula doživi osmotski stres/dehidrataciju (Slika 6).

Pored toga, može se očekivati da će povećani broj formulacija sa kontrolisanim oslobađanjem (otpuštanjem) optimizovati svoje biološke efekte, dok će nove vrste formulacija, kao što su nanoemulzija, nanosuspenzija, suspenzija nano kapsula, itd., proizaći iz novonastale nanotehnologije (Glare et al., 2012).



Slika 6. Mikroenkapsulacija⁶

Postignut je značajan napredak u razvoju formulacija i metoda primene, ali neophodna su i dalja istraživanja u vezi sa primenom biopesticida u zaštiti bilja. Dalje unapređenje tehnika i multidisciplinarna istraživanja će pružiti dobre, sigurne, efikasne i jeftine preparate za zaštitu bilja.

Nakon formulisanja biopesticida izvode se laboratorijski i poljski ogledi u cilju registracije i stavljanja u promet na tržištu. U ovom postupku ispituje se efikasnost, fitotoksičnost, fizičko-hemijska i toksikološka svojstva formulisanog preparata, određuje količina, odnosno koncentracija primene, definiše komercijalni naziv. Podaci o identitetu aktivne supstance, bilo da se radi o organizmu ili jedinjenju, sadržaj aktivne supstance, tip formulacije, komercijalni naziv, koncentracija/količina primene, organizam koji se suzbija, vreme primene, obavezno se nalaze na etiketi biopreparata.

4. BIOFUNGICIDI

BIOPESTICIDI

Bolesti biljaka nastaju usled destruktivnog delovanja patogenih organizama i nepovoljnih abiotičkih faktora (klimatskih i edafskih). Parazitne bolesti biljaka nastaju dejstvom stranog živog organizma (gljive, bakterije, parazitne cvetnice, virusi, viroidi, fitoplazme, rikecije i spiroplazme) koji im narušava osnovne životne funkcije. To su heterotrofni organizmi koji gotovu organsku hranu uzimaju iz biljaka. Od svih navedenih patogena, gljive prouzrokuju 75% biljnih bolesti, do sada je poznato više od 10000 vrsta gljiva prouzrokovala oboljenja na biljkama.

Prvi fungicidi pojavili su se 1850. godine, i to najpre elementarni sumpor, kalcijum polisulfid i barijum polisulfid, a zatim su uvedena u primenu bakarna jedinjenja. Nešto kasnije, 1900. godine, počela su da se koriste neorganska jedinjenja žive za tretiranje semena žitarica, a zatim organska jedinjenja žive. Od 1930. godine započinje era organskih, sintetičkih fungicida i to najpre ditiokarbamati, a 60-tih godina prošlog veka na tržištu se javljaju nove hemijske grupe fungicida sa specifičnim, sistemičnim delovanjem, kao što su benzimidazoli, karboksamidi, fenilamidi i dr. U periodu 1970-1990. godine sledi brzi razvoj jedinjenja iz hemijske grupe triazola, imidazola, morfolina, kao i strobilurina. Uporedo sa ovim, otkrivena je posebna grupa fungicida koje proizvode mikroorganizmi, odnosno utvrđeno je da mnogi antibiotici (streptomycin, blastocidin, kasugamicin i dr.) koji se koriste u medicini i veterini, deluju na fitopatogene organizme i mogu da se koriste u zaštiti biljaka (Janjić, 2005).

Suzbijanje fitopatogenih gljiva prouzrokovala bolesti gajenih biljaka, vrlo je zahtevno i često je neophodno primeniti različite mere suzbijanja, kao što su agrotehničke, stvaranje otpornih sorti, biološke i hemijske mere, a jedna od njih je poslednjih godina sve više zastupljena, a to je primena biofungicida.

Biološko suzbijanje predstavlja poseban način zaštite useva od patogena, koji se zasniva na upotrebi mikroorganizama i produkata živih organizama umesto konvencionalnih hemijskih fungicida, ili kao njihova dopuna, radi smanjenja količine primene hemijskih supstanci u poljoprivredi. Biofungicidi mogu biti na bazi korisnih gljiva, bakterija i kvasaca (infestiraju i kontrolišu razvoj biljnih patogena), na bazi etarskih ulja i biljnih ekstrakata (Copping, 2009). Sposobnost biofungicida da zaštiti biljku domaćina od patogena, da se održi na različitim biljkama u različitim uslovima, osnov je njihovog komercijalnog uspeha.

Mehanizmi delovanja bioloških preparata zasnivaju se na specifičnim odnosima različitih vrsta organizama. Ti mehanizmi uključuju određene vrste bioloških interakcija između korisnih mikroorganizama i biljnih patogena.

Razlikuju se sledeći mehanizmi delovanja biofungicida:

- direktna kompeticija,
- antibioza,
- predatorstvo ili parazitizam,
- indukovana otpornost domaćina.

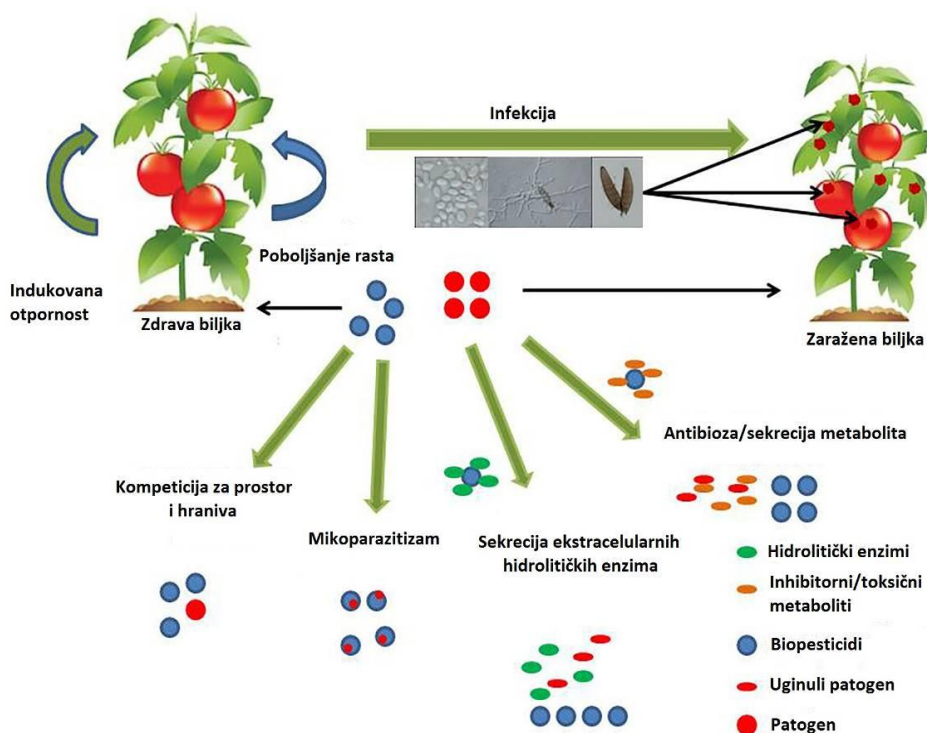
Direktna kompeticija podrazumeva naseljavanje korena biljaka domaćina organizmom koji se primenjuje za biološko suzbijanje prouzrokovača bolesti, pre nego što dođe do infekcije patogenom. Organizam koji se primenjuje mora biti prisutan u velikom broju radi kompeticije sa patogenom. Tokom kompeticije dominiraju antagonistički mikroorganizmi, te na taj način suzbijaju patogene organizme koji ostaju bez hrane, vode i prostora. Ovakav način delovanja najčešće je prisutan kod vrsta roda *Trichoderma* (Miličević i Kaliterna, 2014).

Antibioza je biološka interakcija antagonističkih mikroorganizama i biljnih patogena. Antagonistički mikroorganizmi proizvode određene metabolite koji deluju toksično ili inhibirajuće na biljne patogene. Najveći broj komercijalnih preparata koji sadrže antagonističke mikroorganizme s antibiotskim delovanjem pripada rodovima *Bacillus* i *Streptomyces* (Miličević i Kaliterna, 2014). Organizam koji se koristi za biološko suzbijanje prouzrokovača bolesti treba da poseduje antibiotska i antagonistička svojstva.

Predatorstvo ili parazitizam podrazumeva da organizam koji se primenjuje za biološku kontrolu napada patogeni organizam i njime se hrani. Pri ovakvom mehanizmu delovanja, biološki agens mora biti prisutan pre napada patogena. U ovom slučaju koristimo antagonističke mikroorganizme u svrhu parazitiranja biljnih patogena (Slika 7 i 8). Parazitizam je prisutan kod antagonističkih gljiva kao npr. predstavnika rodova *Trichoderma*, *Ampelomyces*, *Coniothyrium*, *Pythium* i dr.

Mikroorganizmi mogu neposredno preko biljke delovati na biljne patogene. Ovakav mehanizam delovanja se sastoji u izazivanju određenih odbrambenih reakcija u biljkama. Indukovana otpornost se javlja kada se u

napadnutoj biljci aktivira odbrambeni sistem i to ne imuni, već unutrašnja borba za usporavanje infekcije (Grahovac i sar., 2009). Indukovana otpornost je prisutna kod bakterija roda *Erwinia* i gljiva roda *Candida*. Aktivatori otpornosti biljaka su supstance koje deluju tako što indukuju sistemičnu, stečenu otpornost, aktiviranjem odbrambenih mehanizama same biljke.

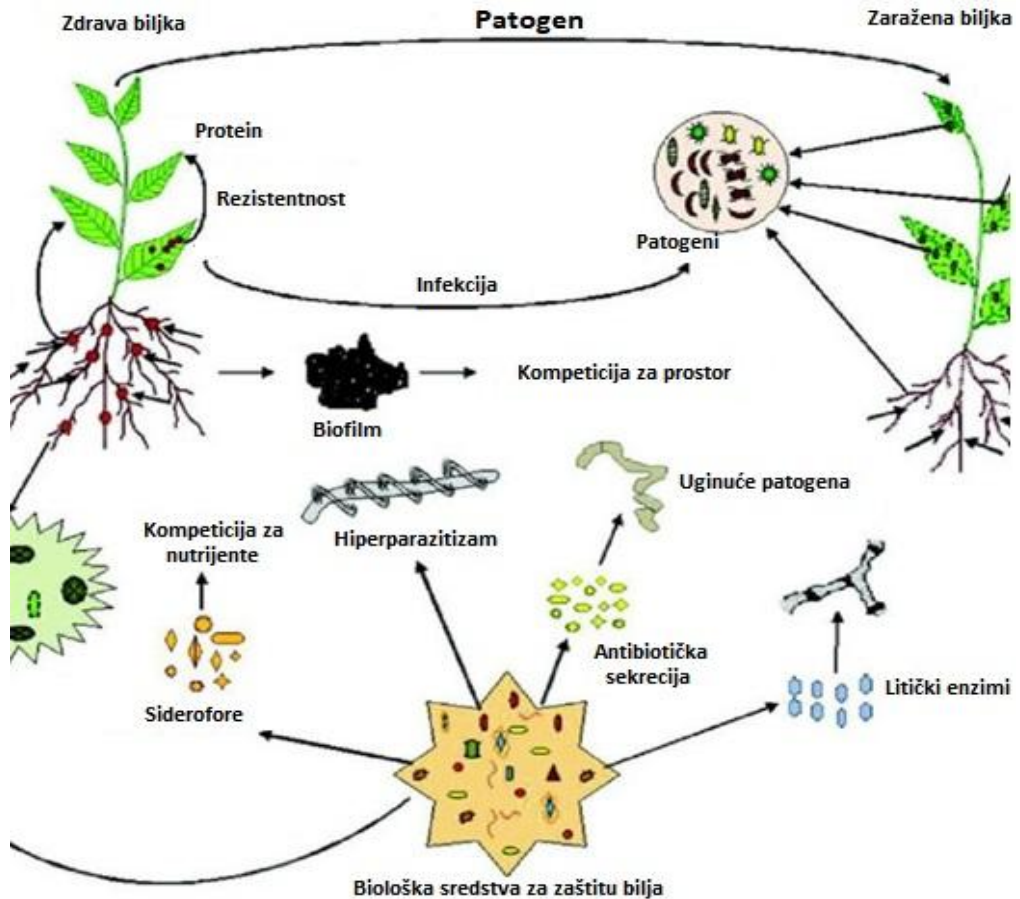


Slika 7. Mehanizmi delovanja biofungicida (Thambugala et al., 2020)

Biljke poseduju različite odbrambene mehanizme kojima se štite od napada patogena. Oni se mogu podeliti na mehanizme pasivne i aktivne prirode, u zavisnosti da li su već prisutni u biljci ili se aktiviraju nakon infekcije. Jedan od vidova aktivne otpornosti je indukovana otpornost koja predstavlja fiziološko stanje povećane odbrambene sposobnosti biljke i može biti izazvana različitim biotskim ili abiotskim faktorima.

Na osnovu razlike u signalnim putevima i efikasnosti, definisana su dva tipa indukovane otpornosti. Prvi tip predstavlja sistemično stečenu otpornost koja se ispoljava u svim delovima biljke kao posledica aktivacije

odbrambenog mehanizma biljke u kontaktu sa organizmom koji je parazitira ili se hrani njenim delovima. Pri ovoj otpornosti dolazi do akumulacije salicilne kiseline kao signalnog molekula i povećane sinteze PR (*Pathogenicity Related*) proteina.



Slika 8. Mehanizmi delovanja biofungicida⁷

Drugi tip, indukovanu sistemičnu otpornost izazivaju nepatogene rizosferne bakterije. Ovaj tip otpornosti je regulisan jasmonskom kiselinom i etilenom i pri njenom ispoljavanju ne dolazi do sinteze PR proteina. Osim bioloških agenasa i neka hemijska jedinjenja mogu indukovati otpornost biljaka. Poslednjih godina evidentan je napredak u razumevanju mehanizma delovanja ovih tipova otpornosti što je dovelo i do njihove komercijalne primene u zaštiti bilja (Gašić i Obradović, 2012). Povećan nivo otpornosti

ispoljava se prema širokom spektru parazita, uključujući gljive, bakterije, viruse, nematode, parazitne cvetnice, pa čak i insekte herbivore (Van Loon et al., 1998; Kessler and Baldwin, 2002). U literaturi se može naći više termina kojima se označava ovaj vid otpornosti. Tako se koriste nazivi kao što su imunizacija, indukovana otpornost, indukovana sistemična otpornost ili sistemično stečena otpornost (Agrawal et al., 1999). Komercijalno dostupni bioaktivatori otpornosti biljaka su harpin protein (preparat Messenger), dobijen iz bakterije *Erwinia amylovora*, ekstrakt biljke *Reynoutria sachalinensis*, koji prouzrokuje povećanje sadržaja prirodnih fenola u tretiranim biljkama. Pored ovih aktivatora otpornosti, pojedine bakterije takođe mogu indukovati otpornost biljke domaćina i to *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. syringae*. Osim ovih, postoje saznanja i o brojnim drugim agensima koji indukuju rezistentnost, kao što su soli fosfata, β -aminobuterna kiselina (BABA) i sintetička jedinjenja probenazol i acibenzolar-s-metil.

Primena aktivatora sistemično stečene otpornosti i njihova integracija sa biološkim agensima i konvencionalnim tretmanima omogućila je nov kvalitet u zaštiti bilja. Postoje brojne prednosti upotrebe aktivatora otpornosti biljaka u zaštiti bilja u odnosu na hemijski sintetisana jedinjenja. Pre svega, aktivatori otpornosti nisu štetni po životnu sredinu i mogu se koristiti u organskoj proizvodnji. S obzirom na sistemičnu prirodu otpornosti, postiže se istovremena zaštita svih biljnih delova koja je aktivna i posle berbe i tokom skladištenja proizvoda. Omogućava se zaštita od patogena koji se ne mogu kontrolisati postojećima merama, posebno organizama rezistentnih na hemijska jedinjenja. Otpornost prema patogenima se postiže mehanizmima koje reguliše biljka, izbegavajući direktno dejstvo na patogena, čime se eliminiše potencijalno negativno dejstvo na korisne mikroorganizme. Obezbeđuje se otpornost prema širokom spektru štetnih organizama (mikroorganizama, insekata i nematoda). Tretmani se mogu izvoditi istovremeno sa ostalim merama zaštite i takođe geni koji se aktiviraju pri indukovanoj otpornosti mogu biti korisni u savlađivanju ostalih vidova stresa u polju - kao što su toplota, mraz, suša i oštećenja od UV svetla (Anderson et al., 2006). Pored brojnih prednosti koje indukovana otpornost biljaka ima u odnosu na hemijske mere zaštite, ima i određenih nedostataka. Naime, nakon primene aktivatora otpornosti potrebno je izvesno vreme da bi se postigao određeni nivo zaštite, posebno ako preparat nije dospao na celu biljku. Zatim, uočena su variranja u nivou postignute otpornosti, posebno kada se kao tretmani

koriste biološki agensi, aktivacija otpornosti prema jednom patogenu može povećati osetljivost prema drugim patogenima koji koriste drugačije mehanizme infekcije. Za maksimalnu efikasnost treba pažljivo podesiti koncentraciju preparata, metod primene i vreme između tretmana, prekomerna ekspresija odbrambenih mehanizama biljke može dovesti do preopterećenja metabolizma biljke, zaostajanja u porastu i smanjene produktivnost (Gašić i Obradović, 2012).

Biofungicidi se mogu koristiti za tretiranje semena, krtola krompira pred sadnju ili skladištenje, folijarno, za potapanje ili prskanje rasada pre sadnje, zalivanje biljaka posle rasađivanja i potapanje kalema. Broj gajenih biljaka koje se štite biofungicidima je velik, od ratarskih, povrtarskih i voćarskih vrsta, do ukrasnog, lekovitog i začinskog bilja.

Najviše zastupljeni biofungicidi su na bazi mikroorganizama, i to na bazi gljiva i bakterija. Najčešće se u ulozi aktivnih supstanci biofungicida javljaju gljive kao što su: *Trichoderma* sp., *Pythium oligandrum*, *Aureobasidium pullulans*, *Fusarium oxysporum*, *Talaromyces flavus* i druge. Od bakterija u biopreparatima najčešće su prisutne sledeće vrste: *Streptomyces griseoviridis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Pseudomonas fluorescens* i dr.

Pored navedenih mikrobioloških fungicida, najznačajniji botanički fungicidi su alicin (isparljiva supstanca koju oslobađaju ćelije luka, nakon oštećenja), berberin (alkaloid, izolovan iz rizoma biljke *Berberis aristata*), karvakol ili cimofenol, monoterpenski fenol zastupljen u mnogim esencijalnim uljima, a najviše u etarskom ulju origana, žutog kedra sa Aljaske, majorana (*Origanum majorana*) i majčine dušice (*Thymus vulgaris*), ostol (kumarinska komponenta, izdvojena iz suvih plodova biljaka *Cnidium monnieri*, i *Angelica pubescens*), sangvinarin (biljni alkaloid, iz grupe izohinolinskih alkaloida, izolovanih iz biljaka koje pripadaju fam. Papaveraceae), santonin (biljni alkaloid izolovan iz cvasti biljke *Artemisia maritima*) i dr.

Osim ovih, dokazan je fungicidni efekat etarskih ulja izolovanih iz biljaka citronela (*Cymbopogon winterianus*), cimet (*Cinnamomum ceylonicum*), nana (*Menta piperita*), bosiljak (*Ocimum basilicum*), ruzmarin (*Rusmarinus officinalis*), timijan (*Thymus vulgaris* L.), čajno drvo (*Melaleuca alternifolia*).

Na tržištu Republike Srbije registrovani su sledeći biofungicidi: Ekstrasol F (*Bacillus subtilis* soj Č13), Bacillomix aurum B (*Bacillus subtilis* soj ST1/III), Erwix (*Bacillus subtilis* soj Z3), Cerix (*Bacillus amyloliquefaciens* (ranije *subtilis*) soj Z3), Serenade aso (*Bacillus amyloliquefaciens* (ranije *subtilis*) soj

QST 713), Vintec (*Trichoderma atroviride* soj SC1), Polyversum (*Pythium oligandrum*) (mikrobiološki) i Timorex gold (ulje čajnog drveta *Melaleuca alternifolia*) (biohemijski).

4.1. Biofungicidi na bazi gljiva

Postoji veliko interesovanje za eksploataciju gljiva za suzbijanje fitopatogenih gljiva prouzrokovaca raznih oboljenja na gajenim biljkama, što se potvrđuje brojnim komercijalnim preparatima već dostupnim, kao i mnogobrojnim istraživanjima iz ove oblasti. Istraživanja, razvoj i finalna komercijalizacija gljiva kao bioloških agenasa za suzbijanje štetnih organizama, konstantno se suočavaju sa brojnim preprekama, počev od poznavanja osnovnih bioloških znanja do socio-ekonomskih faktora. Ostvareni su značajni pomaci u određenim oblastima, ali važno je integrisati ih sa novim saznanjima. Gljive su veoma raznolika grupa organizama i mogu se naći u gotovo svim uslovima na zemlji. Mnoge imaju kompleksan životni ciklus, a neke vrste su se pokazale kao veoma efikasni mikrobiološki biopesticidi. Međutim, oni su živi organizmi i zahtevaju specifične uslove spoljne sredine za razmnožavanje. Zbog veoma različite prirode, biofungicidi na bazi gljiva imaju različite mehanizme delovanja. Najčešći mehanizmi delovanja su kompeticija, mikoparazitizam i proizvodnja metabolita. Neke gljive mogu ispoljiti sva tri. Gljive koje su najviše upotrebljavane u komercijalnom procesu proizvodnje biofungicida su *Trichoderma* spp., *Pythium oligandrum*, *Talaromyces flavus*, *Ampelomyces quisqualis* i dr. Preparati na bazi ovih gljiva se često koriste, u rasadnicima, u proizvodnji ukrasnog bilja, povrtarstvu, ratarstvu i šumarstvu za suzbijanje velikog broja patogena. Neke od gljiva koje se koriste u suzbijanju fitopatogenih gljiva prikazane su u nastavku teksta (Copping, 2009).

***Ampelomyces quisqualis* izolat M-10** je aktivna komponenta u preparatu AQ10, koji je formulisan kao vododisperzibilne granule (WG). *A. quisqualis* je gljiva iz reda Coleomycetes i poznata je kao hiperparazit roda Erysiphace patogenih gljiva, prouzrokovaca pepelnica. Mehanizam delovanja preparata na bazi *A. quisqualis* zasniva se na hiperparazitizmu, to jest klijavuće spore potiskuju razvoj gljiva prouzrokovaca pepelnice. Kada proдре u hife patogena, posle 2-4h, hiperparazit se razvija i time zaustavlja razvoj patogena. Ovaj preparat se koristi za suzbijanje prouzrokovaca pepelnice na

jabučastom voću, vinovoj lozi, jagodama, ukrasnom bilju i paradajzu. Primenuje se uz dodatak okvašivača, površinski aktivnih materija, radi smanjenja površinskog napona i boljeg rasporeda preparata na tretiranoj površini. Nije fitotoksičan niti fitopatogen. Rok trajanja ovog preparata je duži od 6 meseci ako se čuva na hladnom i suvom mestu, a u frižiderima preko 3 godine.

***Conithyrium minitans* soj CON/M/91-08**, odnosno spore pomenute gljive su aktivna supstanca preparata Contans, formulisan kao WG. Proizvodi se fermentacijom i u čvrstom je stanju, tamne boje i mirisom podseća na pečurke. *C. minitans* napada gljive *Sclerotinia* spp., u zemljištu i uništava ih, tj. spore *C. minitans* prodiru u unutrašnjost sklerocija preko pigmentisanih ćelija sa spoljne strane sklerocija ili kroz pukotine na površini pa se njihov rast nastavlja u unutrašnjosti sklerocija. Primenuje se za suzbijanje prouzrokovala bele truleži (*Sclerotia sclerotiorum* i *S. minor*) u svim usevima u kojima se ove gljive javljaju kao paraziti (šećerna repa, soja, suncokret, duvan, povrće, voće, lekovite i začinske biljke). Primenuje se preko zemljišta, pre setve ili posle žetve. Za postizanje što boljih efekata, zemljište treba da bude vlažno, a temperatura 12-20 °C. Stabilan je preko 6 meseci na 4 °C, ne treba ga čuvati u vlažnim uslovima ili na temperaturi preko 20 °C.

***Candida oleophila* izolat I-182** je aktivna supstanca preparata koji se koristi u suzbijanju prouzrokovala truleži i plesni, inhibirajući rast štetnih gljiva, primenom posle žetve (berbe) ili koloniziranjem plodova i drugih biljnih površina. Primenuje se za zaštitu voća, povrća, na biljkama u zaštićenom prostoru i na ukrasnom bilju. Ova gljiva nije toksična, niti je štetna za korisne organizme. Primenuje se prskanjem ili potapanjem voća i povrća. Ponekad se može dodati hemijski fungicid u gljivičnu smešu čime se pospešuje efikasnost fungicidnog delovanja preparata. Preparat Aspire na bazi ove gljive primenuje se na plodovima citrusa i jabučastog voća tokom skladištenja.

***Trichoderma* spp.** su gljive koje su prisutne gotovo u svim poljoprivrednim zemljištima i drugim sredinama, kao što su trulo drvo i sl. Preparati na bazi *Trichoderma* spp. su kontaktni, antibiotski biofungicidi niske toksičnosti za čoveka, korisne insekte i životnu sredinu, pogodni za organsku zaštitu u

vinogradima, voćnjacima, povrtnjacima, ratarstvu i uzgoju ukrasnog bilja. *Trichoderma* spp. je do sada pokazala visoku efikasnost u suzbijanju svake patogene gljive za čiju je kontrolu primenjena. Kod nas je registrovan preparat na bazi *Trichoderma atroviride* soj SC1, za primenu u rasadnicima vinove loze u suzbijanju prouzrokovala eske vinove loze (kompleksna bolest vinove loze, ovo oboljenje izaziva više gljiva koje napadaju sprovodni sistem, to su *Phaemoniella chlamydospora*, *Stereum hirsutum* i *Phellinus ignirarius*). Ovi preparati se mogu primenjivati preko zemljišta (u nekim slučajevima poboljšavaju plodnost zemljišta), folijarno ili se nanose na seme.

***Trichoderma harzianum* izolat T-39** je izolat koji se koristi za suzbijanje gljiva iz rodova *Botrytis* i *Sclerotinia*. Dobija se fermentacijom. Koristi se u zaštiti vinove loze, povrća, kako u otvorenim tako i u zatvorenim objektima. Formulisan je kao mikrogranule i prašivo. Može se koristiti i u kombinaciji sa nekim drugim preparatima ali nije preporučljivo da se kombinuje sa selektivnim fungicidima kao ni sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Skladištenje se vrši u suvim i stabilnim uslovima. U takvim uslovima preparat može da održi svoju biološku aktivnost do godinu dana.

***Trichoderma harzianum* Rifai izolat TH 35 i TH 315** sačinjavaju mikrofloru zemljišta i često su prisutni u rizosferi gajenih biljaka. Preparati na bazi *T. harzianum* koriste se za suzbijanje gljiva iz rodova *Pythium* i *Fusarium*, zatim vrste *Rhizoctonia solani* i *Sclerotium rolfsii*. Koriste se u zaštiti mnogih ratarskih kultura, kao i povrća, ukrasnog i lekovitog bilja. Kompatibilni su sa većinom fungicida i preparata za dezinfekciju zemljišta, osim sa jakim oksidansima, bazama, kiselinama i hlorisanom vodom. Nisu toksični za sisare, niti štetni za životnu sredinu, mogu se primenjivati u organskoj proizvodnji.

***Trichoderma harzianum* izolat ATCC 20475 i *T. viride* izolat ATCC 20476** su stanovnici zemljišta odakle su i izolovane. Koriste se za suzbijanje patogena kao što su *Armillaria mellea*, *Phytophthora* spp., *Chondrostereum purpureum*, *Pythium* spp., *Fusarium* spp. i *Sclerotium rolfsii*. Koriste se u zaštiti orhideja, ukrasnog bilja, povrća kao i u zaštiti plodova i povrća nakon berbe. Njihova aplikacija se vrši tokom vegetacije ili za vreme orezivanja.

Dobri su za zaštitu biljaka odmah na početku infekcije. Preparate na bazi ovih gljiva potrebno je skladištiti na suvim i hladnim mestima. Nije preporučljivo njihovo mržnjenje, a ni izlaganje preparata direktnom sunčevom svetlu, te će održati svoju vitalnost do 12 meseci. Mogu ispoljiti manju toksičnost za neke sisare i vodene organizme. Mogu se koristiti u organskoj proizvodnji.

***Trichoderma polysporum* izolat IMI 206039/ATCC 20475 i *T. harzianum* izolat IMI 206040/ATCC 20476** su gljive izolovane iz smreče. Preparati na bazi ovih izolata koriste se za suzbijanje *Botrytis cinerea* i neke Basidiomycetes na krompiru, jagodama i na ukrasnom bilju. Formulirani su kao WP i pelete. Kompatibilni su sa mnogim pesticidima (uglavnom na bazi bakra i sumpora) ali nisu sa onima koji su organskog porekla. Nisu toksični za sisare kao ni za ribe i mogu se koristiti u organskoj proizvodnji.

Trichoderma stromaticum je gljiva koja uspešno suzbija *Crinipellis pernicioso* (prouzrokovatelj veštice metle) na kakau, koja predstavlja veliki problem u zasadima kakaove već 20 godina. Proizvodi se fermentacijom. Skladišti se na suvim, hladnim mestima van direktnog uticaja sunčeve svetlosti. Nije toksična za ljude kao ni za neželjene organizme pa ni životnu sredinu.

***Trichoderma virens* izolat GL 21** je sastavni deo mikroflore zemljišta. Proizvodi se fermentacijom. Suzbija patogene koji prouzrokuju truljenje korena biljaka, kao što su gljive iz rodova *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium*, *Thielaviopsis* i *Sclerotinia*. Koristi se u staklenicima, a i u polju se koristi za zaštitu raznih poljoprivrednih useva i ukrasnog bilja. Preparat na bazi *T. virens* formulisan je kao granule (GR). Preparat može izazvati blažu iritaciju očiju i kože. Može se koristiti u organskoj proizvodnji.

Trichoderma viride je gljiva koja je izolovana iz zemljišta. Preparat se dobija fermentacijom, formulisan je kao prašivo. Sprečava razvoj mnogih zemljišnih patogena kao što su *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp. i *Pythium* spp. Primenuje se u zaštiti voćnjaka, ukrasnog bilja, žitarica, uljane repice i mahunarki. Nije štetan za korisne organizme. Može se koristiti u organskoj proizvodnji.

***Pythium oligandrum* izolat DV 74** je aktivna supstanca preparata Polyversum. Ova gljiva deluje kao hiperparazit kolonizirajući druge fitopatogene gljive na semenu i okolini, rizosferi tretiranih biljaka, potiskujući porast najmanje 20 zemljišnih patogena. Ova vrsta parazitira preko 23 vrste patogenih gljiva, među kojima su *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium albo-atrum* i rodove *Alternaria*, *Gaeumannomyces*, *Ophiostoma* i *Pseudocercospora*. Mehanizam delovanja se ostvaruje kao: aktivno - direktno parazitiranje i pasivno - indukovanje, stvaranja morfoloških i fizioloških barijera u biljnom tkivu i stimulacija rasta biljaka putem povećanog usvajanja fosfora. Primenjuje se u usevu paprike za suzbijanje *Verticillium dahliae*, zasadu vinove loze za suzbijanje *Botrytis cinerea* i *Phomopsis viticola*, maline za suzbijanje *B. cinerea*, usevu uljane repice *Alternaria brassicae*, *B. cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* i *Leptosphaeria maculans*. Kod nas je registrovan preparat Polyversum za suzbijanje prouzrokovača sive truleži (*B. cinerea*) u zasadu vinove lozi i maline. Preparat se primenjuje bez toksikoloških i ekotoksikoloških ograničenja. Eksperti EU predlažu da na etiketi proizvoda koji sadrže *Pythium oligandrum* stoji sledeće upozorenje: „Mikroorganizmi mogu da izazovu alergijske reakcije (mogu posedovati svojstva kontaktnih alergena)”.

***Aureobasidium pullulans* DSM 14940 i 14941** je kvasna gljiva koja se razvija na lišću drveća i u močvarama slane vode. Utvrđeno je da kod ljudi može prouzrokovati upalu pluća i astmu. Preparati na bazi ove gljive registrovani su za suzbijanje prouzrokovača bakteriozne plamenjače (*Erwinia amylovora*), prouzrokovača sive truleži (*B. cinerea*), mrke truleži ploda (*Penicillium expansum*) i truleži plodova (*Monilia fructigena*) jabuke, kruške i dunje.

***Clonostachys rosea* f. *catenulate* izolat J1446** je biofungicid koji se proizvodi fermentacijom. Njegovo delovanje zasniva se na hiperparazitizmu, enzimskoj aktivnosti i kolonizaciji korena. Formulisan je kao kvašljivi prašak (WP). Aplikacija se vrši nakon sađenja biljaka. Koristi se zasuzbijanje gljiva iz rodova *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Didymella*, *Botrytis*, *Verticillium*, *Penicillium* i mnogih drugih. Primenjuje se za zaštitu povrća, lekovitog i ukrasnog bilja, drveća i žbunja. Preparat održava

vitalnost 12 meseci u odgovarajućim uslovima. Nije toksičan za ljude i ne izaziva alergijske reakcije. Nije štetan po okolinu i neciljane organizme.

Cryptococcus albidus je gljiva koja se koristi kao kontaktni preparat. Proizvodi se fermentacijom. Koristi se nakon berbe na jabučastom voću. Služi za zaštitu voća u skladištima protiv gljiva iz rodova *Penicillium* i *Botrytis*. Vitalnost održava nekoliko meseci pa i do dve godine na hladnom, suvom i tamnom mestu. U zaštiti se može primenjivati uz neke hemijske fungicide. Neki od preparata na bazi ove gljive mogu izazvati površinske infekcije na koži nekih sisara ali preparati na bazi ove gljive nisu štetni po okolinu.

***Fusarium oxysporum* izolat Fo 47** je prirodni mutant gljive koja se javlja u zemljištu južno-istočne Francuske i nema fitopatogeno dejstvo te se po tome razlikuje od ostalih izolata ove gljive. Koristi se za suzbijanje fitopatogene gljive *Fusarium oxysporum* (prouzrokovatelj fuzarioznog uvenuća paradajza, luka, graška, pasulja) i *Fusarium moniliforme* (prouzrokovatelj truleži klipa i stabla kukuruza), koji se javljaju na usevima u polju i u zaštićenim prostorima. Formulisan je kao koncentrovana suspenzija (SC) i kao mikrogranule (MG). Najbolje je preparat skladištiti na hladnim mestima, nije preporučljivo izlaganje ovih preparata suncu kao ni njihovo mržnjenje. Čvrste formulacije zadržavaju vitalnost oko 6 meseci. Preparati na bazi ove gljive su inkompatibilni sa fungicidima koji se nanose na zemljište, a koji sadrže jače oksidanse, kiseline i baze kao i sa hlorisanom vodom. Ovaj izolat nije štetan po zdravlje sisara kao ni po životnu sredinu. Koristi se u organskoj proizvodnji.

***Muscodor albus* izolat QST 20799** je izolat koji je prvobitno bio izolovan iz drveta cimeta u SAD. Proizvodi se fermentacijom, efikasan je protiv patogena iz roda *Pythium*, *Phytophthora* i *Fusarium*. Smatra se i da deluje na neke bakterije i nematode. Koristi se u zaštiti povrća i ukrasnog bilja kao i nakon žetve/berbe. Može se primenjivati i u staklenicima i skladištima. Nije štetan po zdravlje sisara kao ni po okolinu. Primenuje se u organskoj proizvodnji.

Phlebiopsis giganteae aktivna materija biofungicida koji se koriste za suzbijanje prouzrokovaca truleži korena i debla. Proizvodi se fermentacijom. Koristi se za zaštitu smreke i panjeva bora pogotovo od *Heterobasidion annosum*. Preparati su formulisani u vidu kvašljivog praška (WP). Nije toksičan po ljude, može da izazove slabiju iritaciju očiju. *P. gigantea* je normalno prisutan organizam mikroflore šuma tako da ne deluje štetno na neciljane organizme.

***Pseudozyma flocculosa* izolat PF-A22 UL** je izolat gljive koja je široko rasprostranjeni saprofit i hiperparazit prouzrokovaca pepelnice u Kanadi, Americi i Evropi. Proizvodi se fermentacijom tokom koje gljiva proizvodi spore, formuliše se u obliku kvašljivog praška (WP). Koristi se za suzbijanje prouzrokovaca pepelnice (*Sphaerotheca fuliginea*) na krastavcu i prouzrokovaca pepelnice (*S. pannosa* var. *rosae*) na ružama, gajenim u zatvorenom prostoru. Primenjuje se folijarno kada je vlažnost preko 60%. Ova gljiva nema fitotoksično, a ni fitopatogeno delovanje na gajenu biljku. Preparat treba koristiti sam, pošto je inkompatabilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Može se koristiti u organskoj proizvodnji.

***Talaromyces flavus* izolat VII7b** je izolat koji se koristi za suzbijanje prouzrokovaca uvenuća (*Verticillium dahliae* i *V. albo-atrum*) na paradajzu, krastavcu, jagodama i uljanjoj repici. Vršiti kolonizaciju korena i smatra se da ova gljiva aktivira auto-imuni sistem gajenih biljaka. Preparat na bazi *T. flavus* formulisan je kao kvašljivi prašak (WP). Koristi se za tretiranje zemljišta ili semena, a moguće je i potapanje korena, pre sadnje biljaka. Skladištiti na suvom mestu na temperaturi 4 °C, tako preparat može zadržati svoju aktivnost preko 6 meseci. Nije fitotoksičan i može da se primenjuje u organskoj proizvodnji.

***Talaromyces flavus* izolat Z-9401** je izolovan iz biljke jagode u Japanu. Koristi se za suzbijanje fitopatogenih gljiva na pirinču kao što su *Magnaporthe grisea*, *Pyricularia oryzae*, *Fusarium moniliforme* i neke fitopatogene bakterije. Efikasan je i u suzbijanju prouzrokovaca pepelnice (*Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae*) na jagodi, sive truleži (*B. cinerea*) i antraknoze. Koristi se u zaštiti pirinča, raznog povrća i jagode. Ovaj izolat više štiti lišće i plodove gajenih biljaka na mestima napada nego što napada

fitopatogene organizme. Misli se da povoljno utiče na auto-imuni sistem gajene biljke. Primjenjuje se folijarno, tretiranjem po pojavi prvih simptoma infekcije. Nije toksičan za ljude, korisne insekte i ostale neciljane organizme, niti je ekološki štetan. Može se koristiti u organskoj proizvodnji.

4.2. Biofungicidi na bazi kvasaca

***Rhodotorula glutinis* (izolat LS-11), *Cryptococcus laurentii* (izolat LS-28), *Candida famata* (izolat 21-D) i *Pichia guilliermondii* (izolat 29-A)** navode se kao vrlo efikasni antagonisti fitopatogenih gljiva (*Aspergillus niger*, *B. cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium expansum*, *P. italicum* i *P. digitatum*) na plodovima jabuke, kruške, jagode, kivija, grožđa, pomorandži, mandarina i grejpfruta. Postoji oko 50 vrsta kvasaca koji se mogu koristiti za suzbijanje fitopatogenih gljiva. Što se tiče njihovih nivoa antagonističke aktivnosti, ovi kvasci su se pokazali kao dobri kompetitori za hranljive materije, direktna interakcija sa hifama gljiva je primećena samo kod izolata LS-11, dok antibioza nije bila registrovana.

4.3. Biofungicidi na bazi bakterija

Bakterije su prisutne u svim zemljištima i najbrojniji su mikroorganizmi zemljišta. Mnoge bakterije koje formiraju spore, ali i one koje ih ne formiraju su poznate kao efikasne u suzbijanju širokog spektra štetnih organizama, uključujući i fitopatogene gljive. Bakterije koje su najviše zastupljene u biofungicidima su: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* spp., *Streptomyces griseoviridis* i dr. Bakterije iz roda *Streptomyces* su aktinomicete koje pripadaju redu Actinomycetales, odeljak Gram pozitivnih bakterija. Ovo su dobro poznate saprofitne bakterije koje razgrađuju organsku materiju, naročito biopolimere kao što su lignoceluloza, skrob i hitin u zemljištu. One takođe sintetišu i širok dijapazon antibiotika kao produkte sekundarnog metabolizma. Agroindustrija je veoma zainteresovana za ovu grupu organizama kao izvore materija za pospešivanje rasta biljaka i supstanci koje bi se mogle koristiti u biološkoj zaštiti bilja. Oko polovine komercijalno dostupnih bakterijskih preparata je na bazi bakterija iz roda *Bacillus*. Ovaj rod je genetički veoma raznovrstan i prisutan u različitim sredinama, od morske vode do zemljišta, pa čak i na

izvorištima vrele vode. Ove bakterije su najznačajniji izvor potencijalnih mikrobnih pesticida zahvaljujući nekoliko svojstava. Pripadnici roda *Bacillus*, kao što je na primer *B. subtilis*, su dobro izučeni organizmi što omogućava njihovu racionalnu primenu kao biopesticida. Administracija za hranu i lekove Sjedinjenih Američkih Država (US Food and Drug Administration - USFDA) odobrila je status „generalno bezbedni“ (Generally regarded as safe - GRAS), nepatogeni mikroorganizmi za *B. subtilis*. Ova činjenica je najznačajnija za njihovu primenu u biološkoj zaštiti. Vrste roda *Bacillus* imaju sposobnost da stvaraju spore – izuzetno otporne dormantne forme koje mogu da prežive visoke temperature, nepovoljne pH vrednosti sredine, nedostatak hrane, vode, itd. Ova sposobnost može da se iskoristi prilikom proizvodnje biopesticida, indukovanjem sporulacije na kraju proizvodnog procesa što produžava rok trajanja i ne zahteva posebne uslove skladištenja biopesticida (Grahovac, 2014).

***Streptomyces griseoviridis* izolat K 61** je bakterija koja se javlja u zemljištu, izolovana je iz treseta. Deluje na patogene gljive na najmanje dva načina, kolonizovanjem korena biljaka pre pojave patogenih gljiva, lišavajući ih prostora i hranljivih materija, kao i produkovanjem nekoliko supstanci koje nepovoljno utiču na patogene gljive. Delovanje aktinomiceta kao bioagenasa može se objasniti njihovom sposobnošću kolonizacije biljne površine, antibioze sa biljnim patogenima, sinteze ekstracelularnih proteina i razgradnje fitotoksina (Doubou et al., 2001). Antagonistička aktivnost roda *Streptomyces* prema biljnim patogenima se najčešće vezuje za njihovu sposobnost sinteze antifungalnih materija i ekstracelularnih hidrolitičkih enzima. Među enzimima koje sintetišu ovi mikroorganizmi, hitinaza i β -1,3-glukanaza se smatraju značajnim za hidrolizu ćelijskog zida fitopatogenih gljiva (Prapagdee et al., 2008). Primenjuje se u suzbijanju gljiva prouzrokovaca truleži semena, korena, stabljike i uvenuća raznih ratarskih, povrtarskih useva, zasada voća i ukrasnog bilja u plastenicima. Može se primenjivati preko zemljišta, semena, potapanjem rasada i biljnih delova pri kalemljenju i folijarno. Deluje preventivno. Ova bakterija nije štetna za čoveka mada može izazvati blažu iritaciju kože i očiju, a može dovesti i do sporednih efekata na plućima. Ne deluje štetno na neciljane organizme niti na životnu sredinu. *S. griseoviridis* izolat K 61 se koristi za suzbijanje raznih gljivičnih oboljenja kao što su *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp. i *Botrytis cinerea*, u zaštiti povrća u staklenicima, ukrasnog i lekovitog bilja. Preparat na bazi ove bakterije je

formulisan u obliku kvašljivog praška (WP). Skladišti se na temperaturi ispod 8 °C i tada je rok trajanja preparata godinu dana. Nije preporučljivo mešanje ovih preparata sa nekim drugim preparatima i hlorisanom vodom. Nije toksičan za čoveka kao ni za životnu sredinu. Može se koristiti u organskoj proizvodnji.

***Streptomyces lydicus* izolat WYEC 108** se koristi u zaštiti korena biljaka od patogena kao što su *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Phytophthora* spp., *Aphanomyces* spp., *Monosporascus* spp., *Armillaria* spp., itd. Primjenjuje se u stakleničkoj proizvodnji, u zaštiti povrća i ukrasnog bilja kao i žbunastih biljaka u pejzažnoj arhitekturi pa i u raznim poljoprivrednim usevima. Ne treba ga mešati sa hlorisanom vodom. Nije otrovan po zdravlje ljudi i nije štetan po životnu sredinu. Koristiti se u organskoj proizvodnji.

***Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* izolati QST713** (AgraQuest) i **GB03** (Gustafson). Ovi preparati formulirani su kao WP, WG i formulacija za tretiranje semena. Mehanizam delovanja zasniva se na kolonizaciji korena biljke bakterijom i kompeticiji sa patogenim organizmima. Izolat QST713 se primjenjuje za tretiranje semena pamuka, leguminoza i drugih vrsta u suzbijanju *Rhizostonia solani*, *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp. Takođe se primjenjuje i folijarno za suzbijanje *B. cinerea* na plavom patlidžanu, paradajzu i jagodama i *Spaerotheca aphanis* na jagodama. *B. subtilis* izolat GB03 se koristi kao fungicid na ukrasnim biljkama i njihovim semenima, kao i na semenu pamuka, povrća, kikirikija, soje, ječma, graška, pšenice i pasulja. Primena ovih biofungicida nema negativan uticaj na čoveka i životnu sredinu.

***Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* izolat FZB24** (Taensa/Earth BioSciences) je izolat koji je prisutan u zemljištu iz koga se i dobija fermentacijom. Koristi se za suzbijanje fitopatogenih gljiva koje se javljaju u zemljištu, kao što su vrste iz rodova *Fusarium* ili *Rhizoctonia*. Primjenjuje se u polju, u zatvorenim prostorima, u zaštiti drveća, ukrasnog bilja i grmova. Preparat je formulisan u obliku vododisperzibilnih granula (WG). Skladišti se u suvim prostorijama, na sobnoj temperaturi. U ovakvim uslovima, izolat će biti vitalan najmanje dve godine. Nije kompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom, a ne bi bilo poželjno ni kombinovanje sa preparatima na bazi bakra i streptomocina. Nije toksičan

za ljude kao ni za nečlجانe organizme i može se koristiti u organskoj proizvodnji.

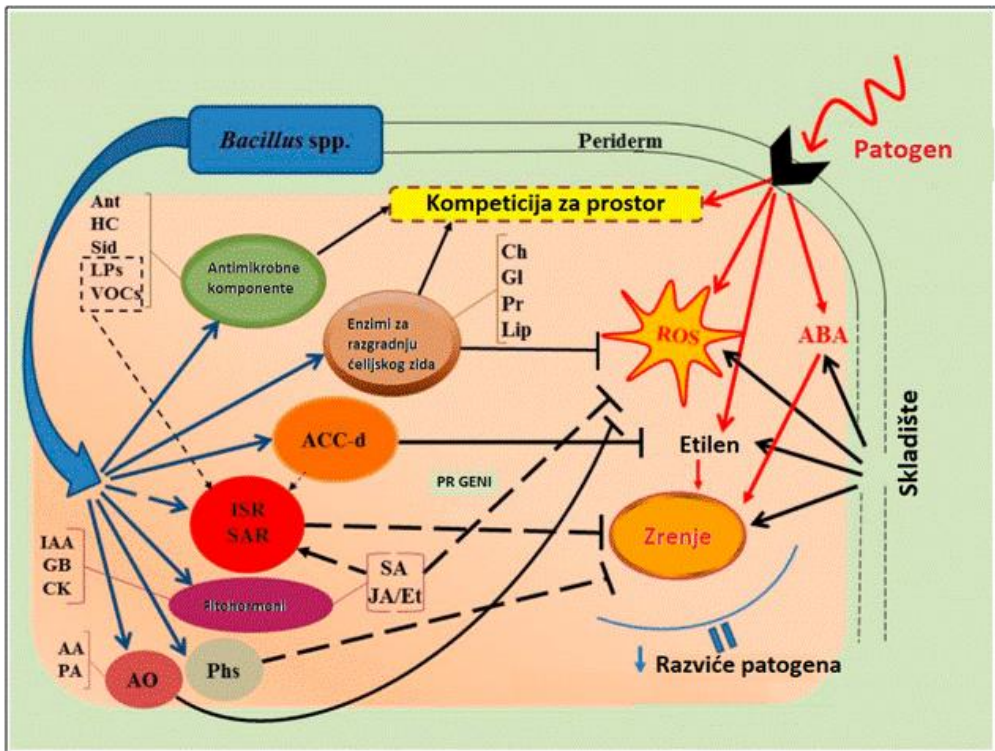
***Bacillus subtilis* izolat GB03** je izolat bakterije koja sačinjava zemljišnu mikrofloru. Primenjuje se u suzbijanju fitopatogenih gljiva kao što su *Fusarium* spp., *Pythium* spp. i *Rhizoctonia* spp. Efikasan je u zaštiti raznih useva, uključujući soju, kikiriki, pšenicu, ječam, leguminoze i pamuk. Inkompatibilan je sa preparatima na bazi bakra, jakim bazama, kiselinama, oksidansima i hlorisanom vodom. Može se koristiti u organskoj proizvodnji.

***Bacillus subtilis* izolat HAI-0404** je izolovan u Japanu i komercijalno se dobija fermentacijom. Efikasan je u borbi protiv *Botrytis cinerea*. Formulisan je kao WP i često se primenjuje u kombinaciji sa hemijskim fungicidima. Skladišti se na sobnoj temperaturi, tako ovaj izolat ostaje aktivan najmanje dve godine. Inkompatibilan je sa jakim bazama, kiselinama, oksidansima i hlorisanom vodom. Može se koristiti u organskoj proizvodnji ali samo ako se primenjuje sam.

***Bacillus subtilis* izolat MBI 600** je izolat bakterije koja se nalazi u zemljištu širom sveta. Dobija se fermentacijom. Koristi se za suzbijanje gljiva kao što su *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. i *Botrytis* spp. Primenjuje se u usevima soje, pamuka, trava, ječma, pšenice, kukuruza, kikirikija itd. Skladišti se u hladnim, suvim prostorijama i tada je stabilan do 2 godine. Koristi se u organskoj proizvodnji.

***Bacillus subtilis* izolat QST 713** je izolat bakterije koja se javlja u zemljištu širom naše planete. Značajan je zato što se koristi kao fungicid i kao baktericid. Primenjuje se folijarno za suzbijanje štetnih gljivičnih i bakterijskih patogena kao što su *Botrytis cinerea*, *Uncinula necator*, *Podosphaera leucotricha*, *Erysiphe* spp., *Sphaerotheca* spp., *Oidium* spp., *Alternaria* spp., *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas* spp., *Sclerotinia minor* itd. Primenjuje se u zasadima vinove loze, jabučastog voća, oraha, raznim vrežastim kulturama, hmelju, lisnatom povrću, brokoliju, paradajzu, krompiru, luku, mrkvi, začinskim i ukrasnim biljkama. Preparati su formulisani kao kvašljivi prašak (WP) i vodeni rastvori (AS). Skladišti se u suvim i sobnim uslovima i tada preparati održavaju svoju biološku aktivnost

najmanje 2 godine. Preparati na bazi ove bakterije su kompatibilni sa mnogim fungicidima, baktericidima, insekticidima, preparatima za folijarnu ishranu i ađuvantima. Smatra se da preparati na bazi ovog izolata nisu toksični za ljude i neciljane organizme. Mogu se koristiti u organskoj proizvodnji.



Slika 9. Glavni mehanizmi delovanja *Bacillus* sp., pri suzbijanju patogena i njihova interakcija u voću/povrću tokom skladištenja. [AA- askorbinska kiselina; ABA-apscisinska kiselina; ACC-d -1-aminociklopropan-1karboksilat demineaza; Ant- antibiotici; AO- antioksidanti; Ch- hitinaze; CK-citokinini; Et- etilen; GB- Giberelini; Gl-glukanaze; HC-hidrogen cijanid; IAA- indol-3-sirćetna kiselina; ISR-indukovanje sistemske otpornosti; JA-jasmonska kiselina; Lip-lipaze; PA- peroksidaze; Pr-proteaze; Phs-fitoaleksini; ROS-slobodni radikali kiseonika; SA-salicilna kiselina; SAR-sistemično stečena otpornost; Sid-siderofore] (Lastochkina et al., 2019)

***Bacillus subtilis* soj BS10, *Bacillus subtilis* soj Č13 i *Bacillus subtilis* soj Z3**, preparati (Bacillomix aurum B, Extrasol F i Erwix) na bazi ovih sojeva bakterije *B. subtilis* su registrovani u R. Srbiji, dozvoljena je njihova

upotreba i u organskoj proizvodnji. Formulirani su u obliku koncentrovanog rastvora (SL). Prema mehanizmu delovanja svrstani su u mikrobiološke remetiocice ćelijskih membrana, sa preventivnim delovanjem na fitopatogene gljive (Slika 9). Primenjuju se za suzbijanje prouzrokovala sive truleži (*Botrytis cinerea*), na jagodi, malini, jabuci, vinovoj lozi i suncokretu, prouzrokovala antraknoze (*Colletotrichum* spp.), zelens plesan (*Penicillium* spp.) i truleži plodova (*Monilinia* spp.) na jabuci, prouzrokovala plamenjače (*Plasmopara viticola*) na vinovoj lozi, prouzrokovala plamenjače (*Phytophthora infestans*) i crne pegavosti (*Alternaria solani*) na paradajzu, prouzrokovala pepelnice (*Erysiphe graminis* var. *hordei*) na pšenici i ječmu, prouzrokovala bakteriozne plamenjače (*Erwinia amylovora*) na jabuci, dunji i kruški i prouzrokovala bakteriozne pegavosti (*Xanthomonas vesicatoria*) na paprici i kupusu. Navodi se da ovi preparati mogu da izazovu alergijsku reakciju na koži kod ljudi, i da se ne smeju mešati sa sredstvima za zaštitu bilja na bazi bakra.

***Bacillus licheniformis* izolat SB3086** se koristi za suzbijanje raznih gljivičnih oboljenja među kojima su *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Cercospora* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia* spp., *Phytophthora* spp., prouzrokovala rđe i pepelnice. Koristi se u zaštiti ukrasnih biljaka, travnjaka, golf terena, četinarara kako na otvorenim mestima tako i u staklenicima i plastenicima. Preparati na bazi ove bakterije ne mogu se koristiti u zaštiti biljaka koje se koriste za ishranu. Dobija se fermentacijom, a fomuliše se kao koncentrovani rastvor. Skladištenje se vrši na hladnim, suvim mestima. Vitalnost preparata se u ovakvim uslovima održi do godinu dana.

***Bacillus mycoides* izolat J** je izolat koji povoljno utiče na stečenu otpornost biljaka. Ovaj izolat korišćen je u eksperimentalnom programu za zaštitu šećerne repe od prouzrokovala sive pegavosti (*Cercospora beticola*) u Montani, SAD. Do sada nije bilo slučajeva toksičnosti kod ljudi i nema nikakvih dokaza da je štetan po neciljane organizme i životnu sredinu. Može da se koristi u organskoj proizvodnji.

***Bacillus pumilus* izolat GB34** je relativno prisutan u zemljištu i biljnom tkivu koje je u fazi raspadanja. Koristi se za suzbijanje fitopatogenih gljiva, kao što su *Pythium* spp. i *Rhizoctonia* spp. Inkompatibilan je sa jakim bazama, kiselinama, oksidansima i hlorisanom vodom. Nije toksičan po

nećiljane organizme i životnu sredinu. Može se koristiti u organskoj proizvodnji.

***Bacillus pumilus* izolat QST 2808** se javlja u zemljištu svugde u svetu i koristi se u komercijalne svrhe jer suzbija veliki broj ekonomski štetnih gljivičnih i bakterijskih patogena biljaka. Koristi se u zaštiti voća, povrća, žitarica i dr. Primenuje se folijarno, a može biti formulisana u obliku kvašljivog praška (WP) i koncentrovane suspenzije (SC). Može se primenjivati sa hemijskim pesticidima ali je inkompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nije toksičan za ljude i može se koristiti u organskoj proizvodnji.

***Burkholderia cepacia* izolat Winsconsin** je često deo rizosfere gajenih biljaka. Agresivno kolonizuje koren mnogih biljaka i dobar je u suzbijanju raznih fitopatogenih gljiva i nematoda. Koristi se u usevima lucerke, ječma, pasulja, deteline, pamuka, graška, sirka, raznom povrću i pšenici. Formulisan je kao prašivo (DP). Može se primenjivati sa mnogim pesticidima ali nije poželjno koristiti ove preparate u kombinaciji sa preparatima na bazi bakra. Skladištenje se vrši u hladnim i suvim uslovima te će prašivo biti biološki aktivno godinu dana. Ovi preparati mogu izazvati iritaciju očiju kod ljudi i nisu toksični po zdravlje ljudi. Koristi se u organskoj proizvodnji.

***Pseudomonas aureofaciens* izolat IB51** je rizosferična bakterija, odnosno aktivna materija preparata Elena koji se primenuje za zaštitu ozimog i jarog ječma od prouzrokovala fuzariozne truleži (*Fusarium graminearum*) i plesnavosti semena. U nekim ispitivanjima ovaj preparat se pokazao kao dobar u zaštiti semena od *Alternaria* spp., pozitivno je delovao na energiju klijanja i klijavost semena.

***Pseudomonas aureofaciens* izolat Tx-1** se koristi za suzbijanje *Sclerotinia homeocarpa*, *Pythium aphanidermatum* i *Microdochium nivale* na travnjacima, golf terenima i raznim travnatim površinama. Dobija se fermentacijom. Skladištenje se vrši u frižiderima. Rok trajanja preparata je najmanje 4 meseca. Preporučuje se da se preparat primenuje sam. Inkompatabilan je sa raznim preparatima pogotovo ako su na bazi bakra,

jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nije toksičan po zdravlje ljudi i nije štetan po životnu sredinu.

Pseudomonas fluorescens se koristi za suzbijanje fitopatogenih gljiva i bakterija kao što su *Erwinia amylovora*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. i *Pseudomonas tolaasii*. Koristi se u zaštiti voćaka, uglavnom krušaka i jabuka, zatim, u usevima pamuka, krompira, paradajza. Može se koristiti i u zaštiti pečuraka. Aplikacija se vrši folijarno. Preparat je biološki aktivan godinu dana. Inkompatibilan je sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nisko je toksičan po zdravlje sisara i nije štetan po životnu sredinu.

Pseudomonas chlororaphis izolat 63-28 je izolovan iz zdravih biljaka uljane repice. Koristi se za suzbijanje raznih fitopatogenih gljiva koje se javljaju u zemljištu i napadaju seme. Formulisan je kao WP. Nije toksičan po zdravlje ljudi. Može se primenjivati u organskoj proizvodnji.

Pseudomonas syringe izolat ESC-10 i ESC-11 se koriste u zaštiti jabuke, kruške, limuna, narandži, grejpa i nekih vrsta povrća. Preparati na bazi ove bakterije su formulisani u vidu peleta. Nisu toksični po zdravlje ljudi. Preporučljivo je da se preparati primenjuju sami. Inkompatibilan je sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Može se koristiti u organskoj proizvodnji.

4.4. Biofungicidi na bazi biljnih produkata, etarskih ulja i biljnih ekstrakata

Alicin - je isparljiva supstanca koju oslobađaju ćelije luka, nakon oštećenja. To je mešavina aliina (podloga) i aliin-liaze (biljni enzim), te se kao takva izoluje iz biljke *Allium* sp. Utvrđena je njegoa visoka efikasnost, folijarnim tretiranjem u suzbijanju prouzrokovala oboljenja na žitima, a posebno za *Mycosphaerella graminicola*, *Bipolaris sorokiniana*, *Pyrenophora tritici-repentis* i *Fusarium oxysporum* (Perelló, 2011). Njegovim delovanjem dolazi do inhibicije klijanja spora i razvoja micelije gljiva, zbog povećanja propustljivosti ćelijskih membrana. Njegov najvažniji fungicidni efekat je

inaktivacija tiol enzima, i na taj način sprečava razmenu tioldisulfida sa slobodnim tiol grupama.

Berberin - je biljni alkaloid, izolovan iz rizoma biljke *Berberis aristata*. Dokazano da deluje kao fungicid i herbicid. U *in vivo* ogleđima, potvrđena je efikasnost prema sledećim patogenima: *Erysiphe graminis*, *Leptosphaeria nodorum*, *Phytophthora infestans* i *Puccinia recondita*. U *in vitro* ogleđima, potvrđena je inhibicija razvoja sledećih gljiva: *Leptosphaeria nodorum*, *Septoria tritici*, *Rizoctonia solani*, *Phytophthora infestans*, *Ustilago maydis*. Ovaj alkaloid dovodi do inhibicije klijanja spora kod sledećih fitopatogenih gljiva: *Mucor*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Uromyces*, *Ustilago*, koje su pokazali visoku osetljivost pri visokim koncentracijama ovog alkaloida.

Karvakol ili cimofenol - je monoterpenski fenol zastupljen u mnogim esencijalnim uljima, a najviše u etarskom ulju origana (*Origanum vulgare*), žutog kedra sa Aljaske - (*Chamaecyparis nootkatensis*), majorana (*Origanum majorana*) i timijana - majčine dušice (*Thymus vulgaris*), u kojima čini i njihovu biološki najaktivniju komponentu. Posедуje fungicidni, akaricidni i insekticidni efekat u zaštiti bilja, a poznata je i njegova primena u humanoј medicini. Izraženo fungicidno delovanje je postignuto esencijalnim uljem origana u inhibiciji porasta *Mucor piriformis* (Grahovac i sar., 2011). Prema navodima Arras i Usai (2001), ulje *T. vulgaris* pokazalo je snažno fungicidno delovanje na patogene uskladištenog paradajza i na *Alternaria citri*, uticajem na klijanje spora. Osim ovih, etarsko ulje timijana je ispoljilo delovanje na sledeće biljne patogene: *Penicillium* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *pisi*, *Verticillium* sp. i *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, gde je došlo do delimične ili potpune inhibicije porasta micelije ovih biljnih patogena (Tanović i sar., 2004). Dokazan je i uticaj gasne faze ovog etarskog ulja, gde je došlo do potpune inhibicije spora *Botrytis cinerea* *in vitro*. Za ovo etarsko ulje utvrđena je i minimalna koncentracija inhibicije (Minimum Inhibitory Concentration - MIC) koja kod većine patogena iznosi 800 µl/l, a na klijancima nisu primećeni fitotoksični efekti u testu klijavosti (Grahovac i sar., 2009). Takođe se navodi da etarsko ulje timijana i origana značajno inhibira porast micelije gljive *Colletotrichum* spp. u laboratorijskim uslovima (Grahovac et al., 2012).

Ostol - je kumarinska komponenta, izdvojena iz suvih plodova biljaka *Cnidii monnieri*, i *Angelica pubescens*, fam. Apiaceae. Ove biljke se, zbog navedene kumarinske komponente, odlikuju specifičnim mirisom na pokošeno seno. U samim biljkama, ova komponenta prilično stimulatивно utiče na porast korena i nadzemnog dela biljke. U medicini su poznate antialergijske, antiosteopatske i antiinflamatorne (protiv zapaljenja) aktivnosti ove biljne komponente, dok je u zaštiti biljaka zabeležena njegova antifungalna aktivnost. Fungicidni efekat je uočen za *Alternaria alternata*, *A. ergillus* i *Cryptococcus neoformans* (gljive koje mogu da žive i u biljnom i životinjskom organizmu). Visoka fungicidna aktivnost je utvrđena i kod *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum mllsae*, *Phytophthora capsici* i kod ostalih fitopatogenih gljiva. Zabeležena je efikasnost ove supstance u suzbijanju prouzrokovača plamenjače krastavaca (*Sphaerotheca fuliginea*) i tikava (*Cucurbita moschata*) (Zhiqi et al., 2007).

Sanguinarin - biljni alkaloid koji pripada grupi izohinolinskih alkaloida, odnosno podgrupi tetrasupstituisanih benzofenantridinskih alkaloida, izolovanih iz biljaka fam. Papaveraceae – *Chelidonium majus* (u korenu), *Sanguinaria canadensis* (u rizomima) i *Macleaya cordata* (nadzemni deo biljke). Ove biljke u svom organizmu sadrže veliki broj alkaloida, čiji se hemijski sastav i koncentracija razlikuju tokom vegetacionog perioda, a sadržaj alkaloida tokom godine može dostići i do 4%. Od mnoštva izolovanih alkaloida, najzastupljeniji su heleritrin, sanguinarin (približno 1%) i helidonin (oko 0,8%). U medicini je poznat njihov analgetički i antikancerogeni efekat. Dokazano je da etanolni ekstrakti ove biljke imaju i izvesna fungicidna svojstva, te inhibitorno deluju na micelije *Botrytis cinerea*, *Sclerotium tuliparum* i na gljive iz roda *Coniothyrium*.

Santonin - biljni alkaloid izolovan iz cvetnih glavica biljke *Artemisia maritima*. Utvrđeno je da ova supstanca ima inhibitorno delovanje na klijanje i razvoj spora kod različitih gljiva. Takođe, kombinacijom ovog alkaloida sa berberinom (alkaloid izolovan iz rizoma *Berberis aristata*) postiže se zadovoljavajući efekat inhibicije gljiva iz roda *Helminthosporium*, dok su gljive iz ovog roda pokazale smanjenu osetljivost na pojedinačno delovanje ove dve komponente. Santonin je pokazao visoku efikasnost u inhibiciji klijanja spora kod gljiva iz roda *Heterosporium*, kao i kod *Alternaria brassicae* i *Colletotrichum capsici* (Singh et al., 2001).

Ulje čajnog drveta (*Melaleuca alternifolia*) - Nespecifični fungicid sa protektivnim delovanjem. Preparat (Timorex gold) na bazi ulja čajnog drveta je registrovan u R. Srbiji u obliku koncentrata za emulziju (EC). Koristi se za suzbijanje prouzrokovača sive truleži (*Botrytis cinerea*) na jagodi, malini, vinovoj lozi, krastavcu i šećernoj repi, prouzrokovača pepelnice na platanima, kao i za suzbijanje prouzrokovača bakterioza na paradajzu i paprici. Ulje čajnog drveta je štetno ako se proguta, izaziva iritaciju kože, može da izazove alergijske reakcije na koži. Dozvoljena je primena u organskoj poljoprivredi.

Osim kod napred navedenih, dokazan je fungicidni efekat etarskih ulja izolovanih iz mnoštva drugih biljaka (Slika 10). Na primer, etarsko ulje iz cvetnih pupoljaka karanfilića ispoljava fungicidno dejstvo na *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Botrytis* sp. i *Septoria* sp. (Soatthiamroong at al., 2003), ulja citronele i cimeta ispoljila su fungicidnu aktivnost na *Fusarium moniliforme*, a efikasnim se pokazalo i ulje žalfije u suzbijanju *B. cinerea*.



Slika 10. Etarska ulja, primena u zaštiti bilja⁸

Utvrđeno je da etarska ulja nane (*Menta piperita*), bosiljka (*Ocimum basilicum*), ruzmarina (*Rusmarinus officinalis*), timijana (*Thymus vulgaris* L.) i čajnog drveta (*Melaleuca alternifolia*), u različitim koncentracijama delimično ili potpuno inhibiraju porast biljnih patogena *Pythium* sp.,

Rhizoctonia sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *lisi*, *Verticillium* sp. i *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (Tanović et al., 2004). Određen je uticaj gasovite faze etarskih ulja 18 vrsta biljaka (anisa, bergamota, belog bora, bosiljka, cimeta, eukaliptusa, geranijuma, karanfilića, kleke, lavande, limuna, pitome nane, morača, pomorandže, ruzmarina, timijana, čajnog drveta i bora) na porast *B. cinerea*, *Colletotrichum acutatum* i *Phomopsis obscurans* u ogledima *in vitro* (Tanović et al., 2012). Etarska ulje timijana i origana su ispoljila letalan efekat na *C. acutatum*, *P. obscurans* i *B. cinerea*. Ulje cimeta je ispoljilo fungicidni efekat na *B. cinerea*, dok su ostala etarska ulja ispoljila veoma nisku antifungalnu aktivnost.

5. BIOINSEKTICIDI

BIOPESTICIDI

Od najstarijih vremena insekti predstavljaju opasnost za poljoprivrednu proizvodnju. Usled nedosledne primene i izvođenja organizacionih i agrotehničkih mera, kao i usled klimatskih promena, često dolazi do pojave i prenamnožavanja štetnih insekata. Smatra se da je 1-2% od ukupnog broja poznatih insekata štetno, dok su ostale vrste korisne i imaju značajnu ulogu u agrobiocenozi (Kereši i sar., 2018). Štetni insekti smanjuju prinos i kvalitet poljoprivrednih proizvoda i predstavljaju važan ograničavajući faktor u biljnoj proizvodnji. U toku svoje duge istorije čovek je primenjivao različita sredstva i metode u borbi protiv štetnih insekata. Stari Grci su koristili razna sredstva za kontrolu štetnih insekata, kao što su sumpor i arsen. Razvoj insekticida otpočinje u XIX veku. Najpre su se koristila sredstva biljnog i neorganskog porekla (olovo-arsenat, mineralna-parafinska ulja, nikotin, piretrin, rotenon, sumpor, cijan-vodonik), a početkom XX veka otkrićem DDT-a (dihlor-difenil-trihloretana) započinje nova era, primena sintetskih insekticida i novog koncepta u suzbijanju insekata i zaštiti bilja uopšte. Tokom 40-tih godina prošlog veka pored DDT, sintetisana su i druga organohlorna jedinjenja, a ubrzo zatim se javljaju i organofosforni i karbamatni insekticidi. Izučavanjem strukture aktivnih supstanci u prirodnim proizvodima (piretrin), sintetizovana su jedinjenja slične strukture, sintetisani piretroidi koji se od 70-tih godina prošlog veka intenzivno primenjuju. Takođe jedna značajna hemijska grupa insekticida koja je uvedena u primenu 90-tih godina XX veka su neonikotinoidi. Pored navedenih, najznačajnijih grupa insekticida, sintetisana su i brojna druga jedinjenja, ali se u poslednje vreme sve više pojavljuju insekticidi koji se dobijaju biotehnoškim metodama, kultivisanjem određenih vrsta mikroorganizama.

U poslednjih 50 godina, u zaštiti bilja u odnosu na ostale grane (ratarstvo, povrtarstvo, voćarstvo i druge) poljoprivrede, učinjen je najveći napredak i s pravom se može reći da je najdinamičnija, međutim ne treba izgubiti iz vida i neke od posledica koje su nastale aktivnostima u pomenutoj grani. Danas su posledice primene pesticida nedvosmisleno definisane, kao što je rezistentnost kod nekih suzbijanih štetnih vrsta na često primenjivana jedinjenja, ostaci pesticida u vodi, zemljištu, poljoprivrednim proizvodima, kontaminacija životne sredine. Rezistentnost insekata (otpornost ili tolerantnost prema nekom otrovnom jedinjenju), pogotovo od uvođenja organskih insekticida (sredstva za suzbijanje štetnih insekata) u primenu, neprestano raste. Godine 1954. registrovano je 25 vrsta insekata koji su stekli rezistentnost, 1963. godine 159 vrsta, 1986. godine 400, a 2012.

godine je potvrđeno da su 574 vrste razvile rezistentnost na 338 pesticidnih jedinjenja. U najvećem broju su to vrste koje se javljaju u poljoprivrednoj proizvodnji (65%). Rezistentnost je evidentirana i kod predatora (prirodni neprijatelji štetnih vrsta), parazitoida (paraziti štetnih vrsta) pa i kod polinatora (pčele, bumbare i drugi značajni oprašivači biljaka).

S obzirom na neophodnost upotrebe pesticida u poljoprivrednoj proizvodnji sa jedne strane i negativnih efekata koje pesticidi imaju po zdravlje ljudi i životnu sredinu sa druge, neophodan je razvoj metoda kontrole brojnosti štetočina koje će predstavljati efikasnu alternativu upotrebi pesticide, a jedna od njih je upotreba bioinsekticida.

Bioinsekticidi su sredstva koja se koriste za suzbijanje štetnih insekata u poljoprivredi, pri čemu ne predstavljaju opasnost za ljude, životinje i životnu sredinu. Upotreba prirodnih jedinjenja kao insekticida bila je poznata i u XVII veku kada je biljni ekstrakt nikotina korišćen za suzbijanje šljivinog tvrdokrilca (*Conotrachelus nenuphar*) i drugih štetočina (BPIA, 2017), dok su 1835. godine vršeni eksperimenti sa primenom gljive *Beauveria bassiana* u cilju suzbijanja štetočina iz reda Lepidoptera (Dara et al., 2018). Početak XX veka, kada dolazi do ekspanzije istraživanja u oblasti poljoprivrede, obeležila je primena bakterije *Bacillus thuringiensis* (Bt) kao bioinsekticida, koji do danas drži status najzastupljenijeg insekticida biološkog porekla (Ibrahim et al., 2010). U protekloj deceniji rad na istraživanju i primeni bioinsekticida sve više dobija na značaju, potenciranjem integralne i organske poljoprivredne proizvodnje.

Bioinsekticidi kao aktivnu supstancu u svom sastavu sadrže živi organizam (makro ili mikrobiološki agens) ili prirodnu supstancu (Chandler et al., 2011). Pored direktnog, biološki aktivan agens može da ispoljava i delovanje preko produkata metabolizma (toksini, kristali i antibiotici), ili ispoljavanjem pozitivnog uticaja na povećavanje otpornosti biljke (Copping and Menn, 2000).

Biološki aktivni agensi mogu biti gljive, bakterije, virusi, biljni ekstrakti i etarska ulja, parazitoidi, kao i aktinomicete, nematode i drugi (Chandler et al., 2011; Madduri et al., 2001; cit. Bošković i sar., 2018).

Značajna je podela bioinsekticida zavisno na koji stadijum razvoja insekata ispoljavaju primarno delovanje. Tako je poznato da najveći broj bioinsekticida dobro deluje na stadijum larvi (larvicidno delovanje), ili na stadijum imaga ili adulte (adulticidno delovanje), ređe na stadijum jaja (ovicidno delovanje) ili još ređe na stadijum lutke (pupicidno delovanje).

Veoma značajna podela bioinsekticida je i prema načinu delovanja na insekte:

- kontaktno delovanje (usvajaju se preko telesnog omotača insekta-integumenta, odnosno preko kutikule),
- digestivno delovanje (usvajaju se preko digestivnog trakta putem hrane),
- inhalaciono delovanje, preko organa za disanje,
- repelentno (odbijajuće),
- regulatori razvoja.

Efekti delovanja bioinsekticida su često repelentni, to jest da odbiju insekte ili ih odvrate od ishrane, a samim tim i od oštećivanja gajenih biljaka. Dok je ishod insekticidnog delovanja bioinsekticida na insekte, prestanak ishrane, paraliza (nekordinirani pokreti, nemogućnost kretanja, ishrane) i uginuće.

U Republici Srbiji registrovani su sledeći bioinsekticidi: Naturalis Biogard (*Bauveria bassiana*), Lepinox plus, Forey 48 B (*Bacillus turigiensis* subsp. *kurstaki*), Carpovirusine evo 2 (*Cydia pomonella granulovirus (CpGV-R5)*), Madex twin (*Cydia pomonella granulovirus (CpGV-V22)*) (mikrobiološki) i Ozoneem Trishul 1% EC (azadirahthin) (biohemijski) (Anonymus, 2021).

5.1. Bioinsekticidi na bazi gljiva

Postoji više od 500 vrsta entomopatogenih gljiva. Entomopatogene gljive se navode kao najrašireniji organizmi koji se koriste za suzbijanje štetnih insekata. Pojedine vrste imaju širok raspon domaćina (više od stotinu), dok su, s druge strane, pojedine visokospecifične za određene insekte (Sinha et al., 2016). Neke od najčešće korištenih entomopatogenih gljiva su *Bauveria bassiana* i *Metharhizium anisopliae*, koje parazitiraju na vrstama iz reda Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Homoptera i Hymenoptera. Osnovni

princip prema kojem se odvija proces suzbijanja štetnih insekata je sposobnost spora entomopatogenih gljiva da, kada dođu u kontakt s insektom, klijaju i hifama probijaju kutikulu te tako izazivaju smrt koja je povezana s otpuštanjem toksina.

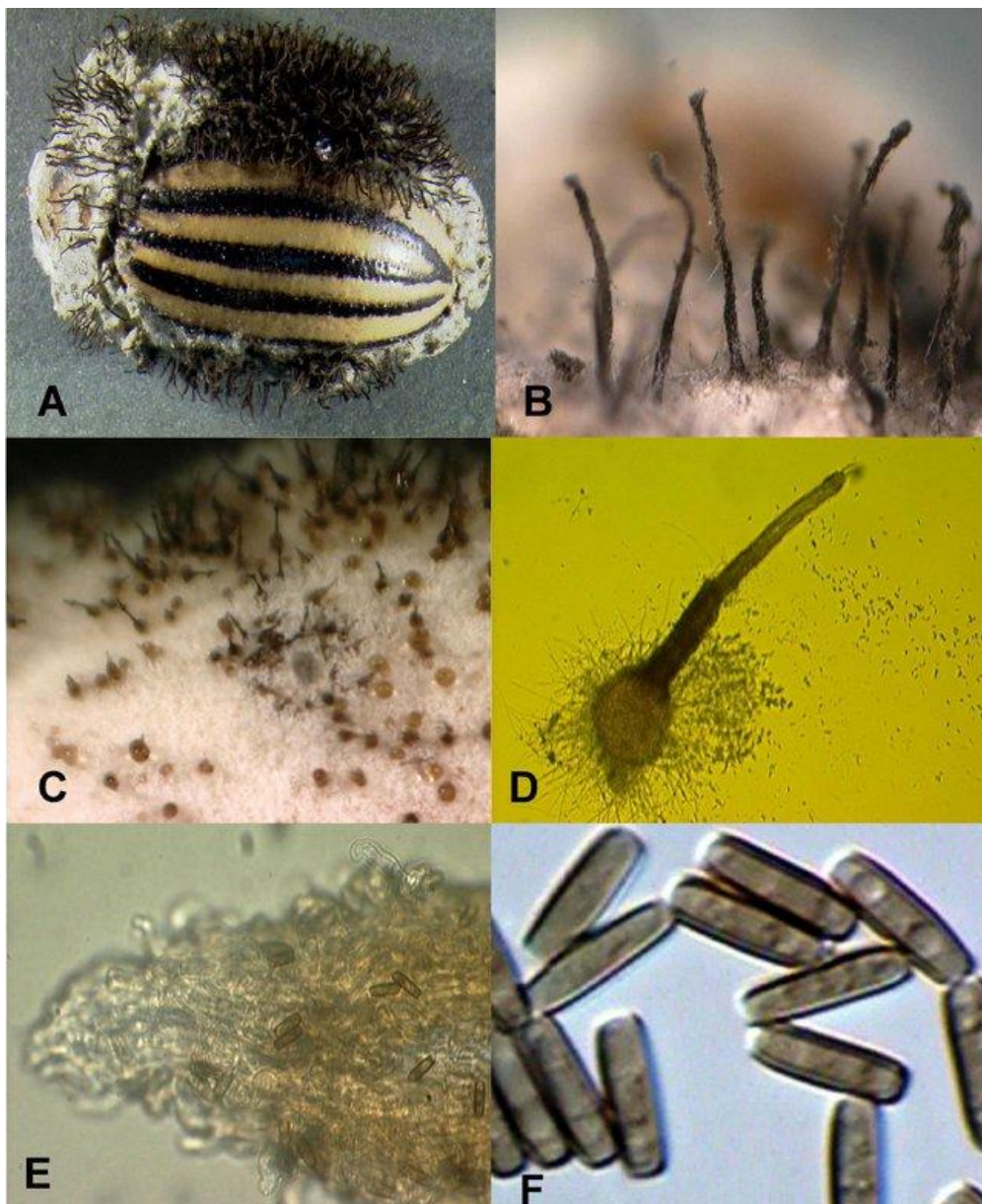
Beauveria bassiana – izolat je dobijen od zaraženih larvi kukuruznog plamenca (*Ostrinia nubilalis*). Proizvodi se fermentacijom u čvrstom stanju na glinenim granulama kao i naknadnom ekstrakcijom konidija. Izolat Bb 147 se preporučuje za suzbijanje kukuruznog plamenca (*Ostrinia nubilalis*).

Ostali izolati se mogu koristiti u suzbijanju muva, tripsa, vaši, krompirove zlatice i niza štetočina iz reda Coleoptera i Hemiptera. Izolat Bb 147 se preporučuje za upotrebu u usevu kukuruza u Evropi, izolat GHA se koristi u povrću i ukrasnom bilju, a izolat ATCC 74040 koristi se u zaštiti travnjaka i ukrasnih biljaka. U Srbiji je registrovan preparat (Naturalis Biogard) na bazi *B. bassiana* za suzbijanje crvene voćne grinje (*Panonychus ulmi*) u zasadima jabuke. Mehanizam delovanja se zasniva na tome da patogen napada telo insekata, konidije se vežu za kutikulu insekata i nakon klijanja hife prodiru kroz kutikulu i razmnožavaju se u telu insekata (Slika 11 i 12).



Slika 11. Stenice zaražene gljivom *Beauveria bassiana*⁹

Visoka vlažnost ili voda su neophodni za klijanje konidija, a infekcija može trajati između 24 i 48 sati, u zavisnosti od temperature. Zaraženi insekt može da živi 3 do 5 dana nakon prodora hifa. Koristi se folijarno.



Slika 12. (A) Imago krompirove zlatice zaražen gljivom *B. bassiana*, koja je takođe zaražena od strane *Syspastospora parasitica*; (B) Uvećane peritecije *S. parasitica*; (C) Peritecija koja raste na *B. bassiana*; (D) Secirani peritecijum sa oslobođenim askosporama; (E) Askospore; (F) Uvećane askospore (Posada et al., 2004)

Preparati na bazi *Beauveria bassiana* se mogu koristiti sami ili sa dodatkom nepesticidnih materija. Ne sme se mešati sa fungicidima, kao i nakon

primene fungicida, sačekati 48 sati pa tek onda primeniti preparat na bazi *B. bassiana*. Nekompatibilni sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Ne deluje toksično na sisare, moguće nadražajno delovanje za oči, kožu i respiratorni sistem. Na medonosne pčele nema značajan efekat.

Metharhizium anisopliae – entomopatogena gljiva koja se često javlja u prirodi i usko je povezana sa mrtvim insektima. Ova gljiva je izolovana iz mrtve skočibube *Nilaparvata lugens* (Stal.). Izolat je efikasan u suzbijanju većeg broja štetnih vrsta iz reda Coleoptera i Lepidoptera. Neki preparati mogu da se koriste i za suzbijanje termita i bubašvaba. Može se primenjivati u raznim usevima, uključujući povrće uzgajano u staklenicima i ukrasno bilje. Primenjuje se folijarno. Napada insekte tako što prodire kroz kutikulu i ulazi u hemolimfu. Zaraženi insekti ostaju prilepljeni za usev gde se oslobađaju dodatne spore, a samim tim se održava visok nivo infektivnog materijala na usevu. Patogen napada i imobilise insekta u roku od 2 dana, a smrt nastupa nakon 7 do 10 dana. Koristi se samostalno, nekompatibilan je sa fungicidima, jakim oksidansima, kiselinama i bazama, kao i sa hlorisanom vodom. Nema dokaza o alergijskim ili drugim štetnim, toksikološkim posledicama na sisare. Široko je rasprostranjena u prirodi i ne očekuje se da ima negativne efekte na neciljane organizme ili životnu sredinu.

Paecilomyces fumosoroseus – gljiva izolovana iz zaraženih insekata širom sveta, a prvenstveno iz *Phenacoccus solani* Ferris štetočine pamuka. Takođe izolovana je iz jedinki običnog paučinara (*Tetranychus urticae*). *P. fumosoroseus* se proizvodi fermentacijom i predstavlja skup spora, formulisan u obliku vododisperzibilnih granula (WG) i prašiva (DP). Koristi se za suzbijanje bele leptiraste vaši (*Trialeurodes vaporariorum*) i leptiraste vaši duvana (*Bemisia tabaci*). Takođe pokazuje određenu aktivnost protiv lisnih vaši, tripsa i grinja. Preporučuje se za upotrebu u različitim usevima u staklenicima i na otvorenom polju. Mehanizam delovanja se ogleda u tome da spore ove gljive kličaju na telu, a zatim prodiru kroz kutikulu insekta i naknadno rastu unutar hemolimfe i drugih zaraženih tkiva. Sporulacija potekla od mrtvih jedinki dovodi do infekcija epidemijskih razmera. *Paecilomyces fumosoroseus* ne može da raste i da se razvija na temperaturama višim od 32 °C. Ovaj patogen ne proizvodi mikotoksine. Formulirani preparat treba čuvati u suvim uslovima u frižideru na 4 °C. Ako

se skladišti pod pravilnim uslovima, formulisani preparat će ostati biološki aktivan više od 6 meseci. Ne može se mešati niti primenjivati kombinovano sa fungicidima. *Paecilomyces fumosoroseus* ne zaražava korisne insekte ili insekte parazite i predatore. Nekompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nije toksičan za radnike u proizvodnji ili korisnike. Bezopasan za neciljane organizme, uključujući predatorske i korisne insekte, sisare i ptice. To je zemljišna gljiva koja je široko rasprostranjena u prirodi i ne očekuje se da ima negativan uticaj na životnu sredinu. Preparati na bazi ove entomopatogene gljive su odobreni za upotrebu u organskoj proizvodnji.

***Lecanicillium lecanii* (*Verticillium lecanii*)** - prvobitno izolovana iz vaši, *Macrosiphoniella sanborni*, a zatim iz jedinki bele leptiraste vaši (*Trialeurodes vaporariorum*). Treći izolat je izolovan iz tela lisnih vaši (*Aphis gossipi* i *Bemisia tabaci*). Izolati *Lecanicillium lecanii* se gaje na sterilnoj podlozi, a zatim se spore ove gljive prikupljaju i suše. Koristi se za suzbijanje lisnih vaši, bele leptiraste vaši, štitaštih vaši i tripsa. Koristi se u povrću, ukrasnom bilju, usevima uljarica i mahunarkama. Mehanizam delovanja *L. lecanii* se zasniva na razgradnji kutikule insekta, sa naknadnim rastom gljive u hemolimfi i tkivu. Ponovna sporulacija poreklom iz mrtvih insekata može dovesti do infekcije epidemijskih razmera. *Lecanicillium lecanii* je entomopatogena gljiva koja svoj efekat ispoljava invazijom živog insekta. Spore se lepe za kutikulu insekta i pod idealnim uslovima klijaju, stvarajući klicinu cevčicu koja fizičkim i enzimskim procesima prodire u kutikulu insekata domaćina, a zatim napada hemolimfu i druga tkiva (Slika 13). Gljivične hife se razvijaju u insektu, a sporulacija se odvija kroz kutikulu živog ili mrtvog insekta, stvarajući infektivne spore za nastavak epidemije. Proizvodi se u obliku kvašljivog praška (WP). Uobičajeno je nanošenje preparata u velikoj zapremini u prisustvu ciljnih štetočina insekata. Širenje ovog patogena je najveće u uslovima visoke vlažnosti. Preparati na bazi ove gljive ne izazivaju fitotoksičnost. Preparat je stabilan na 4 °C do 6 meseci. Prilikom mešanja sa drugim preparatima voditi računa, jer je ovaj patogen osetljiv na neke fungicide, posebno na ditiokarbamate. Nekompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nema dokaza akutne ili hronične toksičnosti, infektivnosti ili preosetljivosti za sisare. *Lecanicillium lecanii* je gljiva koja je široko rasprostranjena u prirodi i nije patogena za neciljane vrste. Nema štetnih efekata na životnu sredinu. Odobrena za upotrebu u organskoj poljoprivredi.



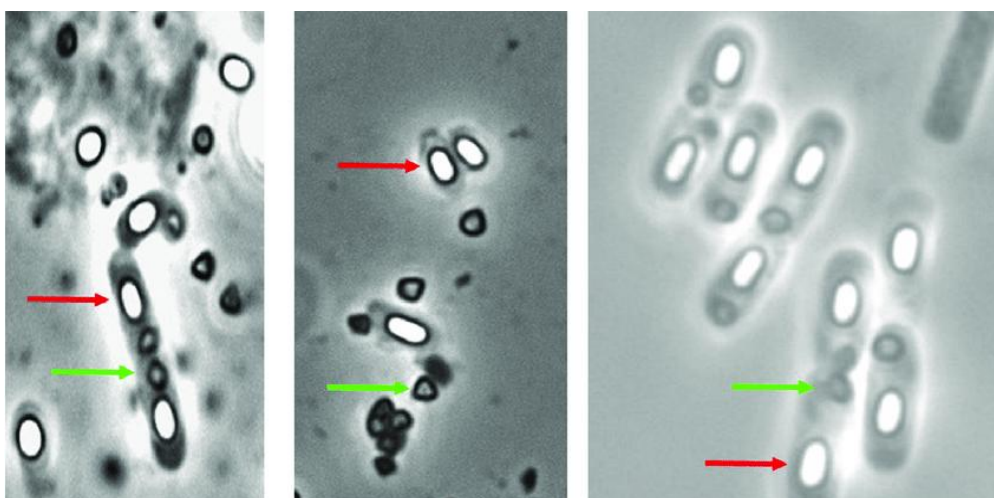
Slika 13. Entomopatogena gljiva *Verticillium lecanii* na biljnim vašima¹⁰

5.2. Bioinsekticidi na bazi bakterija

Komercijalno najuspješnijim biopesticidima smatraju se preparati na bazi bakterija. Navedeni agensi gutanjem tj. ishranom dospevaju u digestivni sistem insekata te pritom dolazi do otpuštanja toksina i drugih patogenih faktora koji uzrokuju proliferaciju digestivnog trakta i dovode do sepse (Glare et al., 2017). Prvi simptomi su prestanak ishrane, a nakon nekog vremena dolazi do smrti insekata. Bakterije koje se najčešće koriste kao aktivne komponente bioinsekticida su navedene u nastavku teksta.

Bacillus thuringiensis - *Bacillus thuringiensis* je gram-pozitivna bakterija koja tokom formiranja spora (Slika 14), stvara kristalne proteine i citolitičke (Cit), poznati su i kao delta-endotoksini. Kristalni proteini proizvedeni od različitih sojeva *B. thuringiensis* imaju vrlo značajnu toksičnost za ciljni organizam. Štaviše, oni imaju visoku specifičnost prema ciljnim organizmima koji uključuju insekte iz reda Lepidoptera, Coleoptera, Diptera i neke nematode.

Do danas je u Sjedinjenim Državama registrovano preko 200 preparata na bazi *B. thuringiensis*. Izolati *Bacillus thuringiensis* (subsp. *kurstaki*, *tenebrionis*, *israelensis*, *morrisoni*, *aizawai*) se mogu veoma efikasno koristiti za suzbijanje insekata iz reda Coleoptera (krompirova zlatica (*Leptinotarsa decemlineata*)), Lepidoptera (kukuruzni plamenac (*Ostrinia nubilalis*), kupusni moljac (*Plutella xylostella*), sovica (*Spodoptera* sp., *Heliothis* sp.), pamukova sovica (*Helicoverpa* sp.) i kupusari (*Pieris* sp.)). Izolat *B. t.* subsp. *israelensis* se koristi samo za suzbijanje insekata iz reda Diptera (u suzbijanju komaraca), dok *B. t.* subsp. *japonensis* suzbija zemljišne štetočine iz reda Coleoptera. Kod nas su registrovana dva preparata na bazi *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* i to preparat Foray 48 B (SC) i Lepinox plus (WP). Koriste se za suzbijanje gubara (*Lymantria dispar*), malog mrazovca (*Operophtera brumata*) i zelenog hrastovog savijača (*Tortrix viridana*) u šumama i za suzbijanje pamukove sovice (*Helicoverpa armigera*) u usevu kukuruza i paradajza.



Slika 14. Mikrofotografije sojeva *B. thuringiensis* gledane fazno-kontrastnom mikroskopijom na kojima su prikazani parapolarni kristali (zelene strelice) insekticidnog toksina, koji su manje faznog sjaja od spora (crvene strelice) (EFSA, 2016)

Preparati na bazi ove bakterije deluju kao mikrobiološki disruptori membrane srednjeg creva insekata. Mehanizam delovanja se zasniva na tome da *B. thuringiensis* stvara proteinska, kristalna inkluzijska tela tokom sporulacije koja su insekticidna za larve iz reda Lepidoptera i Diptera, kao i

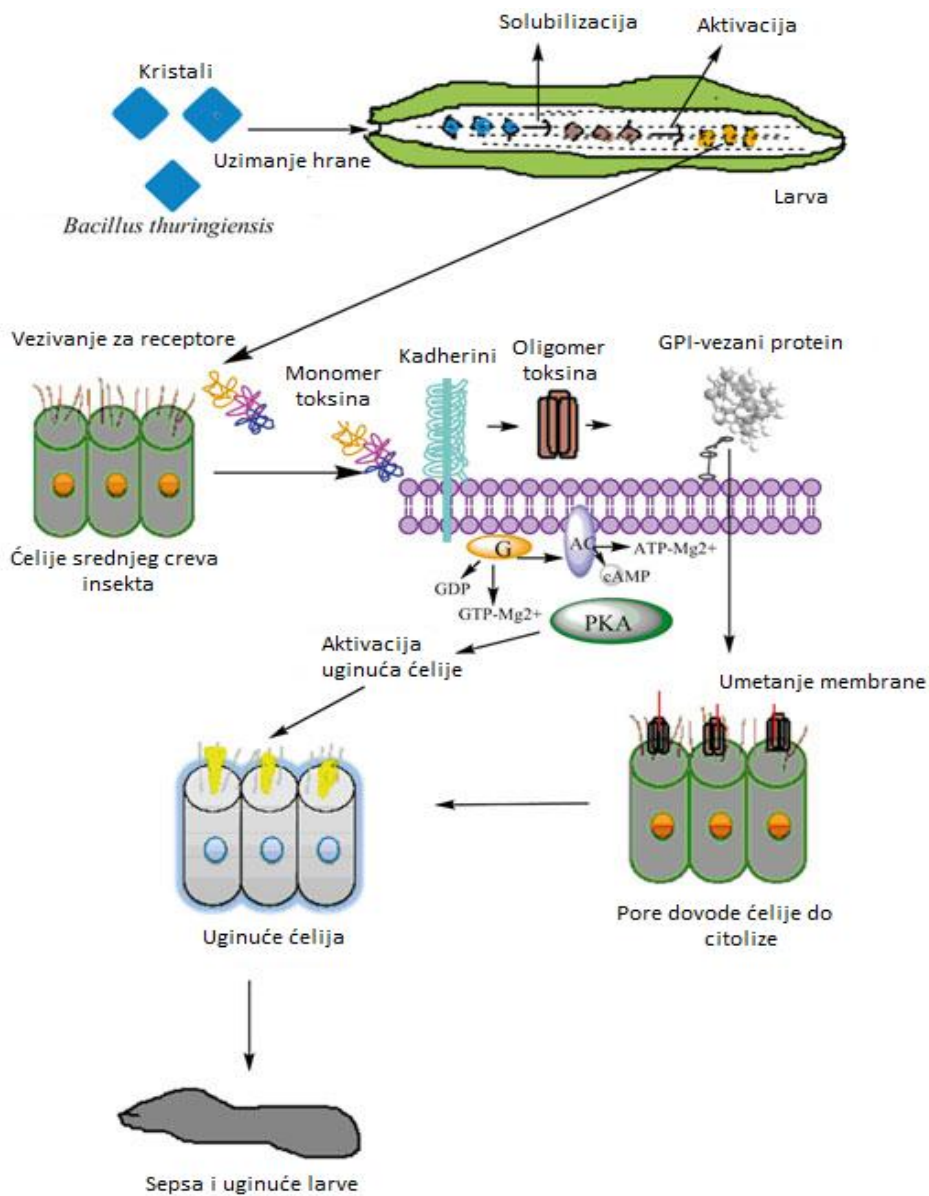
za larve i odrasle jedinke iz reda Coleoptera. Nakon unošenja u organizam kroz digestivni trakt, kristalni proteini se rastvaraju i prelaze u pro-toksine. Kada se Bt unese u organizam insekta, alkalni uslovi u crevima (pH 8-11) aktiviraju toksični protein (delta-endotoksin) koji se vezuje za receptorska mesta u srednjem crevu i stvara pore u ćelijama srednjeg creva. To dovodi do gubitka osmoregulacije, paralize srednjeg creva i lize ćelija. Sadržaj creva se izliva u telesnu šupljinu insekta (hemokoel), a hemolimfa u creva narušavajući pH ravnotežu. Bakterije koje uđu u telesnu šupljinu izazivaju septikemiju i moguću smrt insekta domaćina (Slika 15). Toksin zaustavlja ishranu, dovodi do uginuća mladih larvi pre svega od gladi. Insekti koji nisu uginuli usled direktnog delovanja toksina, mogu da uginu od bakterijske infekcije tokom perioda od 2 do 3 dana. Insekti pokazuju različite vrste odgovora na Bt toksine u zavisnosti od kristalnih proteina (delta-endotoksin), receptorskih mesta, proizvodnje drugih toksina (egzotoksina) i zahteva spora. Tipovi odgovora zasnivaju se na osetljivosti gusenica na Bt toksine i mogu biti sledeći:

Odgovor tipa I - Paraliza srednjeg creva se javlja u roku od nekoliko minuta nakon unosa delta-endotoksina. Simptomi uključuju prestanak hranjenja, povećanje pH hemolimfe, povraćanje, dijareju i tromost. Opšta paraliza i septikemija (trovanje krvi) javljaju se za 24-48 sati, što dovodi do smrti insekta. Primer insekata koji pokazuju odgovor tipa I je *Bombyx mori*.

Odgovor tipa II - Paraliza srednjeg creva se javlja u roku od nekoliko minuta nakon uzimanja delta-endotoksina, ali opšte paralize neće biti. Septikemija se javlja u roku od 24-72 sata. Primeri insekata koji pokazuju ovaj odgovor su: *Pieris sp.*, *P. xylostella*, *Heliothis maritima*.

Odgovor tipa III - Paraliza srednjeg creva nastaje nakon unosa delta-endotoksina, nakon čega sledi prestanak hranjenja. Insekt se može aktivno kretati jer neće doći do opšte paralize. Smrtnost nastupa za 48-96 sati. Veća smrtnost se javlja ako se spore unesu. Primeri insekata koji pokazuju ovaj odgovor su: *Ephestia kuehniella*, *Helicoverpa zea*, *Lymantria dispar*, *Choristoneura fumiferana*

Odgovor tipa IV - Insekti su prirodno otporni na infekcije, a stariji su manje podložni od mladih. Paraliza srednjeg creva nastaje nakon unosa delta-endotoksina, nakon čega sledi prestanak hranjenja. Insekt se može aktivno kretati jer neće doći do opšte paralize. Smrtnost nastupa za 72-96 ili više sati. Veća smrtnost se javlja ako se spore unesu. Primeri insekata su Elateridae.



Slika 15. Način delovanja Bt-toksina pri suzbijanju larvi Lepidoptera (Sengottayan Senthil-Nathan, 2015)

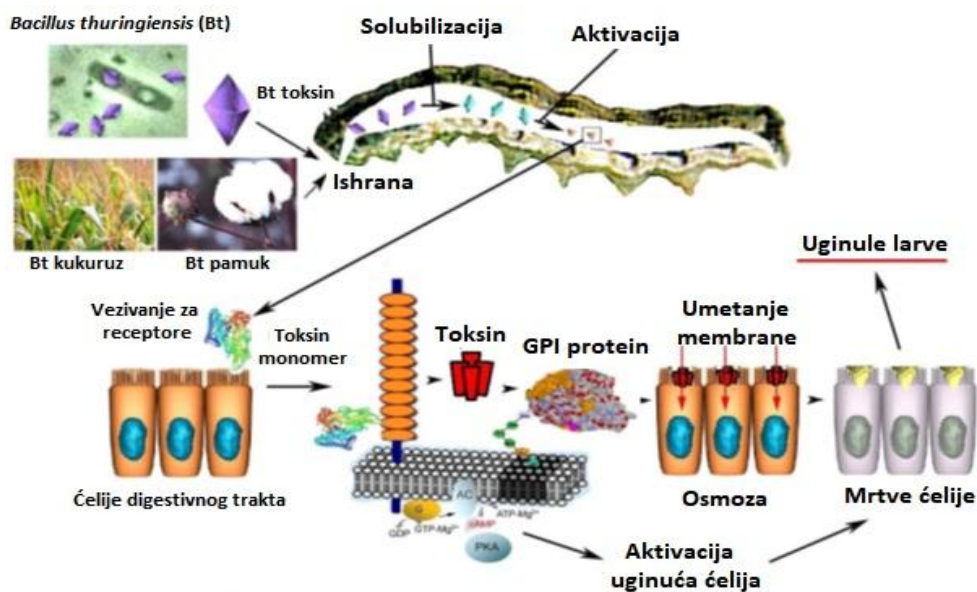
Za razliku od gusenica Lepidoptera, odgovor kod komaraca je drugačiji gde nakon unosa *Bt* subsp. *israelensis* delta-endotoksina, larva komaraca uquine u roku od 20-30 min.

Dok je *Bt* sa svojim toksičnim proteinima veoma efikasan kao biopesticid u suzbijanju većeg broja štetočina, prekomerna upotreba može dovesti do razvoja rezistentnosti. Genetski inženjering je dozvolio da se geni koji nose *Bt* toksine ubace u biljke poput kukuruza, pamuka, patlidžana, krompira i soje i time se smanjila potreba za tretiranjem pomenutih useva, pesticidima ili biopesticidima. Međutim, potrebne su odgovarajuće strategije upravljanja kako bi se smanjila otpornost insekata na *Bt* toksine u transgenim biljkama (Dara, 2017).

Bioinsekticidi na bazi *B. thuringiensis* se najčešće primenjuju folijarno ili preko sistema za navodnjavanje. Tretmani se izvode nakon piljenja larvi, može se primenjivati do dana pred žetvu ili berbu. Stabilnost preparata može predstavljati problem ukoliko je izložen jakom sunčevom zračenju. Zbog fotolabilnosti nema dugo rezidualno delovanje, 7-8 dana, pa je potrebno ponovno tretiranje useva. Brzo hidrolizuje i u blagim alkalnim uslovima. Inkompatibilan je sa jakim oksidacionim agensima, kiselinama i bazama. Može se mešati sa većinom insekticida, akaricida i fungicida. Ne očekuje se da ispoljava negativne efekte na neciljane organizme ili na životnu sredinu.

Biopesticidi, nastali kao proizvod genetske modifikacije, omogućavaju otpornost biljke domaćina u kojoj se nalaze. Genetski materijal unet u biljku dovodi do produkcije jedinjenja sa pesticidnom aktivnošću, a ova jedinjenja se još nazivaju plant-incorporated protectants (PIP), odnosno zaštitna sredstva inkorporirana (uneta) u biljku. Prva generacija ove vrste biopesticida nastala kao proizvod transgena *Bacillus thuringiensis* unetih u gajene biljke su Cri proteini. Transgeni organizmi su organizmi kod kojih se metodama molekularne biologije geni jedne biološke vrste unose u drugu, ili se prenosi grupa gena odgovornih za kontrolu poželjnih osobina. Ovakav primer predstavlja *Bt* kukuruz koji sadrži gen otpornosti na insekte (Coleoptera: *Chrysomelidae*) izolovan iz *B. thuringiensis* (Slika 16).

PIP mehanizam otpornosti zasniva se na tri sistema: prisustvo morfoloških barijera, prisustvo insekat-odbijajućih supstanci i toksičnih supstanci.



Slika 16. Zaštitna sredstva inkorporirana u biljku
(mehanizam delovanje Bt-a)¹¹

***Bacillus sphaericus* isolate 2362** – proizvodi kristalni protein, koji se nakon dospjevanja u digestivni sistem insekta transformiše u manje toksine i vezuju za zid creva insekta što dovodi do oticanja ili čak pucanja creva. S obzirom da njihovo delovanje zahteva da budu uneti u digestivni sistem insekta oni često vrlo sporo deluju. *B. sphaericus* deluje na larve komaraca. Izolat 2362 je izolovan iz afričke vrste *Simulium* spp., a mehanizam delovanja je isti kao kod *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Preparati se formulišu u obliku vododisperzibilnih granula (WG). Vrlo su efikasni u suzbijanju larvi insekata u stajaćim vodama, čak i u onim sa većom količinom organske materije. Nestabilan je na sunčevoj svetlosti, kao i u alkalnim vodama. *B. sphaericus* je u formulaciji sa sporim otpuštanjem efikasniji od *B. thuringiensis* subsp. *israelensis*. Deluje 1-4 nedelje nakon primene. Kompatibilan je sa drugim insekticidima, ne primenjuje se u kombinaciji sa bakarnim jedinjenjima, nije kompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Odobren je za primenu u poljskim uslovima, nema negativnog delovanja na ne ciljane organizme i životnu sredinu.

5.3. Bioinsekticidi na bazi virusa

Preparati na bazi entomopatogenih virusa često se koriste protiv štetočina u poljoprivredi i šumarstvu. Đukić i sar. (2007) navode osnovne osobine patološkog procesa pri virusnim oboljenjima insekata: virusna oboljenja su specifična, virusi insekata se prenose, kako horizontalno, tako i vertikalno preko jaja insekata, infektivni proces odvija se u dugačkom inkubacijskom periodu (od 3 – 5 do 40 – 50 dana), virusi su sposobni zadržati se u organizmu insekata u skrivenom stanju, a latentni virus se može prenositi u procesu metamorfoze i preko potomstva.

Najznačajniji entomopatogeni virusi su iz familije Baciloviridae, koji mogu biti nukleopoliedrični ili granulovirusi. Nukleopoliedrični se najčešće koriste u suzbijanju *Lymantria dispar*, *Hyphantria cunea*, *Helicoverpa armigera*, *Mamestra brassicae* i *Spodoptera litoralis*, dok se granulovirusi najčešće koriste za suzbijanje *Cydia pomonella*, *Plodia interpunctella* i dr.

***Cydia pomonella* granulovirus** - izolat *Cydia pomonella granulovirus*, se dobija ekstrakcijom iz larvi jabučnog smotavca (*Cydia pomonella*) zaraženih granulovirusom u poljskim proizvodnim uslovima. Ova tehnika zahteva veoma velike količine larvi za proizvodnju virusa i zbog toga je to veoma skup postupak. Preporučuje se primena ovih preparata na bazi granulovirusa u zasadima jabuke, kruške i oraha za suzbijanje *C. pomonella*. U Srbiji su registrovana dva preparata na bazi *C. pomonella* granulovirus (CpGV-R5), i to preparat Carpovirusine Evo 2 i preparat Madex twin. Koriste se za suzbijanje jabučnog smotavca u zasadima jabuke, kruške, oraha i badema, kao i za suzbijanje breskvinog smotavca (*C. molesta*) u zasadima breskve i nektarine. *C. pomonella* granulovirus deluje digestivno, inficira larve *C. pomonella* i *C. molesta*, replicirajući se u nukleusu epitelnih ćelija creva. Virus je aktivniji na mlađim uzrastima larvi, jer ukoliko se ubuše u plod postaju nedostupne virusu. Zbog toga se preporučuje da aplikacija bude usmerena na mlade larve, i u tu svrhu neophodno je pratiti vreme polaganja jaja kao i monitoring leta leptira pomoću feromonskih klopki. Virus, larve unose putem ishrane, a zatim se proteinski omotač virusa rastvara u digestivnom traktu insekta, oslobađajući čestice virusa. Čestice virusa napadaju ćelijska jezgra, gde se ubrzano umnožavaju. Virusne čestice se šire u nove ćelije i ubrzavaju napad na domaćina. Posle određenog vremena virusne čestice se obavijaju proteinskim omotačima i ostaju

infektivne čak i nakon uginuća domaćina. Uginuće larvi je sporo i može trajati više sati, čak i kod tek ispilelih larvi. Ako se preparat pravovremeno primeni može se postići dobra zaštita pri suzbijanju larvi jabučnog smotavca. Može se koristiti u integralnim programima zaštite, kao i u organskoj poljoprivredi. Kompatibilan je sa svim sredstvima za zaštitu bilja koja nemaju repelentno dejstvo na jabučnog smotavca. Nekompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nestabilan je kada je izložen UV svetlosti i ne zadržava se u životnoj sredini, u zemljištu 4 meseca nakon primene nema više virusne aktivnosti. Nema dokaza o akutnoj ili hroničnoj toksičnosti za sisare.

Adoxophyes orana granulovirus - je široko rasprostranjen u prirodi. Prvobitno je izolovan iz zaraženih larvi *Adoxophyes orana*. Koristi se u voćarstvu za suzbijanje smotavca pokožice ploda (*Adoxophyes orana*). Kako bi ispoljio insekticidni efekat, virus mora biti usvojen putem ishrane u digestivni trakt insekta. Nakon toga, virus ulazi u hemolimfu insekta gde se umnožava što na kraju dovodi do smrti zaraženog insekta. Virusne čestice se obavijaju proteinskim omotačima i ostaju zarazne u telu mrtvih insekata. Ovaj virus deluje relativno sporo, a aktivniji je na mlađim larvama. Važno je osigurati dobru pokrivenost lišća radi efikasne zaštite voća. Neophodno je sprovoditi monitoring polaganja jaja i leta leptira upotrebom feromonskih klopki. Kompatibilan sa svim fungicidima koji nisu na bazi bakra i svim pesticidima koji nemaju repelentno delovanje na *Adoxophyes orana*. Nekompatibilan sa hlorisanom vodom. Nema dokaza o akutnoj ili hroničnoj toksičnosti kod sisara. Virus se javlja slobodno u prirodi. Odobren je za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Plodia interpunctella granulovirus - je prvenstveno izolovan iz zaraženih gusenica bakrenastog moljca (*Plodia interpunctella*). Koristi se u suzbijanju gusenica bakrenastog moljca (*P. interpunctella*), za zaštitu uskladištenih proizvoda poput suvog voća i orašastih plodova. Dokazano je da jedan tretman sprečava ponovnu zarazu do 2 godine. Kao i kod svih preparata na bazi virusa, usvaja se putem ishrane u digestivni trakt insekta, kako bi se ispoljio insekticidni efekat. Nakon usvajanja virus ulazi u hemolimfu insekta, umnožava se što na kraju dovodi do uginuća larve. Ubrzo nakon uginuća koža larve pukne, oslobađajući veoma veliki broj čestica virusa. Preparat se formuliše u obliku kvašljivog praška (WP). Preparat sadrži približno 9,35%

delova gusenica bakrenastog moljca zaraženih virusom, 85,9% mlevenih nosača pšeničnih mekinja i približno 4,75% ostalih inertnih sastojaka (uglavnom pivskog kvasca). Preparati čuvani na 2 °C stabilni su preko 2 godine. Ako se čuvaju na sobnoj temperaturi, aktivni su nekoliko meseci. Infektivnost se smanjuje pri izlaganju UV svetlosti. Za pripremanje radne tečnosti koristiti vodu sa pH 6 - 8. Preparat je nekompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nema dokaza o akutnoj ili hroničnoj toksičnosti, iritaciji očiju ili kože kod sisara. U istraživanjima nisu primećene alergijske reakcije ili drugi zdravstveni problemi kod ljudi koji dolaze u kontakt sa ovim preparatima. Nema dokaza da negativno utiče na bilo koji organizam osim na gusenice bakrenastog moljca.

***Helicoverpa armigera* nukleopolihedrovirus** - izolat *Helicoverpa armigera* virusa prvobitno je dobijen iz zaraženih larvi pamukove sovice (*Helicoverpa armigera*) u kontrolisanim uslovima. Široko je rasprostranjen u prirodi. Posebno efikasan u zaštiti useva od pamukove (kukuruzne) sovice (*H. armigera*), ali takođe pokazuje dobru efikasnost i protiv ostalih podgrizajućih sovice (fam. Noctuidae). Može se primenjivati u širokom spektru useva, uključujući povrće (kupusnjače, paradajz, grašak) i ukrasne biljake (poput ruža). Virus se na isti način kao i kod prethodnih entomopatogenih virusa, usvoja putem ishrane, dospeva u digestivni trakt, ulazi u hemolimfu insekta, umnožava se i izaziva uginuće larve. Deluje relativno sporo, takođe važno je obezbediti dobru pokrivenost biljke kako bi se postigla efikasna zaštita useva. Može se koristiti sa drugim insekticidima koji nemaju repelentno delovanje na *Helicoverpa* i *Heliothis* vrste. Nekompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Virus ne zaražava niti se umnožava u ćelijama sisara i inaktivira se na temperaturama iznad 32 °C. Nema dokaza o akutnoj ili hroničnoj toksičnosti za sisare. Ne ispoljava negativne efekte na ribe, ptice ili druge korisne organizme. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

***Spodoptera litura* nukleopolihedrovirus** – je široko rasprostranjen u prirodi. Prvobitno izolovan iz larvi *Spodoptera litura*, u kontrolisanim uslovima. Preparat na bazi ovog virusa koristi se za suzbijanje *S. litura* u raznim usevima na otvorenom kao i u zatvorenom prostoru, uključujući povrće, ukrasno bilje, a može se primenjivati i u zasadima vinove loze. Virus

mora biti usvojen putem ishrane u digestivni trakt insekta da bi se postigao efekat. Nakon usvajanja, virus ulazi u hemolimfu insekta. Umnožava se što na kraju dovodi do smrti zaraženog insekta. Kasnije se čestice virusa obavijaju proteinskim omotačima i ostaju virulentne u telu uginulih insekata. *S. litura* virus deluje relativno sporo. Neophodno je sprovoditi monitoring leta leptira i polaganja jaja. Kompatibilan je sa većinom sredstava za zaštitu bilja koja nemaju repelentno delovanje na *S. litura*, ne koristi se sa fungicidima na bazi bakra ili hlorisanom vodom. Primenjivati ga sa vodom neutralne pH reakcije.

Nije toksičan za sisare, virus *S. litura* se slobodno javlja u prirodi i stoga se ne očekuje da ispoljava bilo kakve negativne efekte na neciljane organizme ili životnu sredinu.

***Anagrapha (Syngrapha) falcifera* nukleopolihedrovirus** – izolovan iz živih gusenica *Anagrapha falcifera*, koja spada u značajne štetočine celera i drugog povrća. Koristi se za suzbijanje larvi Lepidoptera, a posebno *Heliothis sp.* i *Helicoverpa sp.*, uključujući *Helicoverpa zea* i *Heliothis virescens*. Pogodan je za primenu u usevima kukuruza, povrću, zasadima voća, ukrasnom bilju, kao i u staklenicima. Usvaja se putem ishrane i dospeva u digestivni trakt insekta kako da bi ispoljio insekticidni efekat. Deluje na isti način kao i prethodno opisani entomopatogeni virusi.

Ovaj virus može da zarazi preko trideset različitih vrsta Lepidoptera. Međutim, deluje relativno sporo, jer se mora uneti, a zatim razmnožiti pre nego što izvrši bilo kakav efekat na insekta domaćina. Važno je obezbediti dobru pokrivenost lišća preparatom kako bi se postigla efikasna zaštita useva, kao i sprovođenje monitoringa leta leptira i polaganja jaja. Virus ostaje virulentan na površini lista 7 do 14 dana.

Formuliše se u obliku koncentrovanog rastvora (SL). Skladišti se na hladnom (<21°C), suvom i tamnom mestu. Nestabilan na temperaturama iznad 32°C. Može se koristiti sa drugim insekticidima koji ne odbijaju ciljane vrste. Nekompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Virus ne zaražava niti se umnožava u ćelijama sisara. Nema dokaza o akutnoj ili hroničnoj toksičnosti, iritaciji očiju ili kože kod sisara. Smatra se da ima malu toksičnost za sisare, ne očekuje se da ima negativne efekte na neciljane organizme ili na životnu sredinu. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

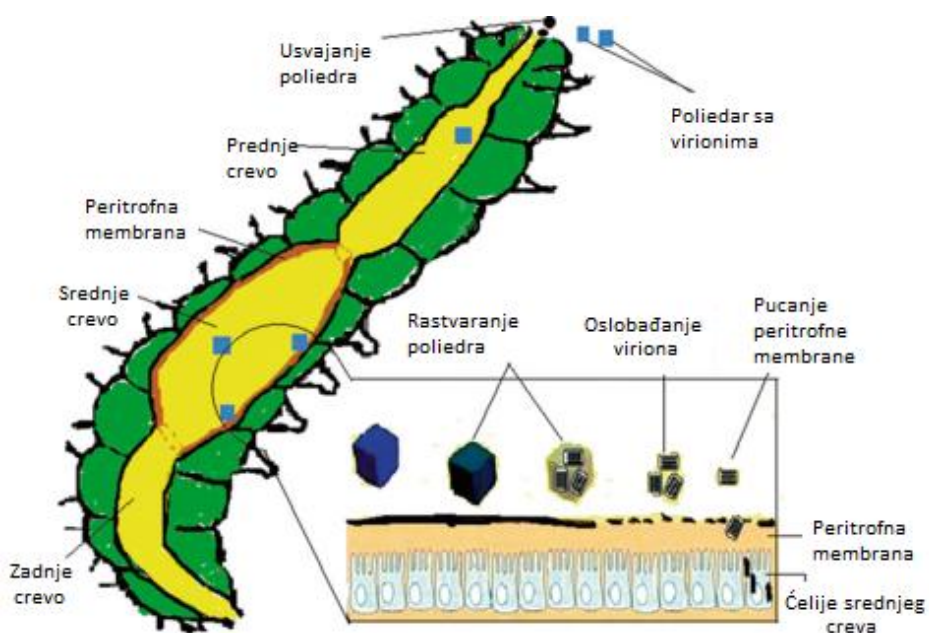
***Autographa californica* nukleopolihedrovirus** – Virus je široko rasprostranjen u prirodi, a prvobitno je izolovan iz gusenica *Autographa californica*. Koristi se za suzbijanje gusenica Lepidoptera u usevu kukuruza, povrća, zasada voća i ukrasnom bilju. Nakon usvajanja virus ulazi u hemolimfu insekta, umnožava se što na kraju dovodi do smrti larve. Za razliku od nekih bakulovirusa, *A. californica* virus će zaraziti preko trideset različitih vrsta Lepidoptera. To ga čini bioinsekticidom šireg spektra delovanja za razliku od većine bioloških preparata. Formulisan je kao koncentrovani rastvor (SL). Proizvodi se komercijalno od kulture in vivo u larvama Lepidoptera. Čuva se na hladnom (<21 °C), suvom i tamnom mestu. Nestabilan na temperaturama iznad 32°C. Stabilan nekoliko nedelja ako se čuva na 2°C. Kompatibilan sa svim insekticidima, osim onih koji deluju repelentno na ciljane organizme. Inkompatibilan sa jakim oksidacionim ili redukcionim sredstvima i sa hlorisanom vodom. Široko je rasprostranjen u prirodi i stoga se ne očekuje da ima negativne efekte na neciljane organizme ili na životnu sredinu. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

***Limantria dispar* bacilovirus** – Prvobitno izolovan iz zaraženih gusenica gubara (*Limantria dispar*). Proizvodi se putem in vivo metoda u gusenicama gubara. Koristi se za suzbijanje gubara (*L. dispar*). Preporučuje se za upotrebu u zaštiti šuma i parkova. Nakon unošenja, virus ulazi u hemolimfu insekta i umnožava se, što dovodi do smrti insekata. Virus inficira samo jedinke gubara. Proizvodi se u obliku suspenzije. Čuva se u frižideru, ne sme da se zamrzava i izlaže direktnoj sunčevoj svetlosti. Preparat se može čuvati do 6 meseci. Nekompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nije toksičan za sisare, virus se javlja slobodno u prirodi i ne očekuje se da ima negativne efekte na neciljane organizme ili na životnu sredinu.

***Mamestra brassicae* bacilovirus** – u prirodi se javlja kao prirodni parazit kupusovog moljca (*Mamestra brassicae*). Prvi put je izolovan iz viroznih larvi kupusovog moljca u Francuskoj. Takođe, u stanju je da zarazi i druge vrste Lepidoptera. Izoluje se tehnikama centrifugiranja iz zaraženih larvi *M. brassicae*. Zatim se formuliše kao suspenzija koja sadrži čestice entomopatogenih virusa i specifične aditive. Preparati na bazi ovog virusa registrovani su u Francuskoj za suzbijanje *M. brassicae*, a može se koristiti i protiv *Helicoverpa armigera*, *Phthorimaea operculella* i *Plutella xylostella*.

Može se primenjivati na raznim usevima, uključujući povrće i ukrasno bilje. Mehanizam delovanja je sličan kao i kod svih bakulovirusa. Virus se mora uneti u organizam insekta da bi se postigao efekat. Nakon gutanja, virus ulazi u hemolimfu gde se umnožava, što dovodi do uginuća insekta. Ubrzo nakon uginuća koža gusenice pukne, oslobađajući veoma veliki broj čestica virusa (Slika 17). Virus je aktivniji na mlađim larvama.

Proizvodi se u obliku tečnih formulacija. Čuva se na 4 °C i pod tim uslovima ima rok upotrebe do 2 godine. Kompatibilan sa većinom sredstava za zaštitu bilja koji ne deluju repelentno na ciljne insekte. Inkompatibilan sa fungicidima na bazi bakra, jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Virus se javlja slobodno u prirodi i ne očekuje se da ima negativne efekte na neciljane organizme ili na životnu sredinu. Godinu dana nakon primene, nivo virusa koji ostaje u tretiranom zemljištu ekvivalentan je prirodnom nivou.



Slika 17. Način delovanja Baculovirusa pri suzbijanju larvi Lepidoptera (Senthil-Nathan, 2015)

5.4. Bioinsekticidi na bazi protozoa

Protazoe su jednoćelijski eukariotski organizmi koji su prisutni u vodi i u zemljištu. Skoro 1.000 vrsta protozoa, uglavnom mikrosporidija, napadaju beskičmenjake, uključujući brojne vrste insekata. Većina protazoa se hrani bakterijama i organskom materijom u raspadanju, ali postoje i vrste koje su paraziti insekata.

Nosema locustae – je poznata kao prirodni agens u kontroli mnogih vrsta skakavaca. *Nosema* može zaraziti najmanje 90 vrsta skakavaca. One nisu toksične za ljude i druge sisare. Ona je veoma značajna u područjima gde uslovi spoljne sredine sprečavaju korišćenje tradicionalnih insekticida. Skakavci prouzrokuju štetu koja se meri milionima dolara svake godine. Protazoa *N. locustae* je razvijena u komercijalni preparat za suzbijanje skakavca koja može da zarazi mlade jединke skakavaca ili ženke koje tada gube reproduktivnu funkciju. Protozoe proizvode spore, koje se razvijaju u srednjem crevu insekta domaćina, klijujuće spore napadaju ćelije ciljnog domaćina, izazivajući masovnu infekciju i oštećenje organa i tkiva. Proces sporulacije počinje ponovo iz inficiranog tkiva i nakon toga izbacivanje i gutanje od strane osetljivog domaćina, izaziva epizootijsku infekciju. Naravno, parazitoidi i predatori insekata obično deluju kao vektori širenja bolesti. U periodu od 2 nedelje od uzimanja preparata na bazi *N. locustae*, 50% populacije skakavaca uginu, a polovina preostale parazitirane populacije je toliko slaba, značajno se manje hrani, uzima za 75% manje hrane nego zdravi insekti.

5.5. Bioinsekticidi na bazi biljnih produkata (botanički insekticidi)

Biljke su, tokom evolucije, kako bi se zaštitile od raznih štetočina razvile obrambene mehanizme, a kao nusproizvod hemijskih obrambenih mehanizama nastaju sekundarna hemijska jedinjenja koja nazivamo sekundarni biljni metaboliti. Istraživanjima je dokazano da neki od tih jedinjenja imaju insekticidna i druga delovanja. Predstavnici ove grupe insekticida, koji su najviše bili u upotrebi su: piretrin, neem (azadirahthin), rotenon, nikotin, limonen, quassia i kamfor (Duke, 1990).

Način delovanja botaničkih insekticida na štetne insekte:

Regulatori razvoja insekata – supstance koje sprečavaju prirodno razviće insekata pri čemu mogu da deluju na stadijum imaga (adulticidi) ili na stadijum larve (larvicidi). Ove aktivne supstance imaju nekoliko mehanizama delovanja i to:

a) inhibicija aktivnosti enzima varenja kod insekata

Varenje je proces gde se velike, makromolekule prevode u manja jedinjenja, lakše usvojiva od strane insekata. Ceo proces varenja je potpomognut nizom enzima, i ukoliko se naruši njihova funkcija, sprečava se snadbevanje insekata hranljivim materijama. Najznačajniji enzimi u procesu varenja su α i β glukozidaze koje razlažu ugljene hidrate, glikogen.

b) inhibicija aktivnosti enzima detoksikacije insekata

U organizmu insekata je otkiriveno i izvesno delovanje botaničkih insekticida na enzime detoksikacije. Među njima su najznačajnije esteraze, glutation S-transferaze i fosfataze. Esteraze su grupa važnih enzima detoksikacije u oranizmu insekta. Ova jedinjenja hidrolizom razgrađuju estarske veze u sintetičkim hemikalijama. U početku izlaganja, biljni ekstrakti stimulišu sintezu ovog enzima, da bi u kasnijem periodu, zbog dejstva toksičnog efekta, aktivnost esteraze bila potisnuta. Glutation S-transferaza je ćelijski enzim, koji katalizuje redukciju glutaciona, toksične supstance, koja usled delovanja ovog enzima postaje vodo-rastvorljiva i manje toksična. Ovaj enzim igra važnu ulogu u razvoju rezistentnosti insekata prema insekticidima.

c) delovanje na acetilholin esterazu (Achl)

Acetilholin esteraza je ključni enzim koji prevodi nervne impulse, preko neurotransmitera, acetilholina, u nervnom sistemu različitih organizama.

Ometanje ishrane (antifeeding) insekata – jedinjenja koja kada se unesu u organizam zaustavljaju ishranu, tada insekti gladuju do uginuća. Podela antifeeding sredstava prema načinu delovanja je na:

Repelenti – jedinjenja koja oslobađaju mirise, koji su neprivlačni ili iritiraju, pa na taj način odbijaju insekte, pre nego što dođu u kontakt sa biljkom;

Arestanti – insekti prestaju da se kreću prema biljnom materijalu, bez kontakta sa istim;

Supresanti – insekti bivaju potisnuti posle jednog ugriza biljke hraniteljke;

Fagodeterenti (feeding deterrenti) – su jedinjenja koja blokiraju ishranu insekata nakon što je ona već otpočela. Međutim, i ovaj način doprinosi smanjenju šteta koje nanose herbivorni insekti.

Insekticidno delovanje - jedinjenja koja dovode do uginuća insekata pri čemu insekticidni efekat može biti ispoljen inhalaciono, kontaktno ili digestivno.

Veliki broj biljnih vrsta sadrže pesticidne supstance. Njihovom ekstrakcijom iz biljaka, dobijaju se biološki aktivne supstance, biljni ekstrakti, koje mogu delovati na razne načine. Za razliku od sintetičkih insekticida, njihov efekat ne traje dugo, i često je vrlo teško pronaći pojedine produkte biljaka koji imaju insekticidna svojstva. Trenutno su najviše aktuelni azadirahthin, piretrin i rotenon, a osim ovih postoje i drugi koji su u upotrebi (Gvozdenac i sar., 2013).

Azadirahthin (neem) - je biljni ekstrakt, dobijen iz biljke *Azadirachta indica* (neem biljka) (fam. *Meliaceae*). To je zimzelena drvenasta biljka koja raste u oblasti Indije, tropskih i suptropskih regija Afrike, severno-istočne Azije i Australije. Ekstrakti iz neem-a su označeni kao triterpeni ili preciznije kao *limonidi*. Do sada je izdvojeno četrdesetak limonida iz neem-a, pri čemu je ustanovljeno da devet ispoljava delovanje kao regulatori rasta (IGR) kod većeg broja ekonomski značajnih štetočina, najizraženije insekticidno delovanje imaju azadiahtrin, salanin, melantriol, nimbin i nimbadin (Milenković i sar. 2005). Azadirahthin se upotrebljava za zaštitu biljaka tokom vegetacije i suzbija populacije bele leptiraste vaši, tripsa, gusenica leptira i dr. (Gahukar, 1995). Osnovna komponenta sa izraženim insekticidnim delovanjem i najzastupljeniji alkaloid neem biljke je *azadirahthin* koji je efikasan za oko 200 vrsta insekata, grinja i nematoda. Dobija se iz semena plodova neem drveta. Strukturno, azadirahthin je sličan insekticidnom hormonu – egdizonu, a po delovanju je označen kao egdizon bloker, jer blokira produkciju i ekskreciju egdizona kod insekata i praktično

prekida jedan od osnovnih životnih procesa – metamorfozu (presvlačenje). Prema Miller i Uetz (1998), azadirachtin se po pravilu ne akumulira u organizmu. Melantriol je drugi inhibitor ishrane, koji čak i u ekstremno niskim koncentracijama uzrokuje prekid ishrane. Salanin je treći limonin izolovan iz neem drveta, i inhibira ishranu insekata. Nimbin i nimbadin imaju antivirusno delovanje. Limonidi iz neema narušavaju vitalne funkcije u organizmu insekata. Zbog strukturno slične građe hormonima, limonidi bivaju lako apsorbovani, a po apsorpciji oni se ponašaju kao blokatori endokrinog sistema. Ovo dejstvo za posledicu ima konfuziju u ponašanju insekata i nemogućnost reprodukcije. Delovanje se ostvaruje i prekidom ili inhibicijom razvića jaja, larvi ili lutaka, blokadom presvlačenja kod larvi, prekidom parenja i seksualne komunikacije, repelentnošću za larve i imaga, odlaganjem ovipozicije, sterilnošću imaga, odlaganjem ishrane, blokadom enzima gutanja, poremećajem metamorfoze i remećenjem sinteze hitina. Takođe, izraženo je i antifeeding dejstvo koje se ispoljava blokadom senzitivnog dela usnog aparata. Red Lepidoptera je značajnije osetljiviji od reda Coleoptera, Hemiptera i Homoptera (Mordue and Blackwell, 1993).

Azadiachtin je pokazao dobru efikasnost u suzbijanju štetnih muva *Haematobia irritans*, *Stomoxis calcitrans*, *Musca domestica*, komaraca *Aedes aegypti*. U laboratorijskim uslovima je pokazao visoku efikasnost u suzbijanju *Franklinella occidentalis*, zatim dovodi do steriliteta ženki *Melolontha melolontha*. Efikasnost je dokazana i u suzbijanju larvi Lepidoptera u šumama (*Dendrolimus pini*, *Lymantria monarcha*, *Bupalus piniaris*). Od početka komercijalizacije sredinom 80-tih godina prošlog veka na tržištu se pojavio veliki broj preparata na bazi azadirachtina različitih po geografskom poreklu, sadržaju aktivne supstance, tipu formulacije, što utiče na njihova pesticidna svojstva. Na tržištu se mogu naći brojni preparati, kao što su: Agroneem, Amazin 3%, Amvac Aza 3%, Azatrin EC, Neemark, Ecosidae, Ecozin 3%, Margosan-O, NeemAzal, Neemix 4,5, Neemquard, Nemesis, Ornazin, RD-Repelin, Wellgro i drugi (Milenković i sar., 2005).

U Republici Srbiji je registrovan preparat Ozoneem Trishul 1% EC (na bazi azadirachtina 10 g a.s./l preparata) za suzbijanje kukuruznog plamenca (*Ostrinia nubilalis*) i pamukove sovce (*Helicoverpa armigera*) u usevu kukuruza, krompirovog moljca (*Phthorimaea operculella*) u usevu krompira, zelene jabukine vaši (*Aphis pomi*) u zasadu jabuke, tripsa (*Thrips spp.*) u usevu kupusa i lisnih vaši (*Aphididae*) u usevu paprike. Za azadirachtin se navodi da je toksičan za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. Štetan za pčele i neke korisne artropode (*Coccinella septempunctata*, *Chrysoperla*

carnea, *Episyrphus balteatus*, *Typhlodromus pyri*), može da izazove alergijske reakcije na koži. Dozvoljen je u organskoj proizvodnji.

Piretrin – (oleoresin iz cvetova dalmatinskog buhača, *Chrysanthemum cinerariaefolium*, mešavina estara hrizantemske i piretrinske kiseline) spada u najstariju grupu biljnih insekticida. Dobija se preradom piretruma - prirodnog alkaloida biljaka iz roda *Chrysanthemum*, a posebno iz vrste *C. cinerariifolium*, čiji cvetovi sadrže 1-1,5% ovog alkaloida, odakle se i izoluju. Piretrum je mešavina šest komponenti: piretrin I i II, cinerin I i II i jasmolina I i II. Piretrin je kontaktni insekticid koji deluje na nervni sistem štetnih insekata, kao modulator natrijumovog kanala. Karakteristično je da ispoljava "knockdown" efekat na insekta, to jest, brzo delovanje. Otrov nadražuje neurone, prouzrokujući grčenje. U završnoj fazi insekt ne može da kontroliše rad mišića. Ukoliko doza preparata nije adekvatna, postoji mogućnost oporavka insekta. Da bi se povećalo insekticidno delovanje piretrina, u postupku formulisanja dodaju se sinergisti (biljno ulje, dijetomejska zemlja). Efikasan je u suzbijanju širokog spektra insekata. Piretrin poseduje nisku toksičnost za toplokrvne organizme jer ga lako izlučuju iz organizma tokom razmene materija u organizmu. Ne ispoljava štetno dejstvo na čoveka, nije kancerogen i ne utiče na reproduktivni potencijal. Razgrađuje se pod uticajem svetlosti i vlage, pod dejstvom kiseonika ili blagih kiselina i baza. Sa povećanjem čistoće piretrina povećava se i njegova stabilnost. Stabilnost piretrina se povećava i dodavanjem sinergista. Piretrini su smatrani za grupu insekticida male opasnosti za čoveka, ali u poslednje vreme zbog česte pa i prekomerne upotrebe, zabeleženi su slučajevi alergije, ozbiljnih zdravstvenih problema, posebno kod disajnih organa (Bell and Morris, 2008).

Rotenon – (izoflavonoid iz korena i rizoma tropskih leguminoza iz rodova *Derris*, *Lonchocarpus* i *Tephrosia*). Deluje kao kontaktni i degestivni insekticid, a formulisan je u vidu prašiva (DP) ili kvašljivog praška (WP). Veoma je efikasan protiv insekata sa usnim aparatom za grickanje, kao što su mlađi uzrasti gusenica, dok je manji efekat zabeležen u slučaju starijih gusenica, za žiške, tripse i grinje. Insekti veoma brzo po unosu u organizam prestaju sa ishranom, a uginu posle nekoliko sati ili dana od unošenja (Buss and Park-Brown, 2002). Nije toksičan za pčele, ali je jako otrovan za ribe i još neke životinje. Ima kratkotrajno delovanje na insekte i iritantno

delovanje na ljudsku kožu. Jako je opasan i otrovan kad se unese u organizam disanjem (Duke, 1990), zbog čega se, pri aplikaciji, preporučuje zaštitna oprema. Preparat Rotena predstavlja ekstrakt biljke *Derris elliptica*, koji sadrži 6% rotenona. Koristi se u suzbijanju: lisnih vaši, lisnih buva, grinja, smotavaca, cvetojeda, u zasadima jabuke, kruške, šljive, breskve, vinove loze.

Ulja citrusa – ekstrakti iz kore citrusa, prerađeni sadrže insekticidne materije d-limonene i linalool, ove komponente nisu otrovne za sisare i intenzivnije se koriste u kozmetici, sapunima, parfemima i kao dodaci ishrani. Limonen i linalool su kontaktni insekticidi (nervni toksini), pri čijem se formulisanju dodaju sinergisti. Imaju nisku oralnu i dermalnu toksičnost, i obe supstance brzo isparavaju sa tretirane površine, zbog čega im je jako kratko delovanje, i ne ostavljaju rezidue. Registrovani su za suzbijanje insekata iz reda Lepidoptera, vaši (*Aphididae*), grinja, ali takođe suzbijaju mrave, nekoliko vrsta muva, buve (čovečije i životinjske). Komercijalni proizvod je obično pod imenom “d-Limonene”, i formulisan je u obliku rastvora, aerosola, šampona i praška za životinje (Buss and Park-Brown, 2002). Prilikom aplikacije, može doći do iritacije kože ili očiju kod životinja.

Ryania – je insekticid izolovan iz korena i stabla južnoamerične biljke *Ryania speciosa*. To je insekticid umerene toksičnosti, koji kod insekata, nakon unosa u organizam, prouzrokuje prestanak ishrane. Dobro deluje na visokim temperaturama. U većini slučajeva nije toksičan za prirodne neprijatelje, ali ispoljava toksičnost na predatorske grinje. U poređenju sa ostalim botaničkim pesticidima ima najduže rezidualno delovanje na insekte (Buss and Park-Brown, 2002). Registrovan je za suzbijanje larvi Lepidoptera, *Ostrinia nubilalis*, *Heliothis zea* i tripsa. U prodaji se, u većini slučajeva, može naći samo u mešavini sa rotenonom ili piretrinom.

Sabadilla – Ovaj alkaloid je izolovan iz semena meksičke biljne vrste *Schoenocaulon officinale* koja pripada porodici ljljana. To je kontaktni insekticid, širokog spektra delovanja, a deluje i digestivno. Koristi se za suzbijanje skakavca, jabučnog smotavca, različitih gusenica, sovice, lisnih vaši, lisne stenice, štetočine iz fam. *Meloidae*. Kod insekata deluje na nervne ćelije prouzrokujući gubitak nervnih funkcija, paralizu i smrt. Formulisan u vidu praha je najmanje toksičan za sisare, od svih registrovanih botaničkih insekticida, ali je prilikom aplikacije obavezna zaštitna odeća, zbog zaštite

kože i respiratornih organa. Na svetlosti i vazduhu se brzo razgrađuje tako da nema rezidualno delovanje. Sabadilla alkaloid je jako toksičan za pčele dok, istovremeno, to je jedan od biljnih insekticida koji su najmanje otrovni za ljude (Duke, 1990).

Oksimatrín – je alkaloid hinolizidin dobijen iz biljke *Sophora flavescens*. Osušeni koren ove biljke poznat je u kineskoj tradicionalnoj medicini pod nazivom Ku Shen. Preparat sadrži i psoralen, furanokumarin najviše prisutan u biljkama iz familija Apiaceae, Rutaceae, Moraceae i Fabaceae. Hinolizidini i furanokumarini imaju ulogu u odbrani biljaka kao deterenti ishrane fitofagnih artropoda. Ekstrakti *S. flavescens* i preparati na bazi oksimatrina ispoljili su i toksičnost za različite vrste insekata i imaju praktičnu primenu kao pesticidi (Međo, 2016).

Preparati na bazi kombinacije oksimatrina i psoralena pokazuju visok potencijal kao alternativa sintetskim akaricidima (Marčić et al., 2012). Međutim, da bi bili registrovani na tržištima razvijenih zemalja (SAD, Evropska Unija, zemlje OECD-a) ovi preparati treba da zadovolje visoke toksikološke i ekotoksikološke standarde. Regulatorni kriterijumi ovih zemalja mogu da budu prepreka za registraciju pre svega zbog psoralena, fotoreaktivnog jedinjenja čiji se metoksi derivati koriste u fotohemoterapiji psorijaze UV zračenjem i povezuju sa pojavom raka kože (Stern, 2012).

Masne kiseline C7-C18 i nezasićene kalijumove kiseline – prirodne masne kiseline ekstrahovane su iz biljnih i životinjskih izvora, dok je oleinska kiselina glavni sastojak ulja neem (azadirahatin). Efikasne su pri suzbijanju lisnih i štitastih vaši, tripsa i zemljišnih štetočina. Mogu se koristiti u zaštiti travnjaka od korova i mahovina. Mogu se primenjivati u zaštiti povrća, voća i ukrasnog bilja i drugim usevima. Ekstrakti masnih kiselina ometaju ćelijsku membranu ciljanog organizma, što dovodi do propadanja ćelijske membrane i kao krajnja posledica je smrt. Različite masne kiseline mogu delovati kao insekticidi, fungicidi i herbicidi. Nanose se folijarno na useve, obezbeđujući pri tom dobru pokrivenost. Takođe mogu se koristiti za suzbijanje zemljišnih štetočina i tada se primenjuju u vidu zalivanja. Generalno se smatra da nisu toksične za sisare kao ni za neciljane organizme ili životnu sredinu. Potpuno su biorazgradive bez štete po životnu sredinu. Mogu se primenjivati do dana pred berbu ili žetvu. Odobrene za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Etarska ulja – sekundarni metaboliti aromatičnih biljaka iz familija Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Rutaceae i drugih, kompleksne mešavine čije su glavne komponente terpenoidi, takođe su važan izvor prirodnih proizvoda sa pesticidnim delovanjem (Isman, 2006; Regnault-Roger et al., 2012). Esencijalna ulja biljke eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*), ruzmarina (*Rosemarinus officinalis*), karanfilića (*Eugenia caryophyllus*), timjana (*Thymus vulgaris*) su poznata u zaštiti biljaka od štetočina. Osim ovih, koristi se i ulje nane (*Mentha piperita*) koje deluje repelentno na mrave, muve, vaši, moljce, dok etarsko ulje buhača (*Mentha puleginum*) i na komarce i krpelje. Ulje *Mentha spicata*, *Ocimum basilicum*, *Artemesia vulgaris*, *Melaleuca leucadendron*, *Pelargonium roseum*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita* i *Juniperus virginiana*, takođe su efikasni u zaštiti biljaka od većeg broja insekata i patogena.

Naročito se izdvaja efikasnost etarskog ulja bosiljka, koje je toksično za *Diabrotica virgifera*, *Tetranychus urticae*, *Musca domestica* i *Ostrinia nubilalis*. Istraživanja pokazuju da su etarska ulja biljaka iz roda *Mentha* visoko efikasna u suzbijanju *Tribolium castaneum* (Tripathi et al., 2000). Ulje citronela, koje se izoluje iz biljke *Cymbipogon nardus* godinama je korišćeno kao repelentno sredstvo za insekte i životinje, a ima izraženo i larvicidno delovanje (Zaridah et al., 2003). Etarsko ulje izdvojeno iz semena *Anethum graveolens* efikasno suzbija *Tribolium castaneum*, *Drosophilla* i *Aedes* spp. i to tako što može da deluje repelentno, larvicidno, inhibira ovipoziciju i razvoj insekta (Chaubey and Matlock, 2007). Etarsko ulje karanfilića (*Syzygium aromaticum* - eugenol) je efikasno kao fumigant i kao feeding deterrent kod većeg broja štetnih insekata, kao što su: *Sitophilus granaries*, *Musca domestica*, *Diabrotica virgifera*, *Drosophila melanogaster* i *Periplaneta americana*.

Prema Isman (2000) testirano je fumigantno delovanje 22 etarska ulja, različitih biljaka, na *Acanthoscelides obtectus*, a kao najtoksičniji su se pokazali etarska ulja timijana (sadrži timol) i origana (sadrži karvakrol). Prema Kalinović i Rozman (1999), vrsta *Sitophilus granarius*, pokazala je vrlo visok stepen osetljivosti na fumigantno delovanje svih devet komponenti (eugenol, linalilacetat, 1,8-cineol, karvakrol, kamfor, linalool, bornilacetat, borneol i timol) eteričnih ulja lavande, lovora, ruzmarina i timijana u laboratorijskim uslovima.



5.6. Makrobiološki bioinsekticidi (insekti, grinje, nematode)

Osnovna svojstva makrobioloških bioinsekticida, prethodno su opisana u poglavlju 2.1.3. U nastavku su dati neki od najznačajnijih predstavnika ove grupe biopesticida (Copping, 2009).

Insekti

Anthocoris nemoralis – predator psilida i vaši, najčešće napada kruškine buve (*Cacopsylla pyry* i *C. pyricola*). Može da se hrani i tripsima u voćnjacima mnogih biljaka ali najviše u zasadima kruške i jabuke. Nakon izleganja, larva počinje da se hrani jajima i larvama buva. Veoma su pokretne i aktivno traže plen. Polifagna je štetočina koja se pored gajenih može naći i na divljim biljkama. Jaja najčešće polaže u tkivo lista. Prezime odrasle ženke u skrivenim mestima. Razvija 2-3 generacije godišnje. Komercijalno su dostupni odrasli (imaga) na heljdi ili vermikulatu (mineralni supstrat, dobijen od prirodnog minerala). Puštaju se u zasadima kruške, jabuke ili vinove loze, kada buve i vaši postaju aktivne (u proleće). Insekti pomešani sa nosačem se stavljaju u kartonske posude, od 5-10 posuda na hektar, sa brojnošću od 1000-1500 odraslih po hektaru. Čuvaju se na temperaturi od 8-10°C, i relativnoj vlažnosti 65-80%, van domašaja sunčeve svetlosti, zaštićeni od visokih temperatura i smrzavanja. Nekompatibilni sa većinom folijarnih insekticida, akaricida i fumiganata. Odobreni su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Orius laevigatus – je predator tripsa. Najčešće se koristi za suzbijanje kalifornijskog tripsa (*Frankliniella occidentalis*), duvanovog tripsa (*Thrips tabaci*) i *Caliothrips fasciatus*, ali može da se hrani i drugim insektima poput vaši, jajima nekih Lepidoptera, kao i grinjama. Koristi se u plasteničkoj proizvodnji u zaštiti povrća, jagoda i ukrasnog bilja. Preparat „Oristar“ se preporučuje za primenu u stakleničkoj proizvodnji paprike. Lako se prilagođava uslovima u zaštićenom prostoru. Prolazi kroz sedam razvojnih stadijuma: jaje, pet nimfalnih stadijuma i imaga. Nifme i imaga love male insekte i hrane se njihovim sadržajem. Ako je broj tripsa visok, ubiće i više

nego što im treba za ishranu, ali ubijaju i druge vrste roda *Orius* kao i druge korisne insekte. Prezimljavaju kao imaga.

Komercijalno su dostupna imaga koja se nalaze u ambalaži sa nosačem i zalihom hrane. Primenjuje se tako što se nosač sa ovim predatorima pospe po biljkama ili se postave kutije iz koje mogu sami da izađu. Za jedan kvadratni metar dovoljno je 2-4 jedinke. Potrebno ih je pustiti blizu infestiranog mesta rano ujutru ili kasnije uveče, kada je intenzitet svetlosti nizak i kada su zatvoreni ventilacioni otvori. Čuvaju se na temperaturi od 10 do 15 °C. Ne smeju se izlagati direktnoj sunčevoj svetlosti. Odobreni su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Chrysoperla carnea – je predator svih vrsta vaši, ali može da se hrani i na drugim sporo krećućim insektima sa mekim telom kao što su tripsi, grinje, bela leptirasta vaš, štitaste vaši i jaja Lepidoptera. Mogu se koristiti i na otvorenom i u zaštićenom prostoru, naročito za zaštitu zasada jagoda, jabuka i krušaka. Larve su predatori koje mogu pojesti i do 400 vaši tokom razvića. Starije larve pojedju od 30 do 50 vaši svakog dana. Veoma je aktivan i agresivan predator vaši ali i drugih insekata, uključujući korisne insekte, mada su većinom takvi insekti prebrzi za njih. Moguća je i pojava kanibalizma. Komercijalno su dostupni u vidu jaja na mekinjama, pririnču i drugim materijama, uz dodata jaja moljaca kao izvorom hrane. Češće se nalaze kao same larve ili zajedno u kartonskoj ambalaži sa odraslim jedinkama. Na jedan kvadratni metar pustiti 10-30 larvi, na 10 vaši jednog odraslog ili 10 jaja po biljci. Tretman ponoviti nakon 14 dana. Stalno unošenje novih jedinki se ne preporučuje jer starije larve mogu pojesti mlađe. Jaja i larve se mogu primeniti iz aviona, koristeći opremu koja se koristi za aplikaciju polena. Odrasli se mogu skladištiti do 2 dana u frižideru nakon čega se moraju pustiti.

Nisu kompatibilni sa mravima jer se mravi hrane njihovim jajima, kao ni sa mnogim korisnim insektima jer se larve *C. carnea* mogu hraniti njima. Nekompatibilni sa perzistentnim insekticidima. Nisu štetne za sisare. Odobreni su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Calosoma sycophanta – je predator gubara (*Lymantria dispar*), primenjuje se u šumama. Larve se hrane prvenstveno gusenicama gubara ali mogu da se hrane i gusenicama *Panolis flammea*, *Dasychira pudibunda* i *Lymantria monacha*. Larve žive oko tri nedelje i za to vreme pojedju oko 40 gusenica

štetnih insekta. Odrasle jedinke su takođe odlični predatori koji pojeđu od 300 do 400 gusenica godišnje. Komeracijalno su dostupni kao odrasle jedinke sposobne za reprodukciju. Primenjuju se tako što se imaga puštaju na drveće kada su odrasle jedinke gubara u letu. Mogu se čuvati i do dve nedelje u frižideru. Ne puštati ih na drveće koje je tretirano insekticidima.

Dozvoljeni su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Aphidoletes aphidimyza – predator vaši, primenjuje se u stakleničkoj proizvodnji povrća, kao što su paradajz, paprika i krastavac. Koristi se i za zaštitu ukrasnog bilja u parkovima (cveća, drveća i žbunja). Može se koristiti na povrću u baštama i zasadima jabuke. Larve napadaju vaši tako što im ubrizgavaju paralizujući toksin. Nakon 10 minuta, sadržaj tela vaši se razlaže nakon čega ga predator sisa. Ako su vaši brojne, ubiće više vaši nego što im je potrebno za ishranu. Može pojesti od 10 do 100 vaši od izleganja do ulutkavanja. Odrasli se hrane mednom rosom. Komeracijalno mogu biti dostupni kao imaga ali se najčešće mogu naći kao lutke na vermikulatu, vlažnom pamuku ili vlažnom tresetu kao nosaču unutar bočica. Primenjuju se nedeljno u trajanju od 2 do 4 nedelje, 1 do 6 jedinki po biljci, odnosno 1 jedinka na 10 vaši, tako što se puste iz bočice ili se ostave otvorene bočice kako bi sami izašli. Može se čuvati do pet dana u frižideru. Preporučuje se korišćenje zajedno sa drugim parazitoidima vaši. Dozvoljeni su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Adalia bipunctata – predator vaši, primenjuje se u zaštićenom prostoru i na otvorenom za zaštitu povrća, ukrasnog bilja, drveća, ruža, zasada voća i vinove loze. Predatori su i odrasle jedinke i larve. Larve odmah po piljenju traže hranu jer njihov opstanak zavisi od količine prisutne hrane u blizini mesta piljenja, zbog čega jaja uvek polažu u blizini kolonije vaši. Ako dođe do nedostatka hrane, larve postaju kanibali. Odrasle jedinke mogu da lete i da se brzo rašire po zasadu, ali mogu i da lako napuste zasad ako nemaju dovoljno hrane. Komeracijalno se nalaze u vidu odraslih jedinki na kukuruzu, a oslobađaju se kada su vaši prisutne, u blizini kolonije vaši jer je larvama potrebna hrana. Nije preporučljivo koristiti ih zajedno sa hemijskim preparatima. Dozvoljeni su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Anisopteromalus calandrae – je parazit surlaša. Hrani se vrstama reda Coleoptera i Lepidoptera, kao što su žitni žižak (*Sitophilus* spp.), hlebna

buba (*Stegobium paniceum*), duvanova buba (*Lasioderma serricorne*), žitni kukuljičar (*Rhizopertha dominica*), vrste roda *Ptinus* i druge. Primenjuje se u skladištima. Ženka aktivno traži plen, odnosno larve ili gusenice u koje će da položi jaja. Nakon izleganja, larva se hrani domaćinom i ulutkava se u mrtvom insektu, odakle izleće odrasli insekt. Komercijalno su dostupne u vidu parazitiranog surlaša. Može kratko da se skladišti, na hladnom, suvom mestu. Dozvoljeni za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Trichogramma brassicae – je parazitoid jaja Lepidoptera. Parazitira jaja mnogih insekata iz reda Lepidoptera, ali najčešće kukuruznog plamenca (*Ostrinia nubilalis*), kupusnu sovicu (*Mamestra brassicae*) i kukuruznu sovicu (*Helicoverpa armigera*). Najviše se primenjuje za zaštitu kukuruza, ali može i u usevu paprike, paradajza i ukrasnog bilja. *T. brassicae* parazitira na takav način što ženka polaže jaje u jaje domaćina, najčešće u sveže položena. Nakon što se larva *Trichogramma*-e ispili, hrani se sadržajem razvijajuće gusenice unutar napadnutog jajeta. Ulutkavanje se takođe odvija unutar napadnutog jajeta. Odrasli nakon izletanja se hrane nektarom. Oplođene ženke polažu jaja iz kojih se mogu razviti oba pola, dok neoplođena ženka polaže jaja iz kojih se razvijaju samo mužjaci. Komercijalno su dostupni u vidu parazitiranih jaja na kartonskom nosaču ili u kapsulama koji se raspoređuju u usevima koji se štite, u brojnosti od 12.000-500.000 jaja po hektaru. Čuvaju se na temperaturi od 3°C i vlažnosti 75%, nekoliko meseci. Nekompatibilni sa folijarnim insekticidima. Dozvoljeni za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Trichogramma ecanescens – je parazitoid jaja Lepidoptera, kao što su sovice – *Helicoverpa zea*, *Heliothis virescens* i *Ostrinia nubilalis*. Primenjuje se na otvorenom i u zaštićenom prostoru u proizvodnji povrća i ukrasnog bilja. Proces razvića i parazitizma se podudara sa *Trichogramma brassicae*. Komercijalno su dostupni u vidu parazitiranih jaja pričvršćenih za karton, koji se okače ravnomerno na površini koja se štiti. Čuvaju se na tamnom mestu, pri temperaturi od 10 do 15 °C, 3-4 dana. Nekompatibilni sa folijarnim insekticidima. Dozvoljeni za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Trichogramma minutum – je takođe parazitoid jaja Lepidoptera, naročito jabučnog smotavca (*Cydia pomonella*). Najviše se koristi u voćnjacima. Proces razvića i parazitizma je kao i kod vrste *Trichogramma brassicae*.

Komercijalno su dostupni u vidu parazitiranih jaja na kartonskom nosaču ili u kapsulama koji se raspoređuju po površini koja se štiti, u brojnosti od 12.000-500.000 jaja/ha. Čuvaju se isto kao i prethodna vrsta. Dozvoljeni za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Anaphes iole – je parazitoid stenica (*Lygus* spp.). Preporučuje se za korišćenje u zaštiti jagoda i u satkleničkoj proizvodnji. Ženka *A. iole* polaže jaja u jaja *Lygus* vrsta. Ako *Lygus* vrste nisu prisutne onda jaja može da polaže i u jaja nekih korisnih insekata. Komercijalno su dostupni u vidu odraslih jedinki. Puštaju se u vreme cvetanja u velikom broju 35000/ha svake nedelje, u trajanju od 4 nedelje. Puštanje se izvodi kada je populacija stenica visoka. Ne preporučuje se skladištenje ako nije neophodno, ukoliko se skladište, čuvati ih na temperaturi 6-10 °C, dva do tri dana. Dozvoljeni su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Aphelinus abdominalis – je parazitoid vaši, naročito vaši kao što su *Macrosiphum euphorbiae* i *Aulacorthum solani*. Koristi se u zaštićenom prostoru u proizvodnji povrća i ukrasnog bilja. Ženka polaže jaja unutar tela vaši. Prolazi kroz četiri larvena uzrasta, dok se vaš za to vreme i dalje hrani. Imago izleće iz pupalnog stadijuma, iz mumificirane vaši koja je uvek crna. Ženka može da položi jaja u 10 do 15 vaši dnevno. Imago je takođe i predator vaši. Neoplođene ženke polažu jaja iz kojih će se razviti samo mužjaci, dok oplođene ženke polažu jaja iz kojih se mogu razviti oba pola. Po pravilu, jaja koja su položena u veće vaši se razvijaju u ženke, a jaja položena u manje vaši, u mužjake. Komercijalno su dostupni u stadijumu lutke, ponekad kao i imago. Primenuju se tako što se pakovanje postavi blizu kolonija vaši kako bi odrasli izletili. Čuvaju se na tamnom mestu pri temperaturi 8-10°C, i tako ostaju aktivni 2-3 dana. Dozvoljeni za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Encarsia formosa – parazitoid bele leptiraste vaši (*Trialeurodes vaporariorum*) i leptiraste vaši duvana (*Bemisia tabaci*). Primenuje se za zaštitu krastavca, paprike i drugog povrća i ukrasnog bilja u stakleničkoj proizvodnji. Ženka polaže jaja u nimfe domaćina, najčešće trećeg i četvrtog razvojnog uzrasta. Parazitoid prolazi kroz šest stepena razvoja unutar domaćina koji s vremenom pocrni. Imago se hrani mednom rosom i telesnim tečnostima nimfe vaši. Neki domaćini zbog ovakvog načina

hranjenja, mogu i da uginu. Komercijalno su dostupne u vidu lutaka koje su pričvršćene na površini kartona ili su zaštićene u udubljenju na kartonu, koji se okači po površini na kojoj se vrši suzbijanje. U zavisnosti od stepena infestacije i vrste useva, potrebna je 1-5 kartonskih ploča/m². Može se čuvati nekoliko dana pri temperaturi od 6-8 °C. Ne puštati ih ako je u usevu korišćen sintetički piretroid. Dozvoljeni za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Aphidius colemani – je parazitoid vaši, poput *Myzus persicae*, *Myzus nicotianae*, *Aphis gossypii*, *Aulacorthum solani* i *Rhopalosiphum padi*. Primenjuje se za zaštitu krastavca, paradajza, paprike i drugog povrća i ukrasnog bilja u stakleničkoj proizvodnji. Ženka polaže jedno jaje unutar vaši. Neoplođene ženke polažu jaja iz kojih će se razviti samo mužjaci, dok oplođene ženke polažu jaja iz kojih se mogu razviti oba pola. Nakon izleganja, larva prolazi kroz četiri stepena razvića unutar tela domaćina pre ulutkavanja, koje se takođe odvija unutar tela domaćina, prilikom čega larva parazitoida formira svilenkasti kokon unutar kutikule domaćina. Kutikula zatim otvrdnjava i telo natiče, formira se mumija, obezbeđujući time zaštitu iz koje imago parazitoida lako može da izleti. Ženke mogu da parazitiraju od 100 do 200 vaši za sedam dana. Parazitirane vaši još uvek mogu da se hrane i prenose viruse. Prisutnost *Aphidius colemani* dovodi do uznemirenja unutar kolonije vaši zbog čega one proizvode feromon upozorenja, nakon čega napuštaju list ili padaju sa njega. Komercijalno su dostupne kao sveže prikupljene mumije vaši. Ponekad mogu da se skupe i imaga. Primenjuju se na početku sezone, puštanjem na infestirane useve. Preporučuje se kombinovanje sa drugim korisnim organizmima prilikom visoke zaraze. Puštanje izvoditi svake druge nedelje, pri čemu se unosi od 2 do 3 imaga/m². Čuvaju se na temperaturi od 5-10 °C u mraku, maksimalno pet dana. Potrebno ih je pustiti rano ujutru ili kasnije uveče, kada je intenzitet svetlosti nizak i kada su zatvoreni ventilacioni otvori. Ne koristiti žute lepljive klopke. Dozvoljeni za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Grinje

Mesoseiulus longipes – predator običnog paučinara (*Tetranychus urticae*). Koristi se u zaštićenom prostoru na jagodama i ukrasnom bilju, kao i na otvorenom. Larve se ne hrane. Protonimfa odmah po piljenju počinje da se

hrani jajima, larvama i protonimfama paučinara. Odrasli su takođe predatori koji se hrane svim stadijumima paučinara. U slučaju nestanka hrane odrasli mogu da se hrane mednom rosom ali u tom slučaju reprodukcija je u opadanju. Komercijalno su dostupni u stadijumu imaga. Primenjuju se tako što se pusti 30-35 odraslih jedinki/m², svake dve nedelje, 3-5 puta tokom vegetacije u zaštićenom prostoru, dok se na otvorenom, preporučuje 12.000-48.000 po hektaru, 3-4 puta tokom vegetacije. Skladištiti samo ako je neophodno, u frižideru, do pet dana. Osjetljivi su na pesticide. Dozvoljeni su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Amblyseius andersoni je predator grinja. Hrani se običnim paučinarom, tripsima, eriofidnim grinjama i crvenom voćnom grinjom. Primenjuje se u voćnjacima jabuke i kruške, kao i u zaštićenom prostoru u proizvodnji ukrasnog bilja, poput ruža. Larve se ne hrane. Proto i deutonomife kao i odrasli se hrane tako što sisaju sadržaj plena. Komercijalno su dostupni u vidu odraslih jedinki na nosaču (vermikulatu), uz koje se takođe nalazi i određen broj juvenilnih stadijuma i jaja. Prilikom primene unosi se 100 jedinki/m². Čuvaju se na temperaturi od 8 do 10 °C, zaštićene od svetlosti. Veoma osetljivi na prisustvo insekticida i fungicida iz hemijske grupe benzimidazola. Ne smeju se puštati ukoliko je korišćen sintetički piretroid. Dozvoljeni su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Nematode

Steinernema carpocapsae – nematoda parazit insekata. Koristi za suzbijanje pipe korena vinove loze i jagode (*Otiorynchus sulcatus*) i ostalih zemljišnih insekata poput podgrizajućih sovice *Agrotis* spp. Takođe se koristi i za suzbijanje rovca (*Grylotalpa grylotalpa*), livadskog komarca (*Tipula* spp.), sovice (*Spodoptera frugiperda*), surlaša, buva i drugih štetnih organizama. Izolat T-14 koristi se za suzbijanje termita. Preparat "Nematac C", se preporučuje za suzbijanje larvi sovice (*Chrysoteuchia topiaria*) koje napadaju zasade brusnica. Primenjuje se u usevima povrća u plasteničkoj proizvodnji, ukrasnom bilju, jagodama i povrću na otvorenom prostoru, kao i u zasadu crne ribizle i brusnice. Preporučuje se primena i na travnjacima. Formulise se tako što se larve trećeg razvojnog uzrasta kapsuliraju u vidu granula. Primenjuje se zalivanjem zemljišta uz prethodno rastvaranje granula u vodi. Mehanizam delovanja se zaniva na tome da su larve trećeg

stepena ravoja infektivne (sposobne da napadnu domaćina) i jedino ovaj uzrast larvi može da preživi van domaćina jer ne zahtevaju hranu. Napadaju domaćina ulaskom kroz prirodne otvore. Zatim larve nematode otpuštaju bakteriju *Xenorhabdus nematophilus* u telo insekta nakon čega toksini produkovani od strane bakterije ubijaju insekta u roku od 48h. Bakterija razlaže telo insekta na kojima se hrani larva nematode četvrtog uzrasta. Nakon parenja, mužjaci uginu, a ženka polaže jaja u mrtvog insekta ako je još ostalo hrane, ali ako više nema dostupne hrane, larve prvog i drugog uzrasta se razvijaju u telu ženke. Larva trećeg uzrasta napušta mrtvog insekta i traži novog domaćina. Nekad može doći do preplitanja generacija unutar mrtvog insekta. Skladišti se na hladnom i tamnom mestu. Maksimalna temperature skladištenja je 35 °C. Rok trajanja do 60 dana na sobnoj temperature i 125-180 dana na temperaturi 5 °C. Preparat na bazi ove nematode se ne može mešati sa jakim kiselinama, bazama i oksidansima. Nije toksičan za sisare i životnu sredinu. Dozvoljen za upotrebu u organskoj proizvodnji.

***Steinernema feltiae* izolat UK 76** – nematoda parazit muva Sciaridae, napada i zemljišne štetočine. Ove nematode se mogu koristiti kao preventivna mera borbe protiv *Otioryhncus sulcatus*. Preparat "Exhibit sf" se preporučuje za zaštitu od vrtnog gundelja (*Phyllopertha horticola*). Primenjuje se u usevima povrća u plasteničkoj proizvodnji, ukrasnom bilju, jagodama i povrću na otvorenom prostoru, na travnjacima i u proizvodnji pečurki. Formulacija sadrži larve trećeg razvojnog uzrasta u vidu granula sa delimično dehidriranim nematodama u centru glinene granule. Primenjuje se zalivanjem, prethodno rastvorenim granulama u vodi, mešajući kako ne bi došlo do taloženja. Najbolji rezultati se postižu na vlažnom tlu pri temperaturi od 10 °C do 30 °C. Mehanizam delovanja se zasniva na tome da su larve trećeg ravojnog uzrasta infektivne, napadaju domaćina ulaskom kroz prirodne otvore i prenose bakteriju *Xenorhabdus bovienii*. Skladišti se na hladnom, tamnom mestu. Maksimalna temperature skladištenja je 35 °C. *Steinernema feltiae* može se skladištiti do dve nedelje na temperaturi od 6-8 °C. Dozvoljena za upotrebu u organskoj proizvodnji.

***Steinernema glaseri* izolat B-326** – nematoda parazit insekata Scarabaeidae. Primenjuju se na travnjacima. Formulise se u obliku polimernog gela sa imobilisanim larvama trećeg razvojnog uzrasta.

Mehanizam delovanja je isti kao i kod prethodnih, samo što ove nematode prenose bakteriju *Xenorhabdus poinarii*. Aplikacija se izvodi standardnim sistemom navodnjavanja ili prskanjem, mešajući kako ne bi došlo do taloženja. Skladištenje se obavlja u kratakom periodu na sobnoj temperaturi ili duže u frižideru. Maksimalna temperatura skladištenja je 37 °C. Može se skladištiti tri meseca na sobnoj temperaturi ili 12 meseci u frižideru. Ne mogu se mešati sa jakim kiselinama, bazama i oksidansima. Kompatibilne sa širokim spektrom bioloških i sintetičkih pesticida. Toksičnost nije zabeležena. Dozvoljena za potrebu u organskoj proizvodnji.

***Steinernema kraussei* izolat L137** – nematoda parazit *Otioryhynchus sulcatus*, kao i ostalih zemljišnih štetočina. Formulise se tako što se larve trećeg razvojnog uzrasta nalaze u vermikulitu (mineralni supstrat, dobijen od prirodnog minerala) u zapečaćenim posudama. Primenjuje se u povrću u plasteničkoj proizvodnji, ukrasnom bilju, jagodama i povrću na otvorenom prostoru, kao i zasadu crne ribizle. Mehanizam delovanja je isti, kao kod prethodnih, prenose bakteriju roda *Xenorhabdus*. Primenjuje se zalivanjem zemljišta. Može se čuvati u frižideru na temperaturi od 5°C. Ne zamrzavati ili držati na direktnoj sunčevoj svetlosti. Ne mogu se mešati sa jakim kiselinama, bazama i oksidansima. Kompatibilne sa širokim spektrom bioloških i sintetičkih pesticida. Toksičnost nije zabeležena. Dozvoljena za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Steinernema riobrave - nematoda parazit zemljišnih insekata, napada insekte kao što su: *Scapteriscus* spp., *Diaprepes abbreviatus*, *Pachnaeus litus* i druge štetočine citrusa. Formulise se u obliku vododisprezibilnih granula (WG). Primenjuju se u zasadima citrusa, šećernoj trsci i na travnjacima. Mehanizam delovanja je isti, kao kod prethodnih prenose bakteriju roda *Xenorhabdus*. Primenjuje se folijarno. Maksimalna temperatura skladištenja 37 °C. Rok trajanja 2-3 meseca ako se skladišti na sobnoj temperaturi i godinu dana ako se čuva u frižideru. Ne mogu se mešati sa jakim kiselinama, bazama i oksidansima. Kompatibilne sa širokim spektrom bioloških i sintetičkih pesticida. Inkompatibilne u tank-miks smešama sa bakrom, benzimidazolom ili zemljišnim insekticidima. Toksičnost nije zabeležena. Dozvoljena za upotrebu u organskoj proizvodnji.

***Steinernema scaterisci* izolat B-319** – nematoda parazit rovaca (*Grylotalpa* spp.). Formulacija je na bazi gline. Primenjuje se na travnjacima.

Mehanizam delovanja je isti kao kod prethodnih. Primenuje se prskanjem, mešajući kako ne bi došlo do taloženja. Čuvati na temperaturi od 10°C, rok trajanja oko dva meseca. Ne mogu se mešati sa jakim kiselinama, bazama i oksidansima. Kompatibilne sa drugim IPM i biološkim merama. Inkompatibilne u tank-miks smešama sa benzimidazolom ili zemljišnim insekticidima/nematocidima.

6. BIONEMATOCIDI

BIOPESTICIDI

Biljno-parazitske nematode predstavljaju ozbiljnu pretnju kvantitativnoj i kvalitativnoj proizvodnji mnogih ekonomskih useva širom sveta. Prosečan svetski gubitak useva zbog ovih nematoda za samo 20 najznačajnijih useva godišnje iznosi 12,6% (jednak 215,77 milijardi dolara). Zbog sve većih rizika koji nastaju primenom hemijskih nematocida, raste interesovanje za mikrobiološku kontrolu biljno-parazitskih nematoda, a biološki nematocidi postaju važna komponenta ekološki prihvatljivih sistema upravljanja. Da bi se povećala njihova korist, takvi bionematocidi mogu biti uključeni u programe integralnog suzbijanja nematoda, a to ih čini superiornim u odnosu na hemijske metode suzbijanja, odnosno primenu hemijskih nematocida. Ovo je posebno važno tamo gde bionematocidi mogu delovati sinergistički ili aditivno sa drugim zaštitnim merama u programima integralnog suzbijanja štetočina. Istraživanja vezana za primenu gljivičnih i bakterijskih nematocida u održivoj poljoprivredi, kao i razumevanje njihove ekologije, biologije, načina delovanja i interakcije s drugim merama zaštite poslednjih godina sve više dobijaju na značaju (Abd-Elgawad and Askary, 2018).

U proteklih 30 godina, razvijene su brojne mikrobiološke formulacije nematocida koje se koriste širom sveta. U najrasprostranjenije antagoniste nematoda spadaju gljive i bakterije. Brojne vrste iz obe grupe imaju nematocidna svojstva i koriste se u borbi protiv ovih značajnih štetočina u poljoprivrednoj proizvodnji.

6.1. Bionematocidi na bazi gljiva

ARF-18 (Arkansas Fungus) – Ova gljiva je izolovana iz zaraženih cistolikih nematoda (*Heterodera glycines*) u usevu soje, u istočnom Arkanzasu, a pronađena je i u nematodi *Rotilenchulus reniformis* na poljima pamuka. Gljiva se može proizvesti putem fermentacije, upotrebom micelije, ali i zaraženog semenskog materijala. Koristi se za suzbijanje cistolike nematode *Heterodera glifici* u usevu soje kao i mnogih i drugih vrsta (*Heterodera* spp.). Način delovanja se sastoji u tome da gljiva, nakon prodora, ispunjava unutrašnjost nematode i crpi unutrašnji sadržaj dejstvom enzima. Formulise se u obliku glinenog peleta. Primenjuje se kao formulisani proizvod (ili kao usitnjeni micelijum) za tretman u brazde, odnosno u redove. Ne ispoljava alergijske ili druge štetne toksikološke efekte kod ljudi. Široko je rasprostranjena u zemljištu, posebno na zaraženim nematodama.

Ne ispoljava štetne efekte na neciljane organizme ili na životnu sredinu. Odobrena za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Myrothecium verrucaria – se prirodno javlja u zemljištu, a komercijalni izolat je izolovan iz infestiranih nematoda, putem fermentacije. Ova gljiva se koristi pri suzbijanju parazitskih nematoda, uključujući vrste *Meloidogine spp.*, *Heterodera spp.*, *Belonoldimus longicaudatus* i *Rodopholus similis*. Primjenjuje se za zaštitu travnjaka, duvana, vinove loze i povrća. *M. verrucaria* se uzgaja u laboratorijskim uslovima. Za pripremu preparata u obliku suvog praha, višak vode se uklanja iz mešavine kultura i gljiva se izlaže visokim temperaturama nakon čega gljiva ugrine. Formuliše se u obliku prašiva (DP). Preparat se inkorporira u gornji sloj zemljišta (1 do 2,5 cm) u vidu praha ili rastvoren u vodi. Može se primenjivati tokom celog vegetativnog perioda biljke (pre, tokom ili posle setve/sadnje). Preparat sadrži mešavinu različitih komponenti proizvedenih tokom fermentacije *M. verrucaria*. Ne sadrži živu gljivu *M. verrucaria*, niti druge žive organizme. Može se primenjivati istovremeno sa drugim sredstvima za zaštitu bilja. Toksikološke studije ukazuju na vrlo povoljan akutni i neakutni toksikološki profil. Nema dokaza o alergijskim reakcijama. *M. verrucaria* je prisutna u prirodi i ne očekuje se da će imati štetne efekte na neciljane organizme ili na životnu sredinu. Jedini poznati rizik po životnu sredinu od upotrebe preparata koji sadrže ovu gljivu odnosi se na moguću toksičnost po vodene organizme, kao i ukoliko je ova gljiva živa, može biti fitopatogena. Preparati na bazi ove gljive odobreni su za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Paecilomyces lilacinus – saprofitna gljiva široko rasprostranjena u zemljištu. *Paecilomyces lilacinus* je 1979. godine identifikovana kao parazit jaja *Meloidogine incognita* na belom luku i *Globodera pallida* na krompiru. Dalja istraživanja otkrila su da se različiti izolati *P. lilacinus* značajno razlikuju po svom potencijalu pri suzbijanju nematoda. Komercijalni izolat P 251 prvi put je izolovan iz jaja nematode na Filipinima i pokazao se vrlo efikasnim u zaštiti useva od istih. Konidije ove gljive se izdvajaju putem fermentacije i formulišu u obliku vododisperzibilnih granula (WG). Preparati na bazi *P. lilacinus* su efikasni pri suzbijanju različitih vrsta nematoda, uključujući *Meloidogine spp.*, *Radopholus similis*, *Globodera spp.* i *Heterodera spp.* Koriste se u različitim povrtarskim usevima (krompir, paradajz, itd.), vinovoj lozi, duvanu i ukrasnom bilju. Direktno parazitira na

jajima i mlađim jedinkama nematoda. Gljivične spore klijaju, a micelija prodire u nematodu. Delovanje na jaja se odvija enzimskim i mehaničkim prodorom kroz ćelijski zid, te se gljiva razvija unutar jaja. Nakon toga, gljiva oslobađa spore i širi se. Učestala primena ove gljive menja mikrofloru u zoni korena što pogoduje razvoju biljaka. *P. lilacinus* ne može da se razvija na temperaturama iznad 32 °C. Ova gljiva ne proizvodi mikotoksine. Primenuje se natapanjem rasada prilikom rasađivanja ili kroz sistem za navodnjavanje. Može se mešati sa drugim jedinjenjima, ali ne i sa fungicidima i herbicidima (kao što su linuron i metribuzin). Nekompatibilna sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Izolati ove gljive su bezopasni za neciljane organizme, uključujući i korisne insekte, sisare, ptice. Široko je rasprostranjena u prirodi i ne ispoljava štetne efekte na životnu sredinu. Preparati na bazi *P. lilacinus* odobreni su za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

6.2. Bionematocidi na bazi bakterija

Bacillus (Pasteuria) penetrans – Ova bakterija je prisutna u zemljištu, parazitira nematode roda *Meloidogyne*. Izolat koji se koristi kao biološki agens za zaštitu bilja izolovan je iz vrste *Meloidogyne arenaria*. Bakterija *B. penetrans* se može uzgajati samo u prisustvu biljnih parazitskih nematode. Koristi se isključivo pri suzbijanju nematode na korenu biljaka kao što su *Meloidogyne* spp., u širokom spektru ratarskih i povrtarskih useva (paradajz, krastavac, tikvice, dinja i krompir). Endospore *B. penetrans* koje nastaju unutar parazitskih nematoda ispuštaju se u zemljište gde se lako šire. Endospore prodiru u telo nematode gde se razvija u vegetativnu, sfernu koloniju koja se sastoji od septirane micelije. Parazitirane nematode ostaju žive i dostižu odraslu fazu razvoja, ali plodnost im je znatno smanjena ili potpuno blokirana.

Preparati na bazi ove bakterije proizvode se u obliku kvašljivog praška (WP) i vododisperzibilnih granula (WG). Razblažena suspenzija spora se primenjuje pri setvi/sadnji useva. Nema dokaza da je bakterija *B. penetrans* patogena, ili toksična za ljude. Parazitira samo na nematodama iz roda *Meloidogyne* i malo je verovatno da će zaraziti bilo koji drugi neciljani organizam. *B. penetrans* je široko rasprostranjena u prirodi i stoga se ne očekuju nikakvi štetni efekti na životnu sredinu. Odobrena je za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

***Bacillus firmus* (izolat N1)** – je izolovana iz poljoprivrednog zemljišta u Izraelu. Komercijalno se proizvodi fermentacijom. Koristi se za suzbijanje nematoda u području korena biljaka, naročito vrste *Meloidogine*, u stakleničkoj i ratarskoj proizvodnji. Način delovanja se zasniva na tome da *Bacillus firmus* kolonizuje jaja nematoda na korenu biljaka i potom ih uništava. Takođe, tretiranje zemljišta ovom bakterijom dovodi do smanjenja održivosti mladih jedinki nematoda. Dokazano je da je tretiranje zemljišta u usevu paradajza omogućilo zaštitu i nakon 50 dana od tretmana što je ekvivalentno standardnim hemijskim tretiranjima, gde je brojnost nematoda još uvek bila ispod ekonomskog praga štetnosti.

Proizvodi se u obliku čvrste formulacije u vidu praha. Preparati na bazi ove bakterije se unose u brazdu, nekoliko dana pre sadnje, na dubinu od 20 cm. Preparat na bazi ove bakterije je nekompatibilan sa sredstvima za tretman zemljišta, poput metil bromida i dazometa, ali može se koristiti nakon ovih tretmana. Na osnovu pregleda toksikoloških i drugih podataka za vrste *Bacillus* koje naseljavaju zemljište, nema dokaza o rizicima po zdravlje ljudi. *Bacillus firmus* izolat N1 nije štetan za neciljane organizme ili životnu sredinu. Sprovedeni testovi su pokazali da ova bakterija nije fitotoksična. Odobrena je za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Burkholderia cepacia – je uobičajena komponenta rizosfere, gde ima ulogu agresivnog kolonizatora korena mnogih biljaka. Proizvodi se fermentacijom, a koristi se za suzbijanje zemljišnih patogena i nematoda. Primenjuje se za tretman semena za mnoge različite useve na otvorenom, uključujući lucerku, ječam, pasulj, detelinu, grašak, pšenicu i povrtarske kulture. Takođe se koristi u rasadničkoj proizvodnji. *Burkholderia cepacia* je agresivan kolonizator korenskih zona biljaka. Osim toga, antagonist je prema patogenim gljivama i biljnim parazitskim nematodama, sprečavajući njihovo nastanjivanje u korenskom regionu. Formuliše se u vidu praha ili suspenzija. Preparati na bazi ove bakterije su kompatibilni sa većinom sredstava za zaštitu bilja, ali se ne primenjuje sa preparatima na bazi bakra. Nekompatibilni sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. *B. cepacia* je široko rasprostranjena u prirodi i ne očekuje se da će izazvati štetne efekte na neciljane organizme ili životnu sredinu. Preparati na bazi *B. cepacia* su odobreni za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

7. SEMIOSUPSTANCE

BIOPESTICIDI

Osnovna svojstva semiosupstanci prethodno su opisana u poglavlju 2.1.2. Biohemijski pesticidi. U nastavku su dati neki od najznačajnijih predstavnika ove grupe biopesticida (Copping, 2009).

Polni feromon *Cydia pomonella* (codlemone) – prvobitno je izolovan iz krajnjih trbušnih segmenata ženki. Upotrebljava se u zaštiti zasada kao i za praćenje brojnosti populacije ove vrste. Koristi se u zasadima: jabuke, kruške, dunje, breskve, nektarine, šljive i drugog koštičavog voća, kao i u zasadu oraha i drugim zasadima jezgrastog voća.

Ovaj polni feromon muške jedinke lociraju i potom prate trag tj. feromon koji emituju ženke pred parenje. Neselektivna i nepravilna primena većih količina ovog feromona ometa ovaj proces, jer stalna izloženost visokim nivoima feromona onemogućava praćenje jabučnog smotavca. Sa druge strane, upotreba diskretnih količina feromona koji se oslobađaju tokom vremena predstavlja mužjaku lažni trag koji treba pratiti. Zaštita se zatim postiže sprečavanjem parenja i odlaganjem oplodjenja jaja. Pokazalo se da može efikasno da održi populaciju jabučnog smotavca na ekonomski prihvatljivim nivoima u periodu između zametanja plodova i berbe. Feromon je nestabilan i lako se distribuira po voćnjaku. Takođe može se koristiti kao sredstvo za praćenje leta leptira ove vrste, tako da se insekticidi ili neki bioinsekticidi mogu pravovremeno primeniti u najosetljivijim uzrastima larvi insekata. Klopke sa sporim otpuštanjem feromona postavljaju se u proleće unutar voćnjaka pre leta leptira prezimelih jedinki. Proizvodi se u obliku polietilenskih ampula koje polako oslobađaju feromon ili u obliku tečnih formulacija. Preporučeni broj klopki po hektaru varira u zavisnosti od brzine oslobađanja feromona, ali je uobičajeno 1000/ha sa dodatnom zaštitom na obodima voćnjaka. Mamce treba menjati svakih pet nedelja. Ako se skladišti u originalnom pakovanju na 5 °C, može se čuvati dve godine. Za upotrebu sledeće sezone, drže se na sobnoj temperaturi mesec dana pre primene na terenu. Kompatibilan sa svim sredstvima za zaštitu bilja koja ne deluju repelentno na jabučnog smotavca. Nema štetnih toksikoloških efekata na korisnike. Smatra se netoksičnim, ali može izazvati iritaciju očiju i kože. Ne ispoljava štetne efekte na ne ciljane organizme i životnu sredinu. Brzo se razgrađuje u zemljištu na ugljen-dioksid i vodu. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Polni feromon *Lobesia botrana* – Ženski polni feromon *Lobesia botrana* je prvobitno izolovan iz feromonskih žlezda. Upotrebljava se u zaštiti kao i za

praćenje brojnosti populacije ove vrste kao i *Eupoecilia ambiguella* u vinogradima. Ovaj polni feromon muške jedinke lociraju i potom prate trag tj. feromon koji emituju ženke pred parenje. Primena visokih doza ovog feromona onemogućava praćenje tragova ove štetočine (kamouflaža, dezorijentacija). Zaštita se postiže sprečavanjem parenja, odnosno odlaganjem oplodnje jaja. Potrebne su vrlo niske koncentracije da bi se uzrokovao prekid parenja. Feromon je vrlo isparljiv i lako se distribuira po vinogradu. Deluje kao atraktant. Ovaj feromon se proizvodi u obliku dozatora za sporo oslobađanje feromona ili u obliku tečnih formulacija. Dozatori se zajedno sa klopama postavljaju u vinogradu i pričvršćuju za stablo vinove loze. Preporučena primena je oko 500-750 klopki po hektaru (plus dodatne klopke po obodima parcele). Može se koristiti sa svim sredstvima za zaštitu bilja koja ne deluju repelentno na *Lobesia botrana*. Proizvod nije pokazao štetne toksikološke efekte na radnike ili korisnike. Ne nadražuje kožu ili oči. Nema podataka o štetnim efektima na neciljane organizme i životnu sredinu. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Alarmni feromon *Tetranychus urticae* – Alarmni feromon običnog paučinara (*T. urticae*), izolovan je iz sirovih ekstrakata homogenizovanih ženskih jedinki ove vrste. Koristi se u zaštiti bilja u svim usevima gde se pojavljuje *T. urticae*. Ovo je alarmni feromon koji grinje prirodno ispuštaju kada je populacija ugrožena ili napadnuta od strane predatora. Kao krajnji rezultat dolazi do povećanja aktivnosti grinja, sa posledično većom izloženošću istovremenoj primeni akaricida. *Tetranychus urticae* je veoma osetljiv na feromon alarma i dokazano je da u kombinaciji sa konvencionalnim akaricidima pokazuju značajno povećanje mortaliteta u odnosu na mortalitet koji se ostvaruje samo sa akaricidima. Osim toga, uznemirene grinje se značajno manje hrane u odnosu na neometane grinje. Formulise se u obliku koncentrovanog rastvora (SL) sa kontrolisanim oslobađanjem feromona. Primenjuje se u kombinaciji sa konvencionalnim akaricidima. Kompatibilan sa većinom sredstava za zaštitu bilja, posebno sa akaricidima. Ne ispoljava štetne, toksikološke efekte na neciljane organizme i životnu sredinu. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Polni feromon *Plutella xylostella* - Ženke *Plutella xylostella* emituju nekoliko isparljivih komponenti (feromona) koje su privlačne za mužjake.

Ove komponente su prvobitno izolovane iz tela ženki. Koristi se za suzbijanje populacija *P. xylostella* u povrću kao što je npr. kupus. Mužjaci lociraju ženke prateći trag koji sadrži mešavinu feromona koju emituju ženke ovog moljca tokom određenih perioda razvoja. Isparenja ove mešavine feromona u usevu povrća ometaju lokacije ženki i samim tim dolazi do smanjenja u parenju i oplodnji. Pakuje se u dozatore, kao što je laminirana plastika, plastična barijerna folija i plastične cevi. U usevima se postavlja tako što se dozatori pričvrste na štapiće oko 20 cm iznad zemlje. Preporučeni broj dozatora po hektaru varira u zavisnosti od količine ispuštanja samog feromona. Može se koristiti uz primenu insekticida. Smatra se netoksičnim. Nema štetnih efekata na neciljane organizme i životnu sredinu. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Polni feromon *Ostrinia nubilalis* - Prvobitno izolovan iz ženki kukuruznog plamenca *Ostrinia nubilalis*, za čije se suzbijanje i koristi u usevu kukuruza. Mužjaci lociraju ženke prateći trag koji emituju ženke tokom određenih perioda razvoja. Ovaj polni feromon se najčešće koristi kao sredstvo za praćenje leta leptira, tako da se insekticidi mogu pravovremeno primeniti za suzbijanje larvi ove štetočine.

Feromon je veoma efikasan u privlačenju *O. nubilalis* i srodnih štetočina, omogućavajući na taj način odgovarajuću primenu insekticida, odnosno bioinsekticida u vreme maksimalnog leta leptira u usevu. Proizvodi se u obliku mamca sa sporim oslobađanjem feromona. Mamci se postavljaju oko parcele, a broj ulovljenih mužjaka ukazuje na intenzitet populacije. Nema izveštaja o alergijskim ili drugim štetnim toksikološkim efektima upotrebe. Smatra se da nije štetan za neciljane organizme ili životnu sredinu.

Polni feromon *Tuta absoluta* - Izolovan iz feromonskih žlezda ženki moljca paradajza (*Tuta absoluta*). Koristi se u zaštiti paradajza i krompira od paradajzovog moljca (*T. absoluta*). Ženski polni feromon muške jedinice paradajzovog moljca lociraju, prate trag i potom pare sa ženkama. Neselektivna i nepravilna primena veštačkih i visokih koncentracija ovog feromona ometa ovaj proces, jer stalna izloženost visokim koncentracijama feromona onemogućava praćenje moljca paradajza. Sa druge strane, upotreba malih koncentracija feromona koji se oslobađaju tokom vremena predstavlja mužjaku lažni trag koji treba pratiti. Zaštita se zatim postiže sprečavanjem parenja i odlaganjem oplodnje jaja. Feromon se takođe može

koristiti za praćenje populacije pre primene insekticida. Takođe, visoka biološka aktivnost sintetičkog feromona sugerise da bi mogao biti koristan za monitoring ovih štetočina i za prekid njihovog parenja. Feromonske klopke treba koristiti pre pojave leta prve generacije *T. absoluta* i sve do kraja sezone. Klopke treba postaviti blizu najviše tačke biljke na visinu približno 1 metar, postavlja se jedna klopka po hektaru. Potrebno je menjati dozator feromona svakih 4-6 nedelja. Ne ispoljava alergijske ili druge štetne toksikološke efekte. Smatra se da nije štetan za neciljane organizme ili životnu sredinu.

Sintetički atraktant (trimedlure) za *Ceratitis capitata* - atraktant za privlačenje mužjaka voćne mušice *Ceratitis capitata* proizvodi se za upotrebu u zaštiti voća od *C. capitata*. Mužjake privlače klopke sa mamcima koje sadrže atraktante, gde se zadržavaju na lepljivoj podlozi. Mogu da se koriste i za praćenje leta odraslih jedinki i određivanje optimalnog vremena za primenu insekticida ili bioinsekticida. Formulacija atraktanta sa sporim otpuštanjem sadrži u sebi tečne sintetičke izomere. Dozatori za feromone su pričvršćeni na delta klopke sa lepljivim umetcima. Klopke se postavljaju na stabla u voćnjacima i emituju atraktant 8 nedelja u poljskim uslovima. Može se primenjivati zajedno sa insekticidima. Ne smatra se toksičnim za sisare. Nema dokaza da izaziva značajne štetne efekte na neciljane organizme i životnu sredinu. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

8. BIOHERBICIDI

BIOPESTICIDI

Korovi su stalni pratioci biljne proizvodnje, koji svojim prisustvom guše usev i oduzimaju mu hranjive materije. Odnosno, korovi predstavljaju sve štetne i nepoželjne biljke koje nastanjuju poljoprivrednu površinu i svojim prisustvom ispoljavaju negativan uticaj na prinos i/ili kvalitet proizvoda. Hemijska sredstva za suzbijanje korova, odnosno herbicidi, relativno su novijeg datuma. Oni takođe mogu delovati i na gajenu biljku zbog čega je veoma značajno njihovo poznavanje i pravilno korišćenje. Visoka efikasnost herbicida omogućava njihovu široku upotrebu u poljoprivredi, međutim herbicidi ispoljavaju i niz negativnih efekata, kao što su: perzistentnost, rezistentnost, toksičnost, ekotoksičnost, fitotoksičnost na gajenima biljkama, interakcija sa drugim komponentama poput fungicida, insekticida, đubriva i drugo.

U nameri da se smanji upotreba sintetičkih pesticida, zbog navedenih svojstava, u poslednjih dvadeset godina, rade se brojna i opsežna istraživanja biološkog načina suzbijanja korova, dok se sam početak biološke kontrole korova vezuje za period nakon II svetskog rata, odnosno početak šezdesetih godina (Carson, 1962). Najraniji eksperimenti, uključivali su gljivu *Fusarium oxysporum* za kontrolu *Opuntia ficus-indica*. Biološka kontrola zasniva se na upotrebi prirodnih neprijatelja, poput parazitoida, predatora, parazita, patogena odnosno nekih produkata njihovog metabolizma (poput mikotoksina), antagonista ili kompetitora za kontrolu gustine populacije štetnih organizama (Van Driesche and Bellows, 1996). Najčešće se kao bioherbicidi spominju gljive, ali postoji i veliki broj biljnih ekstrakata koji ispoljavaju bioherbicidno delovanje, čije se dejstvo najčešće pripisuje osobini alelopatije zbog čega metod primene bioherbicida predstavlja održivu, jeftinu i ekološki prihvatljivu metodu suzbijanja (Pacanoski, 2015). U Republici Srbiji nema registrovanih bioherbicida (Anonymus, 2021).

Jedan od najvećih problema i organske poljoprivredne proizvodnje, kada je reč o zaštiti bilja, je zaštita useva od korova. U ovu svrhu se primenjuju agrotehničke, fizičke i biološke mere, a u potpunosti se isključuju hemijske mere borbe. Primena pravilnog plodoređa, predsetvene pripreme, kultivacije, međuuseva i drugo, predstavljaju neophodne agrotehničke mere, dok su od fizičkih mera suzbijanja najznačajniji primena plamenih kultivatora i malčovanje zemljišta različitim materijalima. U biološke mere

ubrajaju se prirodni neprijatelji korovskih vrsta (patogeni i insekti), a smanjenju konkurentne sposobnosti korova doprinosi i alelopatija.

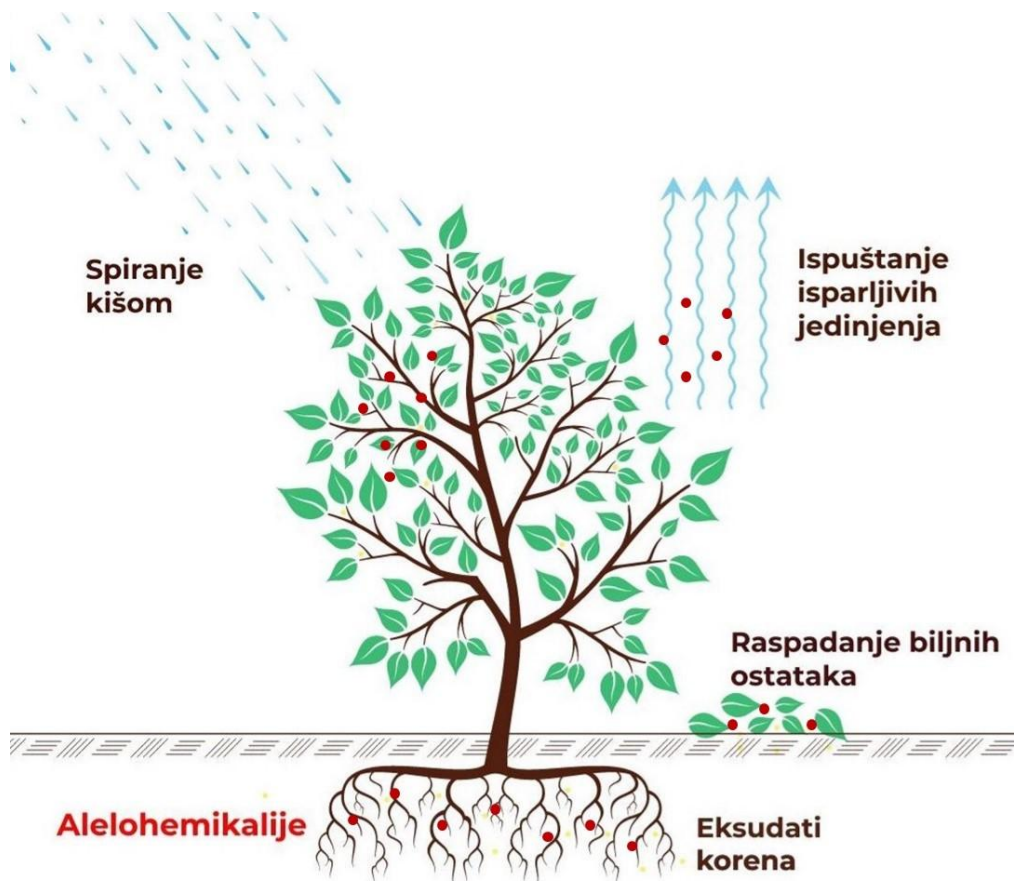
Pojam „alelopatija“ prvi je upotrebio austrijski botaničar Molisch (1937), prilikom opisivanja korisne i štetne hemijske interakcije između biljaka i mikroorganizama. Ova definicija je mnogo puta menjala značenje i bivala proširena. Danas se pod pojmom „alelopatija“ podrazumeva pozitivan ili negativan uticaj jedne biljke ili mikroorganizma na drugu, stvaranjem hemijskih komponenata koje emituju u okolonu. Hemijske komponente koje ispoljavaju alelopatski efekat nazivaju se alelohemikalije. Biljke kao i mikroorganizmi mogu da proizvode na hiljade sekundarnih produkata metabolizma kojima se pripisuje uloga „hemijskog oružja“ zbog čega predstavljaju potencijal za proizvodnju bioherbicida, što bi naročito značajno bilo sa stanovišta smanjenja upotrebe sintetičkih pesticida (Kovačević, 1979).

Primarnim metabolizmom biljne ćelije se smatraju procesi fotosinteze i nakon toga, transformacija nastale glukoze u procesu glikolize. Sekundarni biljni metabolizam podrazumeva formiranje jedinjenja sa snažnim fiziološkim, inhibitornim ili stimulativnim delovanjem. Ovo delovanje odnosi se kako na druge organizme, tako neretko i na pripadnike iste biljne vrste. Metaboliti, koji nastaju procesom sekundarnog metabolizma u biljnom tkivu, nalaze se kao slobodna i samostalna jedinjenja ili dolazi do njihove reakcije sa drugim sastojcima biljnog tkiva kada se stvaraju različiti kompleksi.

Najvažnije karakteristike sekundarnih metabolita biljaka su: niskomolekulska jedinjenja,

nemaju energetska značaj, hemijska raznovrsnost i biološka i farmakološka aktivnost. Dugo vremena se smatralo da su to sporedni produkti bez značaja za biljku. Danas je poznato da ovakva jedinjenja predstavljaju inaktivirane oblike i depoe štetnih produkata, da su sastavni delovi nekih enzimskih sistema, da poseduju hormonsku aktivnost, imaju zaštitnu ulogu za biljku i regulišu odnose biljke s drugim biljkama. Efekat delovanja jednih biljaka na druge preko njihovih izlučevina naziva se alelopatija, a jedinjenja koje luče su alelohemikalije (Dilday et al., 1998). Prema definiciji (International Allelopathy Society – IAS), alelopatija obuhvata sve procese izazvane sekundarnim metabolitima koje proizvode biljke, alge, bakterije i gljive, a koji utiču na rast i razvoj poljoprivrednih i bioloških sistema (IAS, 2005).

Jedan od najstarijih primera alelopatije je u šumama crnog oraha centralne Azije. Veoma mali broj vrsta biljaka može da preživi i opstane ispod krošnji ovog oraha. Alelohemikalija zadužena za takav efekat je juglon; izlučuje se putem korena, a nalazi se u skoro svim biljnim delovima crnog oraha (Soderquist, 1973). Efekat juglona se ne može reprodukovati u stakleniku jer je za biosintezu fenolnih kiselina neophodno ultraljubičasto svetlo (Davis, 1928).



Slika 18. Načini oslobađanja alelohemikalija (Albuquerque et al., 2010)¹²

Alelohemikalije se oslobađaju raličitim mehanizmima iz biljaka. Ti mehanizmi najčešće uključuju razgradnju biljnih ostataka, ispiranje i isparavanje iz lista ili stabla, te izlučivanje putem korenovnog sistema (Slika 18). Ove materije pripadaju u najvećem stepenu, organskim kiselinama, aminokiselinama, alkoholima, fenolnim jedinjenjima i mnogim drugim.

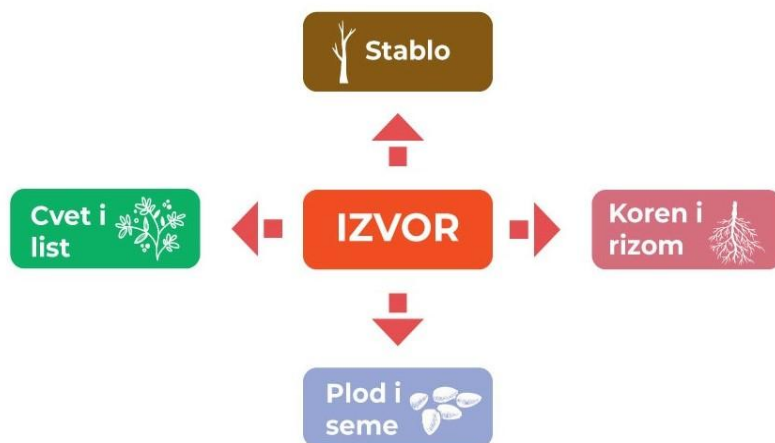
Ove hemikalije su odgovorne za menjanje odnosno narušavanje prirodnih fiziološko-biohemijskih procesa u biljakama. Procesu na koje najčešće utiču su klijanje semena što najčešće počinje od povrede meristema korena. Zatim utiču na proces fotosinteze jer remete stvaranje ATP jedinjenja i utiču na funkciju mitohondrija što dovodi i do poremećaja u procesu disanja. Takav primer predstavlja ferulinska kiselina koja redukuje stopu fotosinteze u sadnicama vrste *Abutilon theophrasti*. Poremećaj funkcije mitohondrija izazivaju juglon i sorgoleon čak i pri veoma niskim koncentracijama. Alelohemikalije inhibiraju rast i razviće biljaka jer mogu da utiču na ishranu putem smanjenja unosa minerala, smanjenjem sadržaja hlorofila (poput juglona), protoka ugljenika, aktivnosti fitohormona, aktivnost i proizvodnju enzima i druge. Tanini blokiraju aktivnost celuloze, pepsina, proteinaze i drugih enzimskih sistema. Za mnogo alelohemikalije nije utvrđen tačan mehanizam delovanja i početno mesto delovanja. Za hemikalije poput benzojeve kiseline početno mesto delovanja čini membrana ćelije jer ova kiselina ima sposobnost menjanja potencijala membrane. Pretpostavlja se da je alelopatija uslovljena zajedničkim dejstvom više alelohemikalija sa različitim mestima delovanja u ćeliji (Zimdahl, 2018).

Alelohemikalije se mogu svrstati u 10 kategorija:

1. Vodorastvorljive organske kiseline, alkoholi sa nerazgranatim lancom, alifatični aldehidi i ketoni
2. Prosti laktoni
3. Masne kiseline dugih lanaca i poliacetileni
4. Hinoni (benzohinoni, antrahinoni i kompleksni hinoni)
5. Fenoli
6. Cimetna kiselina sa svojim derivatima
7. Kumarini
8. Flavonoidi
9. Tanini
10. Steroidi i terpenoidi (seskviterpenski laktoni, diterpeni i triterpenoidi)

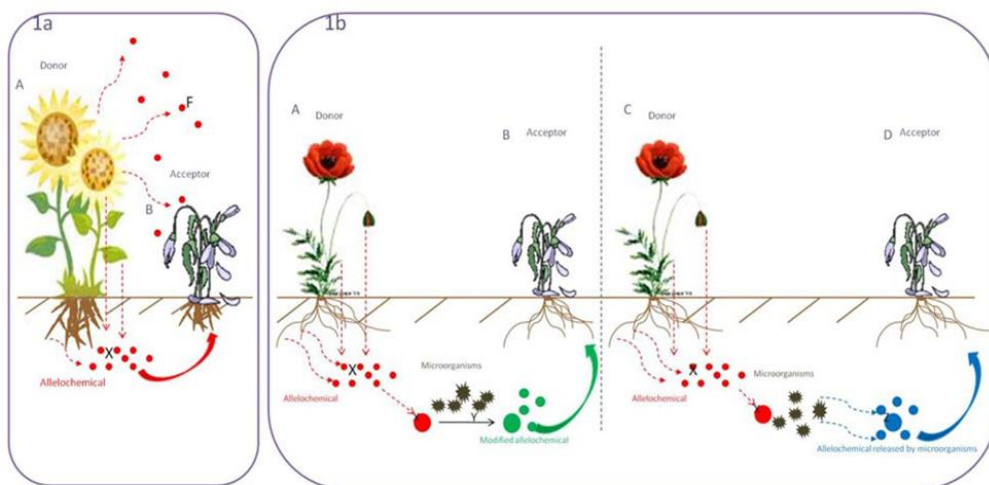
Alelohemikalije mogu da se nalaze u različitim biljnim delovima. Najviše ih ima u listovima, zatim u korenu, semenu, rizomima ali i stabljikama (Slika 19). Mogu da se nađu i u cvetovima ali u znatno ograničenim količinama.

Količina alelohemikalija varira sa fenologijom biljke, odnosno u različitim stadijumima razvića, nakuplja se različita količina (Narwal, 2004).



Slika 19. Izvori alelohemikalija deluju na biljke u okolini (Albuquerque et al., 2011)¹²

Biljka koja emituje alelohemikalije u sredinu naziva se emiter, dok se biljka na koju te otpuštene supstance deluju naziva recepijent (Slika 20).



Slika 20. Šematski prikaz alelohemijske interakcije (Soltys et al., 2013)

Na ovaj proces utiču brojni abiotički i biotički faktori. Neke studije pokazuju da je alelopatija izraženija u nepovoljnim uslovima sredine kada je voda, svetlost ili ishrana ograničena. Alelohemikalije biljka emiter može da izlučuje u aktivnom obliku ili u neaktivnom obliku do čije aktivacije dolazi delovanjem uslova sredine poput pH vrednosti, temperature ili vlažnosti, a takođe na aktivaciju može da utiče i delovanje mikroorganizama.

Mikroorganizmi prilikom transformacije alelohemikalija, mogu da ih prevode u više ili manje toksična jedinjenja u odnosu na inicijalna. Alelohemikalije izlučene od strane biljke mogu da stimulišu mikroorganizme da produkuju neke druge alelohemikalije koje deluju na biljke u okolini (Albuquerque et al., 2010).

Biljke sa alelopatskim delovanjem mogu da se koriste kao bioherbicidi, regulatori rasta i osnova za sintezu novih herbicidnih preparata (Tabela 2). Herbicid mezotrion razvijen je na bazi alelopatije i ako se ne radi o potpunom biljnom preparatu. Alelohemikalija leptospermum izolovana je iz biljke *Callistemon citrinus* koja je upotrebljena kao baza za sintezu mezotriona. Ovakav način upotrebe alelopatije čini bogat izvor za sintezu novih jedinjenja (Cornes, 2005).

Drugi način upotrebe je da se biljke sa alelopatskim svojstvima koriste kao malč, to jest za pokrov zemljišta kako bi se sprečilo nicanje korova, uz pravilnu primenu plodoreda čime bi se značajno mogla smanjiti korovska populacija bez upotrebe hemijskih sredstava (Saha et al., 2018). Ovakav postupak se naziva biofumigacija, a obavlja se tako što se biljke iz roda slačica (*Brassica juncea* i *B. napus*), uzgajaju do rasta u punom cvetanju nakon čega se malčiraju i dobijena masa se inkorporirara u zemljište freziranje. Ova masa otpušta izotiocijanate koji sprečavaju nicanje korova i dovode do redukcije fitopatogenih gljiva (Mattner, et al., 2008). Genetičke metode implementacije alelopatskih osobina iz divljih srodnika u poljoprivredne kulture što za posledicu ima povećanu proizvodnju ovih materija, predstavlja još jedan od načina primene alelohemikalija. Ovakvi bioherbicidi pored povoljnih toksikoloških i ekotoksikoloških osobina, davali bi i nov areal materija sa različitim mehanizmom delovanja što bi doprinelo razvoju antirezistentne strategije ili odlaganju pojave rezistentnosti korova prema herbicidima.

Tabela 2. Prikaz pojedinih biljaka sa alelopatskim delovanjem i osetljive vrste korova (Soltys et al., 2013)

Biljke sa alelopatskim delovanjem	Osetljivi korovi
<i>Raphanus sativus</i> <i>Brassica sp.</i> (glukozinolazi, izotiocijanati)	<i>Sonchus asper</i>
	<i>Matricaria indora</i>
	<i>Amaranthus hybridus</i>
	<i>Convolvulus arvensis</i>
	<i>Capsella bursa-pastoris</i>
	<i>Cuscuta spp.</i>
	<i>Daucus carota</i>
<i>Sorghum bicolor</i> (sorgoleon)	<i>Hirschefeldia incana</i>
	<i>Phalaris minor</i>
	<i>Coronopus didymus</i>
	<i>Cyperus rotundus</i>
	<i>Solanum nigrum</i>
	<i>Amaranthus retroflexus</i>
<i>Oryza sativa, Hypnum plumaeform</i> (momilakton)	<i>Ambrosia artemisiflora</i>
	<i>Echinochloa colonum</i>
	<i>Amaranthus lividus</i>
	<i>Digitaria sanguinalis</i>
<i>Artemisia annua</i> (artemisin)	<i>Poa annua</i>
	<i>Ipomea lacunose</i>
	<i>Portulaca oleracea</i>
<i>Piper sp.</i> (sarmentin)	<i>Lemna minor</i>
	<i>Leptochloa filiformis</i>
	<i>Taraxacum sp.</i>
<i>Eucalyptus sp.</i> (etarsko ulje)	<i>Chenopodium album</i>
	<i>Cassia occidentalis</i>
<i>Callistemon citrinus, Leptospermum scoparium</i> (leptospermon)	<i>Lolium rigidum</i>
	<i>Setaria glauca</i>
	<i>Brassica juncea</i>
	<i>Rumex crispus</i>

Biljke alelopatiju koriste kao „sredstvo“ za povećanje njihove konkurentnosti i stope preživljavanja (Kong et al., 2002). Prilikom sintetisanja ovih jedinjenja posebnu ulogu imaju temperatura, intenzitet svetlosti i fotoperiod. U najvećem broju slučajeva, produžen fotoperiod i povećana temperatura utiču na aktiviranje alelohemikalija. Takođe, značajan faktor za aktivaciju jeste smanjenje vlažnosti sredine. *Datura stramonium* u uslovima smanjene vlažnosti povećava produkciju alelohemikalija (Dias and Dias, 2000). Proučavanjem uticaja alelohemikalija iz sirka na pšenicu pod različitim vrstama obrade zemljišta, ustanovljeno je da se emitovanje alelohemikalija od strane sirka smanjuje sa redovnom i brzom obradom zemljišta (Roth et al., 2000). Fenofaza i starost biljke ispoljavaju uticaj na prisustvo i kvalitet alelohemikalija. Alelohemikalije u soji razlikuju se u toku rasta biljke kao i tokom raspadanja ostataka (Hu and Kong, 2002). Uzimajući ovakve činjenice u obzir, alelopatija može biti značajan faktor prilikom proizvodnje bioherbicida (Shao-Lin et al., 2004).

Da bi alelohemikalija mogla da se koristi kao herbicid, mora da zadovolji određene kriterijume: da ispoljava visoku aktivnost na korovske biljke, da je poznat mehanizam delovanja u biljkama, perzistentnost u zemljištu, da ne ispoljava negativan uticaj na ne ciljane organizme i životnu sredinu, kao i na zdravlje ljudi i životinja, a takođe da je i ekonomski profitabilna proizvodnja (Al-Mulali et al., 2016).

8.1. Bioherbicidi na bazi biljnih ekstrakata

Jedan od najpoznatijih primera upotrebe biljnih ekstrakata kao bioherbicida je primena vodenog ekstrakta biljaka sirka (*Sorghum bicolor*) i suncokreta (*Helianthus annuus*), koji se efikasno mogu koristiti u zaštiti useva od korova. Sirk je jedna od najčešće korišćenih vrsta za ispitivanje alelopatičkog bioherbicidnog efekta. Ekstrakti sirka pokazuju efekat na mnoge vrste korove u različitim usevima kao što su pšenica, pamuk i suncokert. Efekat vodenog rastvora se povećava sa vremenom i dozom primene. Efikasni su za biljke (korove) kao što su *Gossypium hirsutum*, *Glycine max*, *Triticum aestivum* i *Echinochloa crus-galli* (Irshad and Cheema, 2005; Cheema et al., 2012). U potrazi za prirodnim alternativama za suzbijanje korova, kao što je *Chenopodium album*, alelohemikalije iz lišća suncokreta pokazale su značajan potencijal kao prirodni herbicid za širokolisne korove. U poređenju sa

sintetičkim herbicidima, vodeni ekstrakt iz lišća suncokreta nije uspeo da potpuno uništi *C. album*, ali je najveća testirana koncentracija uspešno suzbila *C. album*, što je za posledicu imalo znatno povećanje prinosa pšenice (Anjum and Bajwa, 2007). Pored pojedinačnog efekta biljnih ekstrakata suncokreta i sirka, ispitivana je i njihova kombinacija, uz dodatak i ekstrakta duda i to u suzbijanju korova *Avena fatua*, *Phalaris minor*, *Chenopodium album* i *Coronopus didimus*. Povećanje doze primene, značajno utiče na smanjenje ukupne gustine korova i proizvodnju njihove biomase u obe kombinacije, dok je takođe zabeležen povećan prinos pšenice za oko 20%. Na osnovu ove studije može se sugerisati da upotreba biljnih ekstrakata sa alelopatskim karakteristikama u mešavini može da se koristi kao potencijalna strategija za suzbijanja korova u usevu pšenice (Naeem et al., 2018). Uticaj ekstrakta biljke *Brassica nigra* iz različitih biljnih delova (lista, stabljike, cveta i korena), ispitivani su na divlju zob (*Avena fatua*), gde je utvrđeno da su alelohemikalije ispoljile uticaj na inhibiciju klijanja i porast klijanaca. Vodeni ekstrakti lista eukaliptusa, bagrema, sirka, suncokreta, topole i duvana primenijivani su za suzbijanje korova i za procenu uticaja na rast pšenice. Rezultati postignuti u ovom istraživanju potvrdili su da ove biljke ispoljavaju alelopatsko herbicidno delovanje na korove tako što smanjuju njihov rast odnosno pokrovnost i gustinu. Pored ovoga, ustanovljeno je da ovi vodeni ekstrakti imaju pozitivno delovanje na prinos pšenice i visinu biljaka (Khan et al., 2015). Baličević et al. (2015), ispitivali su alelopatski potencijal *Solidago gigantea* na klijanje i početni porast ječma, mrkve i korijandera, kao i uticaj na korove *Abutilon theophrasti* i *Amaranthus retroflexus*. Ispitivani su vodeni rastvori nadzemne mase koji su pokazali alelopatsko delovanje kako na gajene tako i na korovske vrste.

Mnoge gajene biljke ispoljavaju alelopatski efekat te predstavljaju bogat resurs za proizvodnju i proučavanje bioherbicide. Pojedini kultivari pirinča pokazuju jak alelopatski potencijal na korove poput *Echinochloa crus-galli*, *Erodium cicutarium*, *Heteranthera limosa* i *Monochoria*. Ekstrakti pšenice ispoljavaju efekat na neke prouzrokovane bolesti, štetočine i korove poput *Chenopodium album*, *Lolium rigidum* i *Bromus japonicus*. Ekstrakti kukuruza i sirka, imaju izražen inhibicijski efekat na klijanje i razvoj divljeg ječma. Efekat zavisi od starosti biljke, pH vrednosti, sadržaja azota i ugljenika, kao i sadržaja vlage u zemljištu (Mushtaq et al., 2020). Biljke iz porodice Asteraceae, Convolvulaceae, Solanaceae, Verbenaceae su bogate alelohemikalijama (Tabela 2). Ekstrakt lista *Ipomoea cairica* izaziva alelopatski efekat na korov *Lihularia virgaurea* i *Parthenium hysterophorus*,

što ga čini potencijalnim herbicidom na bazi prirodnih proizvoda (Srivastava et al., 2015).

Najveća prednost primene bioherbicida je odsustvo negativnog delovanja po životnu sredinu. Međutim, biološko suzbinjanje korova, ne može u potpunosti zameniti konvencionalan način korišćenja hemijskih sredstava jer se javljaju ograničenja u njihovoj primeni, kao što su uticaj spoljašnjih faktora na vek trajanja kako u ambalaži, tako i u terenskim uslovima nakon tretmana. Dva najznačajnija faktora sredine jesu temperatura i vlažnost od kojih u velikoj meri zavisi efikasnost određenog bioherbicida (Auld et al., 2003). Biološka specifičnost, odnosno ispoljavanje delovanja samo na određene „target” vrste, to jest uzak spektar delovanja takođe je jedan od problema koji se javlja pri primeni bioherbicida (Weidemann and TeBeest, 1990).

Tehnološko-komercijalna ograničenja koja se ispoljavaju kod masovne proizvodnje, odnosno problemi prilikom formulacije takvih proizvoda, predstavlja možda i najveće ograničenje bioherbicidnog razvoja jer se radi o najčešće nestabilnim (ako se radi sa živim organizmim) ili lako isparljivim materijama (Altman et al., 1990). Danas se uveliko radi na ekstrakciji opisanih organskih jedinjenja iz različitih biljnih vrsta, a naročito se daleko odmaklo u ekstrakciji etarskih ulja, s obzirom na njihovu široku primenu ne samo u poljoprivredi. Do sada je uočen čitav niz organskih jedinjenja sa vrlo jakim herbicidnim delovanjem.

8.2. Bioherbicidi na bazi etarskih ulja

Etarska ulja ispoljavaju ekološku funkciju koja se ogleda u smanjenju respiracije, stvaranju specifične mikrokline koja ih štiti od prekomerne transpiracije, odbijanju i prelamanju svetlosti, te učestvovanju u interakciji biljka-biljka, biljka-životinja, biljka-insekt. Ova jedinjenja privlače insekte i pomažu u oprašivanju, a mogu da inhibiraju klijanje semena kako drugih tako i sopstvenih vrsta, da štite biljku od napada insekata i životinja, ali i od infekcije mikroorganizmima (Templeton, 1969; Bruneton, 1999; Petrović i sar., 2009).

Od dvadeset pet vrsta etarskih ulja poreklom iz biljaka *Ocimum basilicum*, *Foeniculum vulgare*, *Betula nigra*, *Sesamum indicum*, *Brassica napus*,

Simmondsia chinensis, *Thymus vulgaris*, *Linum usitatissimum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Corylus avellana*, *Syzygium aromaticum*, *Olea europaea*, *Brassica napus*, *Glycine max*, *Helianthus annuus*, *Arachis hypogaea*, *Vitis amurensis*, *Carum carvi*, *Vaccinium macrocarpon* i *Prunus* sp., najveću herbicidnu aktivnost na listovima maslačka (*Taraxacum officinale*) u laboratorijskim uslovima i stakleniku, pokazala su etarska ulja timjana (*Thymus vulgaris*), cimeta (*Cinnamomum zeylanicum*) i karanfilića (*Syzygium aromaticum*). Za ova etarska ulja je takođe, dokazano da sprečavaju klijanje i razvoj klijanaca krompira, razarajući meristemske ćelije, a deluju i na izdanke korovskih biljaka sirka (*Sorghum halepense*), pepeljuge (*Chenopodium album*) i ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia*) u uslovima staklenika (Tworkoski, 2002).

Etarsko ulje izolovano iz listova eukaliptusa (*Eucalyptus citriodora*) pri vrlo niskim koncentracijama dovodi do potpune inhibicije razvoja semena biljke *Parthenium hysterophoru*, dok etarsko ulje timijana, inhibitorno deluje na klijanje korova, kao što je obična boca (*Xanthium strumarium*) i divlji ovas (*Avena sterilis*).

Pregled biljnih vrsta iz kojih su dobijena etarska ulja, kao i biljke (korovi) na koje oni deluju inhibitorno prikazan je u tabeli 3.

Linalool je najaktivnija komponenta etarskog ulja bosiljka (*O. basilicum*) i lavande (*Lavandula angustifolia*), a inhibira klijanje *Phalaris brachystachys* – fam. *Poaceae* (Uremis et al., 2009). Osim ovih, herbicidnu aktivnost imaju i etarska ulja biljaka komorač (*Foeniculum vulgare*) i susam (*Sesamum indicum*), seme uljane repice (*Brassica napus*), jojobe (*Simmondsia chinensis*) i lana (*Linum usitatissimum*), ulje leske (*Corylus avellana*), maslinovo ulje (*Olea europaea*), sojino ulje (*Glycine max*) i drugi (Vuković i sar., 2013). Etarsko ulje *Tagetes minuta* inhibira klijanje semena i rast klijanaca korova *Chenopodium murale*, *Phalaris minor* i *Amaranthus viridis*, narušavanjem sadržaja hlorofila u navedenim korovima (Arora, 2015; Mushtaq et al., 2020). Kumarin (česta materija kod trava, leguminoza i citrusa), na primer, ima stotinu puta jače delovanje od folne kiseline (sintetski regulator rasta). Artemisin je seskviterpenoid, koji je izolovan iz biljaka *Artemisia annua* i *A. vulgaris*. Za ovu supstancu utvrđeno je razarajuće delovanje na drugu biljku na taj način što generiše masovno nakupljanje prekursora fotosinteze, koji na svetlosti izazivaju fitotoksičan efekat, zbog čega je poznat i kao „laserski herbicid“ (Kovačević i sar., 2004).

Danas se uveliko radi na ekstrakciji organskih jedinjenja iz različitih biljnih vrsta, a naročito se daleko odmaklo u ekstrakciji etarskih ulja, s obzirom na njihovu široku primenu ne samo u poljoprivredi.

Tabela 3. Etarska ulja sa herbicidnim delovanjem

Biljke iz kojih su izolovana etarska ulja	Aktivna supstanca	Biljke čiji je razvoj inhibira
Pelin (<i>Artemisia vulgaris</i>)	Artemisin	<i>Artemisia annua</i> <i>Sorghum spp.</i>
Suncokret (<i>Helianthus annuus</i>)	Anuolid E Leptokaprin Helianolus Anuionon E Helianoul L	<i>Chenopodium album</i> , <i>Coronopus didymus</i> , <i>Medicago polymorpha</i> , <i>Rumex dentatus</i> , <i>Phalaris minor</i>
Cimet (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	Eugenol	<i>Sorghum halepense</i> <i>Chenopodium album</i> <i>Ambrosia artemisifolia</i>
Timjana (<i>Thymus vulgaris</i>)	Timol	<i>Xanthium strumarium</i> <i>Avena sterilis</i>
Bosiljak (<i>Ocimum basilicum</i>) Lavanda (<i>Lavandula angustifolia</i>)	Linalool	<i>Phalaris brachystachys</i>

Etarska ulja nekih biljaka mogu negativno delovati na gajene biljake, obzirom da zaustavljaju razvoj, o čemu posebno treba voditi računa. Tako etarska ulja matičnjaka (*Melissa officinalis*), verbene (*Verbena officinalis*) i kima (*Carum carvi*), ihibitorno deluju na klijavost izdanka i razvoj korena kod povrtarskih vrsta kao što su rotkvica (*Raphanus sativum*), salata (*Lactuca sativa*) i začinske biljke - kres salata (*Lepidium sativum*) (Almeida et al., 2010).

8.3. Bioherbicidi na bazi gljiva

Većina bioherbicida na tržištu su na bazi gljiva. Vrste iz rodova *Colletotrichum*, *Phoma* i *Sclerotinia* se najviše koriste u komercijalne svrhe. Postoje i preparati na bazi bakterija, a u posljednjih desetak godina se sve više pažnje poklanja virusima.

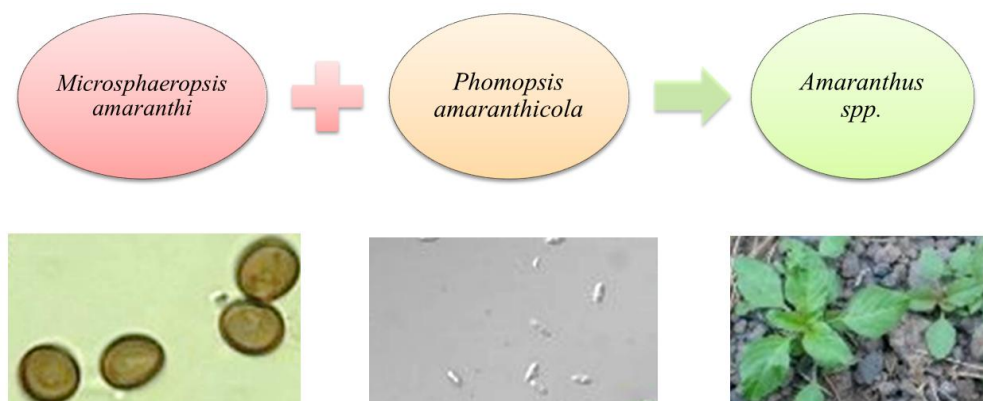
Najčešće gljive koje ulaze u sastav bioherbicida su: *Alternaria destruens*, *A. sonchi*, *A. alternata*, *A. helianthi*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. truncatum*, *C. coccodes*, *Cercospora rodmanii*, *Fusarium oxysporum*, *F. nygamai*, *F. tumidum*, *Mycelia sterile*, *Phomopsis amaranthicola*, *Phytophthora palmivora*, *Phyllosticta cirsii*, *Phoma destructiva*, *P. hedericola*, *P. nebulosa*, *P. herbarum*, *P. macrostoma*, *Puccinia thlaspeos*, *Sclerotinia minor*, *Verticillium albo-atrum*.

Alternaria destruens - Prvobitno izolovana iz dikotiledone biljke *Cuscuta gronovii*. Proizvodi se fermentacijom. Koristi se za suzbijanje vrsta iz roda *Cuscuta* (*C. gronovii*, *C. indecora*, *C. planiflora*, itd.). Primenjuje se u zaštiti voća, povrća i ukrasnih biljaka od navedenih korova. Osnovni mehanizam delovanja je patogenezna (biološki proces nastanka i razvoja bolesti). Izolat *Alternaria destruens* 059 se proizvodi u obliku granula (GR) i kao kvašljivi prašak (WP). Prvi put je komercijalni preparat počeo da se koristi 2005. godine u SAD. Primenjuje se tako što se direktno nanosi na vlažno zemljište u vidu granula, na nikle korove ili neposredno pre nicanja korova, a primenjuje se i folijarno. Preparat ne sadrži patogene ili alergene mikroorganizme. *A. destruens* se ne primenjuje u mešavini sa drugim sredstvima za zaštitu bilja. Nije preporučljivo primenjivati fungicide u roku od 4 nedelje nakon primene ovog bioherbicida. Nekompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nije utvrđeno da je navedena gljiva toksična za ljude i druge sisare. Dostupna istraživanja ukazuju da se ne očekuju štetni ekološki efekti kada se preparati koji sadrže izolat *A. destruens* 059 koriste u skladu sa uputstvima. Nije zabeleženo da *A. destruens* inficira bilo koji organizam osim *Cuscuta* spp. Pored toga, očekuje se da je izloženost ptica, riba, vodenih beskičmenjaka i medonosnih pčela minimalna, jer se proizvodi nanose na tlo i lišće ciljanog korova. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Cercospora rodmanii - Ova gljiva je izolovana iz vodenog zumbula (*Eichhornia crassipes*) na Floridi, SAD. Koristi se za suzbijanje vodenog zumbula (*E. crassipes*). Primenjuje se za zaštitu reka, kanala za navodnjavanje i drugih vodenih akumulacija. Osnovni mehanizam delovanja je patogeneza. Simptomi izazvani gljivom *Cercospora spp.* mogu se lako zameniti sa drugim simptomima koji potiču od folijarnih patogena. *Cercospora rodmanii* uzrokuje male (2-4 mm prečnika) nekrotične mrlje na listu i peteljka. Tačke karakterišu blede centri okruženi tamnijim nekrotičnim regionima. Povremeno se fleke mogu pojaviti u obliku „suznih kapi“ koje se spajaju kako gljiva sazreva, što dovodi do toga da ceo list postane nekrotičan i na kraju uvane. Ovaj patogen se može brzo i lako proširiti preko vode, uzrokujući da velike površine korova postanu smeđe i nekrotične. Primenjuje se u proleće i jesen.

Colletotrichum gloeosporioides – Izolovana iz biljke *Aeschynomene virginica*. Koristi se za suzbijanje *A. virginica* u usevima soje i pirinča. Mehanizam delovanja se ogleda u patogenezi. Pored *C. gloeosporioides* za suzbijanje korova mogu se koristiti i druge vrste iz ovog roda kao što su: *C. coccodes* (suzbija *Abutilon theophrasti* u usevu soje), *C. truncatum* (suzbija *Sesbania exaltata* u usevu soje). Kada se nanese na korov, gljiva prodire u kutikulu biljke što dovodi do njenog odumiranja. Proizvodi se putem fermentacije, u obliku vodene suspenzije spora, kao i u obliku prašiva (DP) ili vododisperzibilnih granula (WG). Primenjuje se folijarno nakon nicanja korova u uslovima visokih temperatura i vlažnosti. Nije preporučljivo primenjivati fungicide najmanje tri nedelje nakon tretmana preparatom na bazi *C. gloeosporioides* i drugih vrsta gljiva iz roda *Colletotrichum*. Kompatibilan sa hemijskim herbicidima, ali se ne sme koristiti zajedno sa fungicidima. Nekompatibilan sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nema podataka o bilo kakvim alergijskim ili drugim neželjenim efektima na sisare nakon upotrebe ovih preparata. Preparati na bazi ove gljive dozvoljeni su za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Phomopsis amaranthicola - Prvobitno izolovana iz korovske vrste *Amaranthus retroflexus* na Floridi, SAD. Proizvodi se putem fermentacije. Suzbija većinu vrsta biljaka iz roda *Amaranthus* (Slika 21). Primenjuje se u širokom spektru useva, uključujući mnoge ratarske i povrtarske biljke.



Slika 21. Bioherbicidi na bazi gljiva¹³

Mehanizam delovanja se ogleda u patogenezi. *P. amaranthicola* formira folijarne lezije što prouzrokuje opadanje lišća. Korov se bolje suzbija kada je mlađi i pokazalo se da usevi poput paprike mogu vrlo efikasno nadvladati tretirani korov. Nema podataka o neželjenim efektima, osetljivosti ili reakcije bilo koje vrste povezane sa upotrebom ili rukovanjem *P. amaranthicola*. Nema štetne efekte na korisne organizme ili na životnu sredinu. Preparat na bazi ove gljive je dozvoljen za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

Phytophthora palmivora - Prirodno zastupljena patogena gljiva u zemljištu, izolovana iz biljne vrste *Morrenia odorata* na Floridi. Proizvodi se putem fermentacije. Koristi se za suzbijanje vrste *M. odorata*, u citrusima i drugim višegodišnjim kulturama. *P. palmivora* preko korena oštećuje korov i potrebno je 6-10 nedelja da ga uništi.

Proizvodi se u obliku suspenzije i primenjuje se nanošenjem na zemljište u periodu između maja i septembra nakon što korov nikne. Bitno je obezbediti da zemljište bude vlažno u vreme nanošenja preparata, uz dodatno navodnjavanje nakon tri dana kako da bi se održao sadržaj vlage u zemljištu. Može se primenjivati putem irigacije ili rasprskivačima, folijarno. Primenjuje se samo jednom tokom sezone. Ne meša se sa hlorisanom vodom niti primenjuje sa bilo kojim drugim pesticidom ili đubrivom. Ne sme se koristiti na udaljenosti manjoj od 30 metara od osetljivih biljke kao što je

pojedino povrće. Nema dokaza da *P. palmivora* ima alergeni ili drugi štetni efekat. Smatra se da ima malu toksičnost za sisare. Ova gljiva se prirodno javlja u zemljištu i nema dokaza da njena upotreba kao bioherbicida utiče na neciljane organizme ili na životnu sredinu. *P. palmivora* ostaje biološki aktivna u tretiranom zemljištu najmanje godinu dana nakon primene.

Puccinia thlaspeos - Otkrivena je u južnom Ajdahu 1979, a sada je rasprostranjena širom SAD-a. Proizvedena na živoj biljci *Isatis tinctoria*, a takođe primenjuje se za suzbijanje iste biljne vrste na ne poljoprivrednom zemljištu, rubovima parcela, kanalima sa tim da nije dozvoljena primena u gajenim usevima. *Puccinia thlaspeos* nije bio patogen *Isatis tinctoria* sve do 1978, kada je pronađena. Od tog otkrića, rđa se brzo proširila iz Ajdaha u severnu Jutu, gde se sada javlja u većini populacija ove korovske vrste. Ova rđa se razlikuje od većine drugih koje se koriste u biokontroli korova putem izazivanja sistemskih infekcija. Infekcije su obično asimptomatske tokom prve godine životnog ciklusa, s tim da gljiva prezimi u tkivu zaraženih biljaka. Simptomi se obično javljaju tokom druge sezone. Dodatna i vrlo važna razlika između ove i ostalih rđa koje se koriste u biološkoj zaštiti je ta što jedna infekcija gotovo u potpunosti sprečava proizvodnju semena sistemski zaraženim biljkama. Proizvodi se u obliku prašiva i nanosi se direktno na zemlju i mlade biljke u aprilu ili maju kada nove biljke započinju sa rastom, ili folijarno. Obično je dovoljna jedna primena, jer se rđa lako širi. Nema podataka o alergijskim ili drugim štetnim toksikološkim efektima. Nema negativne efekte na korisne organizme ili na životnu sredinu.

Sclerotinia minor - Izolat IMI 344141 je dobijen sa polja salate 1983. godine u Kanadi. Proizvodi se fermentacijom. Koristi se za suzbijanje maslačka *Taraxacum officinale* i našao je primenu na travnjacima, golf terenima i parkovima.

Mehanizam delovanja se zasniva na delovanju oksalne kiselina, koju luči *S. minor*, i deluje toksično za biljke maslačka. Bolest se brzo razvija i potpuno uništava biljke maslačka i ostalih širokolisnih korova u roku od 7 dana. Preparat je formulisan u vidu granula. Primenjuje se u proleće i/ili jesen kada dnevne temperature iznose od 18 do 24 °C. Nekompatibilan sa fungicidima širokog spektra delovanja, kao što su fungicidi na bazi bakra, sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Očekuje se da primena izolata *Sclerotinia minor* IMI 344141 neće značajno povećati nivo

prirodne zastupljenosti ovog mikroorganizma. Nema podataka o alergijskim ili drugim neželjenim efektima nakon upotrebe ovog preparata. Takođe, ne očekuje se da će imati bilo kakve štetne efekte na korisne organizme ili životnu sredinu. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

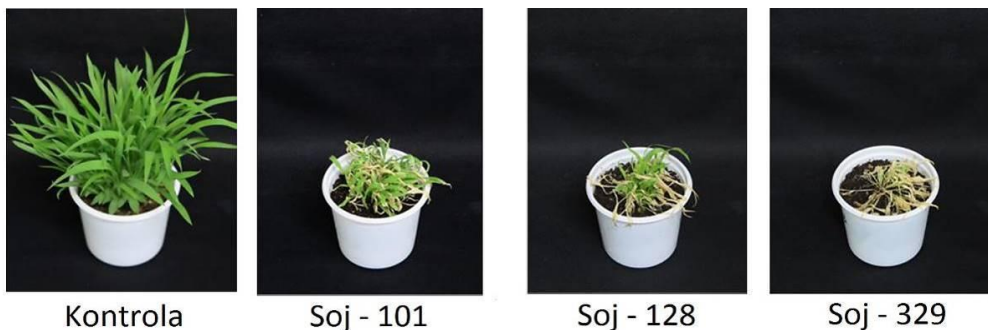
8.4. Bioherbicidi na bazi bakterija

Najčešće bakterije koje ulaze u sastav bioherbicida su: *Pseudomonas gladioli* pv. *gladioli*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *P. syringae* pv. *tagetis*, *P. fluorescens* strain G2-11 - *Xanthomonas* spp., *X. campestris* pv. *poa annua* (JTP482).

Pseudomonas gladioli* pv. *gladioli - Izolovana iz livadske trave (*Poa annua*). Preparat proizveden kontrolisanom fermentacijom. Koristi se za suzbijanje jednogodišnje livadske trave (*P. annua*) na golf terenima i sličnim područjima sa finim travnim vrstama. *P. gladioli* oštećuje sprovodni sistem, ksilem kod korova, gde se množi, na kraju blokirajući tkiva, što dovodi do uvenuća biljaka. Nanosi se na travnjake folijarno putem rasprskivača ili kroz sistem za navodnjavanje. Preparat sadrži ćelije bakterije *P. gladioli*, koje nisu patogene za čoveka. Nekompatibilan sa fungicidima širokog spektra i sa jakim oksidansima, kiselinama, bazama i hlorisanom vodom. Nema podataka o alergijskim ili drugim štetnim toksikološkim efektima. *P. gladioli* se široko javlja u prirodi i ne očekuje se da ima negativne efekte na korisne organizme ili na životnu sredinu.

Xanthomonas campestris* pv. *poa annua - Izolovana iz livadske trave (*Poa annua*). Preparat proizveden kontrolisanom fermentacijom. Koristi se za suzbijanje jednogodišnje livadske trave (*P. annua*) na golf terenima i sličnim područjima sa finim travnim vrstama. *Xanthomonas campestris* pv. *poa annua* je agresivni patogen jednogodišnje livadske trave i njegov mehanizam delovanja se zasniva na parazitizmu. Takođe proizvodi polisaharid ksantan koji ometa kretanje vode u ksilemu. Zaštita se postiže u roku od 2 do 4 nedelje, u zavisnosti od vremenskih uslova i rasta trave. Nanosi se na travu nakon nicanja korova folijarno, sa velikom količinom vode. Zaštita je najbolja kada je prate uslovi visoke temperature i vlažnosti. Preparat na bazi ove bakterije je nekompatibilan sa fungicidima širokog

spektra delovanja, poput bakra. Nema podataka o alergijskim ili drugim štetnim toksikološkim efektima na sisare. *Xanthomonas campestris* pv. *poa annua* se široko javlja u prirodi i ne očekuje se da ima negativne efekte na neciljane organizme ili na životnu sredinu. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.



Slika 22. Praćenje herbicidnog delovanja *Streptomyces* spp. na rast biljaka *Digitaria sanguinalis*, 7 dana nakon folijarnog tretmana u stakleniku¹⁴

8.5. Bioherbicidi na bazi virusa

Virus mozaika duvana - Biološki herbicid na bazi virusa, izolovan iz biljne vrste *Solanum viarum*. Genotip sorte duvana (*Nicotiana tabacum*) se može koristiti za proizvodnju preparata na bazi ovog virusa. Koristi se za suzbijanje vrste *Solanum viarum* u širokom spektru useva, ali se smatra da su paprika (*Capsicum spp.*) i duvan osetljive vrste pa treba izbegavati primenu u tim usevima. Tokom nekoliko dana nakon infekcije, virus izaziva uvenuće biljaka. Uvenuće je rezultat masovne disfunkcije vaskularnog tkiva. Da bi ovaj virus delovao kao bioherbicid, čestice virusa moraju da budu uvedene u žive ćelije domaćina putem mikroskopskih povreda. Testirano je osam različitih metoda inokulacije korišćenjem raspoložive opreme za nanošenje pesticida. Među njima, metode raspršivanja i prskanje pod visokim pritiskom bile su najefikasnije i najpraktičnije za upotrebu. Kao biljni virus, ne zaražava ljude, životinje ili insekte i ne predstavlja nikakav rizik za više oblike života. Ne predstavlja nikakvu toksikološku opasnost niti izaziva stvaranje toksina u biljkama nakon infekcije. Ne ispoljava štetan uticaj na neciljane organizme. Odobren za upotrebu u organskoj poljoprivredi.

8.6. Makrobiološki bioherbicidi

Aceria malherbae – je fitofagna grinja koja se hrani na korovima kao što je poponac (*Convolvulus arvensis*) i vrstama roda *Calystegia*. Na jako oštećenim biljkama, izdanci su zakržljali i deformisani i ne dolazi do cvetanja. Hrane se većinom na glavnom nervu i izazivaju tipične gale na listu, stabljici i peteljka u kojima se nalaze i jaja. Najveće štete izazivaju imaga i nimfe. Komercijalno su dostupni u uzrastu imaga i nifme unutar gala, koje se raspoređuju po površini na kojoj se nalazi korov. Ove grinje se sporo kreću zbog čega je bitno obezbediti direktan kontakt korova i gala koje se nanose. Da bi grinje ostale aktivne unutar gala, potrebno je da su gale vlažne i da se čuvaju na hladnom. Nekompatibilne su sa akaricidima. Dozvoljene su za upotrebu u organskoj proizvodnji.

Agrilus hyperici – je fitofagni insekt koji se hrani na vrstama roda *Hypericum* (*H. perforatum*, *H. montanum* i *H. concinnum*). Primenjuje se na pašnjacima i travnjacima. Ženka polaže jaja na stabljiku. Nakon piljenja, larve se hrane u korenu, unutar kojeg dolazi do ulutkavanja. Takve biljke mnogo teže cvetaju jer su stabljike zakržljale, što može dovesti do potpunog propadanja biljke. Imaga se hrane na lišću, ali ne prouzrokuju velike štete. Komercijalno su dostupni kao imaga koji se raspoređuju po površini na kojoj se nalazi korov, u julu i avgustu. Mogu se čuvati 1-3 dana u frižideru sa dodatim lišćem kao izvorom hrane. Inkompatibilni su sa hemijskim sredstvima.

9. REGULATORI RASTA BILJAKA

BIOPESTICIDI

Regulatori rasta imaju važnu ulogu u kontroli rasta pojedinih organa i čitave biljke. U savremenoj poljoprivredi njihov primaran uticaj na rast, razvoj i zrenje vegetativnih i reproduktivnih delova biljke je veoma značajan i sve više se koristi. Biljni bioregulatori ili biljni regulatori rasta su hormoni ili hormonima slične supstance koje podstiču, inhibiraju ili utiču na biološke ili biohemijske procese u biljkama (Dussi, 2011). Njihovo korišćenje je značajno za intenzivnu proizvodnju, pre svega voća. Biljni bioregulatori su otkriveni kao sredstva koja mogu poboljšati prinos, kvalitet i dugotrajnost plodova (Greene, 2010). Bioregulatori, bilo da su primenjeni u proizvodnji sadnica, proizvodnji plodova i na ubranim plodovima mogu imati korisne efekte ako su pravilno upotrebljeni. Nestručna primena u smislu koncentracije, načina i vremena primene, meteoroloških uslova i bioloških osobina vrste, odnosno sorte može imati nesagledive posledice po ekonomičnost proizvodnje (Radivojević i sar., 2017).

U Republici Srbiji registrovani su sledeći regulatori rasta, koji pripadaju grupi biopesticida i to biohemijski regulatori rasta: 1-metilciklopropen (Fitomag i Smartfresh), giberelin GA4 i GA7 (Gibb plus), giberelin GA4 i GA7+6-benziladenin (Gibbalin) i 6-benziladenin (Grobaryll 100) (Anonymus, 2021).

Biohemijski bioregulatori

1-metilciklopropen (1-MCP) – je inhibitor delovanja etilena. Proces zrenja plodova je u velikoj meri kontrolisan etilenom, biljnim hormonom koji se proizvodi u većini biljnih tkiva. Etilen je gas koji deluje i kad je prisutan u tragovima, stimulišući i regulišući različite procese tokom života biljaka, kao što su: zrenje plodova, otvaranje cvetova, opadanje listova. Njegova produkcija je obično mala, ali kad se poveća izaziva važne fiziološke promene. Budući da se produkcija etilena odvija i tokom čuvanja plodova, u svetu se već dugo radi na pronalaženju načina inhibicije njegovog stvaranja i delovanja. Jedan od inhibitora delovanja etilena je 1-metilciklopropen koji se veže za receptore etilena i na taj način usporava sazrevanje plodova i produžava njihovo čuvanje. Preparati na bazi 1-metilciklopropena su registrovani za upotrebu u većini evropskih zemalja, kao i u Srbiji. 1-MCP je skoro idealan sastojak za tretiranje biljnog materijala osetljivog na etilen, jer se može primeniti kao gas, aktivan je u veoma niskim koncentracijama, ima dugotrajno dejstvo, nije toksičan i nema miris (Magazin i sar., 2017). Koristi

se za očuvanje kvaliteta plodova (jabuke, kruške, šljive, paradajze) tokom skladištenja u hladnjačama. Primena se vrši odmah nakon berbe plodova, maksimalno 7 dana od prvog unosa voća u komoru. Uslov za uspešnu primenu je odgovarajuća faza zrelosti ploda, kao i vazдушna nepropusnost komore, ali samo za vreme primene i pre toga tokom punjenja komore.

Giberelin GA4 i GA7 – Prirodni hormoni rasta biljaka, deluju na fiziološke procese i morfološke karakteristike na nadzemnim biljnim delovima. Nemaju toksikološki značajnih svojstava koja podležu klasifikaciji. Koriste se u zasadima jabuke i kruške za povećanje ploda i smanjenje mrežavosti plodova.

Giberelin GA4 i GA7+6-benziladenin – Koristi se u zasadima jabuke za smanjenje mrežavosti i pucanja plodova, kao i za poboljšanje veličine, težine i oblika ploda.

6-benziladenin - Sintetički citokinin, sa malom sposobnosti translokacije. Ispoljava stimulatивно delovanje na deobu ćelija i različite fiziološke procese. Pospješuje opadanje plodova (proređivanje). Koristi se u zasadima jabuke i kruške za proređivanje plodova,

tretiranjem posle cvetanja. Smatra se bezbednim sredstvom za korisne insekte, pre svega za pčele i prirodne neprijatelje grinja (Bound, 2006).

Ekstrakt morske alge (auksini +citokinini) - Sadrži prirodne regulatore rasta, kao što su auksini, brasinosteroidi, citokinini, giberelini, poliamini i florotanini. Kombinovano delovanje ovih supstanci podstiče prirodne procese u biljkama, što rezultira zdravijim i snažnijim biljkama koje daju veće i kvalitetnije prinose. Ima dozvolu za primenu u ekološkoj proizvodnji. Koristi se u brojnim usevima i zasadima, i to za potapanje semena i sadnica, folijarnom primenom i navodnjavanjem.

10. ZAŠTITA BILJA U ORGANSKOJ POLJOPRIVREDNOJ PROIZVODNJI

BIOPESTICIDI

Primena pesticida, uključujući i sredstva za zaštitu bilja, dovela je do njihovog nagomilavanja u životnoj sredini i pojave ostataka u poljoprivrednim proizvodima. Kao reakcija na posledice konvencionalne proizvodnje i intenzivne, a često i nekontrolisane i nestručne upotrebe sintetičkih sredstava za zaštitu bilja, poslednjih decenija se povećavaju površine pod organskom poljoprivrednom proizvodnjom.

Organska proizvodnja je sistem održive poljoprivrede koji se bazira na visokom poštovanju ekoloških principa putem racionalnog korišćenja prirodnih resursa, upotrebe obnovljivih izvora energije, očuvanja prirodne raznolikosti i zaštite životne sredine. Ona teži uspostavljanju zatvorenog sistema biljno-stočarske proizvodnje.

Od pojedinačnih proizvođača, preko prvih naučnih osnova, pa sve do postavljanja zajedničkih osnova i principa organske poljoprivrede, formiranja *International Federation of Organic Agriculture Movements* - IFOAM (1972 god.), uz intenziviranje obrazovanja, naučnih i tehnoloških istraživanja, prošlo je više od 100 godina. Ostvareni su značajni rezultati u proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane i zaštiti biodiverziteta, a organska poljoprivredna proizvodnja više nije alternativa, već deo poljoprivrede koja se bazira na primeni ekoloških i agroekoloških principa.

Prema definiciji IFOAM-a (2019), organska poljoprivreda je proizvodni sistem koji objedinjuje zdravlje zemljišta, ekosistema i ljudi. Zasniva se na ekološkim procesima, biodiverzitetu i proizvodnim ciklusima koji su prilagođeni lokalnim uslovima, pre nego na upotrebi inputa sa neželjenim efektima. Organska poljoprivreda kombinuje tradiciju, inovacije i nauku u korist zajedničke životne sredine i promoviše fer odnose i dobar kvalitet života svih koji su uključeni u nju.¹⁵

Istovremeno, organska proizvodnja predstavlja model transformacije konvencionalne poljoprivrede, čime se podstiče proizvodnja kvalitetne hrane. Za započinjanje organske poljoprivredne proizvodnje i dobijanje zdravih proizvoda, bez prisustva teških metala, pesticida i drugih supstanci štetnih po ljudsko zdravlje, potrebno je ispuniti odgovarajuće uslove. Među najvažnije spadaju kvalitet zemljišta, odabir parcele, te njena prostorna

izolovanost. Neophodan preduslov za zasnivanje organske proizvodnje je i voda za navodnjavanje odgovarajućeg kvaliteta. Bilo da je reč o površinskoj ili podzemnoj, voda koja se primenjuje u organskoj proizvodnji po hemijskim, fizičkim i biološkim parametrima mora odgovarati I ili II klasi. Organsku poljoprivrednu proizvodnju karakteriše vrlo specifična obrada zemljišta, obzirom da mehaničku (automatizovanu) treba izbegavati ili svesti na najmanju moguću meru.

Poseban izazov u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji predstavlja zaštita bilja od fitopatogenih organizama, štetnih insekata, korova i drugih štetnih agenasa. Nedostatak efikasnih strategija zaštite useva jedan je od ključnih faktora koji ograničavaju širenje organske poljoprivredne proizvodnje. Dok konvencionalni način podrazumeva primenu svih dozvoljenih sredstava za zaštitu bilja, integralni sistem predstavlja kombinaciju postupaka koji prednost daje biološkim merama i ograničava upotrebu hemijskih sredstava na minimum, zaštita bilja u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji zasniva se uglavnom na preventivnim merama.

Pre svega, izbor odgovarajućih sorti, otpornih prema prouzročivačima bolesti i zdrav sadni materijal osnovni su preduslov za zasnivanje organske poljoprivredne proizvodnje. Pored ovog, veliki značaj za zdravstveno stanje biljaka imaju higijenske mere sprovedene prethodne godine. Prikupljanjem i uništavanjem biljnih ostataka smanjuje se prisustvo patogena i štetočina, te je nakon berbe ili žetve neophodno ukloniti sve biljne ostatke. Jedna od najznačajnijih agrotehničkih mera kojom se uvodi smena u gajenju biljaka na određenoj površini je plodored. Na ovaj način se povećava plodnost uvođenjem mahunarki, i ograničava prekomerni razvoj populacija parazita i štetočina u već zaraženom zemljištu. Od izuzetnog značaja je i geografski položaj parcele. Osunčane parcele na blagim kosinama predstavljaju najbolji izbor. Neke od značajnih mera su i odgovarajuće vreme setve, s obzirom da je velika prednost kada se biljke ne nalaze u osetljivoj fenofazi u periodu povoljnom za pojavu patogena i štetočina, i položaj redova koji omogućava provetravanje useva i zasada, čime se smanjuje vlažnost i mogućnost razvoja patogena.

Populacija korova u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji kontroliše se ručno (okopavanjem i košenjem), gajenjem međuuseva, navodnjavanjem pre sadnje (čime se provocira rast korova) i u toplijim krajevima, solarizacijom (zastiranjem zemljišta folijom).

Kada su u pitanju prouzrokovajući bolesti i štetočine, njihovo prisustvi kontroliše se primenom navedenih preventivnih mera, ali ukoliko i pored primene niza preventivnih mera, prisustvo štetnih organizama pređe prag ekonomske štetnosti primenjuju se biopesticidi ili hemijski pesticidi dozvoljeni u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji (Tabela 4).

Tabela 4. Lista registrovanih sredstava za zaštitu bilja u R. Srbiji, koja se mogu koristiti u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji¹⁶

HEMIJSKA SREDSTVA ZA ZAŠTITU BILJA

Br.	Naziv sredstva za zaštitu bilja	Aktivna supstanca		Skraćeno poslovno ime
		Naziv	Sadržaj	Proizvođač
1	2	3	4	5
FUNGICIDI				
1.	Everest	bakar iz bakar-hidroksida	240 g/l	Chemical Agrosava, Beograd
2.	Fungohem SC	bakar iz bakar-hidroksida	240 g/kg	Agromarket, Kragujevac
3.	Kocide 2000	bakar iz bakar-hidroksida	35%	Kocide LLC, SAD
4.	Cuprablau Z ultra WP	bakar iz bakar-hidroksida	350 g/l	Cinkarna, Slovenija
5.	Champ Flow	bakar iz bakar-hidroksida	360 g/l (553,3 g/l)	Nufarm, Austria
6.	Blauvit	bakar iz bakar-hidroksida	500 g/kg	Župa, Kruševac
7.	Funguran OH/Patrol	bakar iz bakar-hidroksida	500 g/kg	Spieß Urania, Deutschland

8.	Hidrocoob 77	bakar iz bakar-hidroksida	500 g/kg	Ingenieria Industrial, Meksiko
9.	Vitra	bakar iz bakar-hidroksida	500 g/kg (777,8 g/kg)	IQV, Spain
10.	Champ DP	bakar iz bakar-hidroksida	655 g/kg	Nufarm, Austria
11.	Nordox 75 WG	bakar iz bakar-oksida	750 g/kg	Nordox , Norway
12.	Cuprozin 35 WP	bakar iz bakar-oksihlorida	350 g/kg	Spiess Urania, Deutschland
13.	Neoram 37,5 WG	bakar iz bakar-oksihlorida	375 g/kg	Isagro, Italy
14.	Bakarni oksihlorid 50	bakar iz bakar-oksihlorida	500 g/kg	Galenika Fitofarmacija, Zemun
15.	Cuprocaffaro 50 WP	bakar iz bakar-oksihlorida	500 g/kg	Isagro, Italy
16.	Ossiclor 35 WG	bakar iz bakar-oksihlorida	588 g/kg	Manica SpA, Italy
17.	Bakarno ulje	bakar-hidroksid + mineralno parafinsko ulje	155+500 g/l	Chemical Agrosava, Beograd
18.	Zimotox	bakar iz bakaroksihlorida + mineralno ulje	100+700 g/l	HI Zaštita bilja, Niš
19.	Cuproking	bakar iz bakar-sulfata trobaznog	360 g/l	Diachem, Italy
20.	Cuproxat	bakar iz bakar sulfata trobaznog	190 g/l	Nufarm, Austria
21.	Bordovska čorba S 20 Župa	bakar iz Bordovske čorbe	200 g/kg	Župa, Kruševac
22.	Bordovska čorba 100 SC	bakar iz Bordovske čorbe	100 g/l	Galenika Fitofarmacija, Zemun

BIOPESTICIDI

23.	Blue Bordo	bakar iz Bordovske čorbe	200 g/l	UPL, Europe, Great Britain
24.	Cuperval	bakar iz Bordovske čorbe	200 g/l	IQV, Spain
25.	Fytosave	Cos-oga	12,5+1,8 g/l	Fitofend, Belgium
26.	Cosavet 80 DF	sumpor	800 g/kg	Sulfur Mills, India
27.	Kossan WG	sumpor	800 g/kg	Albaugh, Slovenija
28.	Kumulus DF	sumpor	800 g/kg	BASF SE, Deutschland
29.	Microthiol special dispers	sumpor	800 g/kg	UPL, Europe, Great Britain
30.	Thiovit jet 80 WG	sumpor	800 g/kg	Syngenta Crop Protection, Switzerland
31.	Wetsul	sumpor	800 g/kg	Azufrera y Fertilizantes Pallares, Spain

LIMACIDI

1.	Pužomor pelete Fe	gvožđe fosfat $\text{FePO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (sinonim)	10 g/kg	Chemical Agrosava, Beograd
----	-------------------	--	---------	----------------------------

INSEKTICIDI

1.	Galmin 800	parafinsko ulje	780 g/l	Galenika Fitofarmacija
2.	Letol EC	parafinsko ulje	790 g/l	Chemical Agrosava, Beograd
3.	Herbos belo ulje EW	parafinsko ulje	800 g/kg	Iskra, Hrvatska
4.	Nitropol S	parafinsko ulje	855 g/l	Nitrofarm, Greece
5.	Galmin	parafinsko ulje	940 g/l	Galenika Fitofarmacija, Zemun

BIOPESTICIDI

6.	Ovitex	parafinsko ulje	817 g/l	Belchim Crop Protection, Belgium
7.	Ozoneem trishul 1% EC	azadirachtin	10 g/l	Ozone Biotech, India
8.	Laser 240 SC	spinosad	240 g/l	Dow AgroSciences, Austria
DEZINFECTANTI				
1.	Perfit	vodonik peroksid	25%	Agriomatco, Novi Sad

BIOPESTICIDI

Br.	Naziv sredstva za zaštitu bilja	Aktivna supstanca		Skrraćeno poslovno ime Proizvođač
		Naziv	Sadržaj	
1	2	3	4	5
BIOFUNGICIDI - MIKROBIOLOŠKI				
1.	Ekstrasol F	<i>Bacillus subtilis</i> soj Č13	1×10 ⁸ CFU/cm ³	BioGenesis, Bačka Topola u saradnji sa Jugo Hem, Leskovac
2.	Bacillomix aurum B	<i>Bacillus subtilis</i> soj BS10	6×10 ¹⁰ CFU/ml	Amaks, Novi Sad
3.	Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i> P	<i>Pythium oligandrum</i> 3% (1×10 ⁶ - 10 ⁷ oospora/g)	Biopreparaty, Czech Republic
4.	Ekstrasol F	<i>Bacillus subtilis</i> soj Č13	1×10 ⁸ CFU/cm ³	BioGenesis, Bačka Topola u saradnji sa Jugo Hem, Leskovac

BIOPESTICIDI

5.	Bacillomix aurum B	<i>Bacillus subtilis</i> soj BS10	6×10^{10} CFU/ml	Amaks, Novi Sad
6.	Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i> P	<i>Pythium oligandrum</i> 3% ($1 \times 10^{6-7}$ oospora/g)	Biopreparaty, Czech Republic
7.	Vintec	<i>Trichoderma atroviride</i> soj SC1	1×10 CFU	BI-PA NV/SA, Belgija
8.	Erwix/Fuzarix	<i>Bacillus subtilis</i> soj Z3	15×10^{10} CFU/m	Agrounik, Beograd
9.	Cerix	<i>Bacillus subtilis</i> soj Z3	2%	Agrounik, Beograd
BIOFUNGICIDI – BIOHEMIJSKI				
1.	Timorex gold	ulje čajnog drveta (<i>Melaleuca alternifolia</i>) + parafinsko ulje	222,5+194,5 g/l	Stockton Israel, Israel
BIOINSEKTICIDI - MIKROBIOLOŠKI				
1.	Foray 48 B	<i>Bacillus thuringiensis</i> subspec. <i>kurstaki</i>	10.600 Anagastia kuhniella IU/mg	Valent Biosciences, USA
2.	Lepinox plus	<i>Bacillus thuringiensis</i> subspec. <i>kurstaki</i>	32.000 IU/mg	CBC, Italy
3.	Carpovirusine evo 2	<i>Cydia pomonella</i> granulovirus (CpGVR5) Virus granuloze jabukinog smotavca izolat CpGV-R5	909 g/l (1×10^{13} OB/1 okluzionih tela po litri)	Arysta LifeScience S.A.S., Francuska

4.	Madex twin	<i>Cydia pomonella</i> granulovirus (CpGVV22)	520 g/l (1×10^{13} OB/l okluzionih tela po litri)	Andermatt Biocontrol AG, Switzerland
BIOAKARICIDI - MIKROBIOLOŠKI				
1.	Naturalis biogard	<i>Bauveria bassiana</i> soj ATCC 74040	-	CBC, Italy
BIOAKARICIDI - BIOHEMIJSKI				
1.	Pyrethrum EC	piretrin	50 g/l	Pelgar, United Kingdom

Pored biopesticida, u zaštiti bilja u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji u Republici Srbiji, dozvoljena je primena i drugih sredstava za zaštitu bilja, odnosno preparata formulisanih na bazi bakra (bakar-hidroksid, bakar-oksidi, bakar-oksihlorid, bakar-sulfat i bordovska čorba), sumpora, gvožđe-fosfata, parafinskog ulja, spinosada i vodonik-peroksida (Anonymus, 2021).

Neki od najstarijih poznatih biopesticidnih sredstava ne potiču iz biljaka ili mikroorganizama već iz zemlje. Bakar, diatomejska zemlja, kaolinska glina, vodonik-peroksid, kalijum-bikarbonat, kalijum permanganat, soli i sapuni smatraju se biopesticidima u nekim zemljama, uključujući SAD i Kanadu. Ostali proizvodi koji su potencijalno klasifikovani kao biopesticidi potiču iz bioloških izvora, kao što su nusproizvodi iz organskih sistema prerade (brašno od kukuruznog glutena, sirćetna kiselina). Natrijum bikarbonat (soda bikarbona) i ulje repice takođe su korišćeni kao biopesticidi.

Osim mikrobnih pesticida koji imaju žive mikroorganizme, većina biopesticida ima hemijske molekule bakterijskog, gljivičnog, botaničkog ili mineralnog porekla i deluju na različite načine slični sintetičkim pesticidima. To su takozvani naturaliti, odnosno derivati mikroorganizama, jedinjenja čije aktivne supstance potiču iz prirodnih procesa poput fermentacije u bakterijama. Derivati su najčešće dobijeni od mikroorganizama koji su stanovnici zemljišta. Aerobnom fermentacijom aktinomicete *Saccharopolyspora spinosa* nastaju jedinjenja spinosini od kojih daljom obradom nastaje spinosad, jedan od najkorištenijih naturalita. Uz spinosad važno mesto zauzima i abamektin, derivat mikroorganizma

Streptomyces avermitilis, koji osim insekticidnog poseduje i akaricidno delovanje. Uprkos činjenici da se ubrajaju u neznatno opasna sredstva (spinosad) i da su prirodnog porekla, a u nekim državama imaju dozvolu za primenu i u organskoj proizvodnji, ipak mogu imati negativan uticaj na oprašivače i druge korisne organizme iz reda Hymenoptera. Zbog otrovnosti spinosina za pčele, njihova primena nije dozvoljena u vreme cvetanja i leta pčela.

Nekoliko sintetičkih pesticida razvijeno je od prirodnih molekula, piretroidi, neonikotinoidi i strobilurini su sintetički analozi na bazi piretrina, nikotina i strobilurina, i razvijeni su za poboljšanu stabilnost, sigurnost ili jednostavnost proizvodnje u komercijalnim razmerama.

Osim navedenih, u zaštiti organskih useva i zasada primenjuju se i proizvodi koji poboljšavaju snagu i otpornost biljke, a na tržištu su dostupni kao biostimulatori.

10.1. Ostala sredstva za zaštitu bilja koja se koriste u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji

Bakar u obliku bakarnog hidroksida, bakarnog oksihlorida, trobaznog bakarnog sulfata, bakarnog oksida – neorganska jedinjenja, čija je primena dozvoljena i u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji. Fungicidi na bazi bakra od davnina su poznati kao sredstva za suzbijanje prouzrokovaca plamenjače na vinovoj lozi no, imaju daleko širi spektar delovanja. Prema mestu delovanja, svrstani su u kontaktne fungicide sa delovanjem na više mesta. Aktivne supstance su različite soli bakra i smatraju se grupom niskog rizika, bez bilo kakvog znaka razvoja rezistentnosti gljiva prema ovim fungicidima. Najstarije jedinjenje je bordovska čorba (1882. godine). Gljive usvajaju bakar u obliku helatnog kompleksa ili u obliku bakarnih jona. Fungicidno delovanje jedinjenja na bazi bakra, zasniva se na denaturaciji proteinskih delova enzima gljiva, čineći ih neaktivnim. U kontaktu sa različitim eksudatima iz gljiva, nerastvorni bakarni kompleks prelazi u rastvorljivi oblik, pri čemu se oslobađaju Cu^{2+} i Cu^{1+} joni, koji reaguju sa sulfhidrilnim (SH), karboksilnim (COOH) i hidroksilnim (OH) grupama proteinskih delova enzima, koji su od presudne važnosti za normalno funkcionisanje metabolizma gljiva. Bakarna jedinjenja imaju širok spektar delovanja. Efikasno suzbijaju veliki broj patogena u voćarsko-

vinogradarskoj, ratarskoj, povrtarskoj i proizvodnji ukrasnog bilja, kao što su: *Plasmopara viticola*, *Phytophthora infestans*, *Pseudoperonospora cubensis*, *Pseudoperonospora humuli*, *Venturia* spp., *Taphrina deformans*, *Didymella applanata*, *Mycosphaerella fragariae*, *Stigmina carpophila*, *Monilinia* spp., *Alternaria* spp., *Cercospora beticola* i dr. U organskoj proizvodnji je dozvoljeno maksimalno 6 kg elementarnog bakra/ha godišnje.

Sumpor – koristi se u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji kao fungicid, akaricid i repelent. Deluje kontaktno ili površinski, primenjuje se preventivno. Primenjivali su ga još u staroj Grčkoj i Rimu, a intenzivno se primenjuje od polovine XIX veka. Najčešće se upotrebljava kao elementarni sumpor. Fungicidno delovanje ostvaruje para sumpora. Slobodni molekuli elementarnog sumpora su rastvorljivi u lipidima, lako prodiru kroz ćelijski zid spora gljiva ili hife. U ćeliji deluje na oksido-redukcijske procese i brzo dovodi do odumiranja spora ili hifa. Aktivnost sumpora zavisi od veličine i finoće čestica. Prečnik sumpornih čestica ne treba da bude veći od 50 µm, manje čestice su podložne oksidaciji, a veće su smanjene aktivnosti. Sumpor nije svrstan u otrovne materije. Pri temperaturi nižoj od 16 °C efekat sumpora je slab ali, sa povećanjem temperature povećava se i njegova aktivnost, dok na temperaturama višim od 28 °C nije preporučiva primena zbog pojave fitotoksičnosti na tretiranim biljkama. Registrovan je u nekoliko formulacija, za suzbijanje prouzročivača pepelnice na raznim usevima i zasadima. Najčešće se koristi za suzbijanje sledećih patogena: *Podosphaera leucotricha*, *Erysiphe necator*, *Sphaeroteca pannosa* var. *persicae*, *Erysiphe cichoracearum* u zasadima jabučastog, koštičavog voća, vinove loze, hmelja, usevima šećerne repe, povrća, strnih žita i dr. Količina sumpora koja se koristila u zaštiti biljaka, premašila je količinu svih drugih fungicida ili grupa fungicida, dok je danas upotreba sumpora u svetu mnogostruko manja.

Gvožđe fosfat – sredstvo koje se koristi kao limacid, u vidu mamaka za direktnu primenu, ima kontaktno i digestivno delovanje. Nema toksikološki značajnih svojstava koji podležu klasifikaciji. Koristi se u usevima i zasadima na otvorenom i u zatvorenom prostoru, za suzbijanje puževa golaća (*Arion* spp., *Deroceres* spp.) i vinogradarskog puža (*Helix* spp.).

Mineralna ulja (parafinska ulja) – predstavljaju smešu ugljovodonika. Koriste se kao insekticidi i akaricidi. Mineralna ulja fizički sprečavaju

razmenu gasova kod tretiranih insekata i grinja. Suzbijaju brojne vrste štetnih insekata i grinja, kao što su: štitaste vaši (*Quadrspiidiotus perniciosus*, *Eulecanium persicae*, *Partenolecanium corni*, *Brachycaudus helichrysi*), zelena jabukina vaš (*Aphis pomi*), crvena voćna grinja (*Panonychus ulmi*), obična i velika kruškina buva (*Cacopsylla pyri*, *Cacopsylla pyrisuga*). Mineralna ulja su štetna za vodene organizme, mogu imati dugotrajne posledice po vodenu sredinu, a moguća je bioakumulacija, jer formiranje filma na vodenoj površini utiče na razmenu kiseonika. U praksi nije bilo toksikoloških problema vezanih za primenu mineralnih ulja (Tomlin, 2006).

Spinosad – prirodni je produkt fermentacije zemljišne aktinomicete *Saccharopolyspora spinosa*. Mehanizam delovanja spinosada je alosterična aktivacija nikotinskih receptora acetilholina. Nesistemični insekticid sa kontaktnim i digestivnim delovanjem. Odlikuje se izuzetno povoljnim toksikološkim svojstvima u odnosu na sisare i ptice. Zbog izrazito malog ili zanemarljivog negativnog delovanja na korisne organizme, u svetu se široko primenjuje u programima integralne zaštite, kao i u organskoj proizvodnji (Bret et al., 1997). Spinosad je toksičan za brojne štetne insekte (*Cydia pomonella*, *Lobesia botrana*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Frankliniella* spp. i dr.), mada osetljivost varira između vrste štetočina. Dosadašnja ispitivanja su pokazala da osetljivost insekata na spinosad zavisi od uslova životne sredine. Ustanovljena je veća efikasnost spinosada pri višim temperaturama, takođe i relativna vlažnost vazduha (RH) utiče na efikasnost spinosada. Duža ekspozicija štetočina povećava toksičnost spinosada kako prema odraslim insektima, tako i prema mlađim razvojnim stadijumima.

Vodonik-peroksid (H_2O_2) – je dezinficijens koji se koristi za dezinfekciju površinskih slojeva i to za dezinfekciju alata i pribora u poljoprivredi, protiv prouzrokovaca *Phyitum* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Phoma* spp., *Mucor* spp., *Botrytis* spp., *Rhizopus* spp. i *Monilia* spp.

Diatomejska zemlja – kao prirodni insekticid, dobra je alternativa sintetisanim insekticidima i sve više se koristi u svetu (Andrić et al., 2012; Athanassiou i sar., 2014; 2016). Diatomejska zemlja je supstanca prisutna u prirodi koja je sertifikovana kao organski insekticid, ekološki prihvatljiv.

Diatomejske zemlje su neorganske prašine hemijski stabilne, visoko perzistentne i netoksične za toplokrvne organizme. To je geološki depozit nastao taloženjem mrtvih tela jednoćelijskih biljnih organizama u slatkoj i slanoj vodi. Diatomejska zemlja je stabilna, inertna supstanca koja ne stupa u reakcije ni sa jednom supstancom u prirodi pa tako ne stvara opasne ili otrovne rezidue. Ima izrazito nisku toksičnost za toplokrvne organizme. Za razliku od sintetisanih pesticida, diatomejska zemlja ne penetrira kroz kožu i odeću radnika (Desmarchelier i Allen, 2000). Čestice diatomejske zemlje adhezuju za površinu tela insekata dok se oni kreću kroz žito. Zbog toga je ona efikasnija kod insekata čija su tela prekrivena dlakama i grube površine. Danas je opšte prihvaćeno objašnjenje da se mehanizam delovanja diatomejske zemlje zasniva na razlaganju ili adsorbovanju lipidnog sloja epikutikule insekata, izazivajući prekomerni gubitak vode kroz kutikulu. Svi ostali efekti koji se pojavljuju primenom ovih prirodnih prašiva jesu uzrok njihovog fizičkog prisustva (Korunić, 2016). Različiti preparati na bazi diatomejske zemlje pokazali su visoku efikasnost za različite vrste skladišnih insekata, uključujući i njihovu kombinaciju sa nižim koncentracijama hemijskih insekticida ali u Srbiji nije registrovan nijedan preparat za ovu namenu. Diatomejske zemlje poreklom iz Srbije ispoljavaju značajan insekticidni potencijal na skladišne štetočine, kao što su *Tribolium castaneum* i *Sytophilus oryzae* (Andrić et al., 2012).

Kaolinska glina – preparat koji se u svetu koristi u svrhu zaštite voćaka. U primeni je više od tri decenije. Temelji se na kaolinu, inertnom prirodnom mineralu koji se koristi u prehrambenoj industriji. Kaolin deluje kao repelent, zatvarajući reproduktivne organe štetnih insekata, oči i druge otvore na telu sa sitnim česticama gline. Iritirajuća sredina deluje odbijajuće na štetne insekte i oni je više ne posećuju. Može da predstavlja fizičku barijeru štetnim insektima da dopru do biljnih tkiva. Fina prekrivenost plodova sitnim česticama gline maskira njihovu boju, čineći plodove neprimetnim za insekte koji se njima hrane. Kaolin služi kao repelent protiv skakavaca, grinja, tripsa, rilaša i dr. štetnih insekata. U SAD se preparati na bazi kaolina uspešno koriste protiv insekata koji napadaju voće pri kraju cvetanja, kao što su jabučne i šljivine ose iz roda *Hoplocampa*, jabučnog smotavca (*Cydia pomonella*) i kruškine buve (*Psylla* sp.).

Kalijum permanganat (KMnO_4) – dezinficijens koji se koristi za dezinfekciju površinskih slojeva i to za dezinfekciju alata i pribora u poljoprivredi protiv raznih prouzrokovaca oboljenja. To je jedan od najjačih oksidacionih agenasa, poseduje jaka baktericidna svojstva.

Organske kiseline – poput sirćetne i limunske kiseline potiču iz biljaka i imaju fungicidna i herbicidna svojstva. Budući da se razlikuju od ostalih botaničkih ekstrakata, svrstane su u ovu kategoriju.

Kalijum – bikarbonat (KHCO_3) – poznat i kao kalijum-hidrogenkarbonat je hemijski molekul neorganskog porekla, nastao vezom jona kalijuma i ugljene kiseline. U prirodi se nalazi u formi belog kristalnog praha, bez ukusa i mirisa. U mineralogiji je poznat kao Kalcinit. U prirodi se nalazi u biljnom tkivu i u zemljištu, koristi se za biološko suzbijanje mnogih patogenih gljiva na biljkama. U sektoru zaštite bilja, autorizovan je od strane Regulative evropske unije kao fungicid i kao korektor kiselosti zemljišta. Kalijum-bikarbonat je ispoljio visoku efikasnost u suzbijanju prouzrokovaca pepelnice (*Oidium* spp.), čađave pegavosti lista i krastavosti ploda jabuke (*Venturia inaequalis*), septorie (*Septoria* spp.), moniloze (*Monilia* sp.), pegavosti lista žitarica (*Helminthosporium sativum*) i kruškine buve (*Cacopsylla pyri*). Kalijum-karbonat je odobren od strane Codex Alimentarius kao jestivi aditiv (na primer, kao sredstvo za smanjenje kiselosti vina). U rastvoru, kalijum-bikarbonat oslobađa anjone bikarbonata. Ovo dovodi do povećanja pH rastvora, sa posledičnim povećanjem osmotskog pritiska na površini lista. Time se stvaraju nepogodni uslovi za rast i razvoj gljivičnih spora. Povećanje pH vrednosti takođe dovodi do deaktivacije enzima odgovornih za rastvorljivost i ekspanziju ćelijskih opni i membrana gljivičnih spora i interferira sa razvojem micela. Veoma je važna ravnomerna, uniformna pokrivenost lista kako bi preparat delovao najoptimalnije. Takođe je važno ne prekoračiti koncentraciju od 0,5% da ne dođe do fitotoksičnosti i izbegavati čestu primenu u letnjim mesecima. Naime, primećeno je da konstantan odnos KHCO_3 povećava odnos K/Ca u pulpi, povećavajući osetljivost na gorku trulež kod jabuke, kruške ili smanjeno stvaranje antocijana u vinovoj lozi. Kalijum-bikarbonat nije toksičan za ljude i životinje, čuva korisnu entomofaunu i nije opasan za životnu sredinu. Na tržištu postoje razni preparati-fungicidi na bazi kalijum-bikarbonata.

Sapuni – pružaju sigurnu, efikasnu i niskotoksičnu alternativu hemijskim pesticidima za suzbijanje mnogih neželjenih insekata u poljoprivrednoj proizvodnji. Oni su jeftiniji za upotrebu, sigurniji su od najsigurnijih pesticida, ne ostavljaju tragove, nisu fitotoksični, prirodni proizvodi su gotovo netoksični za životinje, ptice i mnoge korisne insekte. Sapuni se koriste za suzbijanje biljnih vaši, bele leptiraste vaši i nekih vrsta grinja. Naročito je interesantan kalijumov sapun koji se često dodaje piretroidima biljnog porekla radi poboljšanja efikasnosti istih. Pored toga, ovi preparati efikasno uklanjaju sa lišća mednu rosu, čađave plesni i ostatke od štetnih insekata koji privlače druge insekte i štetne organizme, stvarajući tako osnovu za napad štetočina ili naseljavanje patogena.

10.2. Pojmovi od značaja za ispravnost i zdravstvenu bezbednost poljoprivrednih proizvoda

S obzirom da se, kao što je napred navedeno, u zaštiti bilja u organskoj poljoprivrednoj proizvodnji pored biopesticida primenjuju i hemijska sredstva, neophodno je poznavati njihovo ponašanje u biljci i spoljašnjoj sredini.

Pesticidna jedinjenja dospevaju na različite načine u kontakt s biljkama. Direktno: nanošenjem na seme, nadzemne delove, korenov sistem i plodove. Za takve namene koristi se veći broj različitih formulacija. Zavisno od svojstava pesticida i biljne vrste, mogu se primeniti jednom ili više puta u toku vegetacije, što je regulisano dozvolom za primenu i navedeno u priloženom uputstvu. Pesticidi mogu na biljke dospeti i indirektno: zanošenjem pri tretiranju susednih useva ili parcela, zalivanjem vodom koja sadrži njihove ostatke, jedinjenjima preostalim u zemljištu od prethodnih useva ili iz prethodnih godina, zadesno i zlonamernim delovanjem.

Neposredno posle primene, određena količina pesticida se zadržava na biljnoj površini i naziva se **depozit** (količina koja se nalazi na biljci ili na plodu u momentu primene). Dolaskom u kontak s biljkom i u spoljašnju sredinu pesticidno jedinjenje podleže delovanju abiotskih i biotskih faktora. Abiotski procesi koji se odvijaju na površini biljke su isparavanje, kodestilacija, fotorazgradnja. Biotički procesi razgradnje pesticida odvijaju se u biljci, a prouzrokovani metabolizmom i u konačnom ishodu obrazovanjem manje toksičnih ili netoksičnih oblika. Putevi i brzina

metabolizma su različiti i zavise od primenjenog jedinjenja, biljne vrste i uslova sredine.

Sposobnost zadržavanja pesticida u biljci, vodi ili zemljištu naziva se **perzistentnost**, odnosno dužina delovanja pesticida. Prema brzini razgradnje ili degradacije jedinjenja se klasifikuju na osnovu biološkog poluveka razgradnje ili vremena poluraspada DT_{50} (period vremena u kojem se količina toksične materije svede na polovinu). Biološki poluvek pesticida zavisi od biljne vrste, primenjene količine ili koncentracije, načina primene, klimatskih i drugih činilaca.

Prisustvo pesticida kod nekih gajenih biljnih vrsta nakon primene može da dovede do prolaznih ili trajnih oštećenja vegetativnih ili generativnih delova. Ova pojava naziva se **fitotoksičnost** (fitocidnost). Oštećenja se mogu manifestovati na različite načine, najčešće u vidu, nekroza (ožegotina) ivičnih delova lista usled čega može kasnije doći i do potpunog sušenja i opadanja oštećenog lišća, ili u vidu delimičnog ili potpunog razaranja hloroplasta, te lišće postaje hlorotično. Na ovu pojavu naročito mogu da utiču nepesticidne materije koje ulaze u sastav formulisanog proizvoda (emulgatori, rastvarači, adheziti).

Složenost prirode, primene i posledica koje može prouzrokovati upotreba pesticida, usloveli su niz mera i preporuka, zahvaljujući kojima se dolazi do podataka koji su od izuzetnog značaja u proceni opasnosti, kvaliteta poljoprivrednih proizvoda i zdravstvene bezbednosti hrane. Svaki preparat u rešenju o registraciji i uputstvu za primenu, obavezno sadrži podatke o toleranci, karenci i radnoj karenci, a poštovanje naročito poslednje dve, je obaveza neposrednih poljoprivrednih proizvođača.

Toleranca je maksimalno dozvoljena količina (MDK) ostataka pesticida i/ili njegovih metabolita koja može biti prisutna u namirnicama biljnog ili životinjskog porekla. Izražava se u mg/kg sveže mase. Utvrđene su MDK za pesticide u poljoprivrednim proizvodima biljnog i životinjskog porekla, životnim namirnicama biljnog i životinjskog porekla, zatim za dečju hranu, za vodu za piće, površinske vode i vode za navodnjavanje, poljoprivredno zemljište, za atmosferski vazduh, za vazduh radnih prostorija gde se radi sa pesticidima. Utvrđuje ih svaka država (resorno ministarstvo za zdravlje), na osnovu preporuka Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization - WHO) i Evropske unije (European Union - EU).

Karenca je propisano vreme koje mora da protekne od poslednje primene pesticida do žetve ili berbe. To je period u kome se primenjeni pesticid

razgradi potpuno ili se razgradi ispod MDK. Izražava se u danima, a može biti obezbeđena i vremenom primene (OVP) i odnosi se na većinu pesticida (herbicidi, insekticidi koji se primenjuju preko zemljišta pre setve, sredstva za zimsko tretiranje voćaka i drugi) koji se primenjuju u početku vegetacije određenog useva ili zasada.

Radna karenca je vreme koje mora da protekne od primene pesticida na tretiranoj površini do vremena kada se može ponovo ući u tretirani prostor, bez posebne zaštitne opreme. Za to vreme se pesticid u vazduhu i na tretiranom materijalu (biljke, uskladišteni materijal) delimično razgradio i njegovi ostaci su u bezbednim količinama, pa radno osoblje može nesmetano da obavlja određene poslove. Radne karence se utvrđuju na osnovu otrovnosti pesticida, preko kože i posredstvom organa za disanje, zatim zavisno od isparljivosti, brzine razgradnje, stepena izloženosti radnika pri radu, koncentracije primene i oblika pesticida. One se razlikuju po državama, zavisno od klimatskih činilaca, načina i vremena primene. Najčešće su do sušenja depozita, jedan dan pa do sedam dana.

11. STATUS BIOPESTICIDA U ZAŠTITI BILJA

BIOPESTICIDI

Sve češće se postavlja pitanje da li biopesticidi u budućnosti mogu potisnuti primenu hemijskih pesticida kao dominantne strategije u suzbijanju štetnih agenasa. Nerealna očekivanja, problemi sa kontrolom kvaliteta, kratak rok trajanja, nedostatak svesti o njihovom značaju i relativno visoki troškovi u poređenju sa konvencionalnim, hemijskim pesticidima za sada su potisnuli primenu biopesticida. Međutim, i pored ovog, tržište biopesticida se proteklih godina značajno povećava zbog povećanja svesti o njihovom potencijalu i zbog sve veće pažnje koja je usmerena na ekološke i zdravstvene rizike koji se povezuju sa upotrebom sintetičkih pesticida. Predviđa se da će, zbog poteškoća u izolaciji novih organizama/jedinjenja, doći do promene u vrstama biopesticida, a najveći porast registrovanih mikrobioloških pesticida imaju grupe biofungicidi i različiti biostimulansi.

Trenutno, biopesticidi zauzimaju 5% ukupnog tržišta pesticida sa vrednosti od približno 3 milijarde dolara (Damalas and Koutroubas, 2018) i godišnjom stopom rasta 10-15% (Marrone, 2014), kao rezultat povećanja organske poljoprivredne proizvodnje i rastućeg trenda u pogledu bezbednosti hrane. Od ukupnog broja biopesticidnih preparata registrovanih u Indiji, SAD i Evropi, mikrobiološki biopesticidi čine 63%, od čega su 90% preparati na bazi *Bacillus thuringiensis* (Kumar i Singh, 2015). Drugi mikrobiološki biopesticidi od značaja u ukupnom udelu su oni na bazi *Trichoderma gamsii*, *Trichoderma harzianum* i *Beauveria bassiana* (Mishra et al., 2020). S druge strane, od botaničkih biopesticida dominiraju etarska ulja, piretrini, rotenon i azadirahthin.

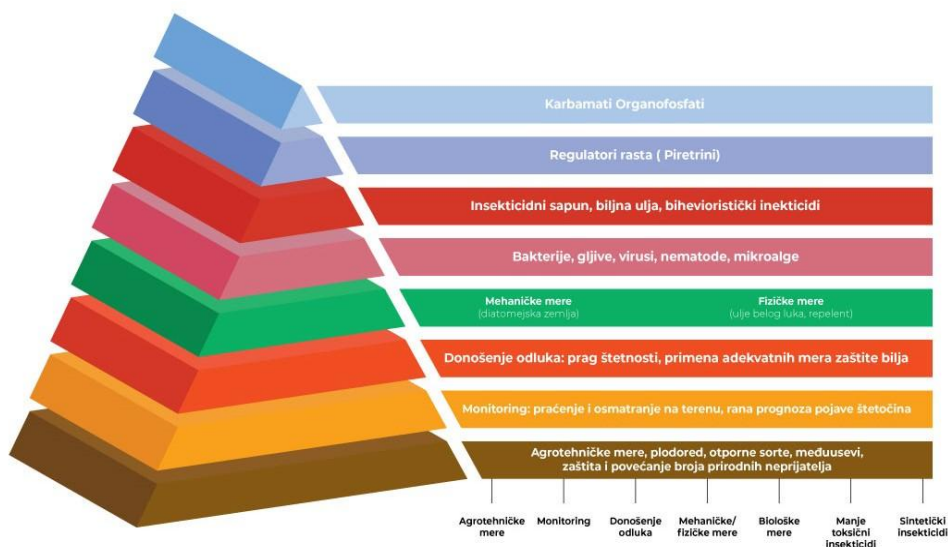
Predviđa se da će do 2050. godine značaj biopesticida u poljoprivrednoj proizvodnji biti izjednačen sa hemijskim pesticidima. Međutim, da bi ovo postalo realnost Afrika i jugoistočna Azija morale bi značajno da izmene poljoprivrednu praksu (Olson, 2015). Istovremeno, istraživači su obeshrabreni komplikovanom procedurom registracije novih biopesticida, što sve utiče na mali broj dostupnih preparata, povećavajući njihovu cenu.

Potpuna zamena hemijskih pesticida, biopesticidima u savremenoj poljoprivrednoj proizvodnji je teško ostvariva, s obzirom na veliki broj štetnih vrsta, uključujući invazivne vrste, pojavu rezistentnosti, kao i klimatske promene. Međutim, opravdano je za očekivati da se biopesticidi zajedno sa konvencionalnim pesticidima uključe u sistem integralne zaštite bilja (IPM). Na taj način smanjuje se kontaminacija poljoprivrednih

proizvoda, prisustvo hemijskih pesticida u životnoj sredini, kao i negativno delovanje na neciljane organizme i odlaganje pojave rezistentnosti. Dokazano je da se njihova efikasnost povećava u kombinaciji sa drugim metodama integralne zaštite bilja.

Intenzivniju primenu biopesticida u zaštiti bilja ograničavaju i rizici njihove primene - ograničen spektar delovanja, relativno niska efikasnost, interakcija sa neciljanim organizmima, virulentnost sojeva, i sl. Generalno, niska svest o značaju primene biopesticida, nedovoljna informisanost u pogledu njihove efikasnosti i bezbednosti jedni su od glavnih razloga nedovoljne upotrebe ovih preparata.

Biopesticidi u integralnoj zaštiti bilja



Slika 23. Biopesticidi u integralnoj zaštiti bilja (James et al., 2010)¹⁷

Integralna zaštita bilja podrazumeva primenu zaštitnih mera samo ukoliko populacija štetnih organizama pređe prag ekonomske štetnosti, pri čemu je stepen napada organizma koji nanosi štetu gajenim biljkama veći od vrednosti preduzete mere. Ovaj sistem podrazumeva primenu pre svega preventivnih mera, a zatim agrotehničkih, mehaničkih i bioloških mera

zaštite gajenih biljaka. Samo kada navedene mere ne dovedu do smanjenja populacije štetnih organizama, primenjuju se hemijski pesticidi, odnosno sredstva za zaštitu bilja.

Važno je napomenuti da primena sistema integralne zaštite bilja dovodi do smanjenja upotrebe pesticida, čime se smanjuje količina njihovih ostataka u poljoprivrednim proizvodima i životnoj sredini, ali i troškovi poljoprivredne proizvodnje.

Integrisanje mikrobioloških biopesticida u IPM, sa ciljem povećanja efekta prirodnih neprijatelja poznata je kao biointenzivna zaštita bilja (BIPM). Ako primena BIPM nije u stanju da kontroliše populaciju štetočina, preporučuje se upotreba najmanje toksičnih pesticida, kao što su insekticidni sapuni (protiv lisnih vašiju i sličnih insekata), mineralna ulja (lisne vaši, grinje), botanička ulja (ulje neema, ulje belog luka, isključujući buhač) i regulatori rasta insekata (inhibitori sinteze hitina). Iako se svrstavaju u najmanje toksične pesticide, regulatori rasta insekata nisu dozvoljeni za upotrebu u organskoj poljoprivredi (Rahman et al., 2016).

Biopesticidi koji se najčešće koriste su derivati neema (azadiraktin) i *B. thuringiensis*. Najnoviji statistički podaci govore da je 75% biopesticida na bazi *Bt* (Samada et al., 2020). Neem se pokazao kao najrasprostranjeniji botanički biopesticid (Huang et al., 2020). Međutim, zbog nestabilnosti u uslovima sredine, pod dejstvom sunčeve svetlosti, njegova efikasnost je kratkotrajna.

Nova grana nauke, nanotehnologija, mogla bi doprineti prevazilaženju nedostataka u pogledu formulacije biopesticida, posebno u pogledu stabilnosti prilikom skladištenja, brzine oslobađanja aktivne komponente i efikasnosti (Chaudhari et al., 2017). Dokazano je da nanopesticidi u poljoprivredi imaju kontrolisano oslobađanje i primenjuju se u manjim dozama (Manchikanti, 2019). Trenutno se koriste nove tehnologije kao što su fuzioni protein i rekombinantna DNK, koje se primenjuju u cilju poboljšanja efikasnosti biopesticida. Pored ovog, izbor soja tokom bioprocesiranja aktivnih mikrobioloških agenasa može se unaprediti sekvenciranjem ciljanih gena za koje je utvrđeno da su povezani sa insekticidnim osobinama (Glare et al., 2016). Važan preduslov za uspešnu primenu biopesticida je napredak u istraživanju koji osigurava efikasnost u proizvodnji i stabilnost formulacije, što je od ključnog značaja za

komercijalizaciju biopesticida. Konvencionalna poljoprivredna proizvodnja zadovoljava potrebe za hranom svetske populacije koja raste po stopi od 0,8 milijardi po deceniji. Primena sintetičkih pesticida u velikoj meri je doprinela ublažavanju negativnih efekata više od 40.000 postojećih štetnih organizama na usevima. U proseku, štetni organizmi u poljoprivrednoj proizvodnji su odgovorni za gubitak 30% prinosa i 14% oštećenja uskladištenih prehrambenih proizvoda. Međutim, ovi pesticidi predstavljaju ozbiljan rizik po zdravlje ljudi, zagađenje životne sredine, razvoj rezistentnosti štetočina i smanjenje biodiverziteta. Iz ovih razloga, potrebno je značajno smanjiti njihovu upotrebu, a to se može postići primenom biopesticida. Da bi se postiglo optimalno povećanje prinosa useva, biopesticidi se sve više uvode u sisteme integralne zaštite bilja (IPM).

12. PROCENA RIZIKA PRIMENE BIOPESTICIDA

BIOPESTICIDI

Procena rizika primene pesticida na neciljane organizme i njihove prirodne populacije podrazumeva procenu na akvatičnim organizmima (beskičmenjaci, ribe, alge, biljke), terestričnim kičmenjacima (ptice i sisari), pčelama, artropodama, zemljišnim glistama i drugim beskičmenjacima zemljišta, neciljanim terestričnim biljkama i procenu aktivnosti mikroorganizama zemljišta (EFSA, 2013). U procesu registracije i stavljanja u promet pesticida u Evropskoj uniji, procena rizika ima stepenastu strukturu koja podrazumeva jednostavnije testove u nižim nivoima (laboratorijski testovi) i složenije testove na višim stepenima (koji imaju viši nivo realiteta npr. dodatkom sedimenta, ili mikro- i mezokosmos sisteme). Obavezni testovi za sve aktivne supstance u proceni rizika na akvatične organizme su testovi akutne toksičnosti na dve vrste riba (pastrmka i jedna toplovodna vrsta), vrsti kladocere (*Daphnia* sp.), kao i test hronične toksičnosti na jednoj vrsti zelene alge. U specifičnim slučajevima zahtevaju se i testovi hronične toksičnosti na insektima, kladocera, ribama i makrofitama. U proceni rizika „višeg stepena“ neophodne su i mikro i mezokosmos studije (Tunić, 2015).

Biopesticidi su generalno biorazgradivi. Biopesticidi se brzo razgrađuju, to je faktor koji se navodi kao ekotoksikološka prednost, ali i kao nedostatak u pogledu stabilnosti preparata u poljskim uslovima. Pošto su mnogi biopesticidi podložni mikrobnj i UV razgradnji, brzina razgradnje se može značajno smanjiti u anaerobnim uslovima i u odsustvu sunčeve svetlosti. Na primer, dok se piretrini brzo razgrađuju u zemljištu mikrobnom aktivnošću i fotolizom, oni doživljavaju smanjenu degradaciju u anaerobnim sedimentima u odsustvu svetlosti i mogu predstavljati toksikološki rizik za vodene organizme.

Biopesticidi ostavljaju malo ili nimalo štetnih ostataka. Na osnovu brojnih istraživanja, utvrđeno je da se biopesticidi zadržavaju nakon primene na tretiranim biljkama duže ili kraće. Iz tog razloga, neophodna je kontrola ostataka (rezidua) kako bi se utvrdilo prisustvo i pratila sudbina biopesticida u poljoprivrednim proizvodima, odnosno hrani i životnoj sredini. Od najveće važnosti svakako je kontrola prisustva u hrani, s obzirom da ona predstavlja primarni izvor ulaska biopesticida u ljudski organizam.

Prema propisima EPA, za biopesticide ne mora da se određuje toleranca, ili maksimalno dozvoljena količina ostataka biopesticida (MDK) i/ili njegovih

razgradnih proizvoda (metabolita). Ovo je, međutim, sporno jer bi se moglo tvrditi da je "malo ili nimalo štetnih ostataka" pitanje definicije - ako je biopesticid efikasan protiv nekog organizma, on po definiciji mora biti štetan za taj organizam, a potencijalno može biti i za drugi, srodni ili slični organizmi. S obzirom da je tema ostataka biopesticida u hrani i životnoj sredini, sa akcentom na zemljište i vodu, još uvek na početku ispitivanja, postoji velika potreba za stalnim poboljšanjem analitičkih tehnika koje se koriste za detekciju i kvantifikaciju u različitim matriksima.

Pored uticaja na kvalitet hrane i poljoprivrednih proizvoda generalno, osim sa aspekta ostataka biopesticida, potrebno je voditi računa i o mogućim drugim uticajima. Primera radi, etarska ulja, bez obzira na poreklo, mogu biti fitotoksična ako se na biljke nanose u visokim koncentracijama. U poređenju sa konvencionalnim insekticidima, bioinsekticidi na bazi etarskih ulja su manje efikasni, te se stoga moraju primenjivati u relativno visokim koncentracijama, često u rasponu od 0,5–1,5%. Međutim, postupak registracije bioinsekticida, svakako podrazumeva i proveru fitotoksičnog delovanja na usev, o čemu se posebno vodi računa. I dok se nakon nanošenja pesticida na bazi etarskih ulja očekuje malo ili nimalo ostataka u poljoprivrednom proizvodu, potencijalni uticaj na organoleptički kvalitet proizvoda koji se štite do danas nije detaljno istražen (Murray, 2020).

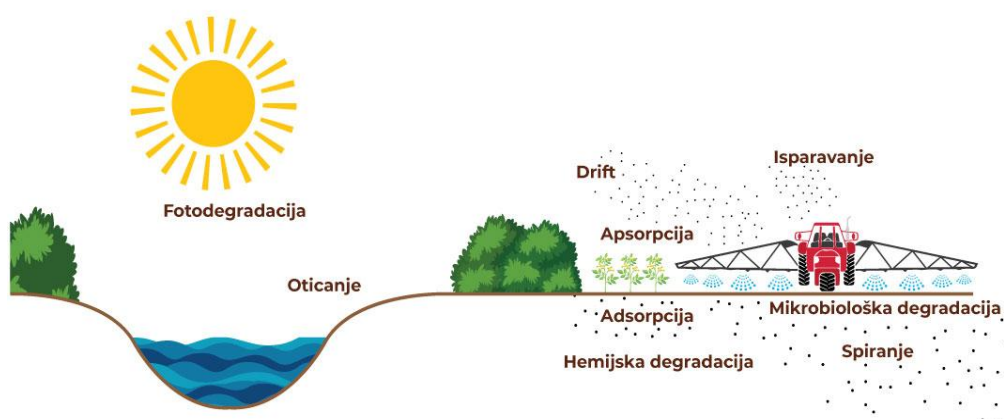
OSTACI BIOPESTICIDA U VODI

Konvencionalni pesticidi su vrlo toksični, manje specifični, i vrlo su postojani, pa postoji potreba za razvojem novih pesticida koji su manje toksični, visoko specifični i efikasni, a i manje perzistentni. Razvoj novih sintetičkih pesticida je skup i dugotrajan proces. S druge strane, razvoj biopesticida je relativno brz i jeftiniji, te biopesticidi sve više postaju alternativni izbor. Očekuje se da će se prisustvo biopesticida u vodenim ekosistemima povećavati sa povećanjem njihove proizvodnje i upotreba.

Do sada, utvrđeno je prisustvo samo nekoliko biopesticida u životnoj sredini, odnosno zemljištu i vodi. Biopesticidi su već prisutni u životnoj sredini (*Coniothirium minitans*, *Bacillus thuringiensis*, *Sclerotinia minor* i *Chondrosterum purpureum*, i biohemikalije kao što su rotenon, nikotin i piretrum) ili ulaze antropogenim aktivnostima, uglavnom poljoprivredom (Glare et al., 2012). Međutim, sa povećanjem proizvodnje i upotrebe

biopesticida, antropogene aktivnosti brzo postaju glavni izvor biopesticida u vodenoj životnoj sredini. Nakon primene u suzbijanju štetočina, biopesticidi se ili metabolišu pomoću ciljnih organizama ili se spiraju sa površine zemljišta ili biljke, a zatim se površinskim oticanjem transportuju u vodotokove. Površinsko oticanje i ispiranje u obradivim površinama glavni su putevi ulaska biopesticida u vodene ekosisteme (Jørgensen et al., 2012; Rodrigues et al., 2013).

Biopesticidi se u vodenoj sredini razgrađuju u procesima fotolize, biorazgradnje, isparavanja, sorpcije i hidrolize (Sanderson et al., 2007). Na primer, endotoksin Cri1Ab produkovan od strane *B. thuringiensis*, ima poluživot od 4, odnosno 9 dana u vodi i zemljištu. Iako postoji globalni rast proizvodnje biopesticida, postoji vrlo malo studija o prisustvu biopesticida u vodi.



Slika 24. Sudbina pesticida u spoljašnjoj sredini¹²

S obzirom da se biopesticidi proizvode od prirodnih jedinjenja, često se pretpostavlja da su ekološki prihvatljivi i bezopasni. Ipak, svrha biopesticida je da odbiju, onespobu ili unište određene organizme putem specifičnog mehanizma toksičnosti koji bi se mogao primeniti i na neciljane organizme. Sprovedena istraživanja o toksičnosti i ekotoksičnosti biopesticida odnose se uglavnom na azadirachtin (Morgan, 2009), spinosad (Biondi et al., 2012) i avermektine (Castanha Zanolini et al., 2012).

OSTACI BIOPESTICIDA U ZEMLJIŠTU

Zemljište je rezervoar u kojem se akumuliraju ostaci primenjenih agrohemijskih sredstava, pa je stoga neophodno stalno praćenje prisustva ovih jedinjenja, posebno imajući u vidu da se mogu transportovati u naredne biljke u plodoredu ili u druge delove životne sredine, poput podzemnih ili površinskih voda.

Da bi se ovo sprečilo insistira se na primeni biopesticida i u okviru integralnih programa zaštite bilja (IPM), koji minimiziraju količinu primenjenih pesticida, povećavajući proizvodnju useva, doprinoseći održivosti poljoprivrede, istovremeno smanjujući negativno delovanje po životnu sredinu.

Iako su različite zvanične organizacije, poput Ujedinjenih nacija (UN), Agencije za zaštitu životne sredine Sjedinjenih Država (EPA) i Evropske unije (EU), regulisale prisustvo organskih zagađivača u zemljištu, ovo ne uključuje biopesticide. Međutim, zemljišta, a posebno poljoprivredna zemljišta, izložena su i ovim jedinjenjima, s obzirom da se u poslednje vreme intenzivnije primenjuju u poljoprivrednoj proizvodnji. Međutim, prisustvo biopesticida u zemljištu je činjenica koja može imati negativno delovanje na životnu sredinu. Biopesticidi su u zemljištu podložni procesima kao što su adsorpcija, isparavanje, spiranje, ispiranja i razgradnje. Zemljište predstavlja sredinu u kojem se jedinjenja mogu razgraditi fizičkim, hemijskim i biološkim procesima, a nakupljanje biopesticida i njihova disperzija zavise od opštih karakteristika ekosistema, kao i od vrste biopesticida. Na primer, adsorpcija može smanjiti koncentraciju biopesticida u zemljištu, smanjiti njihovu bioraspodivnost ili mobilnost ili povećati razgradnju mikroorganizmima. Pored karakteristika zemljišta, karakteristike biopesticida, poput rastvorljivosti u vodi i postojanosti, određuje njihovu sudbinu u životnoj sredini (Nollet, and Rathore, 2015).

Razgradnja biopesticida u zemljištu dovodi do pojave produkata transformacije. Rotenon se uglavnom razgrađuje fotolizom, putem O-demetilacije, epimerizacije, epoksidacije, hidroksilacije i dehidracije. Međutim, brzina razgradnje zavisi od svojstava zemljišta (tj. organske materije i gline), te je dokazano da je 50% inicijalno primenjenog rotenona razgrađeno za 5 do 7 sati, dok je razgradnja intenzivnija u zemljištima bogatijim organskim materijama nego u peskovitim. Do prisustva

azadirachtina u zemljištu dolazi s obzirom na to da su preparati na bazi azadirachtina efikasniji i postojaniji kada se primena vrši tretiranjem zemljišta. Na primer, primena azadirachtina preko zemljišta značajno smanjuje broj jaja nematoda koje se javljaju na korenu paradajza. Polu-vek azadirachtina u zemljištu iznosi 43,9 dana. Imajući u vidu da se ovo jedinjenje brzo razgrađuje na sunčevoj svetlosti, veoma je pogodno za upotrebu u organskoj poljoprivredi. Spinosad, koji je mešavina spinozina A (50–95%) i spinozina D (5–50%), može se u zemljištu transformisati u spinozin B (metabolit spinozina A) i N-demetilovani spinozin D (metabolit spinozina D) posle 28 dana. Vrednosti DT_{50} za spinozin A i spinozin D iznose 13–74, odnosno 42 dana. Uočeno je da se piretrini brzo razgrađuju usled prisustva sunčeve svetlosti i ne opstaju u životnoj sredini duže od nekoliko nedelja, a njihov polu-vek iznosi svega 2 sata u poljskim uslovima. Pri odsustvu svetlosti degradacija piretrina je vrlo spora.

Na kraju, važno je spomenuti nakupljanje i postojanost toksina iz *Bacillus thuringiensis* (Bt). To može dovesti do opasnosti po životnu sredinu, kao što su toksičnost za neciljane vrste i pojave otpornih sojeva. Polovina unetog Bt toksina ostaje u zemljištu najmanje 56 dana.

Mala je verovatnoća da će biopesticidi naneti štetu neciljanim vrstama.

Uputstva OECD-a (Organisation for Economic Co-operation and Development) za mikrobiološke biopesticide glase da: mikroorganizam i njegovi metaboliti ne izazivaju zabrinutost zbog patogenosti ili toksičnosti za sisare i druge neciljane organizme, a koji će verovatno biti izloženi mikrobnom proizvodu; da mikroorganizam ne proizvodi toksine štetne za čoveka i druge korisne organizme; da su svi aditivi u formulacijama biopreparata niske toksičnosti i imaju neznatan uticaj na zdravlje ljudi ili životnu sredinu.

Biopesticidi sa vrlo specifičnim mehanizmom delovanja i brzom degradacijom mogu se smatrati bezbednim za neciljane vrste.

Biološka bezbednost i procena rizika biopesticida. Iako su mikrobni sojevi široko rasprostranjeni u životnoj sredini, oni obično postoje u ravnoteži u prirodi koja osigurava prirodnu mrežu biološke bezbednosti. Ali, kada se izaberu specifični sojevi zbog njihove biopesticidne aktivnosti i primene u koncentraciji dovoljnoj da se postigne željeni nivo efekta, to može izazvati zabrinutost za javno zdravlje i ekologiju.

Što se tiče konvencionalnih preparata za zaštitu useva, postoji razlika između rizika i opasnosti: Opasnost je nešto što može izazvati štetu, dok je rizik verovatnoća da će opasnost naneti štetu. Rizik se često definiše kao opasnost od izloženosti.

Pri proceni mikrobioloških preparata, za kontrolu štetočina i patogena, neophodno je uključiti i agrobiološke parametre.

Kriterijumi za procenu rizika uključuju:

Put izloženosti

Uobičajeni načini izlaganja su oralno, inhalaciono i dermalno. Kao što je slučaj sa konvencionalnim pesticidima, vrsta formulacije i način primene definišu moguće puteve izlaganja, kao i izložene populacije. Preparat koji se nanosi u obliku spreja (folijarno) ili u obliku praha (zapašivanje) može se inhalirati tokom rukovanja i nanošenja ili dovesti do iritacije očiju.

Životni ciklus i sudbina organizma u životnoj sredini takođe mogu uticati na put izlaganja. Na primer, mikrobiološki biopesticid može da predstavlja rizik od izlaganja osoba koje rukuju sa njim, ukoliko se brzo nakon nanošenja očekuje sporulacija, udisanje spora može postati značajan put izloženosti široj populaciji koja nije ciljana, uključujući ljude. Dodatni faktor rizika za mikrobne biopesticide je potencijal za alergijsku senzibilizaciju (preosetljivost) kod osoba koje rukuju sa njima.

Nivo izloženosti

Sudbina životne sredine i životni ciklus mikrobioloških biopesticida definiše verovatne nivoe izloženosti. Mikrobnii biopesticidi su živi organizmi i mogu imati potencijal da opstanu i razmnože se, kao i da se šire sa mesta primene, utičući na njegov relativni potencijal rizika po zdravlje ljudi ili kao opasnost po sredinu. Da bi se postigao željeni nivo efikasnosti, možda će biti potrebno primeniti biohemijske biopesticide u većim dozama od konvencionalnih pesticida - faktor koji se mora uzeti u obzir pri procenjivanju toksičnosti biopesticida za neciljane vrste.

Rizik od izloženosti

Pored životnog ciklusa i životne sudbine biopesticida, način delovanja, biologija ciljanih štetočina i sposobnost da izazovu stvaranje toksina odbrane biljaka, određuju potencijal toksičnih ili patogenih efekata na ljude i druge organizme koji nisu ciljani.

Shodno tome, moglo bi se smatrati da je manja verovatnoća da biohemijski bioherbicid izazove štetne efekte kod ljudi i drugih korisnih organizama nego, na primer, mikrobnii bioinsekticid. Za žive mikrobne organizme u biopesticidnim preparatima, fiziološka sposobnost preživljavanja i razmnožavanja u životnoj sredini određena je brojnim faktorima, uključujući temperaturne i metaboličke zahteve, koji definišu njihovu održivost u poljskim uslovima, a time i potencijal rizika po zdravlje ljudi ili kao opasnost po životnu sredinu.

Biopesticidi nisu nužno bezopasni, uprkos tome što su prirodnog porekla.

Potencijal štetnih efekata na zdravlje ljudi ili opasnosti po životnu sredinu mogu proizaći iz:

- načina delovanja (npr. inhibicija mitohondrija, kao i neurotoksični efekti);
- mogućnosti alergijske senzibilizacije;
- sekundarni metaboliti (npr. indukovani odbrambeni toksini biljaka);
- inertni dodaci formulacija (stabilizatori, ađuvanti, surfaktanti, sredstva za bojenje, jedinjenja protiv smrzavanja).

Utvrđeno je da se kao posledice primene biopreparata na bazi bazi *B. thuringiensis*, *Verticillium lecanii*, *Trichoderma harzianum*, *T. polysporum*, *Paecilomyces fumosoroseus*, kod rukovaoca javlja astma, alergija i alergijski alveolitis (Larsen i Baelum, 2002; Grahovac i sar., 2009). *Burkholderia cepacia* – prouzrokovac bakterijske truleži luka, registrovan kao antagonist zemljišnih patogena, je od strane USEPA povučen sa tržišta pod sumnjom da se redovno izoluje kod pacijenata sa cističnom fibrozom pluća¹⁷.

Rezistentnost. Često su neželjeni efekti primene biopesticida zanemareni u poređenju sa posledicama primene hemijskih pesticida (Holt and Hochberg, 1997), međutim opisani su čak i slučajevi rezistenosti štetnih organizama na biopesticide. Najmanje 27 vrsta štetočina razvilo je otpornost na najkorišćeniji biopesticid u svetu, na bazi *Bacillus thuringiensis* (Berling et al., 2009; Bravo et al., 2011). Pored ovog, sprovode se brojna istraživanja na temu rezistentnosti na bioinsekticide na bazi biljnih produkata kao što su nikotin, priterum, azadirahthin (Siegwart et al., 2015).

13. ZAKONSKE REGULATIVE U OBLASTI BIOPESTICIDA

BIOPESTICIDI

Iako se biopesticidi komercijalno koriste više od 60 godina, u cilju stavljanja u promet registruju se po istom postupku kao konvencionalni pesticidi, a zakoni koji regulišu njihovu upotrebu razlikuju se od države do države. Trenutno na tržištu EU dostupno je 60 aktivnih supstanci biopesticida, dok je na tržištu Sjedinjenih američkih država taj broj preko 200¹⁸. Zemlje u razvoju kao što su Indija, Brazil i Kina imaju manji broj registrovanih biopesticida u odnosu na SAD. Relativno mali broj biopesticidnih preparata na tržištu EU povezan je sa složenošću propisa pri njihovoj registraciji u cilju stavljanja u promet.

Složenost propisa pri registraciji bioinsekticida rezultira i relativno niskom stopom istraživanja vezanih za biopesticide. Mali broj zemalja prepoznaje biopesticide kao zasebnu grupu pesticida, što je dovelo do neodgovarajućih metoda procene njihove efikasnosti i bezbednosti u mnogim slučajevima (Sundh and Goettel, 2013), pri čemu prednjači Agencija za zaštitu životne sredine Sjedinjenih Država (EPA). Naime, EPA prepoznaje tri klase biopesticida: mikrobiološke pesticide, biohemijske pesticide i zaštitne materije ugrađene u biljke (plant-incorporated protectants, PIP). Kod nekih vrsta biopesticida omogućen je pojednostavljen postupak registracije, ali se i dalje insistira na proceni rizika što je u većini slučajeva zahtevna, dugotrajna, skupa i često zbunjujuća procedura. Iako registracija biopesticida zahteva manje podataka i vremena u odnosu na konvencionalne pesticide, EPA sprovodi rigorozne procedure kako bi osigurali da registrovani biopesticidi neće naštetiti ljudima ili životnoj sredini. Da bi se ovo obezbedilo, EPA zahteva od podnosioca registracije rezultate različitih studija i informacije o sastavu, toksičnosti, razgradnji i drugim karakteristikama biopesticida.

Pod sredstvima za zaštitu bilja se u EU podrazumevaju i hemijski pesticidi i biopesticidi, a njihovo stavljanje na tržište uključuje dva koraka (Uredba (EU) br. 1107/2009). Najpre, na nivou EU se procenjuje i odobrava aktivna supstanca, a zatim se na nivou države članice ocenjuje i odobrava formulisani proizvod.

Odobrenje aktivne supstance

Da bi aktivna supstanca na nivou EU bila odobrena, neophodno je da podnosilac ovog zahteva izabere državu članicu koja će podneti izveštaj.

Zatim se pre početka ispitivanje vrši provera i u slučaju da nedostaju određene informacije, podnosiocu se odobrava najviše tri meseca za dopunu dokumentacije. Nakon kompletiranja dokumentacije, započinje ispitivanje koje mora biti završeno za najviše 12 meseci. Kada aktivna supstanca bude procenjena, dostavlja se izveštaj podnosiocu zahteva i svim državama članicama i oni u periodu od 2 meseca sprovede evaluaciju izveštaja. *European Food Safety Authority* (EFSA) zatim izdaje stručno mišljenje i prosleđuje Evropskoj komisiji u dalju proceduru. Evropska komisija ima rok od šest meseci da izvrši procenu rizika i podnese izveštaj gde će biti doneta konačna odluka da li se aktivna supstanca odobrava ili ne. Ovaj postupak dobijanja odobrenja za aktivnu supstancu ukupno treba da traje 2-3,5 godine, u skladu sa uredbom, ali su u praksi ovi rokovi često mnogo duži. Na kraju, prvo odobrenje aktivne supstance najčešće važi 10 godina.

Odobrenje formulisanog preparata

Kada se aktivna supstanca odobri na nivou EU, formulisani preparat koji je sadrži mora biti odobren na nivou država članica, a podnosilac zahteva podnosi nacrt Izveštaja o registraciji svakoj državi članici u kojoj se namerava stavljanje u promet određenog sredstva za zaštitu bilja. Podnosilac zahteva odlučuje koja će država izvršiti zonsku procenu sredstva za zaštitu bilja u svakoj zoni u kojoj se planira plasiranje proizvoda na tržište.

Na osnovu klimatskih uslova, EU je podeljena na tri geografske zone:

Severna zona: Danska, Estonija, Letonija, Litvanija, Finska, Švedska

Centralna zona: Belgija, Češka, Nemačka, Irska, Luksemburg, Mađarska, Holandija, Austrija, Poljska, Rumunija, Slovenija, Slovačka, Ujedinjeno Kraljevstvo

Južna zona: Bugarska, Grčka, Španija, Francuska, Hrvatska, Italija, Kipar, Malta, Portugal

Nakon procene, podaci se prosleđuju svim državama članicama na proveru. Na osnovu Izveštaja o registraciji, sve uključene države članice pojedinačno će odlučiti o izdavanju rešenja. Država članica može dati punu dozvolu, rešenje ograničeno na neke useve ili odbiti odobrenje. Procena novog

preparata, odnosno sredstva za zaštitu bilja, trebalo bi da traje 12 - 22 meseca, a procena obnove preparata trebalo bi da traje oko 6 - 9 meseci. Novi biopesticidi se često registruju za manje od godinu dana, u poređenju sa prosekom većim od tri godine za konvencionalne pesticide.

Zahtevi za podacima

Prema Uredbi (EU) (br. 283/2013), aktivne supstance moraju da ispune nekoliko zahteva. Podaci o aktivnoj supstanci obuhvataju:

- identitet aktivne supstance;
- fizičko-hemijska svojstva aktivne supstance (ili biološka svojstva mikroorganizma);
- analitičke metode;
- toksikološke i metaboličke studije;
- podatke o ostacima u ili na tretiranim proizvodima, hrani i hrani za životinje;
- sudbinu i ponašanje u životnoj sredini;
- ekotoksikološke studije.

Trenutno stanje biopesticida u EU

Dugotrajni postupci i visoki troškovi registracije ograničavaju komercijalizaciju novih biopesticidnih preparata, posebno u Evropskoj uniji, te je neophodna promena zakona i izrada novih smernica za registraciju koje bi omogućile dalji rast evropskog tržišta biopesticida. Treba napomenuti da biopesticidi nisu imali regulatornu kategoriju sve dok kategorije „osnovne supstance“ i „supstance niskog rizika“ nisu uvedene 2017. godine (Uredba 2017/1432).

Osnovne supstance su supstance koje nisu prvenstveno namenjene proizvodima za zaštitu bilja, ali koje mogu da pruže mogućnosti zaštite useva. Odobrenje za njihovu primenu se izdaje za celu EU na neodređeno vreme.

Specifično za supstance sa malim rizikom je da njihova primena može biti delimično odobrena i na osnovu podataka iz literature i naučno

obrazloženih mišljenja. U ovom slučaju, procenjuje se da li su mikrobiološki i semiohemijski proizvodi (npr. feromoni) u skladu sa kriterijumima niskog rizika, a procena traje samo 120 dana, dok odobrenje može važiti 15 godina, umesto 10 godina.

Za mnoge biopesticide, komponente formulacije su inertne ili nisu toksikološki značajne, te se procena rizika može zasnivati samo na aktivnoj supstanci i na naučnim dokazima.

Neprepoznavanje razlike živih organizama od bioaktivnih jedinjenja predstavlja još jedan od problema prilikom registracije biopesticida (Chandler et al., 2011), na čemu Evropska unija radi godinama, pokušavajući da definiše nove, modifikuje i uskladi postojeće propise, kako bi se ove procedure pojednostavile (Villaverde et al., 2014). Na ovaj način omogućio bi se razvoj novih biopesticida i povećanje njihove primene (Glare et al., 2012).

14. LITERATURA

BIOPESTICIDI

1. Abd-Elgawad, M.M., Askary T.H. (2018). Fungal and bacterial nematicides in integrated nematode management strategies. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28, 74.
2. Agrawal, A.A., Tuzun, S., Bent, E. (1999). *Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores: Biochemistry, Ecology, and Agriculture*. APS Press, St. Paul, Minnesota.
3. Albuquerque, M.B., Santos, R.C., Lima, L.M., Melo Filho, P. de A., Nogueira, R.J.M.C., Câmara, C.A.G., Ramos, A. (2010). Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 31, 2, 379–395.
4. Almeida, L.F., Frei, F., Mancini, E., De Martino, L., De Feo, V. (2010). Phytotoxic Activities of Mediterranean Essential Oils, *Molecules*, 15, 4309-4323.
5. Al-Mulali, U., Ozturk, I., Solarin, S.A. (2016). Investigating the environmental Kuznets curve hypothesis in seven regions: The role of renewable energy. *Ecological Indicators*, 67, 267–282.
6. Altman, J., Neate, S., Rovira, A.D. (1990). Herbicide Pathogens Interaction and Mycoherbicides as Alternative Strategies for Weed Control. In: Hoagland R.E., ed., *Microbes and Microbial Products as Herbicides* (ed. by Hoagland R.E.). ACS Symposium Series 439. American Chemical Society, Washington DC, 240–259.
7. Anderson, A. J., Blee, K. A., Kwang-Yeol, Y. (2006). Commercialization of Plant Systemic Defense Activation: Theory, Problems and Successes. In: T. Sadik & E. Bent (Eds.), *Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants*, 386-414. Springer Science and Business Media, Inc.
8. Andrić, G., Marković, M., Adamović, M., Daković, A., Prazić-Golić, M., Kljajić, P. (2012). Insecticidal potential of natural zeolite and diatomaceous earth formulations against rice weevil (Coleoptera: *Curculionidae*) and red flour beetle (Coleoptera: *Tenebrionidae*). *Journal of Economic entomology*, 105, 2, 670-678.
9. Anonymus (2021). Lista registrovanih sredstava za zaštitu bilja koja se mogu koristiti u organskoj proizvodnji, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije, Uprava za zaštitu bilja. <https://novi.uzb.minpolj.gov.rs/wp-content/uploads/2021/05/Lista-sredstava-za-zastitu-bilja-do-10-05-2021-converted.pdf>.

10. Anjum, T., Bajwa, R. (2007). The effect of sunflower leaf extracts on *Chenopodium album* in wheat fields in Pakistan. *Crop Protection*, 26, 9, 1390–1394.
11. Arora, K., Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K. (2015). Allelopathic potential of the essential oil of wild marigold (*Tagetes minuta* L.) against some invasive weeds. *Journal of Environmental and Agricultural Sciences*, 3, 56–60.
12. Arras, G., Usai, M. (2001). Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *Journal of Food Protection*, 64, 7, 1025–1029.
13. Athanassiou, C., Arthur, F., Kavallieratos, N., Lazzari, F. (2014). Insecticidal effect of Keepdry for the control of *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) on wheat under laboratory conditions. *Journal of Stored Products Research*, 59, 133–139.
14. Athanassiou, C., Kavallieratos, N., Chiriloaie, A., Vassilakos, T., Fatu, V., Drosu, S., Ciobanu, M., Dudoiu, R. (2016). Insecticidal efficacy of natural diatomaceous earth deposits from Greece and Romania against four stored grain beetles: the effect of temperature and relative humidity. *Bulletin of Insectology*, 69, 1, 25–34.
15. Auld, B.A., Hetherington, S.D., Smith, H.E. (2003). Advances in Bioherbicide Formulation. *Weed Biology and Management*, 3, 2, 61–67.
16. Baličević, R., Ravlić, M., Živković, T. (2015). Allelopathic effect of invasive species giant goldenrod (*Solidago gigantea* ait.) on crops and weeds. *Herbologia*, 15, 1, 2015.
17. Bell, B.M., Morris, J., (2008). “Safe” insecticides now first in poisoning. <http://www.publicintegrity.org/investigations/pesticides/pages/introduction/>.
18. Berling, M., Blachere Lopez, C., Soubabere, O., Lery X., Bonhomme, A., Sauphanor, B. (2009). *Cydia pomonella* granulovirus genotypes overcome virus resistance in the codling moth and improve virus efficiency by selection against resistant hosts. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 925–930.
19. Biondi, A., Mommaerts, V., Smagghe, G., Viñuela, E., Zappalà, L., Desneux, N. (2012). The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. *Pest Management Science*, 68, 1523–36.
20. Boemare, N., Laumond, C., Mauleon, H. (1996). The entomopathogenic nematode-bacterium complex: biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Sci. Technol.* 6, 3, 333–345.

21. Bošković, D., Šunjka, D., Vuković, S., Lazić, S., Žunić, A. (2018). Bioinsekticidi u savremenoj poljoprivrednoj proizvodnji. *Biljni lekar*, 46, 5, 534-550.
22. Bound, S.A. (2006). Comparison of two 6-benzyladenine formulations & carbaryl for postbloom thinning of apples. *Scientia Horticulturae*, 111, 30-37.
23. Boyetchko, S., Pedersen, E., Punja, Z., Reddy, M. (1999). Formulations of Biopesticides. *Biopesticides*, 487-508.
24. BPIA (2017). Biological Products Industry Alliance (2017). History of biopesticides. <http://www.bpia.org/history-of-biopesticides/>.
25. Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., Valero, J.R. (2006). Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. *Process Biochemistry*, 41, 2, 323-342.
26. Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S., Soberon, M. (2011). *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bio-insecticide. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 41, 423-431.
27. Bret, B., Larson, L., Schoonover, J., Sparks, T., Thompson, G. (1997). Biological properties of spinosad. *Down to Earth*, 52, 6-13.
28. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. In: *Technique et Documentation Lavoisier*, Paris, 418-419.
29. Burgas, H.D. (1998). *Formulation of Microbial Biopesticides*, edition 1, Springer Netherlands.
30. Buss, A.E., Park-Brown, G. (2002). *Natural Products for Insect Pest Management*, University of Florida, IFAS Extension, ENY-350.
31. Capinera, J.L., Blue, S.L., Wheeler, G.S. (1982). Survival of earthworms exposed to *Neoplectana carpocapsae* nematodes. *J. Invert. Pathol.*, 39, 3, 419-421.
32. Carson, R. (1962). *Silent Spring*. Houghton Mifflin, Boston, 368.
33. Castanha Zanolli, J.C., Maioli, M.A., Medeiros, H.C.D., Mingatto, F.E. (2012). Abamectin affects the bioenergetics of liver mitochondria: A potential mechanism of hepatotoxicity. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA*, 26,1, 51-56.
34. Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., Ongena, M. (2011). *Bacillus*-based biological control of plant diseases. In: *Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management* (Ed. Stoytcheva, M.), 273-302.
35. Chandler, D., Bailey, A.S., Tatchell, G.M., Davidson, G., Greaves, J., Grant, W.P. (2011). The development, regulation and use of biopesticides for

- integrated pest management. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*, 366, 1573, 1987–1998.
36. Chaubey, I., Matlock, M. (2007). Teaching undergraduate students to manage aquatic ecosystems at the watershed level: an ecological engineering approach. *International Journal of Engineering Education*, 23, 4, 723-727.
 37. Cheema, Z.A., Farooq, M., Khaliq, A. (2012). Application of allelopathy in crop production: success story from Pakistan. In: *Allelopathy: Current Trends and Future Applications*, Cheema, Z.A., Farooq, M., Wahid, A. (eds.). Springer: Verlag Berlin, Heidelberg, Germany, 113–143.
 38. Chen, K.N., Chen, C.Y., Lyn, Y.C., Chen, M.J. (2013). Formulation of a Novel Antagonistic Bacterium Based Biopesticide for Fungal Disease Control Using Microencapsulation Techniques. *Journal of Agricultural Science*, 5, 3, 153-163.
 39. Copping, L.G. (2009). *The Manual of Biocontrol Agents*. Fourth edition of the BioPesticide Manual, BCPC.
 40. Copping, L.G., Menn, J.J. (2000). Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science*, 56, 8, 651–676.
 41. Cornes, D. (2005). Callisto: a very successful maize herbicide inspired by allelochemistry. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy*.
 42. Damalas, C.A., Koutroubas, S.D. (2018). Current Status and Recent Developments in Biopesticide Use. *Agriculture*, 8, 13.
 43. Dara, S.D. (2017). Entomopathogenic microorganisms: modes of action and role in IPM. *E-Journal of entomology and biologicals*, UCANR electronic extension journal previously published as "Strawberries and Vegetables".
 44. Dara, S.D., O'neal, M., Bio, M. (2018). Brief history of botanical and microbial pesticides and their current market. *E-journal of entomology and biologicals*.
https://www.researchgate.net/publication/328890014_Brief_history_of_botanical_and_microbial_pesticides_and_their_current_market.
 45. Davis, R.F. (1928). The toxic principle of *Juglans nigra* as identified with synthetic juglone and its toxic effects on tomato, and alfalfa plants. *Am. J. Bot.* 15, 620.
 46. Desmarchelier, M., Allen, E. (2000). Diatomaceous earth: health, safety, environment, residues and regulatory issues. In: *Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection*, 309-312.
 47. Dias, A.S., Dias, L.S. (2000). Effects of drought on allelopathic activity of *Datura stramonium* L. *Allelopathy J*, 7, 273-277.

48. Dilday, R.H., Yan, W.G., Moldenhauer, K.A.K., Gravois, K.A. (1998). Alleopathic activity in rice for controlling major aquatic weeds. In: Allelopathy in rice (M. Olofsdotter, ed.), International Rice Research Institute, Manila, Philippines, 7-26.
49. Divya, K., Sankar, M. (2009). Entomopathogenic nematodes in pest management. *Indian Journal of Science and Technology* 2, 7, 53-60.
50. Doumbou, C., Hamby Salove, M., Crawford, D., Beaulieu, C. (2001): Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and promote plant growth. *Phytoprotection*, 82, 3, 85-102.
51. Duduk, N., Obradovic, A., Ivanović, M. (2010). Effects of Essential Oils from Thyme, Cinnamon and Clove on Mycelial Growth of *Colletotrichum acutatum*. *Pesticidi i Fitomedicina*, 25.
52. Duke, S.O. (1990). Natural Pesticides from Plants. In: J. Janick and J. E Simon (eds), *Advances in new crops*. Timber Press, Portland, Oregon, 511-517
53. Dussi, M.C. (2011). Sustainable use of plant bioregulators in pear production. *Acta Hort.*, 909, 353-368.
54. Đukić, D.A., Jemcev, V.T., Kuzmanova, J. (2007). *Biotehnologija zemljišta*. Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku.
55. EFSA (2013). European Food Safety Authority Panel on Plant Protection Products and their Residues. Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. *EFSA Journal* 201, 11, 7, 3290, 268.
56. EFSA (2016). BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA Journal* 2016, 14, 7, 4524.
57. Ehlers, R.U. (2005). Forum on safety and regulation, In: Grewal PS, Ehlers RU, Shapiro-Ilan DI (eds). *Nematodes as biocontrol agents*. CABI Publ, Wallingford, UK, 107-114.
58. Gahukar R.T. (1995). *Neem in plant protection*. Publisher Mrs. Kunnudini K. Yawakar, Agri Horticultural Publishing House, Nagpur, India.
59. Gašić, K., Obradović, A. (2012): Indukovana otpornost biljaka. *Ratar. Povrt.*, 49, 3, 326-334.
60. Gašić, S., Tanović, B. (2013). Biopesticide formulations, possibility of application and future trends. *Pestic. Phytomed.*, 28, 2, 97-102.

61. Glare, T., Caradus, J., Gelernter, W., Jackson, T., Keyhani, N., Köhl, J., Marrone, P., Morin, L., Stewart, A. (2012). Have biopesticides come of age? *Trends Biotechnol*, 30, 5, 250-8.
62. Glare, T.R., Gwynn, R.L., Moran-Diez, M.E. (2016). Development of biopesticides and future opportunities. In: *Microbial Based Biopesticides*. Humana Press, New York, NY. 211-221.
63. Glare, T.R., Jurat-Fuentes, J.L., O'Callaghan, M. (2017). *Entomopathogenic Bacteria, Microbial Control of Insect and Mite Pests; From Theory to Practice*, Academic Press, 47-67.
64. Grahovac, M. (2014). Biološko suzbijanje *Colletotrichum* spp. parazita uskladištenih plodova jabuke. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.
65. Grahovac, M., Hrustić, J., Tanović, B., Indić, D., Vuković, S., Mihajlović, M., Gvozdenac, S. (2012): In vitro effects of essential oils on *Colletotrichum* spp. *Agriculture & Forestry*, 57, 11, 4, 7-15.
66. Grahovac, M., Indić, D., Lazić, S., Vuković, S. (2009): Biofungicidi i mogućnosti primene u savremenoj poljoprivredi, *Pesticidi i fitomedicina* (Beograd), 24,4, 245-258.
67. Grahovac, M., Indić, D., Tanović, B., Lazić, S., Vuković, S., Hrustić, J., Gvozdenac, S. (2011): Integralna zaštita jabuka od prouzrokovaca truleži u skladištima, *Pesticidi i fitomedicina*, 4, 289-299.
68. Grainge, M. and Ahmed, S. (1988). *Hand book of plants with pest control properties*. John Wiley and sons, New York, pp. 180.
69. Greene, D.W. (2010). The development & use of plant bioregulators in tree fruit production. *Acta Hort.*, 884, 31-40.
70. Gvozdenac, S., Indić, D., Vuković, S., Šunjka, D. Miletić, V. (2013). Botanički insekticidi i njihova primena u zaštiti biljaka. *Biljni lekar* 41, 5, 548-556.
71. Hajnal-Jafari, T., Stamenov, D., Đurić, S. (2020). Proizvodnja i primena biopreparata. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.
72. Hazir, S., Kaya, H.K., Stock, P., Keskin, N. (2003). Entomopathogenic nematodes (*Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) for biological control of soil pests. *Turk J biol.* 27, 181-202.
73. Holt, R., Hochberg, M. (1997). When is biological control evolutionarily stable (or is it)? *Ecology*, 78, 1673-1683.
74. Hu, F., Kong, C.H. (2002). Allelopathic potentials of *Arachis hypogaea* on crops. *J South China Agr Univ* , 23, 9-12. (in Chinese with English abstract).

75. Huang, J., Rucker, A., Schmidt, A. (2020). Production of constitutive and induced secondary metabolites is coordinated with growth and storage in Norway spruce saplings. *Tree Physiol* 40, 928-942.
76. IAS, (2005). International Allelopathy Society, Constitution and Bylaws. www.ias.usa.es/bylaws.htm.
77. Ibrahim, M.A., Griko, N., Junker, M., Bulla, L. (2010). *Bacillus thuringiensis*: A genomics and proteomics perspective. *Bioeng Bugs.*, 31–50.
78. Ibrahim, S. (2019). Essential oil nanoformulations as a novel method for insect pest control in horticulturalae. <https://www.intechopen.com/books/horticultural-crops/essential-oil-nanoformulations-as-a-novel-method-for-insect-pest-control-in-horticulture>.
79. IFOAM, (2019). https://www.ifoam.bio/sites/default/files/dooa_serbian.pdf.
80. Irshad, A., Cheema, Z.A. (2005). Comparative efficacy of sorghum allelopathic potential for controlling barnyardgrass in rice. Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy, Wagga Wagga, New South Wales, Australia.
81. Isman, B.M. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19, 603-608.
82. Isman, M.B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann. Rev. Entomol.*, 51, 45-66.
83. Isman, M.B. (2015). A renaissance for botanical insecticides? *Pest Manag. Sci.*, 71, 1587–1590.
84. Ivezić, A. (2020). Entomopatogene nematode prirodni neprijatelji štetnih insekata. *Biljni lekar*, 48, 1, 25-36.
85. James, B., Atcha-Ahowe, C., Godonou, I. (2010). Integrated Pest Management in vegetable production: A guide for extension workers in West Africa, IITA.
86. Janjić, V. (2005). Fitofarmacija. Društvo za zastitu bilja Srbije, Beograd.
87. Jørgensen, L.F., Kjær, J., Olsen, P., Rosenbom, A.E. (2012). Leaching of azoxystrobin and its degradation product R234886 from Danish agricultural field sites. *Chemosphere*, 88, 5, 554–62.
88. Kalinović, I., Rozman, V. (1999). Tradicionalni pesticidi biljnog podrijetla. Zbornik radova seminara ZUPP 1999., Crikvenica. KORUNIĆ d.o.o. Zagreb, 161-172.

89. Kaya, H.K. (1990). Soil ecology. In: Gaugler, R. and Kaya, H.K. (eds). Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, Florida, 93- 115.
90. Kereši, T., Sekulić, R., Konjević, A. (2018). Posebna entomologija 1 (deo – Insekti u ratarstvu). Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
91. Kessler, A., Baldwin, I. T. (2002). Plant responses to insect herbivory: The emerging molecular analysis. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 53, 299–328.
92. Keswani, C., Bisen, K., Singh, V., Sarma, B.K., Singh, H.B. (2016). Formulation Technology of Biocontrol Agents: Present Status and Future Prospects. *Bioformulations: For Sustainable Agriculture*, 35–52.
93. Khan, E.A., Khakwani, A.A., Ghazanfarullah, A. (2015). Effects of allelopathic chemicals extracted from various plant leaves on weed control and wheat crop productivity. *Pakistan Journal of Botany*, 47, 2, 735-740.
94. Khater, H.F. (2012). Prospects of Botanical Biopesticides in Insect Pest Management. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02, 05, 244-259.
95. Knowles, A. (2005). New developments in crop protection product formulation. *Agrow Reports UK: T and F Informa UK Ltd.*, 153-156
96. Knowles, A. (2008). Recent developments of safer formulations of agrochemicals. *Environmentalist*, 28, 1, 35-44.
97. Kong, C.H., Hu, F., Xu, X.H. (2002). Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles from *Ageratum conyzoides* under stress. *J Chem Ecol*, 28, 1173-1182.
98. Korunić, Z. (2016). Overview of undesirable effects of using diatomaceous earths for direct mixing with grains. *Pesticides and Phytomedicine*, 31, 1-2, 9–18.
99. Kovačević, D., Momirović, N. (2004). Borba protiv korova u organskoj poljoprivredi. *Acta herbologica*, 13, 2, 261-267.
100. Kovačević, J. (1979). Poljoprivredna fitocenologija. II izdanje, SNL, Zagreb.
101. Kumar, S., Singh, H.B. (2015). Biopesticides: Present Status and the Future Prospects. *J Fertil Pestic.*, 6, 2.
102. Lastochkina, O., Seifikalhor, M., Aliniaiefard, S., Baymiev, A., Pusenkova, L., Garipova, S., Kulabuhova, D., Maksimov, I. (2019). *Bacillus* spp.: Efficient Biotic Strategy to Control Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables. *Plants Journal*, 8, 4, 97.
103. Lazić, Ž. (2004). Design of Experiments in Chemical Engineering: a practical guide. Moristown, USA.

104. Madduri, K., Waldron, C., Merlo, D.J. (2001). Rhamnose Biosynthesis Pathway Supplies Precursors for Primary and Secondary Metabolism in *Saccharopolyspora spinosa*. *Journal of Bacteriology*, American Society for Microbiology, 19, 183, 5632-5638.
105. Magazin, N., Keserović, Z., Milić, B., Miodragović, M., Tarlanović, J. (2017). Uticaj 1-metilciklopropena na kvalitet plodova jabuke sorte „Granny smith“ u zavisnosti od primenjene koncentracije i uslova čuvanja. VI Savetovanje „Inovacije u voćarstvu“, Beograd, 2017, Zbornik radova, 99-106.
106. Manchikanti, P. (2019). Bioavailability and environmental safety of nanobiopesticides. In *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives*. Academic Press, 207-222.
107. Marčić, D., Prijović, M., Drobnjaković, T., Međo, I., Perić, P., Milenković, S. (2012). Greenhouse and field evaluation of two biopesticides against *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: *Tetranychidae*). *Pestic. Phytomed.*, 27, 313-320.
108. Marrone, P.G. (2014). The market and potential for biopesticides. In *Biopesticides: State of the Art and Future Opportunities*; Gross, A.D., Coats, J.R., Duke, S.O., Seiber, J.N., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, USA, 245-258.
109. Mattner, S.W., Porter, I.J., Gounder, R.K., Shanks, A.L., Wren, D.J., Allen, D. (2008). Factors that impact on the ability of biofumigants to suppress fungal pathogens and weeds of strawberry. *Crop Protection*, 27, 8, 1165-1173. doi:10.1016/j.cropro.2008.02.002.
110. Međo, I. (2016). Akaricidni i subletalni efekti biopesticida na *Tetranychus urticae* Koch (Acari: *Tetranychidae*). Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun.
111. Milenković, S., Tanasković, S., Lazić, T. (2005). Azadirachtin-mogućnost primene u zaštiti bilja, *Pregledni rad, Voćarstvo*, 39, 149, 61-69.
112. Miletić, V., Indić, D., Vuković, S., Lazić, S., Gvozdenac, S., Šunjka, D. (2013). Etarska ulja i biljni ekstrakti od značaja u fitomedicini. *Biljni lekar*, 3, 350-361.
113. Miličević, T., Kaliterna, J. (2014.). Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja. *Glasilo biljne zaštite* 5, 410-415.
114. Miller, F., Uetz, S. (1998). Evaluating biorational pesticides for controlling arthropod pests and their phytotoxic effects on greenhouse crops. *HortTechnology*, 8, 185-192.
115. Mishra, J., Dutta, V., Arora, N.K. (2020). Biopesticides in India: technology and sustainability linkages. *3 Biotech*, 10, 1-12.

116. Montesinos, E. (2003). Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *Int Microbiol*, 6, 245–252.
117. Mordue, A.J., Blackwell, A. (1993). Azadirachtin: an update. *Journal of Insect Physiology*, 39, 903-924.
118. Morgan, E.D. (2009). Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17, 12, 4096–105.
119. Mushtaq, W., Siddiqui, M.B., Hakeem, K.R. (2020). Allelopathy. *SpringerBriefs in Agriculture*. doi:10.1007/978-3-030-40807-7.
120. Naeem, M., Cheema, Z.A., Ihsan, M., Hussain, Y., Mazari, A., Abbas, H.T. (2018). Allelopathic Effects of Different Plant Water Extracts on Yield and Weeds of Wheat; *Planta Daninha*, 36.
121. Narwal, S. S. (2004). *Allelopathy in Crop Production*, Scientific Publishers, Jodhpur.
122. Nollet, L.M.L.; Rathore, H.S. Ed. (2015). *Biopesticides Handbook*. Taylor & Francis.
123. Nunes, C. (2012). Biological control of postharvest diseases of fruit. *European Journal of Plant Pathology*, 133, 181-196.
124. Olson, S. (2015). An analysis of the biopesticide market now and where is going. *Outlooks Pest Manag.*, 26, 203–206.
125. Pacanoski, Z. (2015). Bioherbicides. *Herbicides, Physiology of Action, and Safety*. doi:10.5772/61528.
126. Pekić, B. (1983). Hemija i tehnologija farmaceutskih proizvoda (alkaloidi i etarska ulja). Tehnološki fakultet, Novi Sad.
127. Perelló, A. (2011). Allicin a “natural” antifungal from garlic and its potential in controlling wheat diseases. fci.uib.es/digitalAssets/178/178137_1.pdf.
128. Petrović, S., Maksimović, Z., Kundaković, T. (2009). Analiza sastojaka biljnih droga. Priručnik za teorijsku i praktičnu nastavu iz predmeta Farmakognozija. Farmaceutski fakultet, Beograd.
129. Posada, F., Vega, F.E., Rehner, S.A., Blackwell, M., Weber, D., Suh, S.O., Humber, R.A. (2004). *Syspastospora parasitica*, amycoparasite of the fungus *Beauveria bassiana* attacking the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*: Atritrophic association. *Journal of Insect Science*, 4, 24.
130. Prapagdee, B., Kuekulvong, C., Mongkolsuk, S. (2008). Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygrosopicus* against phytopathogenic fungi. *International Journal of Biological Sciences*, 4, 5, 330-337.

131. Radivojević, D., Milivojević, J., Veličković, M., Oparnica, Č. (2017). Primena biljnih bioregulatora kod kontinentalnih vrsta voćaka. VI savetovanja „Inovacije u voćarstvu“, Beograd, 2017, Zbornik radova, 5, 26.
132. Rahman, S., Biswas, S.K., Barman, N.C. (2016). Plant extract as selective pesticide for integrated pest management. *Biotechnol Res*, 2, 1, 6-10.
133. Regnault-Roger, C., Vincent, C., Arnason, J.T. (2012). Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. *Annu. Rev. Entomol.*, 57, 405–424.
134. Rodrigues, E.T., Lopes, I., Pardal, M.Â. (2013). Occurrence, fate and effects of azoxystrobin in aquatic ecosystems: A review. *Environment International*, 53, 18–28.
135. Roth, C.M., Shroyer, J.P., Paulse, G.M. (2000). Allelopathy of Sorghum on Wheat under Several Tillage Systems. *Agron. J.*, 92, 855–860.
136. Rovesti, L., Deseo, K.V. (1991). Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis heliothidis*. *Nematologica*, 37, 113- 116.
137. Saha, D., Marble, S.C., Pearson, B.J. (2018). Allelopathic Effects of Common Landscape and Nursery Mulch Materials on Weed Control. *Frontiers in Plant Science*, 9. doi:10.3389/fpls.2018.00733.
138. Samada, L.H., Usman, S.F., Tambunan, S.F. (2020). *OnLine J Biol Sci.*, 20, 2, 66-76.
139. Sanderson, H., Laird, B., Pope, L., Brain, R., Wilson, C., Johnson, D., Bryning, G., Peregrine, A.S., Boxall, A., Solomon, K. (2007). Assessment of the environmental fate and effects of ivermectin in aquatic mesocosms. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 85, 4, 229–40.
140. Saxena, H. O., Tripathi, Y.C., Ganesh, P., Kakkar, A., Mohammad, N. (2014). Chapter: Botanicals as biopesticides: Active chemical constituents and biocidal action, Familiarizing with local biodiversity (pp. 227-246), Editors: P.K. Khatri and P.B. Meshram, Publisher: Tropical Forest Research Institute (ICFRE), Jabalpur.
141. Senthil-Nathan, S. (2015). A Review of Biopesticides and Their Mode of Action Against Insect Pests. *Environmental Sustainability*, Springer, 49-63.
142. Shao-Lin, P., Jun, W., Qin-Feng, G. (2004). Mechanism and Active Variety of Allelochemicals, *Acta Botanica Sinica*, 46, 7, 757-766.
143. Siegwart, M., Graillot, B., Blachere Lopez, C. (2015). Resistance to bio-insecticides or how to enhance their sustainability: a review. *Front Plant Sci.*, 6, 381.

144. Singh, B., Srivastava, J.S., Khosa, R.L., Shing, U.P. (2001): Individual and Combined Effects of Berberine and Santonin on Spore Germination of Some Fungi, *Folia Microbiol.*, 46, 2, 137-142.
145. Sinha K.K., Choudhary A.K., Kumari P. (2016). *Entomopathogenic Fungi, Ecofriendly Pest Management for Food Security*, Academic Press, 475-505.
146. Soatthiamroong, T., Jatisatienr, C. Supyen, D. (2003): Antifungal activity of extract of *Eugenia aromatica* (L.) Baill (*Myrtaccae*) against some pathogenic molds. *Acta Horticulturae*, 597, 209-214.
147. Soderquist, C.J. (1973). "Juglone and allelopathy". *Journal of Chemical Education*; 50, 11, 782-783.
148. Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R., Gniazdowski, A. (2013). Allelochemicals as Bioherbicides — Present and Perspectives. *Herbicides - Current Research and Case Studies in Use*. doi:10.5772/56185.
149. Sovilj, M., Spasojevic, M. (2001). Production and application of essential oils from the domestic [Yugoslav] medicinal plants. *PTEP*, 5, 1-2, 34.
150. Srivastava, D., Shahi, S., Kumar, R. (2015). Allelopathic effects of *Ipomoea cairica* (L.) on noxious weed *Parthenium hysterophorus* Linn. *International Journal of Current Research in Life Sciences*, 4, 12, 489-491.
151. Stern, R.S. (2012). The risk of squamous cell and basal cell cancer associated with psoralen and ultraviolet A therapy: a 30-year prospective study. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 66, 553-562.
152. Sundh, I., Goettel, M.S. (2013). Regulating biocontrol agents: a historical perspective and a critical examination comparing microbial and macrobial agents. *Biocontrol*, 58, 575-593.
153. Šovljanski, R., Lazić, S. (2007). *Osnovi fitofarmacije*. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
154. Tadros, F. (2005). *Applied surfactants, principles and applications*. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, 187-256
155. Tanović, B., Hrustić, J., Mihajlović, M., Grahovac, M., Nikolić, M., Inđić, D., Vuković, S. (2012). Sensitivity of strawberry fruit rot pathogens to essential oils. VII International Strawberry Symposium ISHS, Beijing, China, Book of Abstracts, 389.
156. Tanović, B., Milijašević, S., Obradović, A., Todorović, B., Rekanović, E. i Milikić, S. (2004). In vitro efekti etarskih ulja iz začinskih i lekovitih biljaka koji se prenose zemljištem. *Pesticidi i fitomedicina*, 19, 233-240.
157. Templeton, W. (1969). *An Introduction to the Chemistry of Terpenoids and Steroids*. Butterworth and Co. Ltd, London, England, 170.

158. Thambugala, K., Dinushani A.D., Phillips, J. L., Sagarika D., Itthayakorn, P. (2020). Fungi vs. Fungi in Biocontrol: An Overview of Fungal Antagonists Applied Against Fungal Plant Pathogens. *Frontiers in Microbiology* 10, 2 - 10.
159. Tomlin, C. (Ed) (2006). *The Pesticide Manual* British Crop Protection Council, Farnham.
160. Tripathi A.K., Prajapati V., Aggrawal K.K., Khanuja S.P.S., Kumar S. (2000). Toxicity towards *Tribolium castaneum* in the fraction of essential oil of *Anethum sowa* seeds. *J. Med. Arom. Plant Sci.*, 22, 4.
161. Tunić, T. (2015). Razvoj testova inhibicije rasta vrsta roda *Myriophyllum* L. 1754 (Saxifragales, *Haloragaceae*) za potrebe ekološke procene rizika od herbicida i kontrole kvaliteta sedimenta. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, prirodno-matematički fakultet.
162. Tworkoski, T. (2002). Herbicide effects of essential oils. *Weed Science*, 50, 425–431.
163. Uredba EU 1107/2009. Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC.
164. Uredba EU 2017/1432, COMMISSION REGULATION (EU) 2017/1432, Official Journal of the European Union L 205/59, 8.8.2017.
165. Uredba EU 283/2013, COMMISSION REGULATION (EU) No 283/2013 of 1 March 2013 setting out the data requirements for active substances, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market. Official Journal of the European Union L 93/1.
166. Uremis, I., Arslan, M., Sangun, M.K. (2009). Herbicidal activity of essential oils on the germination of some problem weeds. *Asian Journal of Chemistry*, 21, 4, 3199-3210.
167. Van Driesche, R.G., Bellows (1996). *Biological Control*, Chapman Holl. Int. Thompson Publ., New York, Washington, 539.
168. Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. (*Annu. Rev.*) *Phytopathol.*, 36, 453–483.
169. Villaverde J.J., Sevilla-Morán, B., Sandín-España, P., López-Goti, C., Alonso-Prados, J.L. (2014). Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC) No. 1107/2009. *Pest Manag Sci.*, 70, 1, 2-5.

170. Vuković, S., Šunjka, D. (2020). Korovi i biopesticidi (deo Biopesticidi). Praktikum, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
171. Vuković, S., Šunjka, D., Inđić, D., Gvozdenac, S. (2013). Botanički fungicidi i herbicidi od značaja za poljoprivredu. Biljni lekar, 4, 451-458.
172. Weidemann, G.J., TeBeest, D.O. (1990). Genetic Variability of Fungal Pathogens and Their Weed Hosts. In: Hoagland RE., ed. Microbes and Microbial Products as Herbicides, ACS Symp. Ser. 439. American Chemical Society, Washington, DC., 176–183.
173. Woods, T.S. (2003). Pesticide Formulations. In AGR 185 in Encyclopedia of Agrochemicals. New York: Wiley., 1-11.
174. Zaridah, M.Z., Nor Azah, M.A., Abu Said, A., Mohd. Faridz, Z.P. (2003). Larvicidal properties of citronellal and *Cymbopogon nardus* essential oils from two different localities. Trop. Biomed., 20, 169–174.
175. Zhiqi, Sh., Fei, W., Wei Zh., Peng Zh., Yong J. F. (2007). Application of Osthol induces a Resistance Response Against Powdery Mildew in Pumpkin Leaves. International Journal of Molecular Sciences, 1001-1012.
176. Zibae, A. (2011). Botanical Insecticides and Their Effects on Insect Biochemistry and Immunity. In book: Pesticides in the Modern World- Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment, Chapter 4.
177. Zimdahl, R.L. (2018). Allelopathy. Fundamentals of Weed Science, 253–270.
178. ¹<https://thebiologynotes.com/biopesticides/> (Surendra Dara)
179. ²<https://www.sciencephoto.com/media/30405/view/sage-leaf-sem>, <https://docplayer.gr/85202652-Matricaria-chamomilla-kamilica-cinnamomum-verum-cimet-achillea-millefolium-hajducka-trava.html>
180. ³https://sr.wikipedia.org/sr-el/%D0%90%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%BD%D0%B5_%D0%B1%D0%B8%D1%99%D0%BA%D0%B5
181. ⁴<https://www.pinterest.com/dreamcraft/all-lavender-oil/>
⁵<https://www.pinterest.com/pin/302726406186694688/>
182. ⁶<https://www.edenresearch.com/products/mevalone.aspx>
183. ⁷https://www.researchgate.net/figure/Mechanism-of-actions-implemented-by-biocontrol-agents-for-management-of-plant-diseases_fig2_267329664

184. ⁸<https://www.agrotv.net/etarska-ulja-uticu-prouzrokovace-biljnih-bolesti/> <https://www.primarna-medicina.com/mogucnosti-primene-etarskih-ulja/>
185. ⁹<https://www.eagrovision.com/beauveria-bassiana/>
186. ¹⁰<https://www.sciencesource.com/archive/Image/Development-Verticillium-Lecanii-SS2568492.html>
187. ¹¹<http://web.utk.edu/~jurat/Btresearchtable.html>
188. ¹²ProEduca, Banja Luka, Bosna i Hercegovina
189. ¹³<https://www.yumpu.com/en/document/view/54369825/advantages-and-limitations-in-bioherbicides-use/7>
190. ¹⁴<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0222933>
191. ¹⁵<https://www.ifoam.bio/why-organic/organic-landmarks/definition-organic>
192. ¹⁶https://novi.uzb.minpolj.gov.rs/wpcontent/uploads/2021/05/Lista_sredstava_za_zas_bilja_za_org_proizvodnju_na_dan_14_05_2021.pdf
193. ¹⁷<https://www.federalregister.gov/documents/2000/02/09/00-2954/burkholderia-cepacia-strain-ral-3-withdrawal-of-an-application-to-register-a-pesticide-product>
194. ¹⁸<https://www.reach24h.com/en/news/industry-news/current-situation-and-trends-of-biopesticide-regulations-in-eu.html>

