



**Универзитет у Новом Саду
Пољопривредни факултет
Департман за фитомедицину и
заштиту животне средине**



Срђана Петровић дипл. инж

ПРИМЕНА И УТВРЂИВАЊЕ ОСТАКА АЦЕТАМИПРИДА У ЗАШТИТИ ЈАБУКЕ

Мастер рад

Нови Сад, 2015



**Универзитет у Новом Саду
Пољопривредни факултет
Департман за фитомедицину и
заштиту животне средине**



Кандидат

Дипл. инж Срђана Петровић

Ментор

Доц. др Славица Вуковић

ПРИМЕНА И УТВРЂИВАЊЕ ОСТАКА АЦЕТАМИПРИДА У ЗАШТИТИ ЈАБУКЕ

Мастер рад

Нови Сад, 2015

КОМИСИЈА ЗА ОДБРАНУ И ОЦЕНУ МАСТЕР РАДА

Доц. др Славица Вуковић, доцент

Научна област: Фитофармација

Пољопривредни факултет, Нови Сад

-Ментор-

Проф. др Сања Лазич, редовни професор

Научна област: Фитофармација

Пољопривредни факултет, Нови Сад

-Председник-

Доц. др Ненад Магазин, доцент

Научна област: Воћарство

Пољопривредни факултет, Нови Сад

-Члан-

САДРЖАЈ:

РЕЗИМЕ.....	1
SUMMARY	2
1. УВОД.....	3
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	6
2.1. НАЈЗНАЧАЈНИЈА ШТЕТОЧИНА ЈАБУКЕ - ЈАБУКИН СМОТАВАЦ - <i>CYDIA POMONELLA</i> LINNE (LEPIDOPTERA , TORTRICIDAE).....	6
2.1.1. Економски значај и распрострањеност	6
2.1.2. Симптоми оштећења	6
2.1.3. Морфологија	7
2.1.4. Биологија	8
2.2. Инсектициди - Неоникотиноиди.....	9
2.2.1. Ацетамиприд.....	11
2.3. Резистентност.....	12
2.4. Методе анализе остатака пестицида у плодовима јабуке.....	14
2.4.1. Хроматографија	15
2.4.2. Високоперформантна течна хроматографија (HPLC).....	16
2.4.3. Методе екстракције	18
2.4.4. Течно-течна екстракција.....	18
3. ЗАДАТАК И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА	20
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА	21
4.1. Одређивање биолошке ефикасности инсектицида у пољским условима	21
4.1.1. Локалитети	21
4.1.2. Засад јабуке	21

4.1.3. Јабукин смотавац – <i>C. pomonella</i> (Lepidoptera, Tortricidae).....	21
4.1.4. Испитивани инсектицид	22
4.1.5. Примењене методе	22
4.1.6. Статистичка обрада података	24
4.2. Утврђивање остатака ацетамиприда у плодовима јабуке у лабораторијским условима	24
4.2.1. Припрема узорака за анализу	24
4.2.2. За испитивање су коришћени следећа опрема и хемикалије	24
4.2.3. Провера приноса екстракције ацетамиприда из јабуке QuEChERS методом.....	26
4.2.4. Дефинисање хроматографских услова	27
5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	30
5.1. Ефикасност препарата на бази ацетамиприда за сузбијање јабукиног смотавца у локалитету Сремски Карловци	30
5.2. Ефикасност препарата на бази ацетамиприда у сузбијању јабукиног смотавца у локалитету Таванкут	32
5.3. Одређивање ацетамиприда применом HPLC/DAD.....	36
5.3.1. Параметри валидације.....	36
5.3.2. Линеарност одзива детектора.....	37
5.3.2. Линеарност одзива детектора.....	37
5.3.3. Лимит детекције (LOD) и лимит квантификације (LOQ)	38
5.3.4. Прецизност	38
5.3.5. Матрикс ефект	40
5.3.6. Остаци ацетамиприда у плодовима јабуке.....	41
6. ЗАКЉУЧАК.....	43
7. ЛИТЕРАТУРА	45

РЕЗИМЕ

Примена и утврђивање остатака ацетамиприда у заштити јабуке

У циљу да се утврди степен заштите плодова јабуке од јабукиног смотавца (*Cydia pomonella*), применом препарата на бази ацетамиприда (Ацетамиприд SG и Моспилан 20 SG) уз праћење динамике разлагања ацетамиприда у плодовима јабуке, огледи су постављени према ЕРРО методама, у засаду јабуке у два локалитета Сремски Карловци и Таванкут, на сортама Ајдаред и Грени смит. Препарати на бази ацетамиприда примењени су у концентрацији 0,025%, фолијарно, леђним атомизером, уз утрошак воде 1000 l/ha. Експеримент је постављен у четири понављања, са распоредом основних парцела по случајном блок систему. Одређена је ефикасност инсектицида по Abotty и значајност разлика (ANOVA) за интервал поузданости 95%. Девет дана после примене препарата у локалитету С. Карловци, ефикасност препарата Ацетамиприд SG износила је 88,9%, а препарата Моспилан 20 SG 91,6%. После 27 дана од примене ефикасност препарата Ацетамиприд SG је износила 87,2%, док је ефикасност препарата Моспилан 20 SG износила 89,7%. У локалитету Таванкут ефикасност инсектицида Моспилан 20 SG, 14 дана после примене је 84,4%, а 24 дана од примене је 81,2%. У циљу праћења динамике разлагања ацетамиприда у плодовима јабуке узорковање је изведено након сушења депозита (нулти дан), 7, 14, 21, 28 дана од третирања и у време бербе. Екстракција ацетамиприда из плодова јабуке изведена је QeChERS методом. За одређивање ацетамиприда коришћена је течна хроматографија са DAD детектором. Валидација методе је у потпуности спроведена у складу са захтевима стандарда SANCO/12495/2011. Количина ацетамиприда у узорцима јабуке била је испод прописане вредности МДК од (0,8 mg/kg) већ седам дана после третмана, док је DT₅₀ износио 0,73 дана.

Кључне речи: јабука, *C. pomonella*, ацетамиприд, ефикасност, остаци

SUMMARY

Use and determination of acetamiprid residue in apple protection

In order to establish the level of apple fruit protection from codling moth (*Cydia pomonella*), by the use of acetamiprid based products (Acetamiprid SG and Mospilan 20 SG) and by following the dynamics of acetamiprid decomposition in apple fruit, experiments have been set up according to EPPO methods, in the two apple orchards on two localities Sremski Karlovci and Tavankut, On Idared and Granny Smith cultivar. The acetamiprid based products were applied at concentration of 0.025%, foliar, with backpack atomizer, with the water usage of 1000 l/ha. The experiment was conducted in four replications with basic lots laid out according to the randomized block design. The insecticide efficiency was determined according to Abott and significance of difference (ANOVA) for the 95% confidence level. Nine days after the product application on S. Karlovci locality, the efficiency rate of Acetamiprid SG was 88.9%, and the one of Mospilan 20 SG was 91.6%. 27 days after the application, the efficiency of the product Acetamiprid SG was 87.2% whereas the efficiency of Mospilan 20 SG was 89.7%. At the Tavankut locality the efficiency of insecticide Mospilan 20 SG, 14 days after the application was at 84.4%, and 24 days after the application at the rate of 81.2%. In order to monitor acetamiprid decomposition in apple fruit, sampling was preformed after drying of deposits (day Zero), 7, 14, 21 and 28 days after the treatment and during the harvest. Extraction of acetamiprid from apple fruit was performed by applying QeChERS method. The level of acetamiprid was established by the use of Liquid Chromatography with Dad detector. The method validation was conducted completely in accordance with requirements set by the SANCO/12495/2011 standard. The amount of acetamiprid in apple samples was below the value of the *maximum permissible level* (0.8 mg/kg) as of seven days after the treatment, while amount of DT₅₀ was 0,73 days.

Key words: apple, *C.pomonella*, acetamiprid, efficiency, residue

1. УВОД

Јабука (*Malus domestica*, fam. *Rosaceae*), пореклом је из централних делова Азије. Први подаци о узгоју јабуке везују се за Анадолију и северну Месопотамију у другом миленијуму п.н.е. Од XII века н.е. јабука постаје гајена врста широм Европе. Крупни плодови јабука се најчешће користе као стоно воће, за јело у свежем стању, док се ситнији плодови прерађују у сокове, сирупе, мармеладу и вино, ређе за ракију. Сок јабуке садржи лако растворљиве облике минералних соли (К, Са, Na, Mg, P, Fe, В) и друге корисне материје. Зрели плодови јабуке садрже 79,6-85,1% воде, а од шећера је најзаступљенија фруктоза, затим глукоза и у мањим количинама сахароза. Поред ових материја у састав плода јабуке улазе још и киселине, боје, ароматичне и друге корисне материје (Кесеровић и сар., 2000).

Савремена технологија производње јабуке је високо интензивна, веома сложена и захтева велика улагања људског рада и средстава у економском погледу, а и са аспекта здравствене безбедности човека постављени су врло високи критеријуми. У Републици Србији после шљиве јабука је најзаступљенија воћна врста. Према попису пољопривреде (2012) јабука се производи на 23.737 ха. У Војводини јабука је најзаступљенија воћна врста и производи се на 6.347 ха. У односу на остале воћне врсте, највеће промене уводе се у технологију гајења јабуке. Стандард у производњи јабуке у развијеним земљама јесте подизање високоинтензивних засада у густом склопу са противградним мрежама и системима за наводњавање, уз увођење стандарда квалитета (Global GAP и Интегрална производња) (Кесеровић и сар., 2014). Међутим још увек су у Србији најзаступљенији традиционални засади са застарелим сортиментом и већим растојањима садње. У последњих неколико година и код нас се подижу интензивни

засади јабука густог склопа, а технологија гајења се заснива на Интегралном концепту и стандарду производње хране Global GAP.

Фактори који ограничавају подизање савремених засада јабуке су осетљивост на проузроковаче болести и штеточине, неодговарајући квалитет земљишта, појава ниских зимских температура, честа појава пролећних мразева, недостатак падавина, ветровитост терена и сл. (Гвозденовић, 1993).

Јабука је воћна врста која захтева највећи број третирања ради сузбијање штеточина и проузроковача болести. Значајније штеточине на јабуци су: јабукин смотавац (*Cydia pomonella*), јабукина лисна ваш (*Aphis pomi*), крвава ваш (*Eriosoma lanigerum*), калифорнијска штитаста ваш (*Quadraspidiotus perniciosus*), јабукин мољац (*Hiponometia malinellus*), лисни минери (минер округлих мина- *Lyonetia clerkella*; минер мраморних мина - *Phylonororycter blancardella*; минер белих мина – *P.corylifoliella*), јабукина брашнаста лисна ваш (*Dysaphis plantaginea*) и друге које се јављају повремено (Almaši i sar., 2004).

Јабукин смотавац се редовно јавља сваке године, представља једну од најзначајнијих штеточина у воћарству, а посебно у засадима јабуке. Перманентне и често веома велике штете, које се манифестују прераним опадањем плодова, црвљивошћу и отежаним чувањем током складиштења, настају пре свега због неблаговремене и неадекватне заштите, без које је данас немогуће замислити гајење јабуке. Чињеница је да је сузбијање јабуковог смотавца отежано, пре свега, због дугог присуства лептира у воћњацима, развученог развића и преклапања генерација, на шта, између осталог, утичу климатски услови, не само појединих година, већ и у различитим локалитетима (Граора и Јеринић-Продановић, 2005). Последњих година, у већем броју засада је констатована висока бројност оштећених плодова јабуке, што је угрозило рентабилност производње. Јабукин смотавац напада и плод крушке, дуње, брескве, кајсије, вишње, трешње, ораха. Отуда, изложеност јабукиног смотавца као циљаног или нециљаног организма дејству инсектицида, повећава селекциони притисак на поменућу врсту што за последицу има смањење осетљивости исте и на крају појаву резистентности према примењиваним инсектицидима. Поменута појава у производним условима, најпре се запажа смањењем ефикасности инсектицида у редовној примени

односно производњи. Код нас су забележене промене у ефикасности неких инсектицида али не постоји перманентна контрола нити мониторинг осетљивости ове значајне врсте према инсектицидима. Услед неопходне примене инсектицида у заштити јабуке од *C. pomonella*, постоје врло оправдани разлози да се за њено сузбијање примењују инсектициди са повољним токсиколошким и екотоксиколошким особинама.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. НАЈЗНАЧАЈНИЈА ШТЕТОЧИНА ЈАБУКЕ - ЈАБУКИН СМОТАВАЦ - *CYDIA POMONELLA* LINNE (LEPIDOPTERA , TORTRICIDAE)

2.1.1. Економски значај и распрострањеност

Јабукин смотавац, *Cydia pomonella* економски је најзначајнија штеточина јабуке у Србији и у свету. Изузетно је прилагодљив различитим климтским условима што доказује његово присуство у свим узгојним подручјима јабуке (Thaler et al., 2008). Јавља се редовно сваке године. Распрострањен је у свим јабучњацима у нашој земљи.

2.1.2. Симптоми оштећења

На плодовима јабуке уочавају се оштећења. Гусеница у процесу исхране прогриза кожицу плода и улази у плод, хранећи се ствара спирални ходник који води до семене кућице (слика 1). Гусеница се храни семенкама те буши ходник на супротну страну од улазног отвора и напушта плод (Пајач Живковић, 2012). На месту убушивања у плод гусеница избацује црвенкасти измет (слика 2). На месту убушивања долази до појаве гљивичних обољења као што су: зелена плесан и трулеж плодова (Кесеровић и сар., 2014).



Слика 1 и 2: Оштећења од јабукиног смотавца

Извор: www.agf.gov.bc.ca

2.1.3. Морфологија

Лептир јабукиног смотавца је тамно сив са распоном крила од 15 до 22 мм. На врху ових крила налази се светла пега, уоквирена црвеномрком или тамном бојом тзв. "огледалце" (слика 3).



Слика 3: Јабукин смотавац - имаго

Извор: www.delange.org

Јаја су спљоштена, овална величине око 1 мм (слика 4) (Пајач -Живковић, 2012). Одрасла гусеница је величине око 20 мм. У почетку су беличасте а касније постају ружичасто црвене (слика 5).



Слика 4: Јабукин смотавац - јаје

Извор: www.pisvojvodina.com

Слика 5: Јабукин смотавац - гусеница

Извор: www.hantsmoths.org.uk

Лутка је 10 - 12 мм дуга и око 3 мм широка, смеђа, налази се у елиптичном кокону (Мацељски и сар., 1999).

2.1.4. Биологија

Јабукин смотавац презими у стадијуму одрасле гусенице, L5 испод коре на деблу или дебљим гранама (Chidawanyika и сар., 2010). Гусеница се преображава у лутку у рано пролеће, најчешће у марту месецу, при пролећним температурама вишим од 10 °C. Зависно од климатских услова за развој лептира потребна је сума ефективних температура од 100 °C, што је у нашим климатским условима крајем априла месеца (Пајач -Живковић, 2012). Почетак лета лептира поклапа се са крајем цветања јабуке односно развојем плодова (у нашим условима почетак или средина маја месеца). У почетку лета преовлађују мужјаци, а касније женке. Мужјаци и женке копулирају 24 сата након почетка лета. Овипозиција почиње дан након парења (Chidawanyika и сар., 2010). Женка полаже јаја појединачно у близини чашице плода или на површини листа. Након десетак дана из положених јаја пиле се гусенице које се убушују у плодове (крајем маја месеца). Гусенице јабучног смотавца имају 5 узраста – пресвлаче се четири пута (L1-L5) (Chidawanyika и сар., 2010). Гусеница L5 напушта плод, спушта се до

основе стабле и преобрази се у лутку у пукотинама дебла. Након десетак дана јавља се лептир друге генерације. Често долази до преклапања лета прве и друге генерације јабукиног смотавца. Развој друге генерације јабукиног смотавца траје краће, те се већ у августу формирају хибернакулуми. Јабукин смотавац код нас има две генерације годишње али због веће годишње суме ефективних температура у последње време се појављује и трећа генерација.

Такође значајни штетни инсекти који се јављају у засадама јабуке су: зелена лисна ваш јабуке (*Aphis pomi* De Geer), минер округлих мина (*Leucoptera malifoliella* Costa), минер тачкастих /мраморних/набораних/мина (*Lithocolletis/Phyllonorycter/blancardella* Fabricius), минер белих мина (*Lithocolletis/Phyllonorycter/corylifoliella* Haworth).

2.2. Инсектициди - Неоникотиноиди

Неоникотиноиди су новија група синтетских инсектицида. Делују контекстно и дигестивно. У централном нервном систему инсеката изазивају иреверзибилну блокаду постсинаптичких рецептора. Слични су природном никотину. Поседују изразито системична својства. Нарочито су ефикасни на инсекте који сишу али такође и за штеточине које гризу делове биљака (Секулић и сар., 2008). Пошто селективно реагују са никотинским ацетилхолин рецептором ово их чини веома значајним за сузбијање инсеката који су развили резистентност на инсектициде из хемијске групе оргоанофосфата, карбамата и пиретроида. Претпоставља се да имају мање негативних ефеката на корисне инсекте него остали инсектициди, нису токсични за сисаре и не испољавају тератогени или мутагени ефекат (Гужвањ, 2006). Flint и сар. (2010) наводе да неоникотиноиди позитивно утичу на имунитет биљака и повећавају отпорност биљака у условима стреса.

На основу хемијске структуре неоникотиноиди су подељени у четири генерације (Cutler и сар., 2012):

I генерација: имидаклоприд, нитенпирам, ацетамиприд и тиаклоприд;

II генерација: тиаметоксам и клотианидин;

III генерација: динотефуран;

IV генерација: сулфоксафлор;

Последњих година нека од истраживања су показале повезаност примене неоникотиноида с низом негативних утицаја на пчеле, чиме су постигнута ограничења и забране кориштења три једињења из групе неоникотиноида: имидаклоприда, клотианидина и тиаметоксама (McDonald - Gibson, 2013). Мање дозе изложености неоникотиноидима не узрокују директна угинућа пчела и осталих опрашивача. Иако се сматрало да су количине неоникотиноида пронађене у полену и нектару третираних усева премале да би узроковале директну смрт, истраживања су показала да постоји потенцијално тровање и код најмањег контакта пчела с тим инсектицидима. Количине које не узрокују угинуће пчела могу узроковати негативне појаве у понашању пчела, првенствено везане за мождану активност, попут дезоријентације, односно потешкоћама при повратку у кошницу и губитка способности учења и памћења. Остале појаве могу узроковати смањено опрашивање усева, промене у комуникацији с осталим пчелама, угрожени имунитет чиме постају осетљивије на разне вирусне инфекције на које су иначе отпорне, спорији развој јединке и смањену могућност самоодрживости заједнице (Pilatic, 2012).

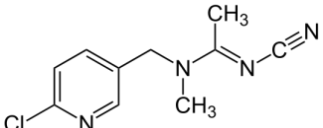
Европска комисија је уредбом No 1107/2009 увела рестрикцију примене неких неоникотиноида у трајању од две године. Забрана се односи на клотианидин, тиаметоксам и имидаклоприд, а у циљу смањења изложености пчела деловању ових инсектицида.

Министарство пољопривреде и заштите животне средине Србије, такође је увело мораторијум на примену препарата на бази имидаклоприда, тиаметоксама и клотианидина. Иако ацетамиприд припада хемијској групи неоникотиноида ова ограничења се не односе на његову примену (Анонимус, 2014).

2.2.1. Ацетамиприд

Ацетамиприд је инсектицид са системичним или локал системичним деловањем. Делује контактено и дигестивно на инсекте (Јањић и Елезовић, 2010). Ацетамиприд је компетитивни модулатор никотинских рецептора ацетилхолина (IRAC, 2015). Има одличне системичне особине, релативно ниску токсичност за топлокрвне организме и дуг период деловања (Гужвањ, 2006). Као инсектицид је описан од стране Takahashi и сар. 1992. године, а први пут је регистрован 1995. године у Јапану. На тржиште га је лансирала фирма “Nippon Soda Co.”(Јапан). У Републици Србији је први пут регистрован под комерцијалним именом ”Моспилањ”.

Табела 1. . Формула и хемијски назив ацетамиприда (Tomlin, 2006)

Молекулска формула	Хемијски назив	Структурна формула
$C_{10}H_{11}ClN_4$	(Е)-N ¹ -[6-хлор-3-пиридил)метил]-N ² -цијано-N ¹ -метилацетамидин	

Табела 2. Препарати на бази ацетамиприда регистровани за сузбијање јабукиног смогавца у засаду јабуке (Савчић-Петрић, 2015)

Комерцијални назив	Формулација	Произвођач	Садржај активне материје
Моспилањ	Водорастворљиве грануле, SG	Nippon Soda	200 g/kg
Златоспилањ	водорастворљиво прашиво, SP	Biogenesis	200 g/kg
Кестрел	концентровани раствор, SL	Adama Makhteshim	200 g/l
Wizzard	водорастворљиво прашиво, SP	Stockton	200 g/kg

Ацетамиприд се у промету налази формулисан у виду водорастворљивог прашива, вододисперзних гранула, концентрованих суспензија и концентрованог раствора (Tomlin, 2006). Каренца за ацетамиприд код нас је 28 дана за јабуку (Јањић и Елезовић, 2010; Савчић-Петрић, 2015). У Мађарској и Хрватској је 14 дана за јабуку (Ocsko, 2010; Lučić, 2012).

Ацетамиприд има ниску токсичност за сисаре. Орална LD₅₀ за мишеве износи 184 mg/kg, а за пацове 146 mg/kg. Дермална LD₅₀ за пацове износи више од 2000 mg/kg, док је инхалациона LC₅₀ већа од 0,29 mg/dm³. Токсичност ацетамиприда за водене организме је ниска. Отрован је за птице. Сматра се јако отровним за кишне глисте и пчеле (LD₅₀ 10 ng/пчела). Не испољава надражујући ефекат на очи и кожу. У литератури нису објављена тровања ацетамипридом код људи. Ацетамиприд се доста брзо и скоро потпуно апсорбује из гастроинтестиналног тракта, а излучује се путем урина и фецеса. Не меша се са препаратима алкалне реакције, меша се са препаратима неутралне и слабо киселе реакције. Не примењује се алтернативно са другим препаратима из групе неоникотиноида због могућег развоја резистентности на ацетамиприд и укрштене резистентности (Јањић и Елезовић, 2010).

Према правилнику Европске Уније Рег. (ЕУ) Но 2012/2013 максимално дозвољена количина остатака пестицида (MRLs) у јабуци 0,3 mg/kg, док је према нашем Правилнику о максимално дозвољеним количинама остатака средстава за заштиту биља у храни и храни за животиње и о храни и храни за животиње за коју се утврђују максимално дозвољене количине остатака средстава за заштиту биља ("Сл. гласник РС", бр. 29/2014 и 37/2014 - испр.) максимално дозвољена количина ацетамиприда у јабуци 0,5 mg/kg.

2.3. Резистентност

Врло значајна последица примене инсектицида, као што је смањена осетљивост инсеката или резистентност, условила је низ поремећаја, најпре изостанак ефикасности, понављање третирања, то јест повећање: утрошка инсектицида по

јединици површине, људског рада, финансијских средстава, као и штетних остатака и повећање ризика по околину.

У свету је резистентност штетних инсеката према пиретроидима почела озбиљније да се испољава почетком осамдесетих годна прошлог века. Констатовано је да применом једног пиретроида може да се развије резистентност популација штеточина и према другим једињењима из ове групе инсектицида. Cihon i Fernandez (1995) наводе податке о појави резистентности ларви јабукиног смотавца и према пиретроидима (есфенвалерат) у Јужној Америци. Резистентност према органофосфорним инсектицидима констатована је код великог броја врста инсеката. Према подацима Reuveny i Cohen (2004), констатована је резистентност ларви јабукиног смотавца на азинфос-метил, а такође и укрштена резистентност према регулаторима раста инсеката (метоксифенозид, новалурон). Stara и Koscovsek (2007) су испитивали осетљивост и резистентност две популације јабукиног смотавца из пољских услова према регулаторима раста и фосалону, и констатовали су укрштenu резистентност код једне популације између феноксикарба, тефлубензулона и фосалона, док код друге, ниску резистентност на фосалон и тефлубензурон. Током 2002. године у Италији и Швајцарској, тестирана је осетљивост ларви јабучног смотавца у дијапаузи на 13 инсектицида. Од органофосфата тестирани су фосалон, хлорпирифос-метил, а од пиретроида делтаметрин. Укрштена резистентност констатована је према 12 од 13 испитиваних инсектицида, међутим и понављање апликације такође указује на смањење осетљивости (Charmilote et al., 2003). Reyes et al. (2007) су испитивали ефикасност 10 инсектицида на 47 пољских популација јабукиног смотавца у четири државе. Између осталог констатовали су и укрштenu резистентност између фосалона и/или азинфос-метила са спиносабом и тиаклопридом, такође су детектовали и непостојање корелације између резистентности на делтаметрин и присуство *kdr* мутације.

Испитивање резистентности *C. pomonella* према инсектицидима је показало да је јабукин смотавац испољио резистентност према азинфос-метилу, фосмету, ламбда-цихалотрину, индоксакарбу, а није испољио према ацетамиприду и спиносаду (Mota-Sanchez et al., 2008).

Лабораторијска испитивања Knight (2010), су показала да ацетамиприд испољава високу ефикасности и да значајно смањује плодност *C. pomonella*. На основу процене

одговора новоиспиљених гусеница *C. pomonella* на три инсектицида (азинфосметил, ацетамиприд и тиаклоприд) и о улози цитохром П450 монооксигеназе у њиховој токсичности, Cichon et al., (2013), су закључили да су све испитане популације *C. pomonella* у пољским условима (Аргентина) испољиле знатно мању смртност на дискриминаторне концентрације азинфосметила и ацетампирида, док је 13 од 14 популација испољило значајно мању смртност и при примени тиаклоприда.

2.4. Методе анализе остатака пестицида у плодовима јабуке

Под остацима пестицида у плодовима јабуке подразумевају се остаци активних супстанци које се употребљавају у заштити биља укључујући и њихове метаболите (Лазиф и сар., 2012). Поред свих предности које је довело коришћење пестициде појавиле су се и штетне последице по здравље људи, животиња и целокупни екосистем. Обзиром да интензивна производња јабуке није могућа без примене пестицида редовно праћење остатака у плодовима јабуке је од изузетног значаја за очување здравља људи. Максимално дозвољена количина пестицида (МДК) се дефинише Законом као највиша дозвољена концентрација остатака пестицида у храни на основу стандарда добре пољопривредне праксе (GAP) (Keikotlhaile i Spanoghe, 2011). У нашој држави максимално дозвољене количине пестицида дефинисане су " Правилником о максимално дозвољеним колочинама остатака за заштиту биља у храни и храни за животиње и о храни за животиње за коју се утврђују максимално дозвољене количине остатака средстава за заштиту биља " (Сл. гласник, бр. 29/2014).

За утврђивање остатака пестицида користе се различите методе: гасна хроматографија (GLC), течна хроматографија (HPLC), методе спектрофотометрије и др. Бача Чесник и сарадници (2012) наводе да се у оквиру гасне хроматографије (GLC)

користе различити детектори активних материја: пламен јонизациони детектор (FID), електронско апсорпциони детектор (ECD), азот фосфор детектор (NPD), пламен фотометријски детектор (FPD), масени спектрометар (MS) и др. Већина стандардних испитивања врши се спојем гасног хроматографа и масеног спектрометра који служи као детектор (GC/MS), ова комбинација омогућава истовремено квалитативно и квантитативно одређивање активних супстанци. Детектори који се користе у течној хроматографији (HPLC) су: флуоросцентни детектори (FLD), електрохемијски (амперометријски) детектори (ECCD), радиоактивни детектори, детектори проводљивости, рефрактометријски детектори, детектори расипања светлости у које спадају: испарљиви детектори расипања светлости (ELCD), ласерски детектори расипања светлости (LLCD), детектори пражњења-колоне (CAD), масено спектрометријски детектори (MS) (Snyder и сар., 2010).

2.4.1. Хроматографија

Хроматографија представља методу раздвајања компонената из смеше, између две фазе чија је додирна површина велика, при чему је једна фаза покретна (мобилна), а друга непокретна (стационарна) (Марјановић, 2001). Развој хроматографије је посебно значајан у области физиологије, биохемије, хемијске и прехранбене технологије и тече од седамдесетих година 20 века. Паралелно са развојем хроматографских метода, тече и развој хроматографске инструментације, којом је повећана селективност, осетљивост, поузданост и прецизност хроматографских метода (Шовљански и сар., 2002). Захваљујући изузетним особинама, гасна и течна хроматографија се често користе у разним испитивањима активних материја и препарата. Најпогоднији начин одређивања остатака пестицида у храни је примена хроматографских метода уз различите поступке припреме узорак (Torres et al., 1996, Anastassiades et al., 2003). Дуги низ година на припрему узорак се знатно мање обрађала пажња него на хроматографско раздвајање и начине детекције (Smith, 2003). Најефикаснији приступ анализи пестицида је употреба мултирезидуалних метода (MRM).

Да би нека метода припреме узорака при одређивању остатака пестицида била прихватљива потребно је:

- Да обухвата што већи број пестицида у једној процедури (мултирезидуална метода);
- Да принос методе буде што ближи 100%;
- Да у задовољавајућој мери уклања нечистоће из узорака како би се повећала селективност и избегао нежељени утицај матрикса;
- Да довољно концентрује узорак у циљу повећања осетљивости методе;
- Да је прецизна, робусна, јефтина, брза, једноставна, безбедна (мали утрошак растварача и употреба мање токсичних растварача).

Напредак у методама припреме узорака се односи на смањење количине узорка за анализу уз приступ који је безбедан и мање штетан по животну средину, а уједно је постигнут бржи, једноставнији начин припреме узорка уз истовремено обезбеђење високог приноса и добре прецизности.

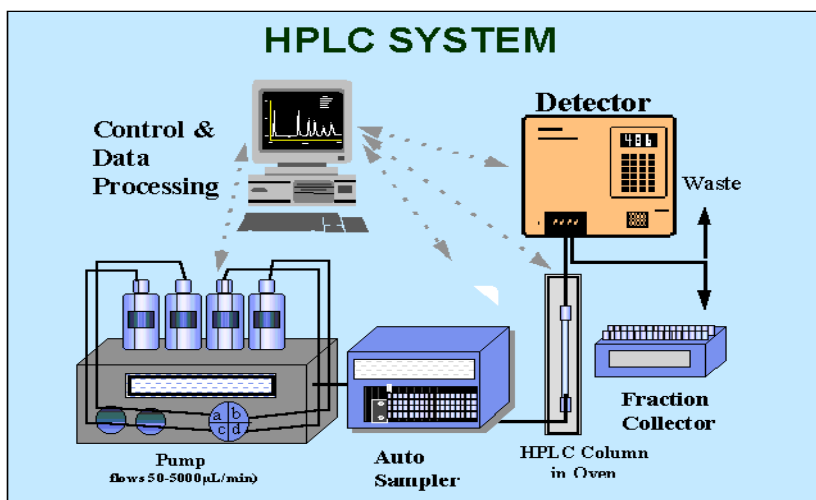
2.4.2. Високоперформантна течна хроматографија (HPLC)

За анализу остатака пестицида често се користи течна хроматографија HPLC. То је облик колонске хроматографије и великим делом је настала на искуствима гасне хроматографије (Маријановић, 2001).

Када је реч о квантитативној анализи данас високоперформантна течна хроматографија, поред гасне хроматографије спада у ред најпримењенијих техника у методама раздвајања. Резервоар за растварач или елуент, за употребу у високоперформантној течној хроматографији мора бити без чврстих суспендованих честица и без раствореног гаса. Чврсте честице се уклањају филтрацијом кроз ултрафилтре, док се растворени гасови уклањају кључањем у вакуму уз помоћ ултразвука или барботирањем хелијума. Филтер служи за уклањање случајно притиснутих чврстих честица пречника око 10 μm . Пумпа служи да се обезбеди улазни притисак мобилне фазе, најчешће, између 30 и 300 bar, уз одговарајући проток кроз

хроматографски систем (око 1 ml/min). Ињектор представља критичан део апаратуре за високоперформантну течну хроматографију јер треба да омогући уношење пробе при високом унутрашњем притиску без промене режима струјања (без прекида протока). Колоне имају најчешће стандардне димензије 3x300 mm, а изграђене су од стакла (ређе), нерђајућег челика или тантала. Обично се у високоперформантној течној хроматографији користе комерцијално доступне колоне.

Детектор служи за преводње сигнала масе (концентрације) у електрични сигнал, који се затим појачава, модулише и мери (региструје). Најважнија особина детектора је његова осетљивост. Међутим, веома важну практичну вредност, нарочито у квантитативним одређивањима, имају: универзалност (специфичност), линеарност одзива, шум, брзина одзива, мртва запремина и др. Може се рећи да су најпримењенији тзв. UV-детектори, односно детектори засновани на апсорпцији зрачења из UV у видљиве области електромагнетног спектра (преко 70 %), а са мањом применом су детектори на бази мерења флуоресценције (~ 15 %), детектори на бази мерења индекса рефракције (~ 5 %), електрохемијски (~ 5 %) и сви остали детектори (< 5 %). Најновије конструкције овог детектора омогућавају непрекидно мерење (снимање) апсорпционог спектра супстанце (diode array) што ове детекторе чини изузетно погодним за квалитативну, а посебно за квантитативну анализу (Марјановић, 2001).



Слика: Шема HPLC система

2.4.3. Методе екстракције

Постоји неколико метода изоловања остатака пестицида из различитих матрикса хране: течно-течна екстракција, суперкритична флуидна екстракција (SFE), микро екстракција на чврстој фази (SPME) и екстракција на магнету који се окреће (SBSE), као и дисперзија матрикса на чврстој фази (MSPD).

2.4.4. Течно-течна екстракција

Течно-течна екстракција је основна метода изоловања остатака пестицида из различитих матрикса хране. Избор растварача је једна од најважнијих одлука које треба донети за мултирезидуалну методу. Две најчешће коришћене методе у анализи остатака пестицида у воћу и поврћу су биле :

- Екстракција ацетоном, након чега следи раздвајање смешом дихлорметана и петролетра – Лукеова метода (1975);
- Екстракција етилацетатом у присуству натријум сулфата

Обе методе су модификоване у многим аспектима. Са гледишта заштите животне средине, етилацетат и ацетон имају знатно мање штетан утицај од хлорованих растварача, као што је дихлорметан (Vicchi et al., 1996), што је довело до модификације Лукеове методе и постепене замене дихлорметана смешом етилацетат-циклохексан (1:1, v,v). Ацетон је погодан растварач за екстракцију јер се у потпуности меша са водом и омогућава добро продирање у водене делове воћа и поврћа. Да би се побољшала екстракција мање поларних пестицида, ацетону треба додати неполарни растварач, који ће довести до бољег растварања, али и могућег нижег фактора искоришћења за већину поларних анализата. Етил-ацетат се релативно добро меша са водом, што омогућава добро продирање у биљну ћелију, а његова поларност је довољна да екстрахује многе поларне пестициде. Предност екстракције етилацетатом је једноставнији поступак и бољи принос екстракције који је упоредив са другим растварачима за екстракцију. Развијен је

и поступак екстракције ацетонитрилом. Његова широка употреба почела је у последњих неколико година након увећења QuEChERS методе (Anastassiades et al., 2003).

2.4.5. QeChERS метода

Steven J. Lehotay, хемичар из Центра за микробиолошко – биохемијско и хемијско истраживање остатака пестицида и др Michelangelo Anastassiades из Стутгарта, развили су QeChERS методу екстракције и пречишћавања која може да се користи за широк спектар пестицида присутних у воћу и поврћу (Core, 2003).

QeChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged And Safe) представља скраћеницу за:

- Брзу, 8 узорака може да се уради за свега 30 минута;
- Једноставну, није компликована за руковање;
- Јефтину, користи се мање материјала и потребно је мање времена за обраду узорака;
- Ефикасну, даје тачне податке за низ различитих типова једињења;
- Сигурну методу екстракције на чврстој фази (SPE), екстракција се врши ацетонитрилом.

3. ЗАДАТАК И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Задатак рада је да се у пољским условима применом стандардних ЕРРО метода испита ефикасност инсектицида на бази ацетамиприда, у сузбијању јабукиног смотавца (*Cydia pomonella*) у засаду јабуке, уз одређивање остатака ацетамиприда у плодовима јабуке, течном хроматографијом са DAD детектором до истека каренце од 28 дана.

Циљ рада је да се утврди степен заштите засада јабуке од јабукиног смотавца (*Cydia pomonella*), применом препарата Ацетамиприд SG и Моспилан 20 SG, као и да се одреде остаци ацетамиприда у плодовима јабуке до истека каренце.

На основу резултата истраживања добиће се увид у којој мери је примењени препарат допринео заштити јабуке од јабукиног смотавца уз праћење динамике разлагања ацетамиприда у плодовима јабуке, и на тај начин и провери да ли је каренца правилно нормирана.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

4.1. Одређивање биолошке ефикасности инсектицида у пољским условима

4.1.1. Локалитети

Испитивање ефикасности инсектицида на бази ацетамиприда, у засаду јабуке, изведена су на локалитета у Сремским Карловцима и Таванкуту.

4.1.2. Засад јабуке

Сузбијање јабукиног смотавца инсектицидима, изведено је у засаду јабуке старом 14 година са размаком садње између редова 3,6 m и у реду 1,6 m у локалитету Сремски Карловци на сортама Ајдаред и Грени смит. У локалитету Таванкуту засад је стар 7 година са истим размаком садње, и застуљеном сортом Ајдаред.

4.1.3. Јабукин смотавац – *C. pomonella* (Lepidoptera, Tortricidae)

Јабукин смотавац, *Cydia pomonella* економски је најзначајнија штеточина јабуке у Србији и у свету. Изузетно је прилагодљив различитим климтским условима што доказује његово присуство у свим узгојним подручјима јабуке (Thaler et al., 2008).

Јавља се редовно сваке године. Распрострањен је у свим јабучњацима у нашој земљи. На плодовима јабуке уочавају се оштећења. Гусеница у процесу исхране прогриза покожицу плода и улази у плод, хранећи се ствара спирални ходник који води до семене кућице. Гусеница се храни семенкама те буши ходник на супротну страну од улазног отвора и напушта плод (Пајач Живковић, 2012). На месту убушивања у плод гусеница избацује црвенкасти измет. На месту убушивања долази до појаве гљивичних обољења као што су: зелена плесан и трулеж плодова (Кесеровић и сар., 2014).

4.1.4. Испитивани инсектицид

У испитивање су укључени препарати на бази ацетамиприда из групе неоникотиноида:

Ацетамиприд SG и Моспилан 20 SG (ацетамиприд 200 g/kg), формулисани су у облику водорастворљивих гранула (SG). То су системични инсектициди широког спектра деловања са контактним и дигестивним деловањем. Ацетамиприд је компетитивни модулатор никотинских рецептора ацетилхолина. Овакво деловање има за последицу не преношење нервних импулса што доводи до губитка оријентације код инсеката, њиховог престанка са исхраном и до угињавања. Не меша се са препаратима алкалне реакције. Не примењује се алтернативно са препаратима на бази неоникотиноида због могућег развоја резистентности и укрштене резистентности. Ацетамиприд је јако отрован за кишне глисте, отрован за птице и пчеле, а практично неотрован за дафније и рибе. Препарат се користи у засаду јабуке за сузбијање јабукиног смотавца, зелене ваши и лисних минера (Јањић и Елезовић, 2010).

4.1.5. Примењене методе

Огледи су постављени у пољским условима, према стандардним ЕРРО методама: за дизајн експеримента и анализу података (Анонимус, 2012); за ефикасност

инсектицида у сузбијању јабукиног смотавца (Анонимус, 2004) и за фитотоксичност (Анонимус, 2014).

Препарат Ацетамиприд SG и Моспилан 20 SG су примењени у концентрацији 0,025%, фолијарно, леђним атомизером „Соло“, уз утрошак воде 1000 l/ha.

У Сремским Карловцима, третирање је обављено 19.05.2015. године (за сузбијање прве генерације јабукиног смотавца), јабуке су биле у фенофази ВВСН 74 (плодови су били усправни, пречника до 40 mm). Експеримент је постављен у четири понављања, са распоредом основних парцела по случајном блок систему. Величину основне парцеле су чинила четири стабла јабуке.

У Таванкуту, прво третирање је обављено 23.05.2015. године (за сузбијање прве генерације јабукиног смотавца), јабуке су биле у фенофази ВВСН 74 (плодови су били усправни, пречника до 40 mm). Друго третирање је обављено 19.06.2015. (за сузбијање друге генерације), јабуке су биле у фенофази ВВСН 75-77 (плодови су око половине до 70% крајње величине). Експеримент је постављен у четири понављања, са распоредом основних парцела по случајном блок систему. Величину основне парцеле су чинила четири стабла јабуке.

Пре постављања огледа, на оба локалитета, праћена је и утврђена бројност јабучног смотавца, ухваћених на феромонским клопкама (Csalomon). Број ухваћених лептира приказан је у прилогу (табела 1).

Ефекат препарата је одређен на основу броја оштећених плодова (прегледано је 300 плодова по понављању) од гусеница јабукиног смотавца. Оцене ефеката у Сремским Карловцима, изведене су: прва после девет (28.05.2015.) и дуга после 27 дана (15.06. 2015.) од примене инсектицида. А у Таванкуту прва оцена 14 дана после (06.06.2015.) и друга 24 дана после третирања (16.06.2015.). После другог третирања није праћена бројност оштећених плодова, нити је одређена ефикасност инсектицида, пошто је била врло ниска бројност лептира у засаду јабуке у локалитету Таванкут. Метеоролошки подаци за време трајања огледа дати су у прилогу (табела 2-3).

4.1.6. Статистичка обрада података

Резултати огледа приказани су преко: апсолутних и средњих вредности за број оштећених плодова, затим стандардно одступање од просечних вредности (Sd), ефикасност (E %) по Abboty (Wentzel, 1963) и значајност разлика (ANOVA) за интервал поузданости 95%.

4.2. Утврђивање остатака ацетамиприда у плодовима јабуке у лабораторијским условима

4.2.1. Припрема узорака за анализу

Оглед је постављен у воћњаку на локалитету Таванкут у засаду јабуке, сорте Ајдаред. Јабука је третирана препаратом Моспилан 20 SG (200 g/kg ацетамиприда) у концентрацији 0,025% (2,5 g у 10 l воде). Узорковање је изведено након сушења депозита (нулти дан), 7, 14, 21, 28 дана од примене инсектицида и у време бербе. Узорци су до лабораторије транспортовани исти дан у полиетиленским кесама. У лабораторију су узорци јабуке чувани у режиму дубоког замрзавања до момента анализе. Експериментални део испитивања обављен је у "Лабораторији за биолошка испитивања и пестициде", Департмана за фитомедицину у заштиту животне средине, Пољопривредног факултета у Новом Саду, током октобра 2015. године.

4.2.2. За испитивање су коришћени следећа опрема и хемикалије

Опрема

- Течни хроматограф Agilent Technologies, 1100 Serie,
- Колона Zorbax Eclipse XDB-C18 (50 mm × 4.6 mm, 1.8 μm), Agilent Technologies,

- Филтери за мобилну фазу – Hewlett Packard, Nylon Filter Membranes 9301-0895; 47 mm, pore size 0.45 μm ,
- Аналитичка вага Shimadzu A $\times$ 200,
- USK 1 – ултразвучна када, Sonic SR, Gadžin Han.

Хемикалије

- Ацетамиприд – аналитички стандард 98,1% (Dr Ehrenstorfer, Germany),
- Ацетонитрил, HPLC чистоће ("J.T.Baker", Darmstadt, Germany),
- Сирћетна киселина ("J.T.Baker", Darmstadt, Germany),
- QuEChERS Extract Pouches, EN Method Cat. No. 5982/5650.
- QuEChERS Dispersive SPE Kit, Cat. No. 5982/.

4.2.3. Провера приноса екстракције ацетамиприда из јабуке QuEChERS методом

Екстракција ацетамиприда из плодова јабуке изведена је применом QuEChERS методе. Анализа је изведена коришћењем нетретираних плодова јабуке који су до момента анализе чувани у режиму дубоког замрзавања. Нетретирани плодови јабуке - контрола, претходно су уситњени и хомогенизовани ручним блендером. На ваги је измерено 10 g узорка и пренесено у полипропиленску кивету од 50 мл. Овако припремљеном узорку додата је одговарајућа количина стандарда ацетамиприда – запремина од 1 ml раствора са садржајем од 1,5 μg , 3 μg и 4,5 μg (крајња концентрација 0,15; 0,3 и 4,5 $\mu\text{g/ml}$). Кивета је затворена и остављена у фрижидеру преко ноћи. Након тога, додато је 10 ml ацетонитрила, снажно мућкано 1 мин, а затим је додата припремљена пуферска смеша соли (4,0 g магнезијум-сулфата, 1,0 g натријум-хлорида, 1,0 g натријум-цитрата-дихидрата и 0,5 g динатријум-цитрата-сесквихидрата). Одмах је интензивно мућкано 1 мин и центрифугирано 5 мин на 3000 обртаја/мин (слика 6-8).



Слика 6-8.

Аликвот од 6 ml је пренесен у кивету са смешом 150 mg PSA и 900 mg MgSO_4 , интензивно је мућкано 1 мин и центрифугирано 5 мин на 3000 обртаја/мин (слика 9-10).



Слика 9-10.

Од аликвота је узет 1 ml, профилиран кроз 0,45 μm мембрански филтер, пренесен у виал и анализиран на HPLC/DAD (слика 11 – 13).



Слика 11 -13.

4.2.4. Дефинисање хроматографских услова

За одређивање остатака ацетамиприда у узорцима јабуке примењена је течна хроматографија (HPLC) са детектором са низом диода (DAD) (слика 14).



Слика 14.

Основни раствор. На аналитичкој ваги је у нормалном суду од 100 ml одмерено 10 mg аналитичког стандарда ацетамиприда чистоте 98,1%. Стандард је растворен у ацетонитрилу и чуван у фрижидеру. Концентрација основног раствора била је 0,1 mg/ml.

Радни раствори. Разблажењем основног раствора стандарда припремљена је серија раствора концентрације 0,25 – 3,0 $\mu\text{g/ml}$. Ови раствори ацетамиприда употребљени су за испитивање приноса екстракције и дефинисање хроматографских услова коришћењем следећих параметара:

- линеарност одговора детектора
- лимит детекције (LOD)
- лимит квантификације (LOQ)
- поновљивост
- тачност

Линеарност одзива детектора проверена је ињектовањем раствора стандарда ацетамиприда концентрације 0,25 – 3,0 $\mu\text{g/ml}$. Израчунавањем нагиба праве приказана је

линеарност зависности површине пика од концентрације анализата. Ради испитивања утицаја матрикса на резултате одређивања садржаја ацетамиприда коришћени су MMS (енг *matrix-matched standards*.) раствори који су припремани тако што се одређена количина стандардног раствора или стандардног збирног раствора неоникотиноида дода у последњем делу процедуре припреме узорка, тј. након упаравања, а пре реконституисања узорка (0,125-1,5 µg/ml).

Лимит детекције (LOD) и лимит квантификације (LOQ) су одређени на основу односа сигнал/шум базне линије (S/N).

Поновљивост је одређена ињектовањем стандарда ацетамиприда концентрације 0,30 и 0,45 µg/ml пет пута и проверена израчунавањем релативне стандардне девијације.

5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

5.1. Ефикасност препарата на бази ацетамиприда за сузбијање јабукиног смотавца у локалитету Сремски Карловци

Резултати испитивања ефикасности препарата Ацетамиприд SG примењеног у концентрацији 0,025%, и препарата Моспилан 20 SG такође примењеног у концентрацији 0,025% у сузбијању јабукиног смотавца (*C. pomonella*) у засаду јабуке, локалитет Сремски Карловци приказани су у табели 3-4.

Табела 3. Број оштећених плодова јабуке и ефикасност препарата у сузбијању јабукиног смотавца, девет дана после третирања (С. Карловци, 28.05.2015.)

Инсектицид (%)	понављања				Σ	x	Sd _±	Е%
	I	II	III	IV				
Ацетамиприд SG (0,025)	3,0	1,0	0	0	4	1,0 b	1,41	88,9
Моспилан 20 SG (0,025)	0	0	1,0	2,0	3	0,75 b	0,95	91,6
Контрола	11	9,0	11	5,0	36	9,0 a	2,83	
NZR (0,05%)						3,44		

Σ – сума; x – просечан број; Sd_± - стандардно одступање; Е % - ефикасност

Број оштећених плодова јабуке, девет дана после примене препарата Ацетамиприд SG и Моспилан 20 SG је на значајно нижем нивоу у односу на контролу. Ефикасност препарата Ацетамиприд SG је 88,9%, а препарата Моспилан 20 SG је 91,6% и они су на истом нивоу значајности (табела 3).

Табела 4. Број оштећених плодова јабуке и ефикасност препарата у сузбијању јабукиног смотавца, 27 дана после третирања (С. Карловци, 15.06.2015.)

Инсектицид (%)	понављања				Σ	x	Sd $\pm$	E %
	I	II	III	IV				
Ацетамиприд SG (0,025)	1,0	0	2,0	2,0	5	1,25 b	0,81	87,2
Моспилан 20 SG (0,025)	2,0	1,0	0	1,0	4	1,0 b	0,95	89,7
Контрола	10	9,0	11	9,0	39	9,75 a	1,26	
NZR (0,05%)						2,05		

Σ – сума; x – просечан број; Sd $\pm$ - стандардно одступање; E % - ефикасност

После 27 дана од примене инсектицида на бази ацетампирида, број оштећених плодова је на значајно нижем нивоу у односу на контролу. Ефикасност испитиваних препарата је износила 87,2- 89,7%, у зависности од препарата. Оба препарата на бази ацетамиприда, са истим садржајем активне супстанце и исте формулације, су остварила ефикасност на истом нивоу значајности. Током испитивања нису забележене фитотоксичне промене на сортма Ајдаред и Грени Смит у локалитету Сремски Карловци.

Ацетамиприд може да испољи штетно деловање на неке предаторе и паразитоиде, што потврђују испитивања Naranjo i Akey (2005). Примена ацетамиприда у памуку значајно је редуковала популације девет од 17 врста предатора, међу којима су *Geocorius punctipes*, *Orius tristicolor*, *Chrysoperla carnea*, *Hippodamia convergens*. Међутим, Horowitz и Ishaaya (2004) истичу да је примена ацетамиприда заливањем и третирањем семена безбедна за већину паразитоида и предатора.

5.2. Ефикасност препарата на бази ацетамиприда у сузбијању јабукиног смотавца у локалитету Таванкут

Ефикасност препарата на бази ацетамиприда у сузбијању *C. pomonella* у локалитету Таванкут је приказана у табелама 5-6. Број оштећених плодова јабуке, 14 дана после примене препарата Моспила 20 SG је на значајно нижем нивоу у односу на контролу. Ефикасност испитиваног препарата је 84,4% (табела 5).

Табела 5. Број оштећених плодова јабуке и ефикасност препарата у сузбијању јабукиног смотавца, 14 дана после третирања (Таванкут, 06.06.2015.)

Инсектицид (%)	понављања				Σ	x	Sd $\pm$	E%
	I	II	III	IV				
Моспила 20 SG (0,025)	3	2	2	0	7	1,75 b	1,25	84,4
Контрола	9	15	12	9	45	11,25a	2,87	
NZR (0,05%)						4,59		

Σ – сума; x – просечан број; Sd $\pm$ - стандардно одступање; E % - ефикасност

После 24 дана од третирања, број оштећених плодова јабуке је на значајно нижем нивоу у односу на контролу. Ефикасност препарата Моспила 20 SG је износила 81,2% (табела 6). Током испитивања нису забележене фитотоксичне промене на сорти Ајдаред у локалитету Таванкут.

Табела 6. Број оштећених плодова јабуке и ефикасност препарата у сузбијању јабукиног смотавца, 24 дана после третирања (Таванкут, 16.06.2015.)

Инсектицид (%)	понављања				Σ	x	Sd ±	E%
	I	II	III	IV				
Моспилан 20 SG (0,025)	2	3	2	2	9	2,25 b	0,5	81,2
Контрола	8	17	10	13	48	12,0a	3,91	
NZR (0,05%)						5,57		

Σ – сума; x – просечан број; Sd± - стандардно одступање; E % - ефикасност

Поредећи број нападнутих односно оштећених плодова зависно од локалитета, евидентно је врло уједначено присуство оштећених плодова у оба локалитета, које није високо, обзиром да се мере сузбијања инсекатских врста у наведеним засадима редовно спроводе. Имајући у виду могућност промене осетљивости код штетних врста које су изложене високом селекционом притиску при сузбијању, затим природу и механизме деловања инсектицида који су код нас регистровани и у примени, мониторинг осетљивости инсеката и прописане стратегије у примени средстава за заштиту биља, у врло блиској будућности биће основ мера за савремене технологије биљне производње.

На основу обављених испитивања у периоду од 2002-2008. године, која се односе на одредјивање ефикасности инсектицида (индоксакарб, диазинон, делтаметрин, хлорпирифос+циперметрин, имидаклоприд, ацетамиприд) за јабучног смотавца, а ради регистрације нових препарата у Р. Србији, ефекте је могуће међусобно поредити због примене истих ЕРРО метода. На основу необјављених резултата Алмаши и сар. и Инђић и сар. ефикасност препарата је варијала зависно од локалитета, односно популација јабучног смотавца и природе инсектицида. Највиша ефикасност евидентирана је за препарате на бази имидаклоприда, ацетамиприда и делтаметрина. Ефикасност осталих инсектицида је била нешто нижа али у задовољавајућим границама, међутим према још званично непотврђеним информацијама, на терену се појављује и *C. pyricolla* која се по осетљивости према инсектицидима разликује од *C. pomonella*, то јест поседује природно већу отпорност према инсектицидним препаратима.

Поред наведених хемијских метода, у свету се за сузбијање *C. pomonella* све више користе *Bacillus* spp., грануло вируси и феромони („mating disruption“). Основна предност овог начина сузбијања *C. pomonella* је добијање здравствено безбеднијих плодова. Међутим, они нису тако ефикасни као конвенционални инсектициди па их треба користити у комбинацији са горе наведеним једињењима. Овај систем подразумева ниске бројности популације *C. pomonella* (<2%). Код бројнијих популација ефекти овог система су недовољно ефикасни. Поменуте тенденције у примени инсектицида за сузбијање *C. pomonella*, са мањим изменама, могу се применити и у сузбијању осталих штеточина из фамилије Tortricidae (Тамаш и Милетић., 2010).

У трогодишњим пољским огледима изведеним у периоду 2008-2010. године, на локаитету Бела Црква, испитивана је ефикасност инсектицида различитих механизма деловања у сузбијању јабукиног смотавца (Милетић и сар., 2011). Највећи степен ефикасности испољио је хлорантранилпрол, као и комбинација хлорпирифоса и циперметрина, током целог периода испитивања. Ови резултати су указали на значај примене инсектицида са новијим механизмом деловања, као што је хлорантранилпрол, у сузбијању *C. pomonella*, нарочито у условима када су поједини инсектициди испољили слабу ефикасност.

Испитивања Тамаш и сар. (2014), у сузбијању јабукиног смотавца у два локалитета (Радмиловац и Винча), су показала различиту осетљивост на примењене инсектициде. Највишу ефикасност је испољила комбинација емаектин бензоата и минералног уља (96,2-100%), затим инсектициди на бази хлорантранилпрола и цијантранилпрола (92,5-95,6%), док су инсектициди на бази тиаклоприда (82,8-85,7%) и ацетамиприда (54,6-55,1%) испољили нижу ефикасност. Наведена испитивања нису у сагласност са нашим испитивањима, обзиром да су разлике у ефикасности значајно ниже. То се може објаснити интезивном применом инсектицида из хемијске групе неоникотиноида у наведеним локалитетима, чиме је извршен висок селекциони притисак наведеним инсектицидима на поменуту штеточину, што је вероватно и условило смањену осетљивост јабукиног смотавца на ацетамиприд.

Испитивање ефикасности инсектицида против ове штетне врсте требало би бити перманентно, уз увођење мониторинга осетљивости поменуте врсте према примењиваним инсектицидима, имајући у виду да је резистентност према неким инсектицидима у свету већ евидентирана, а како се наводи (Charmilot et all., 2003) могућа је и укрштена резистентност.

5.3. Одређивање ацетамиприда применом HPLC/DAD

Остаци ацетамиприда у плодовима јабуке анализирани су применом HPLC/DAD под условима датим у табели. Квалитативна HPLC анализа присуства неког једињења изводи се на основу ретенционих времена уз потврду присуства - поређењем UV спектра пика стандардне супстанце и пика у узорку, док се квантитативна заснива на величини аналитичког сигнала.

Табела 7. Услови рада HPLC/DAD

Мобилна фаза	A – 1,5% CH ₃ COOH
	B – ацетонитрил
Однос мобилних фаза	70/30
Температура колоне	25 °C
Проток кроз колону	1 ml/min
Таласна дужина DAD	254 nm
Ињектована запремина	2,5 µl

5.3.1. Параметри валидације

Валидација методе изведена је у складу са захтевима стандарда SANCO/12495/2011– Валидација метода и процедуре за контролу квалитета анализа остатака пестицида у храни и храни за животиње, провером хроматографских услова као што су линеарности одзива детектора, прецизност и тачност методе, матрикс ефекат и одређивањем границе детекције и квантификације.

5.3.2. Линеарност одзива детектора

Калибрациона крива ацетамиприда у чистом растварачу или у матриксу су конструисане цртањем зависности концентрација ацетамиприда и површина пикова са добијених хроматограма. Калибрациона крива је конструисана на основу 4 тачке, тј. четири концентрације ацетамиприда у распону од 0,05 до 0,8 µg/ml. Калибрациони стандарди припремљени су у ацетонитрилу.

Зависност величине аналитичког сигнала (површине пика) од масене концентрације стандардног раствора приказана је на Графику 1. Калибрациона крива је дефинисана као зависност површине пика од концентрације и изражена једначином регресије ($y=a*x-b$) са коефицијентом корелације (R^2). Аналитички и статистички подаци добијени су методом линеарне регресије у компјутерском програму *Microsoft Office Excel 2007*.

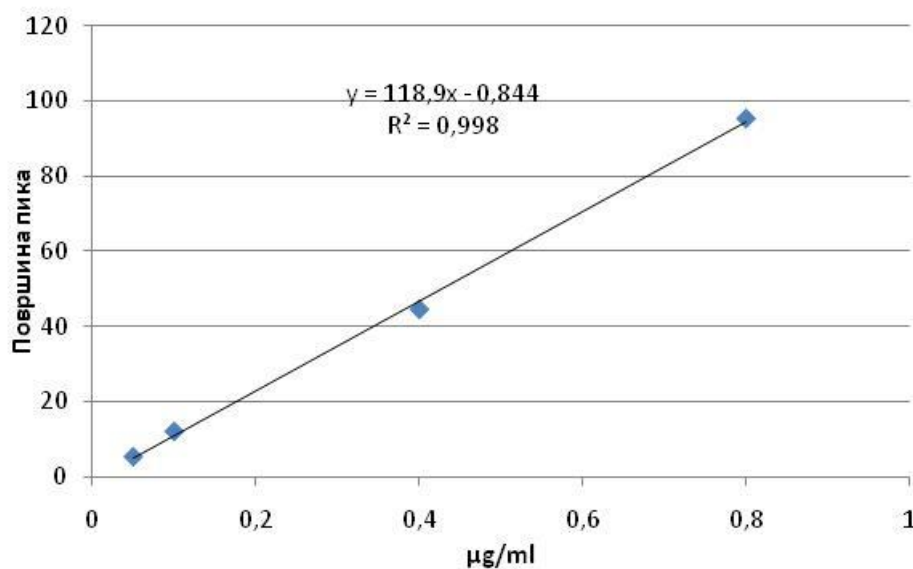


График 1. Линеарност одговора детектора

У опсегу испитиваних масених концентрација ацетамиприда постигнута је добра линеарност одговора детектора. Добијене вредности указују да повећање садржаја унетог једињења линеарно прати повећање површине пика. За регресиону једначину, коефицијент корелације праволинијске зависности износио је 0,998, док је осетљивост мерења (одзив) изражена као коефицијент правца износила 118,9 што указује на велику осетљивост одређивања ацетамиприда овом методом.

5.3.3. Лимит детекције (LOD) и лимит квантификације (LOQ)

У овом раду лимит детекције је одређен на основу односа сигнал/шум базне линије (S/N). S/N је одређен мерењем сигнала анализата који се налази у ниској концентрацији и узорка без анализата, при чему је утврђена најнижа концентрација анализата коју је могуће детектовати. За лимит детекције узета је вредност концентрација која даје S/N=3. Лимит детекције одређен је аналогно одређивању LOD, према S/N=10.

Табела 8. Лимити детекције и квантификације одређивања ацетамиприда у узорцима јабуке

Limit detekcije LOD	0,005 mg/kg
Limit kvantifikacije LOQ	0,014 mg/kg

Остварене вредности лимита детекције и квантификације указују на задовољавајућу осетљивост примењене методе.

5.3.4. Прецизност

За одређивање тачности методе, испитивани су принос и прецизност ацетамиприда кроз релативну стандардну девијацију приноса методе (RSD %),

обогаћивањем слепих проба узорака познатим концентрацијама ацетамиприда пре анализе и упоређивањем са средњим вредностима добијених концентрација коришћењем ММС калибрационих криви. Прецизност аналитичке методе изражава близину слагања (степен расипања) између вредности низа мерења добијених из вишеструких узорковања истог хомогеног узорка. Прецизност аналитичког поступка се изражава као варијација, релативно стандардно одступање или коефицијент варијације из низа мерења. Прецизност може да се разматра на више нивоа: поновљивост, репродуктивност, интермедијерна репродуктивност, робусност итд. Прецизност метода исказана је путем RSD испитујући поновљивост и интермедијерну репродуктивност метода. Методе су развијане са циљем да RSD буде $\leq 20\%$. Поновљивост методе је испитивана обогаћивањем узорака стандардом ацетамиприда у концентрацији $0,4 \mu\text{g/ml}$, при чему су узорци анализирани пет пута током истог дана од стране истог оператера на истом уређају (Табела 9).

Табела 9. Прецизност одређена на основу поновљивости

$\mu\text{g/ml}$	
0,40	
50,77	
51,83	
52,49	
51,92	
50,56	
51,51	Средња вредност
0,82	SD
1,59	RSD%

Добијена RSD вредност од 1,59% за површину пика испуњава неопходан услов $RSD \leq 20\%$. Вредности релативне стандардне девијације указују да је постигнута изузетно висока репродуктивност одређивања ацетамиприда примењеном методом.

5.3.5. Матрикс ефект

Током развијања HPLC-DAD методе за одређивање ацетамиприда из плодова јабуке коришћени су ММС раствори, како би се утицај матрикса на аналитички принос компензовао. Како би се окарактерисала специфичност и селективност испитиване методе, проучаван је утицај осталих компонената матрикса испитивањем ММС раствора припремљених коришћењем следеће пробе.

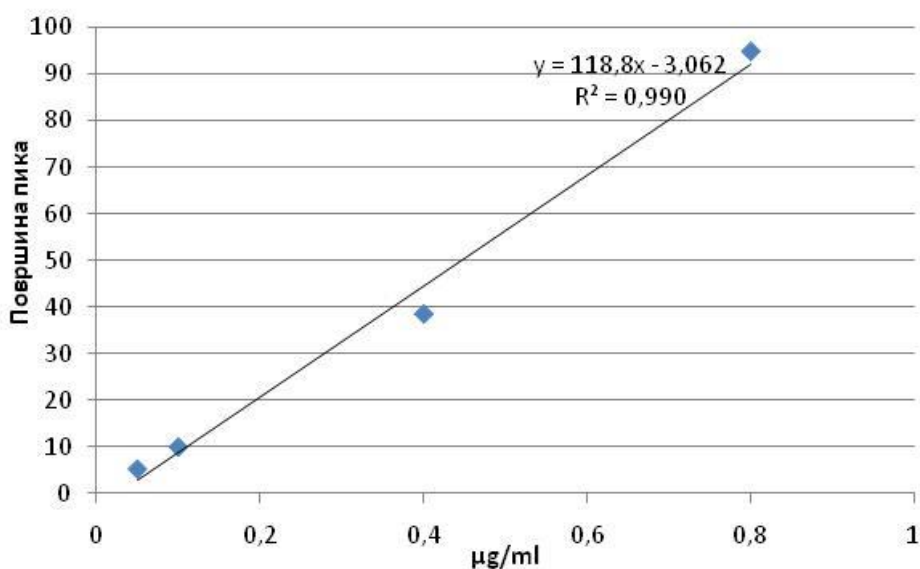
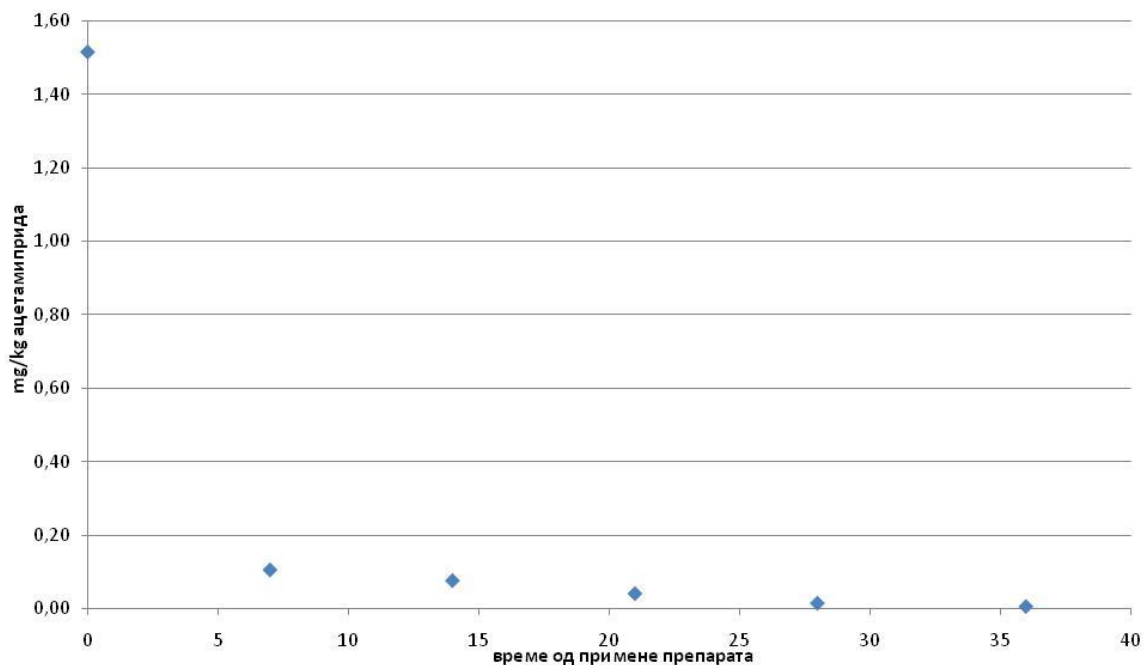


График 2. Линеарност одговора детектора ацетамиприда у матриксу јабуке

За конструкцију калибрационе криве која обухвата и утицај самог испитиваног матрикса, нетретирана контрола је након процедуре припреме узорка у последњем реконституционом кораку растворена уз додатак стандарда ацетамиприда у испитиваном линеарном опсегу 4 различите концентрације ацетамиприда (0,05 до 0,8 $\mu\text{g/ml}$). На основу вредности површина пикова и концентрација ацетамиприда конструисане су калибрационе криве дате на Графику 2. Матрикс ефекат од 99,92% указује да не постоји утицај матрикса јабуке на одређивање остатака ацетамиприда.

5.3.6. Остаци ацетамиприда у плодовима јабуке

Метода валидована на претходно описан начин примењена је за проверу сарджаја ацетамиприда у плодовима јабуке. Препарат на бази ацетамиприда примењен је у препорученој концентрацији (0,025%), што представља 50 g активне супстанце/ha за заштиту плодова јабуке од јабукиног смотавца. Плодови јабуке су сузорковани почев од сушења депозита (0 дан), до истека каренце (28 дан), сваких седам дана, као и у време бербе, а остаци ацетамиприда у узорцима плодова јабуке приказани су на Графику 3.



**График 3 . Резултати анализе нивоа остатака
ацетамиприда у узорцима плодова јабуке**

Максимално дозвољена количина остатака ацетамиприда у плодовима јабуке према Правилнику Републике Србије и Европске уније износи 0,8 mg/kg. Максималан

ниво остатака ацетамиприда у узорцима плодова јабуке утврђен је по сушењу депозита и износио је 1,51 mg/kg. У узорцима прикупљеним седам дана од третмана просечна вредност остатака ацетамипирида у узоркованим плодовима јабуке износила је 0,11 mg/kg. Даљом анализом утврђено је смањење садржаја ацетамиприда у узоркованим плодовима јабуке те је у узорцима прикупљеним 14 дана од третмана просечна вредност у узорцима јабуке износила 0,08 mg/kg, у узорцима прикупљеним 21 дан од третмана просечна вредност остатака ацетамиприда у плодовима износила је 0,04 mg/kg, док је по истеку каренце (28 дан од примене ацетамиприда) вредност остатака ацетамиприда у плодовима јабуке износила 0,02 mg/kg.

У време бербе дошло је ниво остатака ацетамиприда у плодовима јабуке био је 0,01 mg/kg.

Обзиром на наведене резултате, садржај ацетамиприда у анализираним узорцима плодова јабуке по истеку периода каренце од 28 дана (Секулић и Јеличић, 2013), био је знатно испод МДК прописаних нашим, као и Правилником ЕУ.

Користећи остварене резултате остатака ацетамиприда у плодовима јабуке конструисана је крива деградације, и из једначине $C_t = C_0 e^{-kt}$, где је C_0 почетна количина остатака пестицида након апликације и k константа разградње, одређена количина остатака пестицида током времена (C_t).

У плодовима јабуке DT_{50} за ацетамиприд израчунат је према формули $DT_{50} = \ln 2 / k$ где је вредности k , константа разградње а $\ln$ природни логаритам (Gupta et al. 2008). Израчуната DT_{50} за ацетамиприд у плодовима јабуке износи 0,73 дана.

Последњих година праћење деградације ацетамиприда у различитим биљним производима је све више заступљено. Pramnuk et al. (2006) су утврдили DT_{50} овог једињења од свега 1,02 дана у слачици, док је DT_{50} у чају 1,84-2,33 дана. Деградација ацетамиприда такође је интензивна и у парадајзу и краставцима, где је његов полу-век 1,04, односно 1,18 дана (Shams El Din et al., 2012). Одређивање разградње ацетамиприда у тиквицама, гајеним у условима пластеничке производње, утврђено је да је DT_{50} 1,9 дана (Park et al., 2011). У чилију DT_{50} је од 2,24 до 4,84 дана (Sanyal et al., 2008). Сличан интензитет разградње ацетамиприда констатован је и у лубеницама (Wu et al., 2012), трешњама и плодовима парадајза (Лазих и сар., 2014; Шуња и сар., 2015).

6. ЗАКЉУЧАК

На основу изведених испитивања и остварених резултата у сузбијању јабукиног смотавца (*Cydia pomonella*) у два локалитета (Сремски Карловци и Таванкут), током 2015. године могу се извести следећи закључци:

- Препарати Ацетамиприд SG и Моспилан 20 SG нису проузроковали токсичне промене на јабуци (сорте Ајдаред и Грени Смит). Није дошло до фитотоксичних промена на листовима, младарима, нити на плодовима;
- Број оштећених плодова у локалитету Сремски Карловци, девет дана после примене препарата Ацетамиприд SG и Моспилан 20 SG на значајно је нижем нивоу у односу на контролу. Ефикасност препарата Ацетамиприд SG износила је 88,9%, а препарата Моспилан 20 SG је 91,6%;
- После 27 дана од примене препарата Ацетамиприд SG и Моспилан 20 SG, број оштећених плодова је на значајно нижем нивоу у односу на контролу. Ефикасност препарата Ацетамиприд SG је износила 87,2%, док је ефикасност препарата Моспилан износила 89,7%;
- У локалитету Таванкут 14 дана од примене инсектицида, број оштећених плодова је на значајно нижем нивоу у односу на контролу. Ефикасност препарата Моспилан 20 SG је износила 84,4%.
- После 24 дана од примене препарата Моспилан 20 SG, број оштећених плодова је на значајно нижем нивоу у односу на контролу, а ефикасност испитиваног препарата је била 81,2%.

На основу одређивања остатака ацетамиприда у плодовима јабуке може се закључити следеће:

- Оптимални услови за одређивање ацетамиприда постигнути су применом HPLC/DAD и Zorbax Eclipse HDB-C18 (50 mm x 4,6 mm x 1,8 μ m) колоне, уз примену мобилне фазе ACN/1,5% CH₃COOH (30/70), температуру колоне 25 °C, проток мобилне фазе 1 ml/min, и таласну дужину DAD детектора од 254 nm;
- Линеарност детектора одређена је у опсегу масених концентрација 0,05-0,8 μ g/ml и потврђена је коефицијентом корелације од 0,998;
- Лимити детекције и квантификације за одређивање ацетамиприда у плодовима јабуке приказаном методом износе 0,005 mg/kg и 0,014 mg/kg;
- Прецизност аналитичке методе изражена је кроз поновљивост одређивања раствора стандарда ацетамиприда у матриксу јабуке. Вредности релативне стандардне девијације (RSD%) од 1,59 указује да је постигнута висока репродуктивност одређивања ацетамиприда примењеном методом;
- У циљу одређивања тачности аналитичке методе испитан је принос екстракције (Rec,%) за четири нивоа обогаћења (0,05-0,8 mg/kg). Просечна вредност приноса екстракције ацетамиприда из плодова јабуке постигнута овом методом је $96,45 \pm 2,3\%$;
- На основу проверених параметара утврђено је да метода у потпуности задовољава критеријуме SANCO/12495/2011 за одређивање остатака пестицида у храни, што препоручује ову методу за примену на реалним узорцима;
- Количина ацетамиприда у узорцима јабуке била је испод прописане вредности МДК (0,8 mg/kg) већ 7-ог дана од примене инсектицида и износила је 0,11 mg/kg.
- На основу спроведеног истраживања може се закључити да је каренца од 28 дана за ацетамиприд у јабуци исправно постављена обзиром да је по истеку овог периода ниво ацетамиприда у свим анализираним узорцима био испод МДК. Такође, имајући у виду добијене резултате, каренца за ацетамиприд у јабуци може бити и краћа од препорученог периода.

7. ЛИТЕРАТУРА

- Anastassiades M., Lehotay S.J., Štajnbaher D., Schench F.J. (2003): Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and „dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce, *International Journal of AOAC*, 86, 412-431.
- Anonimus (2004): *Cydia pomonella* PP 1/7(3). EPPO Standards, Guidelines for the Efficacy Evaluation of Plant Protec. Products. Insecticide and Acaricides, OEPP/EPPO, Paris, Vol. 3, 4 - 7.
- Anonimus (2012): Design and analysis of efficacy evaluation trials. PP 1/152(4), EPPO Bulletin, 42 (3), 367–381.
- Anonimus (2014): IRAC MoA Classification Scheme, version 7.3. Insecticide Resistance Action Committee.
- Anonimus (2014): Phytotoxicity assessment, PP 1/135(4). EPPO Bulletin, Vol 44 (3), 265-273.
- Алмаши Р., Ињац М., Алмаши Ш. (2004): Штетни и корисни организми јабучастих воћака. Универзитет у Новом Саду. Пољопривредни факултет.
- Bicchi C., Balbo C., Binello A., Damato A. (1996): HPLC-UV determination of pesticide residues at 0.01 ppm in apple and pear pulp used for baby food, *Journal of High Resolution Chromatography* 19, 105-110.
- Charmillot P.J., Pasquier D., Grela C., Genini M., Olivier R., Ioriatti C., Butturini A. (2003): Resistance of carposid *Cydia pomonella* to insecticides. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, Vol. 35., No. 6, 363-368.
- Chidawanyika F. (2010): Thermal tolerance of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) under ecologically relevant conditions. Faculty of Agrisciences University of Stellenbosch.
- Мацељски М., (1999): Пољопривредна ентомологија. Свеучилиште у Загребу.

- Cichón LB, Soleño J, Anguiano OL, Garrido SA, Montagna CM. (2013): Evaluation of cytochrome P450 activity in field populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) resistant to azinphosmethyl, acetamiprid, and thiacloprid. J. Econ Entomol., 106(2), 939-44.
- Cihon L., Fernandez D. (1995): Survey of azinfos-methyl and esfenvalerate resistance in codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in Rio Negro, Argentina. XIII Intern. Plant Protec. Congress, Hagua, Abstracts, p. 198.
- Core J. (2003): Quechers method catches pesticide residues, Agricultural research magazine, 51, 7, 9.
- Cutlre P., Slater R., Edmunds J.F. A., Maienfisch P., Hall G. R., Earley G. P. F., Pitterna T., Pal S., Paul V. L., Goodchild J., Blacker M., Hagmann L., Crossthwaite A. (2012): Investigating the mode of action of sulfoxaflor: a fourth – generation neonicotinoid. Pest Management Science 69: 607 – 619.
- Flint M. L. (2013): Aphids; Integrated Pest Management for Home Gardeners and Landscape Professionals. University of California, Pest notes, 7404.
- Horowitz, A., Ishaaya, I. (2004): Biorational insecticides-mechanisms, selectivity and importance in pest management. In: Insect pest management, Springer-Verlag, 1-28.
- Гвозденовић, Д. (1998): Јабука, Пољопривредни факултет, Нови Сад.
- Граора Д., Јеринић – Продановић, Д., (2005): Динамика лета и штетност јабуковог смотавца (*C. pomonella* L.), Биљни лекар, 615.
- Гужвањ В. (2006): Прилог карактеризацији и одређивању неких неоникотиноида. Докторска дисертација, Природно математички факултет. Департман за хемију, Нови Сад.
- IRAC (2015): General Principles of Insecticide Resistance Management from IRAC. ([http://iraconline.org/Resistance/Overview.asp /](http://iraconline.org/Resistance/Overview.asp/)).
- Keikotlhaile B. M., Spanoghe P. (2011): Pesticide residues in fruits and vegetables. Pesticides, formulations, effects, fate: 243 – 252.
- Кесеровић З., Магазин Н., Ињац М., Тотис Ф., Милић Б., Дорић М., Петровић Ј., (2013): Интегрална производња јабуке. Пољопривредни факултет, Нови Сад.
- Knight A.L. (2010): targeting *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) adults with low-volume applications of insecticides alone and in combination with sex pheromone. Pest Manag. Sci. DOI 10.1002/ps.1932.
- Лазић С., Шуњка Д., Граховац Н., Guzsvány V., Баги Ф., Будаков Д. (2012): Примена течне хроматографије са ДАД детектором за одређивање остатака ацетамиприда и 6-хлорникотинске киселине у узорцима трешања, Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет, Пестициди и фитомедицина, Вол. 27, бр. 4, стр. 321-329.

- Лазих С., Шуњка Д., Panić, S., Indić, D., Grahovac, N., Guzsvany, V., Jovanov, P. (2014): Dissipation rate of acetamiprid in sweet cherries. *Pesticidi I fitomedicina*, 29, 75-82.
- Лућич, К. (2012): *Sredstva za zaštitu bilja* 2012. g. Glasnik zaštite bilja, 1-2, 2012, Zagreb.
- MacBean C. (Ed) (2012): *The Pesticide Manual* (16th ed). British Crop Protection Council, Farnham.
- Марјановић, Н. (2001): Инструменталне методе анализе, Универзитет у Бања Луци, Бања Лука.
- McDonald-Gibson C. (2013): *Victory for bees' as European Union bans neonicotinoid pesticides blamed for destroying bee population*. The Independent.
- Mota-Sanchez D,Wise JC,Poppen RV,Gut LJ,Hollingworth RM. (2008): Resistance of codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), larvae in Michigan to insecticides with different modes of action and the impact on field residual activity. *Pest Manag. Sci.*, 64(9), 881-900.
- Naranjo, S.E., Akey, D.H. (2005): Conservation of natural enemies in cotton: comparative selectivity of acetamiprid in the management of *Bemisia tabaci*. *Pest Manag. Sci.*, 61: 555-566.
- Ocsko, Z., Erdos, G., Molnar, J. (2010): *Novenyvedo szerek, termesnovelo anyagok 2010 I. A Foltmuvelesugyi es Videkfejlesztési Miniszterium, Budapest*.
- Пајач - Живковић И. (2012): Биологија, екологија и генетика популација јабукова савијача (*Cydia pomonella* L.) у сјеверозападној Хрватској. Агрономски факултет. Свеучилиште у Загребу.
- Park, J.Y., Choi, J.H., Kim, B.M., Park, J.H., Cho, S.K., Ghafar, M.W., Abd El-Atyd, A.M., Shima, J.H. (2011): Determination of acetamiprid residues in zucchini grown under greenhouse conditions: application to behavioural dynamics. *Biomedical Chromatography*, 25, 136-146.
- Pilatic H., Chamberlain J., Jacobs N. (2012): *Pesticides and Honey Bees: State of the Science*. Pesticide Action Network North America.
- Pramanik, S. K., Bhattacharyya, J., Dutta, S., Dey, P. K., Bhattacharyya, A. (2006): Persistence of Acetamiprid in/on Mustard (*Brassica juncea* L.). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 76, 356-360.
- Reuveny H., Cohen E. (2004): Resistance of the codling moth *Cydia pomonella* (lep. Tortricidae) to pesticides in Israel. *Journal of Applied Entomology*, Vol. 128, Issue 9-10, 645-651.
- Reyes M., Franck P, Charmillot J., Ioriatti C., Olivares J., Pasqualini E., Sauphanor B. (2007): Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Pest Management Science*, Vol. 63, No. 9, 890-902.

- Савчић-Петрић, С. (2015): Средства за заштиту биља у промету у Србији (2015). Биљни лекар, бр 2-3.
- Sanyal, D., Chakma, D., Alam, S. (2008): Persistence of a neonicotinoid insecticide, acetamiprid on chili (*Capsicum annum* L.). [Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology](#), 81(4), 365-368.
- Секулић Р., Спасић Р., Кереш Т. (2008): Штеточине поврћа и њихово сузбијање. Пољопривредни факултети, Нови Сад и Београд, Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад, 212.
- Shams, El Din, A.M., Azab, M.M., Abd El-Zaher, T. R., Zidan, Z.H.A., Morsy, A. R. (2012): Persistence of Acetamiprid and Dinotefuran in Cucumber and Tomato Fruits. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences*, 4 (2), 103-107.
- Smith R.M. (2003): Before the injection-modern methods of sample preparation for separation techniques, *Journal of Chromatography A*, 1000, 3-27.
- Snyder L. R., Kirkland J. J., Dolan J. W. (2010): *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, Third Edition. Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Stara J., Kocourek F. (2007): Insecticidal resistance and cross-resistance in populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in Central Europe. *Journal of Economic Entomology*, Vol.100, Issue 5, 1587-1595.
- Тамаш, Н., Милетић, Н. (2010): Актуелни инсектициди у заштити воћа од најзначајнијих штеточина. X Саветовање о заштити биља, Златибор, 2010, Зборник резимеа радова, 17-18.
- Тамаш, Н., Милетић, Н., Сретеновић, М., Голијан, Ј. (2014): Ефикасност авермектина, диамида и неоникотиноида у сузбијању јабукиног смотавца (*Cydia pomonella* L.) на јабуци. Биљни лекар, 1, 58-64.
- Thaler R., Brandstätter A., Meraner A., Chabicovski M., Parson W., Zelger R., Dalla Via J., Dallinger R. (2008): Molecular phylogeny and population structure of the codling moth (*Cydia pomonella*) in Central Europe: II. AFLP analysis reflects human-aided local adaptation of a global pest species. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48: 838–849.
- Torres C.M., Picó Y., Manes J. (1996) : Determination of pesticide residues in fruit and vegetables, *Journal of Chromatography A*, 754, 301-331.
- Шовљански Р., Клокочар-Шмит З., Лазић С. (2002): Практикум из опште фитофармације, Пољопривредни факултет, Нови Сад.
- Шуњка, Д., Лазић, С., Ђурак, С., Вуковић, С. (2015): Разградња ацетамиприда у плодовима паприке зависно од услова гајења. Биљни лекар, 5, 451-458.

Wu, J., Wang, K., Zhang, H. (2012): Dissipation and Residue of Acetamiprid in Watermelon and Soil in the Open Field. [Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology](#), 89, 644-648.

ПРИЛОГ

Табела 1. Бројност лептира јабучног смотавца (*Cydia pomonella*) ухваћених на фермонским клопкама у локалитетима С. Карловци и Таванкуту

С. Карловци		Таванкут	
Датум	Бројност лептира	Датум	Бројност лептира
27.04.2015.	2	11.05.2015.	0
29.04.2015.	2	12.05.2015.	0
01.04.2015.	1	13.05.2015.	1
04.05.2015.	3	14.05.2015.	0
06.05.2015.	0	15.05.2015.	0
08.05.2015.	4	16.05.2015.	2
10.05.2015.	7	17.05.2015.	6
12.05.2015.	11	18.05.2015.	9
13.05.2015.	17	19.05.2015.	14
15.05.2015.	4	20.05.2015.	3
17.05.2015.	3	21.05.2015.	1
18.05.2015.	0	22.05.2015.	0

Табела 2. Температура [°C] ваздуха и падавине [mm], током трајања огледа, за локалитет Сремски Карловци (Републички Хидрометеоролошки завод мерна станица Нови Сад)

Табела 3.

Датум	Tmax (°C)	Tmin (°C)	Падавине (mm)
20.05.2015.	29,5	15,3	6,0
21.05.2015.	20,6	13,8	0
22.05.2015.	20,7	13,9	5,0
23.05.2015.	22,0	14,8	26,0
24.05.2015.	21,0	13,5	2,0
25.05.2015.	17,1	14,3	122,0
26.05.2015.	18,9	13,3	0,3
27.05.2015.	15,7	11,6	13,0
28.05.2015.	16,9	9,8	8,0
29.05.2015.	20,6	7,4	0
30.05.2015.	25,0	9,6	0
31.05.2015.	25,0	11,9	0
01.06.2015.	27,0	11,9	0
02.06.2015.	27,8	13,6	0
03.06.2015.	30,3	14,9	0
04.06.2015.	30,4	16,2	0
05.06.2015.	28,0	16,3	0
06.06.2015.	28,9	15,0	0
07.06.2015.	28,0	14,7	0
08.06.2015.	27,6	14,2	0
09.06.2015.	29,2	15,9	0
10.06.2015.	29,3	17,0	0
11.06.2015.	29,6	16,3	0
13.06.2015.	31,3	18,6	0
14.06.2015.	33,3	19,3	0

Температура [°C] ваздуха и падавине [mm], током трајања огледа, за локалитет Таванкут (Републички Хидрометеоролошки заводмерна станица Суботица)

Датум	Tmax (°C)	Tmin (°C)	Падавине (mm)
23.05.2015.	24,6	14,9	3,6
24.05.2015.	25,1	11	0
25.05.2015.	27,4	15	0,2
26.05.2015.	28,1	14,2	0
27.05.2015.	27,9	14,6	1,6
28.05.2015.	26,8	15,5	2,8
29.05.2015.	25,1	15,9	19,6
30.05.2015.	24,1	14	10,8
31.05.2015.	15,5	10,5	23,4
01.06.2015.	13,2	10,6	35,6
02.06.2015.	15,7	11,2	1,4
03.06.2015.	17,2	11,4	0
04.06.2015.	17,9	11,7	9,8
05.06.2015.	25,1	12,8	0
06.06.2015.	26,1	10,5	0
07.06.2015.	28,9	12,4	0
08.06.2015.	29,7	14,3	0
09.06.2015.	31	17,1	0
10.06.2015.	32,6	16	0
11.06.2015.	34,4	18,3	0
12.06.2015.	35,4	18,9	0
13.06.2015.	33,1	21,1	0
14.06.2015.	32,5	20,4	0
15.06.2015.	29,4	16,6	0
16.06.2015.	26,8	19	0
17.06.2015.	28,2	14,2	0

