

Rezistentnost lisnih vašiju na insekticide

Ibrahim Elezović, Nenad Tamaš i Novica Miletić

Poljoprivredni fakultet, Katedra za pesticide, Beograd-Zemun

REZIME

Lisne vaši predstavljaju grupu insekata koja je do danas razvila rezistentnost na brojna jedinjenja, o čemu svedoče mnogi podaci iz raznih delova sveta. Kod nas, za sada, ne postoje zvanične potvrde o pojavi rezistentnih populacija lisnih vašiju, iako su primećeni slabi efekti pojedinih insekticida u nekim proizvodnim područjima.

U spektru mehanizama rezistentnosti lisnih vašiju do sada su detektovana dva mehanizma; povećan kapacitet deaktivacije insekticida usled prekomerne produkcije esteraznih enzima i promena osetljivosti mesta delovanja (promena u strukturi acetilholin esteraze i natrijumovih kanala na nervnim membranama).

U ovom radu izložena su dosadašnja saznanja o rezistentnosti lisnih vašiju na insekticide. Prikazani su različiti aspekti rezistentnosti lisnih vašiju u odnosu na mehanizam i genske osnove rezistentnosti, životnu sposobnost rezistentnih populacija, kao i mogućnost upravljanja rezistentnošću.

Ključne reči: Lisne vaši; insekticidi; rezistentnost; mehanizam rezistentnosti

UVOD

Lisne vaši, familija Aphididae, predstavljaju grupu insekata koja je do danas razvila rezistentnost na brojna jedinjenja koja su se godinama koristila u zaštiti različitih useva i zasada širom sveta.

Partenogenetska reprodukcija, veliki broj generacija godišnje, obrazovanje brojnih kolonija, kako pasivnih beskrilnih, tako i krilatih oblika, kao i njihove migracije na velika rastojanja, predstavljaju činioce koji uz intenzivan selekциони pritisak insekticida pogoduju brzom razvoju rezistentnosti.

Prvi podaci o rezistentnosti lisnih vašiju datiraju iz 1928. godine kada je Boyce u laboratoriji uspeo

da izvrši selekciju tolerantne rase *Aphis gossypii* na cijanovodoničnu kiselinu (*cit.* Baranyovits, 1969). Rezistentnost u polju prvi put je konstantovana znatno kasnije, 1954. godine u Kaliforniji, kada je utvrđeno prisustvo rezistentnih populacija vaši *Chromaphis juglandicola* na paration (Baranyovits, 1969). Nakon toga, pristižu podaci iz raznih delova sveta koji potvrđuju pojavu rezistentnih populacija različitih vrsta lisnih vašiju (Baranyovits, 1969). Tako je Georghiou (1963) dao prvu potvrdu rezistentnosti *Myzus persicae* na području SAD, a Wyatt (1965) u Velikoj Britaniji.

Iako u svetskoj literaturi postoje brojni podaci o populacijama lisnih vašiju rezistentnih na mnoga

jedinjenja, kod nas, za sada, nema zvaničnih podataka o ovoj pojavi. Na pojedinim lokalitetima u Srbiji, primećeni su slabi efekti primene pojedinih insekticida koji bi mogli biti nagoveštaj postojanja rezistentnih populacija lisnih vašiju i na našim prostorima. Na primer, konstatovana je niska efikasnost dimetoata u suzbijanju nekih populacija *Myzus persicae* u duvanu i *Aphis nasturtii* na paprici (Marčić i sar., 1998; Marčić i sar., 2004) i niska efikasnost ovog insekticida i pirimikarba u suzbijanju *Aphis pomi* na jabuci (Tamaš, 2004; Tamaš i sar., 2005).

Različita osetljivost poljskih populacija lisnih vašiju navela je istraživače da ih klasifikuju u četiri kategorije: osetljive (S), umereno rezistentne (R1) i veoma rezistentne (R2). Kasnije su Devonshire i Sawicki (1979) dodali još jednu kategoriju ekstremno rezistentnih vašiju (R3). Ova podela važi samo za jedan kriterijum rezistentnosti, mehanizam povećanog kapaciteta deaktivacije insekticida, zbog povećane produkcije nespecifičnih esteraza, koji je do tada bio poznat.

U ovom radu razmatraju se mehanizmi rezistentnosti lisnih vašiju, genetske osnove rezistentnosti, životna sposobnost rezistentnih populacija i mogućnost upravljanja rezistentnošću.

MEHANIZMI REZISTENTNOSTI LISNIH VAŠIJU

Među različitim populacijama lisnih vašiju prisutna su dva mehanizma rezistentnosti: povećan kapacitet deaktivacije insekticida i promena osetljivosti mesta delovanja. Oba ova mehanizma često su prisutna zajedno, što ima za posledicu rezistentnost (multirezistentnost) na širok spektar jedinjenja različitih mehanizama delovanja. Različiti mehanizmi rezistentnosti posledice su i različitih genetskih promena u genomu. Ubrzana deaktivacija insekticida nastala je kao posledica povećanja broja kopija, odnosno amplifikacije, gena nosilaca rezistentnosti, dok je mutacija gena uzrok promene osetljivosti mesta delovanja.

Povećani kapacitet deaktivacije insekticida

Prekomerna produkcija esteraznih enzima

Lisne vaši imaju kompleksan životni ciklus koji se razlikuje u različitim klimatskim područjima (Petrović-Obradović, 2003). Tako se, na primer, zelena breskvina vaš, *Myzus persicae*, javlja tokom

leta na raznim zeljastim jednogodišnjim biljkama, kao sekundarnim domaćinima, dok joj je breskva primarni domaćin. Brojne partenogenetske generacije se intenzivno razvijaju tokom vegetacione sezone, a polni ciklus nastupa neposredno pred prezimljavanje, kada dolazi do produkcije mužjaka i ženki i na kraju zimskih jaja, koja prezimljavaju. U područjima gde nije prisutan primarni domaćin i gde su uslovi spoljne sredine pogodniji, vaši se razmnožavaju samo partenogenetski. Ova dva vida razmnožavanja (polno i bespolno) nose sa sobom i različite genetske konstitucije potomstva. Partenogeneza daje klonove, odnosno jedinke identičnog genetskog sklopa kao jedinka od koje su nastale, tako da ova populacija (klonovi) nasleđuje i sve osobine roditelja. Polna reprodukcija, pak, sa sobom nosi rekombinaciju hromozomskog materijala i drugačiju genetsku konstituciju potomstva.

Godinama je bio poznat samo jedan mehanizam rezistentnosti kod *M. persicae*, a to je prekomerna produkcija esteraza koje učestvuju u deaktivaciji insekticida.

Needham i Sawicki (1971) su utvrdili pozitivnu korelaciju između nivoa rezistentnosti klonova *M. persicae* i ukupne aktivnosti njihovih esteraza. Samo je jedna od prisutnih esteraza bila aktivnija kod rezistentnih populacija i označena je kao E4. Kasnije je dokazano da se kod rezistentnih klonova javljaju dva tipa blisko povezanih esteraza E4 i FE4. U telu najrezistentnijih vašiju oko 60 puta je veća esterazna aktivnost nego u normalno osetljivim, a količina ovih esteraza (E4 ili FE4) može predstavljati 1-2% ukupnih telesnih proteina (Hedley i sar., 1998). Prisustvo E4 ili FE4 esteraza otvara širok spektar rezistentnosti *M. persicae* na organofosfate, karbamate i piretroide.

Ispitivanja sadržaja esteraza kod rasa *Aphis gossypii* rezistentnih na dihlorvos, pokazala su postojanje čitave familije nespecifičnih esteraza u telu rezistentnih individua. Te nespecifične esteraze se javljaju kao naročiti konformaciono različiti izoenzimi i njihov kvalitativni i kvantitativni sastav određuje stepen rezistentnosti *A. gossypii* (Owusu i sar., 1996a). Utvrđeno je prisustvo tri tipa esteraza; E1, E2 i E3, čije različite kombinacije određuju i različite fenotipove osetljivih i rezistentnih populacija ove lisne vaši (Han i sar., 1998).

Kod vaši *Schizaphis graminum* postoji skoro potpuna identičnost sastava izoenzima esteraza kod osetljivog, kao i kod rezistentnog klona. Ovo

je istraživače navelo na zaključak da je kvalitativni sastav izoenzima kod ove vaši gotovo isti kod oba klonova, a da je uzrok rezistentnosti isključivo prekomerna produkcija izoenzimatskih formi esteraza (Siegfried i Zera, 1994).

Kasnija istraživanja rezistentnih rasa *S. graminum* ukazala su na prisustvo dve forme esteraza; Tip I i Tip II. Esteraza Tipa I serološki je vrlo slična esterazi E4 kod *M. persicae*, što ukazuje i na moguće strukturne sličnosti ove dve grupe izoenzima (Ono i sar., 1999). Kod rezistentnih rasa *S. graminum* sa esterazom Tipa I prisutna je prekomerna produkcija enzima, tako da se može pretpostaviti da je genetska osnova ovog mehanizma slična kao i kod *M. persicae*, odnosno amplifikacija esteraznog gena (Siegfried i sar., 1997). Dokazano je, dalje, prisustvo tri veoma pokretne esteraze sa povećanom aktivnošću u okviru Tipa II, i klonovi sa ovim tipom esteraza imaju četiri puta veći faktor rezistentnosti na paration nego klonovi sa Tipom I esteraza (Rider i sar., 1998a). Utvrđeno je, takođe, da rezistentne rase sa Tipom II esteraza imaju drugačiji mehanizam rezistentnosti koji se bazira na povećanoj aktivnosti ovih esteraza, a ne na njihovoj prekomernoj produkciji. Ovo ukazuje na delimičnu strukturnu promenu koja je uslovlila povećanje njihove katalitičke aktivnosti (Siegfried i sar., 1997). Ove esteraze pripadaju grupi arilesteraza, ili sličnim, koje kao i karboksilesteraze kod *M. persicae* ne vrše hidrolizu insekticida, već im onemogućavaju prolaz do mesta delovanja (Zhu i He, 2000a).

Iako se smatralo da hidroliza organofosfata i karbamata, u čemu katalitičku ulogu imaju esteraze, igra značajnu ulogu u mehanizmu rezistentnosti vašiju, postoje i oprečne teorije. Tako su Owusu i saradnici (1996), koristeći karboksilesteraze izdvojene iz tela rezistentnih *A. gossypii*, pratili dužinu trajanja inhibicije karboksilesteraza insekticidima iz grupe organofosfata i karbamata i zaključili da nije došlo do reakcije hidrolize.

Najverovatnije se makromolekuli nespecifičnih esteraza trajno vezuju sa molekulima insekticida, inhibirajući ih, čime je zaštićeno primarno mesto delovanja, odnosno acetilholin esteraza (Owusu i sar., 1996b). Po ovoj teoriji nespecifične esteraze nemaju katalitičku fiziološku funkciju kod rezistentnih rasa lisnih vašiju, već igraju ulogu alternativnog mesta delovanja. Otuda su i različiti nivoi rezistentnosti u direktnoj zavisnosti od količine proizvedene nespecifične esteraze.

Biljka domaćin takođe može imati uticaja na stepen rezistentnosti lisnih vašiju. Alelo jedinjenja, koja su prisutna u različitim biljkama, mogu indukovati povećanu aktivnost detoksikacionih enzima kod vašiju, čime se povećava i stepen njihove rezistentnosti na pojedine insekticide. Tako je u jednom istraživanju rezistentnosti rasa *A. gossypii* utvrđeno da je ova vaša bila znatno rezistentnija na fenvalerat na pamuku kao domaćinu, nego na krastavcu (Wang i sar., 2002).

Amplifikacija esteraznih gena

Hromozomi lisnih vašiju su holocentrični, što znači da nemaju lokalizovane centromere, a centromerska aktivnost je prisutna duž celog hromozoma. To je razlog što neravnomerno odvojeni fragmenti hromozoma često opstaju kao stabilni produkti, tako da u okviru rodova vašiju može postojati veliko variranje u broju hromozoma kod pojedinih vrsta. Odstupanja od normalnog kariotipa su uobičajena kod *M. persicae*, a uključuju i heterozigotnu formu jedne autozomalne translokacije (Blackman, 1987). Radi se o translokaciji između autozoma 1 i 3. Mnoga biološka i genetička istraživanja su pokazala postojanje veze između ove translokacije i rezistentnosti *M. persicae* na organofosfate i karbamate. Klonovi sa ovom translokacijom imaju jedan niz od oko 12 kopija gena koji kodiraju produkciju esteraze E4, čija je količina veća i do 60 puta nego u osetljivim klonovima. Ovaj niz gena lociran je na autozomu 3, blizu polazne tačke translokacije (Spence i Blackman, 1997). Pojava povećane replikacije gena poznata je kao amplifikacija gena i predstavlja osnovu mehanizma rezistentnosti usled povećane produkcije esteraza i detoksikacije insekticida. Amplifikovani E4 geni prisutni su na jednom lokusu na autozomu 3 i predstavljeni su multiplim jedinicama, ampikonima, veličine 24 kb, raspoređenim u nizu (Field i sar., 1996; Field i Devonshire, 1997). Klonovi *M. persicae*, rezistentni na insekticide, sa normalnim kariotipom (odsustvo 1,3 autozomalne translokacije) imaju multiple kopije gena koji kodiraju donekle različitu esterazu FE4. Nizovi amplifikovanih FE4 gena mogu se javiti na nekoliko različitih mesta u genomu, ali najveći broj lokusa smešten je na autozomu 1, odakle je, pretpostavlja se, krenula amplifikacija gena.

Ispitivanja genoma rezistentnih klonova *M. persicae* iz 1999. godine dokazala su prisustvo i do 80 kopija gena koji kodiraju produkciju esteraza

E4, odnosno FE4 kod ekstremno rezistentnih (R3) vašiju, dok ostale kategorije (S, R1, R2), imaju srazmerno manje kopija esteraznog gena. Veći broj genskih kopija determiniše produkciju i proporcionalno veće količine karboksilesteraze (E4 ili FE4) što određuje i faktore rezistentnosti različitih klonova *M. persicae* (Field i sar., 1999).

Skorija genetička istraživanja su pokazala da osetljive vaši imaju oba gena nosioca rezistentnosti (E4 i FE4) koji su blizu jedan drugom u nizu, a takođe je utvrđeno prisustvo još dve blisko povezane DNA sekvence, što sugeriše postojanje familije esteraznih gena. Velika sličnost gena E4 i FE4 ukazuje da se u evoluciji genoma *M. persicae* dogodila inicijalna duplikacija divljeg tipa esteraznog gena, a zatim je krenulo razdvajanje E4 i FE4 gena (Field i Devonshire, 1998). Klonovi različitog geografskog porekla imaju identične sekvence E4 ili FE4 gena zajedno sa sekvencioniranim intronima što navodi na zaključak da su se amplifikacije E4 i FE4 gena, kao zasebni događaji, odigrale samo jedanput, a potom su se intaktni amplikoni pomerali po genomu (FE4) različitim preraspodelama kakve su translokacije i inverzije (Devonshire i sar., 1998). Vaši sa ovim promenama u genomu, uz selekcionni pritisak insekticida, širile su se svetom migracijama, vazдушnim strujanjima, ili kao posledica međunarodne trgovine biljnim materijalom (Field i sar., 2001).

Identična amplifikacija esteraznih gena pronađena je i kod bliske vrste *M. nicotianae*, a sličan mehanizam nedavno je otkriven i kod *Schizaphis graminum* (Field i sar., 2001).

Može se istaći i veza prisutnog tipa esteraznih gena (E4 i FE4) sa kategorijom životnog ciklusa. Tako klonovi *M. persicae* kod kojih je prisutna 1,3 autozomalna translokacija i imaju amplifikovane E4 gene, obično su anholociklični i razmnožavaju se tokom cele sezone partenogenetski, dok vaši sa normalnim kariotipom i amplifikovanim FE4 genima imaju, pored bespolne i polnu fazu na primarnom domaćinu breskvi (holociklično razviće) (Spence i Blackman, 1997).

U najvećem broju slučajeva, klonovi *M. persicae* su nosioci multiplih kopija jednog od dva gena, nosioca rezistentnosti. Međutim, u Grčkoj su među klonovima vašiju sakupljenim na paprici pronađene jedinke sa prisutnom autozomalnom translokacijom i oba, amplifikovana gena (E4 i FE4), što je prvi primer zabeležen među poljskim populacijama (Blackman i sar., 1999). Ovo je i ranije do-

kazano u laboratorijskom ogledu, kada su ukršteni mužjaci nosioci E4 amplifikovanih gena i ženke sa FE4 genima. Dobijeno je potomstvo koje je nasledilo oba amplifikovana gena (Blackman i sar., 1996). Ovo se, ipak, retko sreće u prirodi, najviše zbog stalne partenogeneze anholocikličnih vašiju i odsustva polne reprodukcije, koja bi omogućila različite kombinacije naslednih faktora između ova dva fenotipa *M. persicae*. Pod određenim uslovima sredine, anholociklične populacije (E4) mogu dati polne oblike, ali su samo mužjaci fertilni, dok ženke nikada ne dostignu polnu zrelost.

Neki klonovi vašiju *M. persicae* sa E4 amplifikovanim genima mogu spontano izgubiti rezistentnost u odsustvu selekcionog pritiska insekticida, što nastaje usled umanjene ekspresije ovih gena. Međutim, ova reverzija nije potpuna jer su geni za rezistentnost i dalje prisutni i posle povratka selekcionog pritiska oni će ponovo početi da produkuju esterazu. Ekspresija amplifikovanih gena je prisutna kada je prisutan i 5-metilcitozin u genu i oko njega, a dolazi do njegove supresije kada se izgubi ova metilacija DNA (Field i sar., 1989; Hick i sar., 1996; Ono i sar., 1999).

Postoje interesantni primeri negativne ukrštene rezistentnosti kada populacije vašiju rezistentne na jedan insekticid istovremeno postaju vrlo osetljive na drugi. Tako je dokazano da su estri monofluorosirćetne kiseline visokotoksični za rezistentne populacije *M. persicae*, pri čemu je stepen njihove toksičnosti bio direktno proporcionalan količini esteraza u telu vašiju. Naravno, ova jedinjenja imaju veoma nepovoljne toksikološke osobine i ne bi se mogla primenjivati u praksi (Hedley i sar., 1998). Međutim, pojava negativne ukrštene rezistentnosti daje određene smernice u iznalaženjima mogućih rešenja u strategiji upravljanja rezistentnošću.

Promena mesta delovanja insekticida

Promena u strukturi acetilholin esteraze

Do devedesetih godina prošlog veka povećana produkcija karboksilesteraza E4 i FE4, koja učestvuje u razgradnji organofosfata i karbamata, bila je poznata kao jedini mehanizam rezistentnosti kod lisnih vašiju, odnosno kod *M. persicae*. Devonshire i saradnici (1998) otkrili su novi, do tada neutvrđeni, mehanizam rezistentnosti kod ove vaši, a to je promena mesta delovanja insekticida, odnosno promena acetilholin esteraze (AChE). Triazamat

i pirimikarb, kao specifični aficidi, uspešno su se upotrebljavali za suzbijanje vašiju rezistentnih na ostale karbamate i druge insekticide, ali vremenom su stizali izveštaji o pojavi rezistentnih populacija i na ova jedinjenja.

Mehanizam rezistentnosti usled neosetljive, odnosno promenjene, AChE prvi put je utvrđen kod populacija *M. persicae* iz južne Evrope (Grčka) 1990. godine. Ubrzo nakon tog saopštenja o ovom mehanizmu rezistentnosti kod *M. persicae* dolaze iz Japana i Južne Amerike. Tokom 1994. godine Moores, Devin i Devonshire prvi put objavljuju rezultate svojih istraživanja i pominju „novi” mehanizam rezistentnosti (promenjenju AChE). Oni su utvrdili da su neke, tada retke, populacije *M. persicae* vrlo rezistentne na pirimikarb (faktor rezistentnosti preko 100) i triazamat (faktor rezistentnosti preko 10) (Moores i sar., 1994a; Moores i sar., 1994b).

Acetilholinesteraza (AChE) je enzim koji je odgovoran za hidrolizu neurotransmitera acetilholina u nervnim sinapsama, čime se okončava proces prenošenja nervnog impulsa. Ukoliko ne dođe do ove hidrolize, tj. ako je AChE inhibirana, oslobođeni acetilholin prouzrokuje naknadne nadražaje postsinaptičke membrane iako nema spoljašnjeg nadražaja, što može dovesti i do smrti organizma. Upravo je AChE mesto delovanja organofosfata i karbamata, tako da njena promena dovodi do razvoja rezistentnosti insekata na te insekticide.

Promena AChE se u evoluciji javila kasnije, nakon amplifikacije gena koji determinišu povećanu produkciju karboksilesteraza, na šta ukazuju činjenice da se ova dva mehanizma rezistentnosti uvek javljaju zajedno, i da je promenjena AChE otkrivena znatno kasnije (Devonshire i sar., 1998).

Jedna ili više tačkastih mutacija prouzrokuju promene AChE na taj način što dolazi do zamene amino-kiselina u blizini katalitičkog dela enzima. Promenjena AChE više ne predstavlja metu insekticidima inhibitorima AChE i jedinke preživljavaju.

Promena AChE jedini je mehanizam rezistentnosti jednog ispitivanog klona (OR-0) *Schizaphis graminum* rezistentnog na nekoliko organofosfata, među kojima su dimetoat, ometoat, disulfoton, demeton-S-metil, paration. Jedinke ovog klona imale su, gotovo isti nivo aktivnosti esteraza, citohrom P-450 O-demetilaze ili glutation S-transferaze kao i jedinke osetljivog klona (OSS). Jedina razlika je bila u prisustvu promenjene AChE kod OR-0 individua koje su pokazivale povećanu

katalitičku aktivnost prema acetilholinu i smanjenu osetljivost prema inhibiciji organofosfatima. Potrebno je istaći da najveći faktor rezistentnosti OR-0 klon ima prema alifatičnim (disulfoton, demeton-S-metil, dimetoat), a manji prema fenil i heterocikličnim organofosfatima (paration i hlorpirifos), upravo zbog prirode promenjene AChE, koja je različito osetljiva na pojedine inhibitore (Zhu i sar., 2000b). U istraživanju istih autora koje je prethodilo ovom, u ogledu sa parationom testirana su tri rezistentna klona *S. graminum*; OR-0, OR-1 i OR-2. Najniži faktor rezistentnosti na paration ispoljio je klon OR-0 koji je imao samo jedan mehanizam rezistentnosti, promenjenju AChE, dok su druga dva klona, pored ovog mehanizma, posedovala i mehanizam prekomerne produkcije, odnosno povećane aktivnosti α -NA (naftil acetat) esteraza, tako da su njihovi faktori rezistentnosti bili višestruko veći (Zhu i Gao, 1998). U poslednjem objavljenom istraživanju ovih autora, navodi se da je povećana aktivnost AChE primarni mehanizam rezistentnosti, a sekundarni smanjena osetljivost ovog enzima. Povećana aktivnost AChE, po njima, nije rezultat amplifikacije već povećane ekspresije AChE gena. Izneta je i još jedna zanimljiva hipoteza. Oni, zapravo, iznose argumente o postojanju ne jednog mutiranog već dva nezavisna AChE gena, pri čemu je jedan prekomerno ekspresivan kod rezistentnog OR klona (Gao i Zhu, 2002).

Istraživanja rezistentnosti klonova *Aphis gossypii* ukazuju na postojanje tri različite varijante AChE. Prva se javlja kod klona 171B koji pokazuje normalnu osetljivost na karbamate i organofosfate, druga varijanta prisutna je u klonu 968E, visokorezistentnom na pirimikarb i neke organofosfate, a treća u klonu 1081K, koji pokazuje nižu i specifičniju rezistentnost na pirimikarb i manji broj organofosfata, uključujući i ometoat. Postoje dva tumačenja ovog otkrića sa genetskog aspekta. Prema prvoj hipotezi, razlika u osetljivosti AChE između klonova 1081K i 968E je rezultat istog mutiranog AChE alela prisutnog u homozigotnom stanju kod 968E, a u heterozigotnoj kombinaciji sa osetljivim alelom kod 1081K. Druga hipoteza govori o tome da ova dva klona poseduju biohemijski različite i genetski srodne alele neosetljive varijante AChE. Autori su više prihvatili ovo drugo tumačenje (Moores i sar., 1996a; Moores i sar., 1996b). Na osnovu toga koju AChE poseduju, i koliko je visok faktor rezistentnosti, klonovi vaši *A. gossypii* su klasifikovani

kao osetljivi (S), umereno rezistentni (MACEA) i rezistentni (MACEB) koji nose visoku i široku rezistentnost na veći broj jedinjenja. Ovde je veoma bitna i kombinacija dva mehanizma za visok stepen i spektar rezistentnosti. Tako, neosetljiva AChE koja predstavlja osnovni mehanizam visoke rezistentnosti na pirimikarb, učestvuje i u rezistentnosti na demeton-S-metil, samo uz prisustvo drugog mehanizma, a to je povećana esterazna aktivnost (Han i sar., 1998).

Insekatska AChE je kompleksnija nego što se to ranije smatralo. Analizom genoma dokazano je da *M. persicae*, *S. graminum* i *A. gossypii* poseduju najmanje dva genska lokusa za AChE, dok je kod *M. persicae* utvrđeno da je samo jedan povezan sa rezistentnošću (Li i Han, 2004).

Najnovija molekularna istraživanja konačno su utvrdila mutacije gena koji determinišu AChE kod *M. persicae* i *A. gossypii*. Dva tipa acetilholin esteraze koja kodiraju dve DNA sekvence (gena), označena kao MpAChE1 i MpAChE2, javljaju se kod *M. persicae*. Amino-kiselinske sekvence tipa MpAChE1 bile su identične kod osetljivih i rezistentnih na pirimikarb, dok su rezistentne rase posedovale i DNA sekvencu tipa MpAChE2 sa tačkastom mutacijom gena Ser431Phe, koja se odražava na zamenu amino-kiseline serina fenilalaninom na makromolekulu AChE (Nabeshima i sar., 2003). Kod rasa *A. gossypii* osetljivih i rezistentnih na organofosfate, potpuno su klonirana i sekvencionirana dva AChE gena, Acc1 i Acc2. Utvrđene su dve tačkaste mutacije ovih gena i to F139L mutacija na Ace2 i A302S na Ace1 koje predstavljaju genetsku osnovu rezistentnosti rasa *A. gossypii* po mehanizmu promenjene AChE (Li i Han, 2004).

U vezi sa ovim mehanizmom rezistentnosti, mogu se navesti neki primeri negativne ukrštene rezistentnosti. Tako je u eksperimentu sa rasom *Aphis gossypii*, visokorezistentnom na pirimikarb usled modifikovane AChE, utvrđeno da je ova vaš vrlo osetljiva na bendiokarb i karbofuran, jedinjenja koja pripadaju istoj hemijskoj grupi. Promenjena AChE, koja je glavni mehanizam rezistentnosti na pirimikarb, ujedno je postala i mesto delovanja drugih karbamata. Rasa rezistentna na pirimikarb je čak 2.5 puta osetljivija na bendiokarb nego rasa normalno osetljiva na pirimikarb (Villatte i sar., 1999). Karbofuran i bendiokarb su jedinjenja slične hemijske strukture i pripadaju N-metil karbamata, dok je pirimikarb N,N-dimetil karbamat.

Promena u strukturi Na-kanala

Primarno mesto delovanja piretroida i DDT su natrijumovi kanali koji su integralni proteini nervne membrane. Necijanopiretroidi i DDT deluju na Na-kanale tako da oni ostaju duže otvoreni i dolazi do ponovljenog pražnjenja na jedan nadražaj usled nekontrolisanog protoka Na⁺ jona u nervnu ćeliju. Cijanopiretroidi, takođe, deluju na nervne kanale, ali rezultat njihovog delovanja nisu ponovljena pražnjenja, već dolazi do njihove supresije. Trenutni paralizirajući efekat je pojam koji označava proces posebno brzog delovanja piretroida, kada praktično obaraju insekte usred leta. Odatle i naziv za ovaj mehanizam rezistentnosti *kdr* (knock-down resistance), a odnosi se na promenu u strukturi Na-kanala.

Tačkasta mutacija gena koji determinišu natrijumove kanale, a koja se odražava na zamenu amino-kiseline leucina fenilalaninom na proteinskom molekulu Na-kanala u transmembranskom segmentu IIS6, predstavlja genetsku osnovu *kdr* rezistentnosti kod *Myzus persicae*. Ova mutacija gena pronađena je kod jedinki iz četiri populacije klona koje su imale ujedno i amplifikovane E4 esterazne gene, a bila je odsutna kod klonova sa amplifikovanim FE4 genima. Ova asocijacija *kdr* rezistentnosti i E4, gena verovatno je očuvana stalnom partenogenetskom reprodukcijom ovih klonova i bliskošću lokusa gena nosilaca ova dva mehanizma rezistentnosti. Ova asocijacija dva različita mehanizma rezistentnosti, koja je i uzrok pojave multi-rezistentnosti populacija vašiju, nije opšteprisutna i pronađeni su klonovi samo sa E4 amplifikovanim genima, bez *kdr* mutacije (Martinez-Torres i sar., 1999).

Međutim, najnovija istraživanja su pokazala postojanje dve tačkaste mutacije gena koji determinišu Na-kanale i one su označene kao L1014F (*kdr*) i M918T (*super-kdr*) mutacija. Razvijena je i molekularna metoda za precizno određivanje fenotipova sa ove dve mutacije u individualama *M. persicae* (Anstead i sar., 2004). U okviru istog istraživanja, po prvi put, utvrđena je multipla rezistentnost jedne individue *M. persicae* koja je posedovala gotovo sve do tada detektovane mehanizme rezistentnosti (promenjena AChE, povišene karboksilesteraze, *kdr* i *super-kdr*).

Biotestom ispitivanih klonova dokazano je da je *kdr* primarni mehanizam rezistentnosti *M. persicae* na deltametrin i DDT, a da prekomerna produkcija

karboksilesteraza E4 predstavlja sporedni mehanizam, koji podupire nivo opšte rezistentnosti vašiju, a sami autori iznose pretpostavku o sinergističkom delovanju ova dva mehanizma rezistentnosti. Tako, mutacija gena koji kodira protein Na-kanala, samostalno pruža rezistentnost sa faktorom 35 na deltametrin, a u kombinaciji sa povećanom produkcijom esteraze E4, faktor se povećava i do 540. Klonovi sa povećanom količinom FE4 esteraze, bez prisutne *kdr* mutacije, imaju veoma nizak faktor rezistentnosti prema istom jedinjenju i iznosi samo 3-4 (Martinez-Torres i sar., 1999).

Promena u strukturi Na-kanala, iako još nije dokazano, verovatno se javlja kao mehanizam rezistentnosti na piretroide i kod *Aphis gossypii*. U jednom istraživanju utvrđeno je da nije bilo korelacije između kvalitativnog i kvantitativnog sastava esteraza i rezistentnosti na permetrin, što podupire hipotezu o postojanju alternativnog mehanizma rezistentnosti kod ove vaši (Han i sar., 1998). Isto tako, ispitivanja poljskih populacija iste vaši u Pakistanu potvrdila su njihovu različitu osetljivost prema različitim jedinjenjima iz grupe piretroida, pri čemu je koeficijent rezistentnosti najniži za deltametrin, a višestruko veći za ostale ispitivane piretroide (cipermetrin, lambda-cihalotrin, fenpropatrin, bifentrin). Ovo je još jedan dokaz o postojanju i drugačijeg mehanizma delovanja sem povećanog kapaciteta deaktivacije insekticida, a to je najverovatnije *kdr* (Ahmad i sar., 2003).

ŽIVOTNA SPOSOBNOST REZISTENTNIH POPULACIJA LISNIH VAŠIJU

Populacije štetnih insekata rezistentne na pojedine insekticide odlikuju se promenama u životnoj sposobnosti, kao što su promene u ponašanju, fekunditetu, sposobnosti da prezime ili migriraju, po kojima se razlikuju od normalno osetljivih populacija. Opšta odlika rezistentnih klonova, odnosno, rasa lisnih vašiju, je njihova sveukupno manja životna sposobnost nego jedinki koje su normalno osetljive na insekticide. Ova pojava je najviše proučavana u Engleskoj na *Myzus persicae*, gde vaši imaju anholociklično razviće, odnosno stalnu partenogenetsku reprodukciju, a prezimljavaju kao adulti. Rezultati višegodišnjeg praćenja populacija ove vaši, objavljeni 1996. godine, ukazuju na selekciju usled delovanja nepovoljnih faktora spoljne sredine. Niske temperature (ispod 2°C), intenzivne

padavine i učestala pojava jakog vetra predstavljaju osnovne meteorološke parametre koji nepovoljno deluju na opstanak rezistentnih populacija *M. persicae*. Tokom zimskih meseci zabeležen je veći mortalitet jedinki u kategorijama R2 i R3, koje imaju prekomernu produkciju karboksilesteraza, nego osetljive (S) i R1 individue (Foster i sar., 1996).

Slaba pokretljivost rezistentnih vašiju, odnosno njihova spora migracija sa starijeg na mlade lišće, takođe je pokazatelj promena u njihovoj životnoj sposobnosti. U vreme opadanja lišća, vaši sa većim faktorom rezistentnosti (R2, R3) zadržavaju se duže na požutelom i starom lišću na kome mogu ostati i posle njegovog opadanja. Ovo povećava opasnost od uginjavanja usled nedostatka hrane i udaljavanja od biljke domaćina, a negativni efekti ove pojave se intenziviraju pri nepovoljnim uslovima sredine (Foster i sar., 1996; Foster i sar., 1997).

Fekunditet je, takođe, u korelaciji sa faktorom rezistentnosti kod *M. persicae*. Umanjenu reproduktivnu sposobnost imaju klonovi koji pripadaju kategoriji najrezistentnijih vašiju, R3. Holociklični biotipovi *Schizaphis graminum* u zavisnosti od faktora rezistentnosti, pokazuju i različite varijacije u fekunditetu i obrazovanju polnih oblika. Tako je utvrđeno da S i R1 klonovi imaju visok fekunditet i normalno obrazuju polne oblike, dok R2, a naročito R3, gotovo da i ne obrazuju polne oblike i imaju srazmerno manji fekunditet (Rider i Wilde, 1998b).

U oglecima sa *M. persicae* na šećernoj repi, koja nije tretirana insekticidima, pod povoljnim uslovima spoljne sredine (temperatura oko 23°C) rezistentne populacije R2, i ekstremno rezistentne R3, pokazale su niži stepen mortaliteta u odnosu na osetljive klonove, a R1 klonovi su imali najveći reproduktivni potencijal. Ovo ukazuje na činjenicu da rezistentne vaši, čak i u odsustvu insekticida, pod povoljnim uslovima sredine mogu zadržati visok nivo brojnosti, a vremenom, možda, postati i preovlađujuće u populaciji (Williams i sar., 1998).

Oslabljenu životnu sposobnost pri nepovoljnim uslovima sredine pokazali su i revertanti, tj. jedinke koje imaju genetski potencijal rezistentnih klonova (R3), ali nije došlo do ekspresije njihovih amplifikovanih gena, odnosno fenotipski predstavljaju osetljive (S) jedinke. Na osnovu ovoga je zaključeno da prekomerna produkcija esteraza, kao mehanizam rezistentnosti, nije glavni, niti direktni uzrok slabe otpornosti rezistentnih vašiju na nepovoljne uslove

sredine (Foster i sar., 1997). U ovom kontekstu se pominje *kdr* kao mehanizam rezistentnosti koji se javlja kao verovatniji uzročnik umanjene životne sposobnosti rezistentnih vašiju, a koji do pre nekoliko godina nije bio detektovan u spektru mehanizama rezistentnosti *M. persicae*. Promena Nakanala na nervnim membranama aksona izazvala je i povećanje praga nervnog akcionog potencijala što je učinilo nerve ovih insekata manje osetljivim na nadražaje koji dolaze iz spoljne sredine, među kojima su i nepovoljni meteorološki uslovi, starenje lišća, feromoni i dr. (Foster i sar., 2000; Martinez-Torres i sar., 1999). U jednom istraživanju je utvrđeno da su *kdr* klonovi sa različitim nivoima esterazne rezistentnosti pokazali daleko slabiju reakciju na alarmni feromon, (E)- β -farnesen, koji „upozorava“ vaši na prisustvo parazitoida i predatora, nego osetljive jedinice bez prisutne *kdr* mutacije. Ovo je još jedan pokazatelj slabe percepcije nadražaja iz spoljne sredine i slabe životne sposobnosti rezistentnih vašiju sa *kdr* mehanizmom (Foster i sar., 1999).

UPRAVLJANJE REZISTENTNOŠĆU LISNIH VAŠIJU I NJIHOVO SUZBIJANJE

Rezistentnost štetnih insekata na insekticide je realan problem savremene poljoprivredne proizvodnje. Lisne vaši spadaju u ekonomski najznačajnije štetočine različitih useva i zasada. Svojom ishranom izazivaju razna oštećenja na biljnim organima, luče mednu rosu koja smanjuje asimilacionu površinu listova, i predstavljaju glavne vektore biljnih virusa. S obzirom na značaj i mogućnost masovne pojave lisnih vašiju, njihovo suzbijanje je vrlo često u programu redovnih mera zaštite mnogih useva i zasada. Intenzivan selekcion pritisak usled primene jedinjenja sličnog mehanizma delovanja, doveo je do selekcije populacija ovih štetočina sa različitim nivoima i mehanizmima rezistentnosti. Dugotrajna i učestala selekcija insekticidima različitih mehanizama delovanja dovela je do razvoja multirezistentnosti.

Ako postoji genetski potencijal za rezistentnost na neki insekticid, selekcion pritisak je tada najvažniji faktor za razvijanje rezistentnosti. Drugim rečima, sve dok je selekcion pritisak prisutan, razvoj rezistentnosti se ne može sprečiti, već je samo pitanje vremena kada će rezistentne jedinice postati dominantne u populaciji. Da bi se ova pojava usporila, potrebno je uvesti stalan sistem za

praćenje rezistentnosti koji bi ukazivao na svaku promenu osetljivosti populacija da bi se pravovremeno preduzele potrebne mere, pa i povlačenje pesticida iz primene kada njihova efikasnost počne da slabi (Perić i sar., 1981). Postojeće pesticide treba primenjivati na način kojim će se upravljati populacijama i obezbediti optimalan vek upotrebe pojedinih jedinjenja, ili grupe srodnih jedinjenja (Šestović i sar., 1980).

Međunarodna organizacija koja se bavi pojavom rezistentnosti insekata (IRAC), dala je osnovne principe u strategiji upravljanja rezistentnošću koji su značajni i za upravljanje rezistentnošću lisnih vašiju:

- izbegavanje nepotrebne primene insekticida tokom vegetacione sezone;
- prilikom setve, odnosno sadnje biljaka, izabrati rane sorte i sorte otpornije na napad insekata;
- usvojiti integralni pristup zaštite useva i zasada koji uključuje primenu jedinjenja sa različitim mehanizmima delovanja, bioinsekticide, atraktante, agrotehničke mere, transgene biljke, mogućnost korišćenja parazita i predatora, da bi se štetočine držale na nivou brojnosti ispod ekonomskog praga štetnosti, čime se smanjuje i broj tretiranja hemijskim sredstvima;
- izbegavati stalnu primenu insekticida širokog spektra delovanja i uključivati selektivna jedinjenja;
- ako je neophodno izvesti više tretiranja tokom vegetacione sezone, primenjivati jedinjenja različitih mehanizama delovanja;
- ako se izvodi jedno tretiranje tokom sezone, u sledećoj sezoni primeniti insekticid koji ima drugi mehanizam delovanja;
- primenjivati insekticide u preporučenim količinama primene;
- vršiti redovnu kalibraciju uređaja za primenu, kako bi se obezbedila što bolja pokrovnost useva i zasada;
- ako se primenjuju smeše jedinjenja, voditi računa o tome da ona budu iz različitih hemijskih grupa, različitog mehanizma delovanja i slične dužine delovanja;
- vreme primene treba da bude usklađeno sa stadijumom razvoja štetnog organizma; primeniti insekticid kada je štetni organizam najosetljiviji na delovanje insekticida;
- pratiti dinamiku brojnosti populacija štetne vrste i prirodnih neprijatelja tokom vegetacione sezone, a insekticide primenjivati samo

kada brojnost populacije štetne vrste pređe granicu ekonomskog praga štetnosti;

- uklanjati biljne ostatke ako oni predstavljaju mesto prezimljavanja i izvor hrane za štetnu vrstu;
- prevencija je najbolja strategija upravljanja rezistentnošću, ali ako insekticidi pokazu slabu efikasnost, prvo treba eliminisati sve ostale činioce (nepravilna primena, neispravnost uređaja za primenu, nepovoljni uslovi spoljne sredine), pa tek onda posumnjati na rezistentnost;
- ako je rezistentnost počela da se razvija na određenu grupu jedinjenja, ne primenjivati alternativno insekticide sličnog mehanizma delovanja;

U našoj zemlji do danas nema zvaničnih podataka o rezistentnosti lisnih vašiju na insekticide. Kako je ova problematika veoma aktuelna u svetu i ključna sa aspekta primene određenih jedinjenja ili grupa jedinjenja u praksi, trebalo bi pristupiti stalnom ispitivanju populacija ekonomski značajnih lisnih vašiju kod nas, kako bi se utvrdilo realno stanje osetljivosti populacija ovih štetočina, postavila strategija i preduzele mere za upravljanje rezistentnošću.

LITERATURA

Abmad, M., Arif, M.I. and Denholm, I.: High resistance of field populations of the cotton aphid *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) to pyrethroid insecticides in Pakistan. *J. Econ. Entomol.*, 96: 875-878, 2003.

Anonymous: General principles of insecticide resistance management from IRAC. Insecticide Resistance Action Committee, www.irac-online.org, 2004.

Anstead, J.A., Williamson, M.S., Eleftherianos, I. and Denholm, I.: High-throughput detection of knockdown resistance in *Myzus persicae* using allelic discriminating quantitative PCR. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34: 871-877, 2004.

Baranyovits, F. (Ed): Methods for monitoring resistance in aphids. Proceedings of the Fifth British Insecticide and Fungicide Conference. Brighton, BCPC Publications, 2: 98-103, 1969.

Blackman, R.L.: Reproduction, cytogenetics and development. In: Aphids their biology, natural enemies and control. (Minks A.K. and Harrewijn, P., eds), Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands, A: 163-195, 1987.

Blackman, R.L., Spence, J.M., Field, L.M., Javed, N., Devine, G.J. and Devonshire, A.L.: Inheritance of the amplified esterase genes responsible for insecticide

resistance in *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Heredity*, 77, 154-167, 1996.

Blackman, R.L., Spence, J.M., Field, L.M., Devonshire, A.L.: Variation in the chromosomal distribution of amplified esterase (FE4) genes in Greek field populations of *Myzus persicae* (Sulzer). *Heredity*, 82: 180-186, 1999.

Devonshire, A.L. and Sawicki, R.: Insecticide-resistant *Myzus persicae* as an example of evolution by gene duplication. *Nature*, 280, 140-141, 1979.

Devonshire, A.L. and Field, L.M., Foster, S.P., Moores, G.D., Williamson, M.S. and Blackman, R.L.: The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 353: 1677-1684, 1998.

Field, L.M., Devonshire, A.L., Ffrench-Constant, R.H. and Forde, B.G.: Changes in DNA methylation are associated with loss of insecticide resistance in peach-potato aphid *Myzus persicae* (Sulz). *Febs Letters*, 243: 323-327, 1989.

Field, L.M., Devonshire, A.L. and Tyler-Smith, C.: Analysis of amplicons containing the esterase genes responsible for insecticide resistance in the peach-potato aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochem. J.*, 313: 543-547, 1996.

Field, L.M. and Devonshire, A.L.: Structure and organization of amplicons containing the E4 esterase genes responsible for insecticide resistance in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochem. J.*, 322: 867-871, 1997.

Field, L.M. and Devonshire, A.L.: Evidence that the E4 and FE4 esterase genes responsible for insecticide resistance in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer) are part of a gene family. *Biochem. J.*, 330: 169-173, 1998.

Field, L.M., Blackman, R.L., Tyler-Smith, C. and Devonshire, A.L.: Relationship between amount of esterase and gene copy number in insecticide-resistant *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochem. J.*, 339: 737-742, 1999.

Field, L.M., Blackman, R.L. and Devonshire, A.L.: Evolution of amplified esterase genes as a mode of insecticide resistance in aphids. In: Biochemical sites of insecticide action and resistance (Isaac Ishaaya ed.). Springer-Vetlag Berlin, Heidelberg, 2001, pp. 209-219.

Foster, S.P., Harrington, R., Devonshire, A.L., Denholm, I., Devine, G.J. and Kenward, M.G.: Comparative survival of insecticide-susceptible and resistant peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae), in low temperature field trials. *Bull. Entomol. Res.*, 86: 17-27, 1996.

Foster, S.P., Harrington, R., Devonshire, A.L., Denholm, I., Clark, S.J. and Muggleston, M.A.: Evidence for a possible fitness trade-off between insecticide resistance and the low temperature movement that is essential for survival of UK populations of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Bull. Entomol. Res.*, 87: 573-579, 1997.

Foster, S.P., Woodcock, C.M., Williamson, M.S., Devonshire, A.L., Denholm, I. and Thompson, R.: Reduced alarm response by peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae), with knock-down resistance to insecticides (kdr) may impose a fitness cost through

- increased vulnerability to natural enemies. *Bull. Entomol. Res.*, 89: 133-138, 1999.
- Foster, S.P., Denholm, I. and Devonshire, A.L.:** The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the UK. *Crop Protection*, 19: 873-879, 2000.
- Gao, J.R. and Zhu, K.Y.:** Increased expression of an acetylcholinesterase gene may confer organophosphate resistance in the greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 73: 164-173, 2002.
- Georgiou, G.P.:** Comparative susceptibility to insecticides of two green peach aphid populations, collected 16 years apart. *J. Econ. Entomol.*, 56: 655-657, 1963.
- Han, Z., Moores, G.D., Denholm, I. and Devonshire, A.L.:** Association between biochemical markers and insecticide resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 62: 164-171, 1998.
- Hedley, D., Khambay, B.P.S., Hooper, A., Thomas, R.D. and Devonshire, A.:** Proinsecticides effective against insecticide-resistant peach-potato aphid (*Myzus persicae* (Sulzer)). *Pestic. Sci.*, 53: 201-208, 1998.
- Hick, C.A., Field, L.M. and Devonshire, A.L.:** Changes in the methylation of amplified esterase DNA during loss and reselection of insecticide resistance in peach-potato aphids, *Myzus persicae*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 26: 41-47, 1996.
- Li, F. and Han, Z.:** Mutations in acetylcholinesterase associated with insecticide resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34: 397-405, 2004.
- Marić, D., Kljajić, P., Perić, I., Živić, J. and Stanić, I.:** Efficacy of several insecticides against *Myzus persicae* on tobacco in Serbia. *Proc. 2nd Balkan Symposium: Field Crops*, Novi Sad, Serbia, 2: 207-210, 1998.
- Marić, D., Kljajić, P., Krnjajić, S. and Perić, I.:** Studies of the efficacy of insecticides against pepper-infesting aphids (Aphididae). 3rd Balkan Symposium: Vegetables and Potatoes, Bursa, Turkey, 2004 (Book of Abstracts, 71).
- Martinez-Torres, D., Foster, S.P., Field, L.M., Devonshire, A.L. and Williamson, M.S.:** A sodium channel point mutation is associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Insect Mol. Biol.*, 8: 339-346, 1999.
- Moores, G.D., Devine, G.J. and Devonshire, A.L.:** Insecticide-insensitive acetylcholinesterase can enhance esterase-based resistance in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 49: 114-120, 1994a.
- Moores, G.D., Devine, G.J. and Devonshire, A.L.:** Insecticide resistance due to insensitive acetylcholinesterase in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae*. *Proc. Brighton Crop Protection Conference - Pest & Diseases*. Brighton, BCPC Publications, 1: 413-418, 1994b.
- Moores, G.D., Gao, X., Denholm, I., Devonshire, A.L.:** Characterisation of insensitive acetylcholinesterase in insecticide-resistant cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 56: 102-110, 1996a.
- Moores, G.D., Han, Z.J., Denholm, I. and Devonshire, A.L.:** Two forms of insecticide-insensitive acetylcholinesterase in *Aphis gossypii*. *Proc. Brighton Crop Protection Conference - Pest & Diseases*, Brighton, BCPC Publications, 2: 745-750, 1996b.
- Nabeshima, T., Kozaki, T., Tomita, T. and Kono, Y.:** An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb-resistant strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 307: 15-22, 2003.
- Needham, P.H. and Sawicki, R.M.:** Diagnosis of resistance to organophosphorus insecticides in *Myzus persicae* (Sulz.). *Nature*, 230: 125-126, 1971.
- Ono, M., Swanson, J.J., Field, L.M., Devonshire, A.L. and Siegfried, B.D.:** Amplification and methylation of an esterase gene associated with insecticide-resistance in greenbugs, *Schizaphis graminum* (Rondani) (Homoptera: Aphididae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 29: 1065-1073, 1999.
- Owusu, E., Horiike, M. and Hirano, C.:** Polyacrylamide gel electrophoretic assessments of esterases in cotton aphid (Homoptera: Aphididae) resistance to dichlorvos. *J. Econ. Entomol.*, 89: 302-306, 1996a.
- Owusu, E.O., Horiike, M. and Hirano, C.:** Inhibition by insecticides of partially purified carboxylesterase from *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae). *J. of Econ. Entomol.*, 89: 307-310, 1996b.
- Perić, I., Šestović, M. and Kljajić, R.:** Faktori koji utiču na razvijanje rezistentnosti štetnih organizama prema pesticidima. *Zbornik radova Jugoslovenskog savetovanja o primeni pesticida*, Poreč, 2: 37-48, 1981.
- Petrović-Obradović, O.:** Biljne vaši (Homoptera: Aphididae) Srbije. Poljoprivredni fakultet, Beograd, 2003.
- Rider, S.D., Wilde, G.E. and Kambampati, S.:** Genetics of esterase-mediated insecticide resistance in the aphid *Schizaphis graminum*. *Heredity*, 81: 14-19, 1998a.
- Rider, S.D. and Wilde, G.E.:** Variation in fecundity and sexual morph production among insecticide-resistant clones of the aphid *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). *J. Econ. Entomol.*, 91: 388-391, 1998b.
- Siegfried, B.D. and Zera, A.J.:** Partial purification and characterization of a greenbug (Homoptera: Aphididae) esterase associated with resistance to parathion. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 49: 132-137, 1994.
- Siegfried, B.D., Swanson, J.J. and Devonshire, A.L.:** Immunological detection of greenbug (*Schizaphis graminum*) esterases associated with resistance to organophosphate insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 57: 165-170, 1997.
- Spence, J.M. and Blackman, R.L.:** Chromosomal rearrangements in the *Myzus persicae* group and their evolutionary significance. *Proc. Fifth International Symposium on Aphids: Aphids in Natural and Managed Ecosystems*, Leon (Spain), 113-118, 1997.
- Šestović, M., Perić, I. and Kljajić, R.:** Rezistentnost kao faktor u hemijskom suzbijanju štetnih organizama. *Zaštita bilja*, 31: 83-94, 1980.

- Tamaš, N.:** Efikasnost dimetoata i hlorporifosa za suzbijanje lisnih vašiju u zasadu jabuke. V kongres o zaštiti bilja, Zlatibor, 2004 (Zbornik rezimeza, str. 384).
- Tamaš, N., Miletić, N. and Graora, D.:** Efikasnost pirimikarba i pirimifos-metila u suzbijanju lisnih vašiju u zasadu jabuke. VII savetovanje o zaštiti bilja, Sokobanja, 2005 (Zbornik rezimeza, str. 108-109). 2005.
- Villatte, F., Auge, D., Touton, Ph., Delorme, R. and Fournier, D.:** Negative cross-insensitivity in insecticide-resistant cotton aphid *Aphis gossypii* Glover. Pestic. Biochem. Physiol., 65: 55-61, 1999.
- Wang, K.Y., Liu, T.X., Yu, C.H., Jiang, X.Y. and Yi, M.Q.:** Resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to fenvalerate and imidacloprid and activities of detoxification enzymes on cotton and cucumber. J. Econ. Entomol., 95: 407-413, 2002.
- Williams, I.S., Haylock, L.A., Dewar, A.M. and Dixon, A.F.G.:** Selection for a moderately insecticide resistant clone of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on sugarbeet in the absence of pesticides. Bull. Entomol. Res., 88: 653-658, 1998.
- Wyatt, I.J.:** Insecticide resistance in aphids on chrysanthemums. In: Proc. Third British Insecticide and Fungicide Conference, London, 1965, pp. 52-55.
- Zhu, K.Y. and Gao, J.R.:** Kinetic properties and variability of esterases in organophosphate-susceptible and -resistant greenbugs, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). Pestic. Biochem. Physiol., 62: 135-145, 1998.
- Zhu, K.Y. and He, F.:** Elevated esterases exhibiting arylesterase-like characteristics in an organophosphate-resistant clone of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). Pestic. Biochem. Physiol., 67: 155-167, 2000a.
- Zhu, K.Y., Gao, J.R. and Starkey, S.R.:** Organophosphate resistance mediated by alternations of acetylcholinesterase in a resistant clone of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). Pestic. Biochem. Physiol., 68: 138-147, 2000b.

Aphid Resistance to Insecticides

SUMMARY

According to numerous records worldwide aphids encompassing a group of insects have until now developed resistance to a considerable number of chemicals. Resistant aphid populations have not been proved in our country so far although some insecticides have shown poor efficiency in some crop growing regions.

Two major aphid resistance mechanisms have been noted so far; i.e. increased capacity of insecticide deactivation due to an overproduction of esterase enzymes, and changes in the susceptibility at the site of action (changes in the structure of acetylcholinesterase and sodium channels on nerve membranes).

An overview of what is currently known on aphid resistance to insecticides was given in the study. Different aspects of aphid resistance with respect to the mechanism of resistance and genetically based indications, viability of resistant populations including resistance management were discussed as well.

Keywords: Aphids; Insecticides; Resistance; Resistance mechanism