

Utvrđivanje indeksa rezistentnosti korovne vrste *Echinochloa crus-galli* na herbicid nikosulfuron

Klarić, Mihael

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:740349>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-04**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



**Utvrđivanje indeksa rezistentnosti korovne
vrste *Echinochloa crus-galli* na herbicid
nikosulfuron**

ZAVRŠNI RAD

Mihael Klarić

Zagreb, rujan 2023.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Prijediplomski studij
Fitomedicina

**Utvrđivanje indeksa rezistentnosti korovne
vrste *Echinochloa crus-galli* na herbicid
nikosulfuron**

ZAVRŠNI RAD

Mihael Klarić

Mentor:
dr. sc. Valentina Šoštarčić

Zagreb, rujan 2023.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Mihael Klarić**, JMBAG 0178125167, rođen 30.06.2001. u Vinkovcima, izjavljujem da sam samostalno izradio završni rad pod naslovom:

Utvrđivanje indeksa rezistentnosti korovne vrste *Echinochloa crus-galli* na herbicid nikosulfuron

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga završnog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj završni rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga završnoga rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI ZAVRŠNOG RADA

Završni rad studenta **Mihaela Klarića**, JMBAG 0178125167, naslova

Utvrđivanje indeksa rezistentnosti korovne vrste *Echinochloa crus-galli* na herbicid nikosulfuron

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. dr. sc. Valentina Šoštarčić mentor

2. prof. dr. sc. Klara Barić član

3. izv. prof. dr. sc. Maja Šćepanović član

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Cilj istraživanja	2
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. <i>Echinochloa crus-galli</i> L. (P. Beauv)	3
2.2. Nikosulfuron	7
2.3. Rezistentnost	8
3. MATERIJALI I METODE RADA	10
3.1. Prikupljanje sjemena i preliminarni testovi klijavosti	10
3.2. Plastički pokus	11
3.3. Statistička analiza podataka	13
4. REZULTATI I RASPRAVA RADA	14
5. ZAKLJUČAK	21
6. LITERATURA	22

SAŽETAK

Utvrđivanje indeksa rezistentnosti korovne vrste *Echinochloa crus-galli* na herbicid nikosulfuron

Glavni cilj ovog završnog rada bio je utvrditi indeks rezistentnosti korovne vrste *Echinochloa crus-galli* na herbicid nikosulfuron. U istraživanju su korištene dvije različite populacije: osjetljiva (S) i rezistentna (R) populacija. Sjeme koštana prikupljeno sa pokušališta Šašinovečki Lug (45°50'59.6 "N 16°09'53.9 "E) korišteno je u istraživanju osjetljive populacije, dok je za rezistentnu populaciju korišteno sjeme koštana prikupljenog sa područja Bazija (45°91'54.13 "N 17°45'51.4 "E). Osjetljiva populacija tretirana je primjenjujući linearno padajuću dozu herbicida (2x – 1/128x), dok je rezistentna populacija tretirana primjenjujući linearno rastuću dozu herbicida (1/2x – 64x). Naredni period nakon obavljenog tretiranja obavljala se vizualna ocjena (7/14/21/28 DNT), a zatim je izvagana svježa masa nadzemnog dijela korovne vrste *Echinochloa crus-galli*. Uspješno je izrađena *dose-response* krivulja za potencijalno osjetljivu populaciju koštana te ED₅₀ koji iznosi 0,11 l/ha nikosulfurona, dok je ED₉₀ 0,21 l/ha, što je značajnije umanjena doza herbicida nikosulfurona potrebna za njeno suzbijanje. Za redukciju 50 % nadzemne mase bilo je potrebno 11,5 puta manja doza nikosulfurona od propisane, dok je za čak šest puta manju dozu nikosulfuron bio učinkovit u redukciji 90 % nadzemne mase koštana. Zbog nemogućnosti izrade *dose-response* krivulje za potencijalno rezistentnu populaciju nije bilo moguće izračunati ED₅₀, a ni samim time indeks rezistentnosti. Kod potencijalno rezistentne populacije za prikaz rezultata koristila se vizualna ocjena i svježa masa, koja uvelike prikazuje znatnu redukciju nadzemne mase koštana (75 – 100 %).

Ključne riječi: *dose-response*, ED₅₀, koštan, rezistentnost, vizualna ocjena

SUMMARY

Determination of the resistance index of the weed species *Echinochloa crus-galli* to the herbicide nicosulfuron

The main objective of this thesis was to determine the resistance index of the weed species *Echinochloa crus-galli* to the herbicide nicosulfuron. Two different populations were used in the research: a potentially sensitive (S) and a potentially resistant (R) population. Barnyardgrass seeds collected from the Šašinovečki Lug (45°50'59.6 "N 16°09'53.9 "E) experimental site were used in the study of the sensitive population, while barnyard grass seeds collected from the area of Bazije (45°91'54.13 "N 17°45'51.4 "E) were used for the resistant population. The sensitive (S) population was treated by applying a linearly decreasing dose of herbicide (2x – 1/128x), while the resistant population was treated by applying a linearly increasing herbicide dose (1/2x – 64x). The following period after the treatment was performed, a visual assessment was performed (7/14/21/28 days after treatment), and then the fresh mass of the above-ground part of the experiment was weighed; that is, the weed species *Echinochloa crus-galli*. A *dose-response* curve was successfully created for a potentially sensitive barnyardgrass population, and the ED₅₀ is 0,11 l/ha of nicosulfuron, while the ED₉₀ is 0,21 l/ha, which is a significantly reduced dose of the herbicide nicosulfuron required for its control. For the reduction of 50 % of the above-ground mass, 11,5 times smaller dose of nicosulfuron than prescribed was needed, while even six times smaller dose of nicosulfuron was effective in reducing 90 % of the above-ground barnyard grass. Due to the impossibility of creating a *dose-response* curve for a potentially resistant population, it was not possible to calculate the ED₅₀ or the resistance index. In the case of a potentially resistant population, the fresh mass was used to show the results, which largely shows a significant reduction in the above-ground barnyardgrass mass (75 – 100%).

Keywords: common barnyardgrass, *dose-response*, ED₅₀, resistance, visual assessment

1. UVOD

Koštan, vrsta iz porodice trava, najučestaliji je jednogodišnji korov u okopavinskim kulturama u svijetu, a ponajviše zakorovljuje kukuruz i rižu (Ostojić, 2011). Uz dvije navedene kulture, koštan je moguće pronaći i u nasadima povrtnih kultura, šećerne repe, soje. Kao i sve korovne vrste, uskolisne i širokolisne, jednogodišnje i višegodišnje, probleme u usjevu stvaraju kompeticijom za hranjive tvari, prostor, vodu te svjetlost. Ima veliku sjemensku produkciju što potvrđuje činjenica da jedna biljka tijekom vegetacije proizvede od 200 do 10 000 sjemenki (Holm i sur., 1997). Osim u okopavinskim usjevima, koštan je učestali korov i uz razne putove, uz kanale i ribnjake, voćnjacima i vinogradima i dr. (Ostojić, 2011).

ALS herbicidi prednjače po upotrebi herbicida u zaštiti bilja u svijetu i Republici Hrvatskoj. Prema Barić i sur. (2019.) analizom potrošnje herbicida u razdoblju od 2012. do 2017., ALS herbicidi su najkorišteniji herbicidi po potrošnji u Republici Hrvatskoj (Barić i sur., 2019), a također se koriste i u svim okopavinskim vrstama (Šćepanović i sur., 2020). Herbicidi iz skupine dva inhibiraju sintezu enzima acetolaktat sintaze (ALS) i time uzrokuju prestanak rasta korovnih vrsta onemogućavajući sintezu aminokiselina (leucin, izoleucin te valin). Zbog učestale upotrebe herbicida na poljima, korovi su razvili rezistentnost i time otežali poljoprivrednicima borbu protiv korova.¹

Nikosulfuron je jedan od četrnaest aktivnih tvari iz skupine ALS herbicida koji je registriran za suzbijanje korova u Republici Hrvatskoj. Može se primjenjivati jednokratno i višekratno, a uspješno suzbija korove iz porodice dvornika, loboda, muhara, ali i ostale korove. U Hrvatskoj nikosulfuron se primjenjuje za suzbijanje korova u nasadima kukuruza, koji se uzgaja za zrno i silažu (Barić i Ostojić, 2023).

Nasljedna sposobnost korovnih vrsta unutar određene populacije koje prežive tretiranje herbicidom nazivaju se rezistentne vrste nekog biotipa korova. Upravo su rezistentne jedinke jedan od najvećih problema u borbi protiv korova, kada govorimo o kemijskim mjerama zaštite. U svijetu je dosad dokazano 523 slučajeva rezistentnosti u 99 kultura i 72 države svijeta (Heap, 2023.). Najveći broj rezistentnih korova je upravo rezistentno na ALS herbicide, jer se ovi herbicidi koriste za suzbijanje korova na površinama koje su konstantno u obradi.

Do današnjeg dana, rezistentnost koštana na nikosulfuron je zabilježeno u pet država (Austrija, Njemačka, Ukrajina, Italija i Španjolska) u nasadima kukuruza i riže (Heap, 2023).

Zbog povećanog broja rezistentnih korova na sve veći broj herbicida, naglasak se treba staviti i na ostale mjere zaštite: preventivne, kulturalne, mehaničke, fizikalne, ali i provođenje zelene gnojidbe.²

Tema ovog završnog rada je utvrditi indeks rezistentnosti korovne vrste *Echinochloa crus-galli* na herbicid nikosulfuron, nakon što je prethodno biotest metodom utvrđena rezistentnost ove korovne vrste na navedeni herbicid 2021. godine. Za utvrđivanje su se koristile dvije populacije: osjetljiva i potencijalno rezistentna te su tretirane linearno padajućim; odnosno linearno rastućim dozama herbicida.

¹ <https://www.weedscience.org/Home.aspx> , pristupljeno 03.09.2023.

² <https://gospodarski.hr/rubrike/zastita-bilja/zasto-korovi-postaju-otporni-na-herbicide/> , pristupljeno 30.08.2023.

1.1. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja jest biotest metodom (*dose - response*) utvrditi indeks rezistentnosti koštana na nikosulfuron primjenjujući linearno rastuće doze herbicida za potencijalno rezistentnu (R) populaciju te linearno padajuće doze herbicida za osjetljivu (S) populaciju.

2. PREGLED LITERATURE

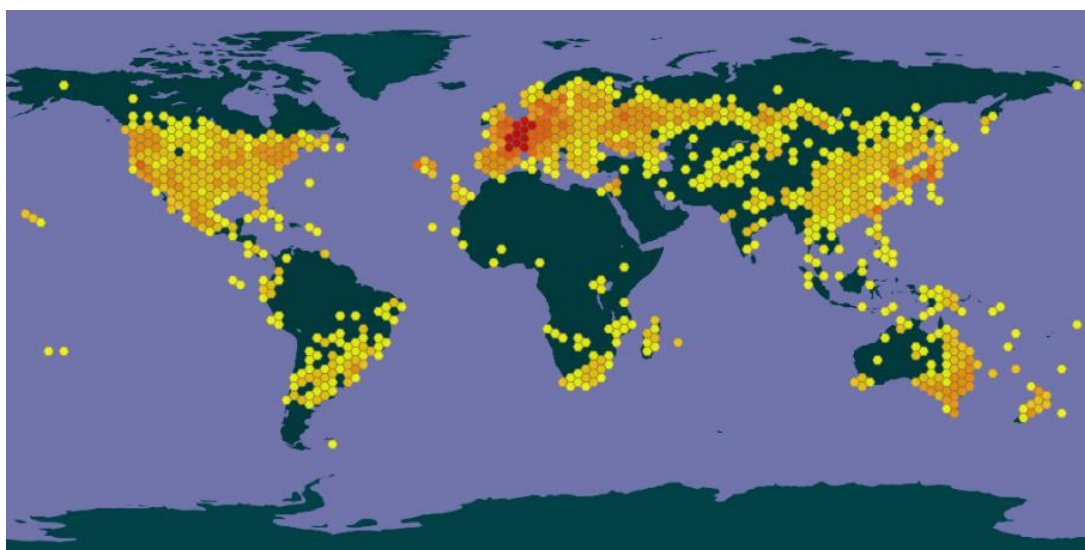
2.1. *Echinochloa crus-galli* L. (P. Beauv)

Koštan (*Echinochloa crus-galli*) je jednogodišnja korovna vrsta iz porodice trava (Poaceae) te je najučestaliji jednogodišnji korov okopavinskih vrsta u svijetu, gdje najčešće zakorovljuje rižu, kukuruz, soju, krumpir i dr. (Ostojić, 2011). Latinski naziv ove vrste dolazi od grčkih riječi echinos (jež) i chloe (trava) te crus-galli što u prijevodu znači pijetlova noga (Gligić, 1953).

Koštan se može pronaći na svim kontinentima, izuzev Antarktike, što nam dokazuje da je u pitanju kozmopolitska vrsta te se vrlo lagano prilagođava različitim klimatskim uvjetima što pokazuje i vrijednost biološkog minimuma koji varira od 5,5 do 13,8 °C (Sadeghloo i sur., 2013.; Steinmaus i sur., 2000). Biološki minimum koštana u kontinentalnoj Hrvatskoj iznosi 10,8°C (Šoštarčić i sur., 2021).

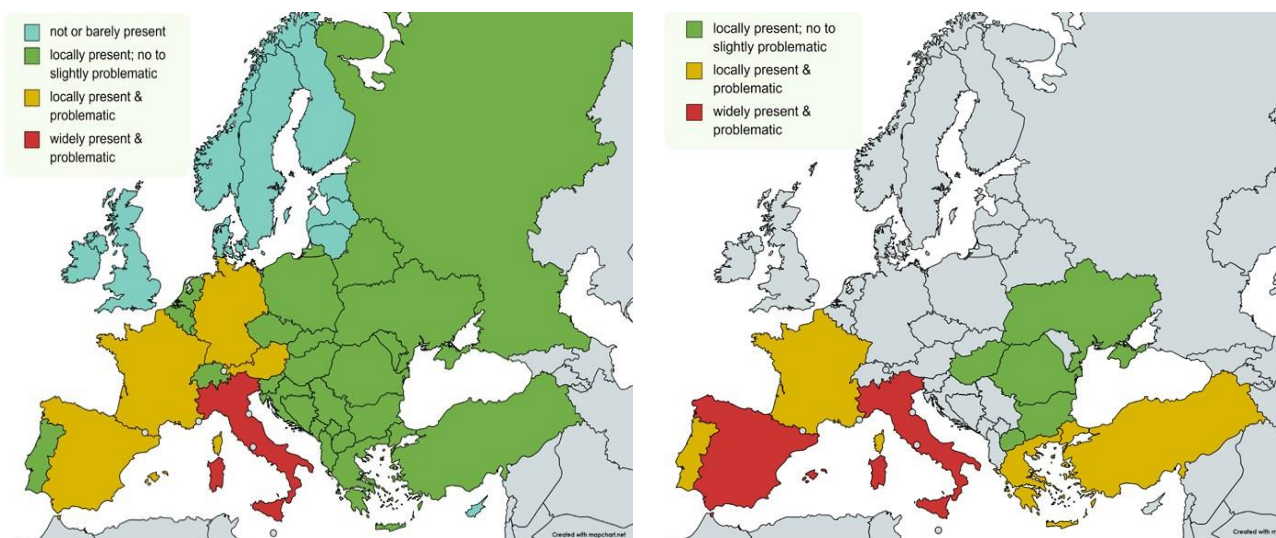
Obzirom da se radi o kozmopolitskoj vrsti, ovu korovnu vrstu je moguće pronaći na područjima od 63° sjeverne do 55° južne geografske širine (Slika 2.1.1.). Koštan je sposoban cvjetati u širem rasponu fotoperiodskih uvjeta. Ukoliko se koštan nalazi na područjima gdje su uvjeti kratkoga dana (8 do 13 sati svjetla), ono će brže doći u fenofazu cvatnje, ali će biljka narasti samo do 70 cm u visinu. Slučaj je obrnut ukoliko se ova korovna vrsta nalazi na područjima gdje su uvjeti dugog dana (16 sati svjetla), visina biljke je oko 150 cm, a sama fenofaze cvatnje dolazi kasnije, nakon vegetativnog rasta biljke (Vengris i sur., 1996). Nazivaju je još i „žderačem“ dušika jer iz tla u trenutcima jakog nicanja odnosno zakorovljenosti iznosi 60 – 80 % dušika (Holm i sur., 1977).

U Republici Hrvatskoj zakorovljuje kukuruz, šećernu repu, soju, suncokret, krumpir, mnoge povrtne kulture (Ostojić, 2011). Osim što zakorovljuje već navedene vrste možemo je pronaći u višegodišnjim drvenastim kulturama, ali i kao ruderalca (Holm i sur., 1991).



Slika 2.1.1. Geografska rasprostranjenost korovne vrste *Echinochloa crus-galli*³

³ <https://www.gbif.org/species/2702808> , pristupljeno 01.09.2023.

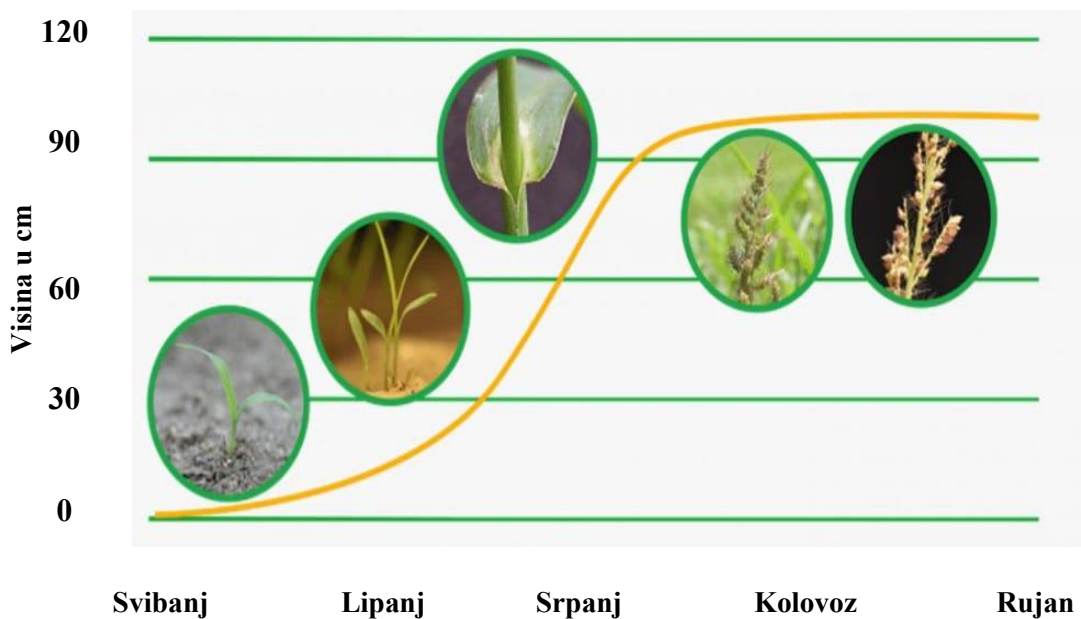


Slika 2.1.2. Rasprostranjenost korovne vrste *Echinochloa crus-galli* u Europi u 2021. godini (lijevo u nasadima kukuruza i soje, desno u nasadima riže) ⁴

Koštan za svoj rast preferira ilovasta, plodna i vlažna tla, ali također je mogući razvoj ove korovne vrste na različitim tipovima tla, primjerice glinena, pjeskovita ili srednje teška tla (Bogdan i sur., 2007). Izrazito je kompetitivni korov za biljna hranjiva, svjetlo, vodu i druge resurse potrebne biljkama (Khanh i sur., 2007). Ima sva potrebna kompetitivna obilježja i karakteristike prilagodbe koje su potrebne za preživljavanje i uspješno nadmetanje za klimatske i zemljišne čimbenike (Marambe i Amarsinghe, 2002). Na Slici 2.1.3. prikazan je životni ciklus koštana. Od travnja do lipnja se odvija nicanje i rast koštana te se ova korovna vrsta s obzirom na vrijeme nicanja svrstava u srednje nicajuće vrste. Nicanje koštana je moguće i na tlima pH vrijednosti između 4 i 8, a optimalna pH vrijednost tla za klijanje i nicanje koštana iznosi 7 (Bajwa i sur., 2015). Također, uz pH vrijednost tla, temperatura je važan čimbenik za nicanje, a koštan može nicati pri temperaturnom rasponu između 13 i 40 °C (Alvarado i Bradford, 2002).

Kao i kod ostalih korovnih vrsta, zbog kompeticije, najčešće će nicanje biti postepeno kroz nekoliko tjedana ili mjeseci te neće niknuti najednom, kako bi si stvorio uvjete za sigurno razmnožavanje, čime se u praksi otežava suzbijanje. Kalendarski koštan niče u travnju te su početni stadiji rasta usporeni. Bujniji rast navedene korovne vrste se očekuje tijekom ljetnih mjeseci dolaskom toplijeg vremena (Păunescu, 1997; Rusu i sur., 2010). Dolaskom ljeta (lipanj/srpanj/kolovoz), koštan započinje s cvatnjom, a svoj razvoj završava u rujnu.

⁴ <http://hracglobal.com/europe/files/docs/EHRAC-Weed-Fact-Sheet-ECHCG.pdf>, pristupljeno 04.09.2023.



Slika 2.1.3. Prikaz ciklusa razvoja vrste *Echinochloa crus-galli* ⁵

Za razliku od ostalih vrsta iz porodice Poaceae, koštana ne razvija dva glavna ključa za determinaciju; jezičac i ušku (Slika 2.1.4.) te je upravo zbog ovih karakteristika najlakši za raspoznavanje od ostalih uskolisnih korovnih trava (Rusu i Bogdan 2012).



Slika 2.1.4. Ključ za determinaciju koštana – bez uške i jezičca ⁶

⁵ <https://growiwm.org/weeds/barnyardgrass/> , pristupljeno 01.09.2023.

⁶ <https://blogs.cornell.edu/weedid/barnyardgrass/> , pristupljeno 19.06.2023.

Sjeme koštana (Slika 2.1.5.) je pšeno, kao i kod ostalih vrsta iz porodice trava, a prosječna masa 1000 sjemenki iznosi 2,48 g (Anghel i sur., 1972) te ono u tlu može biti dormantno i do deset godina. Najčešći način širenja koštana osim izravnog osjemenjivanja jest pomoću ptica (avihorija) (Smith i Shaw, 1996.), sustavima za navodnjavanje (hidrohorija) (Wilson, 1979.) te utjecajem čovjeka (antropohorija). Koštan može proizvesti veliki broj sjemenki po biljci te na taj način osigurava veliku količinu sjemena u tlu koje je dormantno i do devet godina (Chin, 2001, Gibson i sur., 2002).



Slika 2.1.5. Sjeme koštana ⁷

Za potpuni razvoj u nasadima riže, koštanu je potrebno od 42 do 64 dana. Biljka se razmnožava sjemenom ili vegetativnim putem. Koštan u ranim stadijima rasta i razvoja izgleda poput riže te ga je teško uočiti i suzbiti. Stoga u nasadima riže pojavljuje se mimikrija u ranim stadijima razvoja. Upravo zbog svoje sličnosti smatra se jednim od najučestalijih korova u poljima riže. Prema autoru dokazano je da koštan na rižinim poljima smanjuje prinos riže i do 40 % prilikom direktnom sjetvom riže u tlo (Azmi, 1988). Koštan također uzrokuje 21-79 % gubitaka prinosa riže, svojom kompeticijom i bogatom bankom sjemena u tlu (Wilson i sur, 2014). Osim kompeticije, koštan ima snažan mehanizam invazije u vidu alelopatije i njenih svojstava. Njegovo alelopatsko djelovanje utvrđeno je različitim studijama bioloških testova, u kojima je otkriven inhibicijski učinak na rast različitih biljaka (Rice, 1984).

Uz kemijski pristup suzbijanju koštana, ostale mjere mogu imati veliki značaj za njegovo suzbijanje. Prema autoru Charudattan (2001.), u laboratorijskim, plasteničkim i poljskim uvjetima uspješno je suzbijen koštan pomoću patogenih gljiva *Exserohilum fusiforme* i *E. monoceras* (Charudattan, 2001). Huang i sur. (2012.) su uz pomoć patogenih gljiva *Exserohilum monoceras* i *Drechslera monoceras* uspješno suzbili klijanace koštana u stadiju BBCH 11-15. Patogena gljiva *E. monoceras* je uspješno smanjila svježnu masu klijanaca za 48-65%, dok je *D. monoceras* smanjila svježnu masu klijanaca za 38 – 41 % (Huang i sur., 2012).

⁷ <https://herbarium.cfans.umn.edu/Detail.aspx?SpCode=40&LimitKeyword=> , pristupljeno 19.06.2023.

2.2. Nikosulfuron

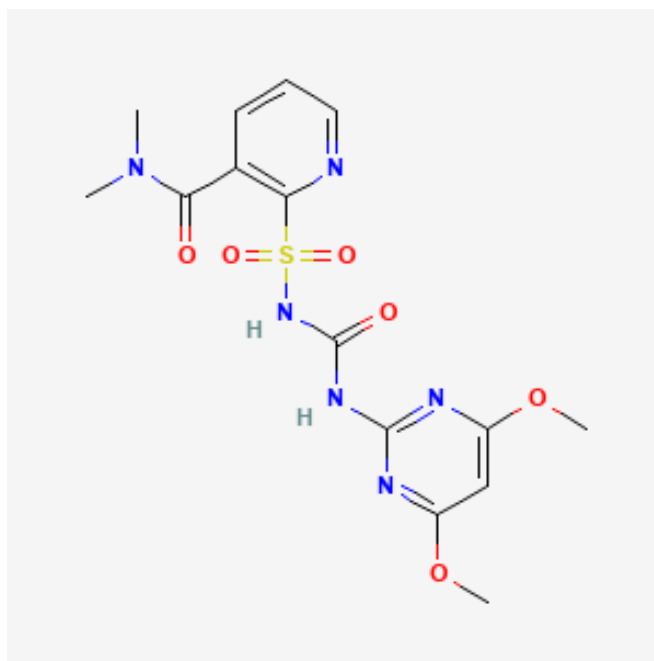
Nikosulfuron je herbicidna aktivna tvar koja se prema HRAC-u (*Herbicide Resistance Action Committee*) ubraja u herbicide skupine 2; odnosno u herbicide koji mehanizmom djelovanja inhibiraju enzim acetolaktat sintaza (ALS) ili acetohidroksidacid sintaza (AHAS). ALS herbicidi se dijele u četiri skupine: sulfonilureja herbicidi, imidazolinoni, triazolopirimidini i triazoloni.⁸

U sulfonilureja herbicide koji su registrirani u Republici Hrvatskoj uz nikosulfuron spadaju još i tribenuron, tifensulfuron, amidosulfuron, rimsulfuron, jodsulfuron, triflusulfuron, prosulfuron, foramsulfuron, tritosulfuron, flzasulfuron, metsulfuron-metil, mezosulfuron te bensulfuron. Glavne karakteristike sulfonilureja herbicida jest selektivnost prema više različitih kultura, suzbijanje ili znatno usporavanje razvoja jednogodišnjih i višegodišnjih uskolisnih i širokolisnih korova. Vrlo su aktivni translokacijski herbicidi. ALS herbicidi koriste se u većini ratarskih usjeva, višegodišnjim nasadima, nekim povrtnim kulturama pa i na nepoljoprivrednim površinama (željezničke pruge) (Barić i Ostojić, 2023).

Nikosulfuron se može primjenjivati jednokratno ili višekratno tijekom vegetacije, ovisno o ujednačenosti/neujednačenosti nicanja korova. Najčešće se rabi u kombinaciji sa bentazonom, dikambom, bromoksinilom, atrazinom, 2,4-D i drugim aktivnim tvarima. U Hrvatskoj ima četrnaest dopuštenih sredstava sa aktivnom tvari nikosulfuronom, a formulacije su u obliku koncentrata za suspenziju (SC), uljne disperzije (OD) te suspo-emulzija (SE). U registracijskoj dozvoli je navedeno da nikosulfuron postiže vrlo dobra djelovanja na korovne vrste: *Ambrosia artemisiifolia* (pelinolisni limundžik), *Polygonum spp.* (dvornici), *Chenopodium spp.* (lobode), *Abutilon theophrasti* (europski mračnjak), *Setaria spp.* (muhari), *Panicum spp.* (prosa) i mnoge druge. Svi dopušteni pripravci na bazi nikosulfurona prema Glasilu biljne zaštite 2023. godine koriste se za suzbijanje u nasadima kukuruza, za zrno i za silažu (Barić i Ostojić, 2023). Karenca za merkantilni kukuruz iznosi 63, a za silažni kukuruz 35 dana.

Prema IUPAC-u kemijski naziv nikosulfurona glasi 1-(4,6-dimetoksipirimidin-2-il)-3-(3-dimetilkarbamoil-2-piridilsulfonil) urea, s molekularnom formulom C₁₅H₁₈N₆O₆S.

⁸ <https://www.hracglobal.com/> , pristupljeno 01.09.2023.



Slika 2.5. Strukturna formula nicosulfurona⁹

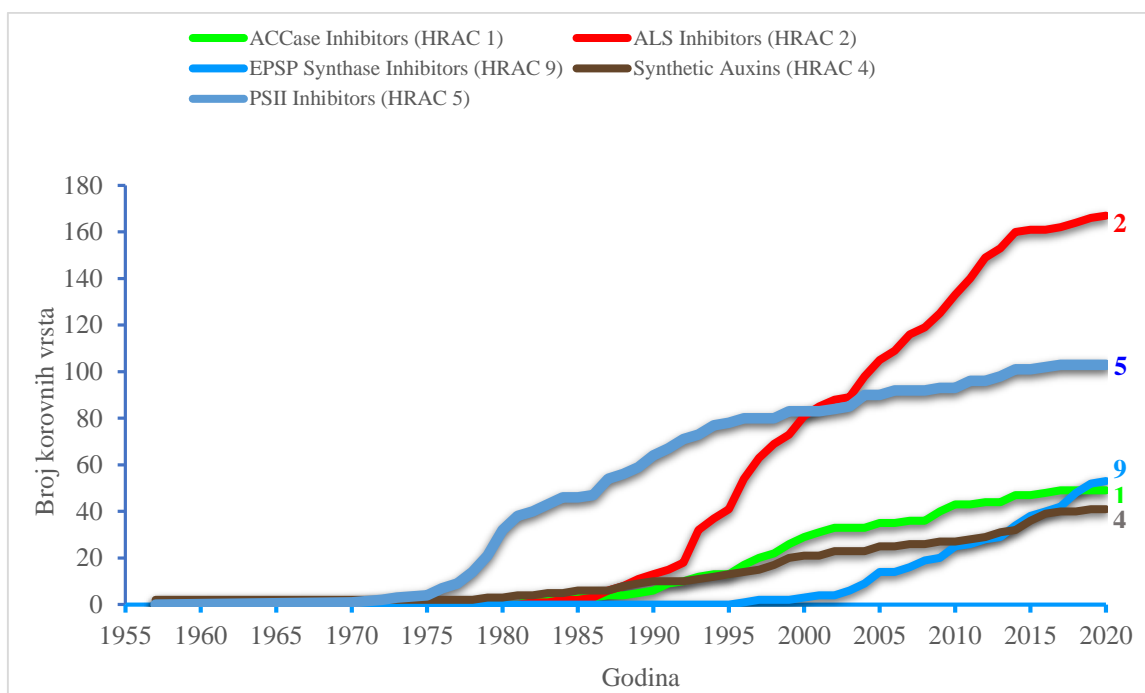
2.3. Rezistentnost

Glavni problem moderne poljoprivrede svakako je pojava rezistentnosti kod korovnih vrsta na herbicide. Zbog učestalog korištenja istih herbicida ili herbicida istih mehanizama djelovanja, sve je veći broj vrsta koje su tolerantne na takav proces eradikacije. Prema HRAC-u rezistentnost korova na herbicide je prirodna i nasljedna sposobnost nekih biotipova korova unutar određene populacije da prežive tretman herbicidom, kojim bi u normalnim uvjetima uspješno suzbio tu populaciju (Barić i Ostojić, 2017).

Danas u svijetu, dokazano je 523 slučaja rezistentnosti u 99 kultura i 72 države svijeta. Također, korovi su razvili rezistentnost na 167 različitih herbicida (Heap, 2023). Najveći broj slučajeva rezistentnosti korova na herbicide utvrđen je u kulturama koje se uzgajaju na najvećim površinama, upravo zbog same činjenice da se na tim istim površinama herbicidi koriste dugi niz godina. Utvrđeno je da potrošnja ALS herbicida svake godine je u uzlaznoj putanji te se redovito koriste u suzbijanju korovnih vrsta u kukuruzu, soji, strnim žitaricama i pšenici (Barić i sur., 2019).

Upravo zbog primjenjivanja ALS herbicida konstantno svake godine, postoji velika opasnost i prijetnja da će korovne vrste razviti rezistentnost na herbicide iz istoimene skupine, s obzirom da je utvrđeno, da je najveći broj korovnih vrsta rezistentan upravo na herbicide iz ALS skupine. Korovi rezistentni na herbicide zahtijevaju promišljene i brze odluke u suzbijanju samih korova, povećavaju troškove, dovode do deficita te zahtijevaju puno znanja za provedbu mjera u borbi protiv korova (Malidža i Rajković, 2018). Najveći broj rezistentnih korovnih vrsta je rezistentno na ALS herbicide koji su prikazani u Grafikonu 2.3.1. zajedno sa ostalim primjerima rezistentnih skupina herbicida.

⁹ <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nicosulfuron> , pristupljeno 01.09.2023.



Grafikon 2.3.1. Prikaz rezistentnih korovnih vrsta na određene skupine herbicida (Heap, 2021.)

Dosad je u svijetu dokazano pet slučajeva rezistentnosti koštana na herbicid nikosulfuron. Dokazana je rezistentnost koštana u nasadima kukuruza u Austriji 2011. godine, Njemačkoj 2012. godine, Italiji 2005. godine te Španjolskoj 2015. godine, dok je u Ukrajini 2017. godine i u Italiji 2005. godine dokazana rezistentnost u nasadima riže (Haep, 2023).

Uz koštan, na nikosulfuron u svijetu je dokazana rezistentnost i u vrsta *Bidens subalternans*, *Raphanus sativus*, *Setaria viridis*, *Sorghum halepense*, *Digitaria saanguinalis*, *Alopecurus japonicus*, *Stellaria media*, *Amaranthus retroflexus*, *Sorghum bicolor*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Lolium perenne* i dr. (Heap, 2023).

U Hrvatskoj je također utvrđena rezistentnost na ALS herbicide. Dokazana je rezistentnost korovnoj vrsti *Ambrosia artemisiifolia* na herbicide oksasulfuron i tifensulfuron te kod korovne vrste *Sorghum halepense* na herbicid nikosulfuron i foramsulfuron.¹⁰

Osim na nikosulfuron, iz skupine ALS herbicida, koštan je rezistentan i na foramsulfuron, bensulfuron, azimsulfuron, imazosulfuron, flucetosulfuron, halosulfuron-metil te pirazosulfuron-etil. Od navedenih herbicida u Republici Hrvatskoj uz nikosulfuron dozvole još imaju foramsulfuron i bensulfuron. Potvrđene su višestruke rezistentnosti koštana na herbicide istih i različitih mehanizama djelovanja.¹¹

Upravo zbog velikog broja aktivnih tvari koji nisu u mogućnosti suzbiti koštana, ono glasi za najopasniju rezistentnu korovnu vrstu u svijetu (Beckie, 2006).

¹⁰ <https://rezistentnost-szb.hr/korovi/>, pristupljeno 04.09.2023.

¹¹ <http://www.weedscience.org/Pages/Species.aspx>, pristupljeno 02.09.2023.

3. MATERIJALI I METODE RADA

Sva istraživanja vezana uz završni rad provedena su u praktikumu Zavoda za herbologiju, Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta te plateniku istoimenog Zavoda u razdoblju između ožujka i lipnja 2023. godine.

3.1. Prikupljanje sjemena i preliminarni testovi klijavosti

Sjeme koje predstavlja potencijalno osjetljivu populaciju koštana sakupljeno je 2020. godine sa pokušališta Agronomskog fakulteta Šašinovečki Lug (45°50'59.6 "N 16°09'53.9 "E) (Grad Zagreb), a sjeme koje predstavlja potencijalno rezistentnu populaciju koštana sakupljeno je 2021. godine sa područja Bazije (45°91'54.13 "N 17°45'51.4 "E) (Virovitičko-podravska županija). Zbog učestale primjene nikosulfurona došlo je do pojave rezistentnosti što je potvrđeno biotestom 2021. godine. Za provedbu istraživanja, korišteno je sjeme koštana sa obje lokacije. Sjeme koštana je prije samog početka istraživanja prebrojeno, očišćeno od sjemene ljuske pomoću gumenog čistača te uskladišteno u papirnate vrećice u hladnjak na 4 °C.



Slika 3.1.1. Čišćenje sjemena koštana pomoću gumenog čistača (foto: M. Klarić, 2023.)

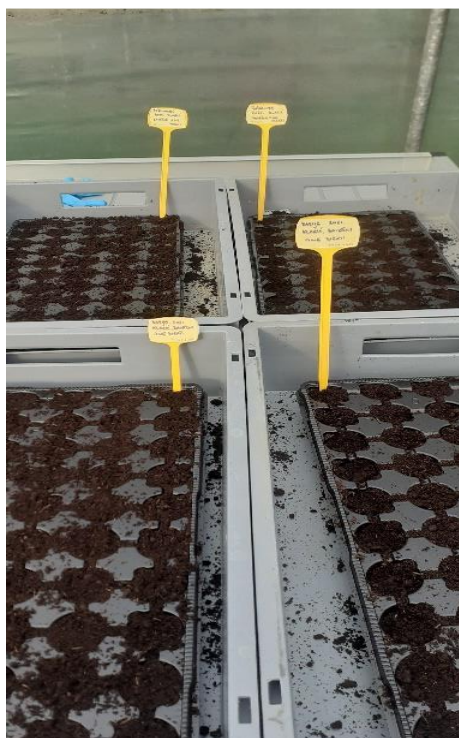
Prije izvođenja pokusa u plateniku, proveden je preliminarni test klijavosti sjemena. Sjeme koštana sa obje lokacije je prvo postavljeno u Petrijeve zdjelice na filter papir (po 25 sjemenki po Petrijevoj zdjelici) u koju je dodano po 5 ml destilirane vode. Nakon utvrđivanja klijavosti sjemena sa područja Bazija (klijavost je iznosila 92 %), bilo je potrebno provjeriti klijavost sjemena sa pokušališta Šašinovečki Lug, zato što je u testu klijavosti korišteno sjeme iz dviju različitih godina. Sjeme koštana sa pokušališta Šašinovečki Lug iz 2020. godine imalo je klijavost 92 %, dok je sjeme koštana sa pokušališta Šašinovečki Lug iz 2022. godine imalo klijavost niskih 84 %. Zbog nižeg postotka klijavosti sjemena koštana iz 2022. godine u istraživanju je korišteno sjeme iz 2020. godine.



Slika 3.1.2. Preliminarni test klijavosti sjemena koštana (s lijeva na desno; Šašinovečki Lug 2020., Šašinovečki Lug 2022., Bazije 2021.) (foto: M. Klarić, 2023.)

3.2. Plastičnički pokus

U plastične kontejnere je posijano 460 sjemenki koštana (2 x 230) za daljnje istraživanje (Slika 3.2.1.). Nakon što je započelo nicanje koštana iz plastičnih kontejnera su mlade biljke presađene u plastične posude. Tjedan dana nakon sjetve, 400 biljaka je presađeno u veće posude, u kojoj se nalazila pomiješana zemlja za presađivanje iz vrtnog centra sa sterilnim tlom koje je prethodno prikupljeno sa polja i sterilizirano u sušioniku (100°C/1h) od primjesa.



Slika 3.2.1. Prikaz posijanog sjemena dviju populacija koštana (foto: M. Klarić, 2023.)

U svaku posudu je posađeno po pet biljaka, a sveukupno je presađeno 400 mladih biljki; 200 biljaka za potencijalno osjetljivu populaciju i 200 biljaka za potencijalno rezistentnu

populaciju. Svaka posuda imala je označeni žuti plastični pokazivač s populacijom i repeticijom koja se pronalazila u toj posudi (Slika 3.2.2.).



Slika 3.2.2. Prikaz presađenog koštana iz kontejnera u plastične lonce (foto: M. Klarić, 2023.)

Biljke posađene u plastične posude su navodnjavane sustavom „kap na kap“ (Slika 3.2.3.). *Dose-response* krivulja dobivena je tretiranjem potencijalno osjetljive populacije linearno padajućim (od 2 puta do 1/128 puta manjom dozom od registrirane) i tretiranjem potencijalno rezistentne populacije linearno rastućim (od 1/2 puta do 64 puta većom dozom od registrirane) dozama herbicida (Tablica 3.2.1.). Tretiranje koštana herbicidom nikosulfuronom je obavljeno 26. travnja 2023. godine u plateniku Zavoda za herbologiju, a koštan se u trenutku tretiranja pronalazio u razvojnoj fazi BBCH 11-13.

Tablica 3.2.1. Doze nikosulfurona korištene za utvrđivanje indeksa rezistentnosti

Doza nikosulfurona (l/ha)			
S populacija		R populacija	
2x	2,5	1/2 x	0,63
x	1,25	x	1,25
1/2 x	0,63	2 x	2,5
1/4 x	0,31	4 x	5
1/8 x	0,16	8 x	10
1/16 x	0,08	16 x	20
1/32 x	0,04	32 x	40
1/64 x	0,02	64 x	80
1/128 x	0,01	128 x	/

Kod *dose-response* testova potencijalno rezistentne i potencijalno osjetljive biljke tretiraju se linearno rastućim/padajućim dozama herbicida te se procjenjuje doza koja je potrebna za suzbijanje 50% biljne mase željene vrste (ED_{50}). Iz omjera ED_{50} za R i S biljke izračunava se indeks rezistentnosti.

Obavljen je vizualni pregled svih plastičnih posuda, izuzev kontrole, 7, 14, 21 te 28 dana nakon tretiranja. U vizualnu ocjenu ulazio je izgled, boja, veličina i oblik biljke tretiranog koštana u odnosu na kontrolu. Prilikom zadnje vizualne ocjene, odnosno 28 dana nakon tretiranja, iz plastičnih posuda je skinuta nadzemna masa koštana i izvagana je u svrhu pokusa.



Slika 3.2.3. Navodnjavanje sustavom „kap po kap“ te prikaz koštana 21 DNT (foto: M. Klarić, 2023.)

3.3. Statistička analiza podataka

Dobiveni podatci obrađeni su dvosmjernom analizom varijance (doza i vrijeme očitavanja, dani nakon tretiranja [DNT]) u programu R (R Core Team 2021., version 4.1.1, Vienna, Austria). Za usporedbu srednjih vrijednosti korišten je Tukey HSD test. Korišteni su paketi „emmeans“ i „multcomp“. Na isti način obrađeni su i podaci izmjerene svježe mase koštana. Prije analize, podaci o svježoj nadzemnoj masi koštana pretvoreni su u postotak redukcije u odnosu na kontrolni tretman prema formuli (Abbott, 1925.):

$$\% \text{ redukcije istraživanog parametra} = \left(\frac{C - T}{C} \right) * 100$$

Za određivanje doze herbicida potrebne za suzbijanje 50 % (ED₅₀) i 90 % (ED₉₀) svježe nadzemne mase koštana korišten je Weibull tip 2, 3-parametrijski model (2.3) u paketu „drc“ (Ritz i sur., 2015).

4. REZULTATI I RASPRAVA RADA

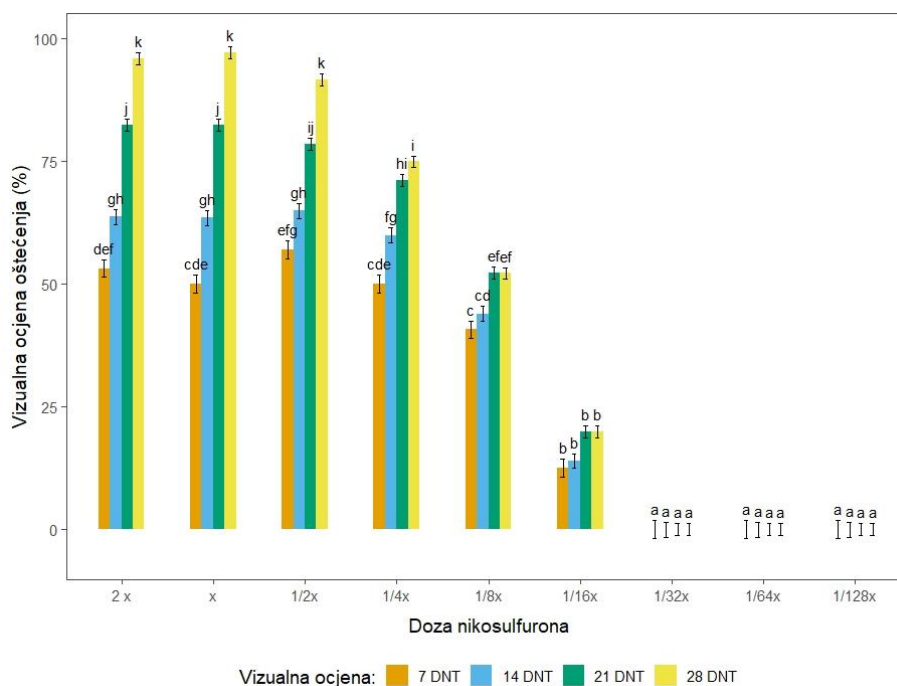
Rezultati prikazani u tablicama i grafovima prikazuju osjetljivu i potencijalno rezistentnu populaciju, njihove vizualne ocjene te redukciju nadzemne mase koštana kod obje populacije. Vidljive su značajne statističke razlike između primjenjivanih doza i vizualne ocjene 7,14, 21 i 28 dana nakon tretiranja (DNT).

Tablica 4.1. Rezultati dvosmjerne analize varijance za vizualnu ocjenu učinkovitosti nikosulfurona 7, 14, 21 i 28 dana nakon tretiranja (DNT) na osjetljivu (S) populaciju koštana

Izvor varijabilnosti	n-1	SS	MS	F _{exp}	Pr(>F)
Doza	8	149022	18627,8	2165,556	***
DNT	3	7637	2545,8	295,959	***
Doza x DNT	24	6866	286,1	33,258	***
Greška	108	929	8,6		

Oznake signifikantnosti za p-vrijednost: <0,001=***

Rezultati dvosmjerne analize varijance (Tablica 4.1.) ukazuju na utvrđenu značajnu statističku razliku između različitih primijenjenih doza herbicida nikosulfurona kao i na razliku između različitog vremena utvrđivanja vizualne ocjene oštećenja koštana nakon primjene navedenog herbicida. U Grafikonu 4.1. prikazan je postotak oštećenja osjetljive populacije koštana pri primjeni linearno padajućih doza nikosulfurona 7, 14, 21 i 28 dana nakon tretiranja.



Grafikon 4.1. Prosječna ocjena učinka nikosulfurona na osjetljivu populaciju (S) koštana 7, 14, 21 i 28 dana nakon tretiranja

Rezultati istraživanja ukazuju na različitu osjetljivost koštana pri primjeni linearno padajućih doza herbicida nikosulfurona (Grafikon 4.1). Osjetljivost koštana smanjuje se smanjenjem doze, pri čemu pri 1/32x, 1/64x te 1/128x manjim doza od preporučene učinak potpuno izostaje (0 %). Osjetljivost koštana povećana je pri dozama od 2x – 1/16x pri čemu više doze ostvaraju bolju učinkovitost.

Iz prikazanog Grafikona 4.1. uočljiv je regresivan trend između većih i manjih primijenjenih doza herbicida nikosulfurona, ali i progresivan trend između prve i zadnje ocjene (2x - 1/16x). Sedmi dan nakon tretiranja vizualne ocjene su bile najmanje jer je učinkovitost slabija u početnom periodu tretiranja, ali prolaskom navedenog perioda ono se povećalo te je oštećenje nadzemne mase bilo znatno jače. Najveći trend upravo je postignut tretiranjem osjetljive populacije s dvostruko većom, preporučenom te dvostruko manjom dozom od propisane. Kod dvostruke doze nikosulfurona oštećenja su sa 53,2 % (7 DNT) povećana na 96 % (28 DNT). Kod preporučene doze oštećenja su povećana sa 50 % (7 DNT) na 97,2 % (28 DNT), a tretiranjem dvostruko manjom dozom, oštećenja su povećana sa 57 % (7 DNT) na 91,8 % (28 DNT). Tretiranjem osjetljive populacije koštana 1/32x, 1/64x te 1/128x manjom dozom od preporučene oštećenja nadzemnog dijela koštana nije vidljivo te izostaje učinak herbicida nikosulfurona. Statistički značajna razlika 28 DNT nije utvrđena kod dvostruke, preporučene te dvostruko manje doze od preporučene (oštećenja su iznosila 91,8 – 96 %).



Slika 4.1. Osjetljiva (S) populacija koštana (foto: M. Klarić, 2023.)

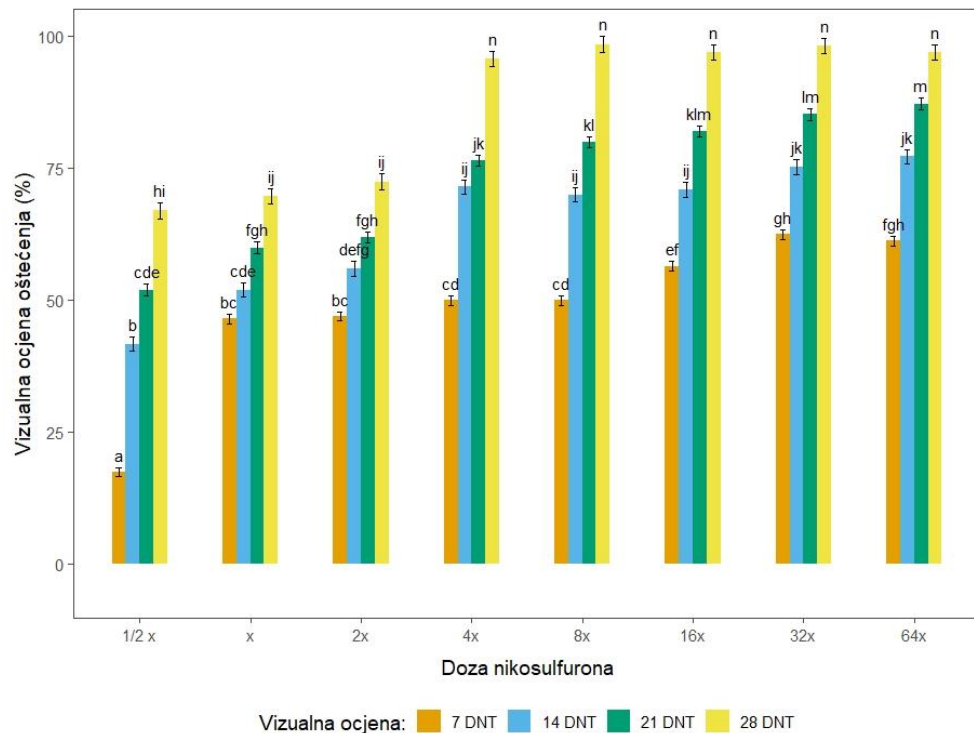
Tablica 4.2. Rezultati analize varijance za vizualnu ocjenu učinkovitosti nikosulfurona 7, 14, 21 i 28 dana nakon tretiranja (DNT) na potencijalno rezistentnu (R) populaciju koštana

Izvor varijabilnosti	n-1	SS	MS	F_{exp}	Pr(>F)
Doza	7	19245,6	2749,4	457,633	***
DNT	3	24434,1	8144,7	1355,688	***
Doza x DNT	21	1586,0	75,5	12,571	***
Greška	96	576,8	6,0		

Oznake signifikantnosti za p-vrijednost: <0,001=***

Rezultati dvosmjerne analize varijance prikazanoj u Tablici 4.2. ukazuju na utvrđenu

značajnu statističku razliku između doze i različitog vremena utvrđivanja vizualne ocjene oštećenja (DNT) koštana nakon primjene navedenog herbicida, gdje je kod uočena promjena kod doze i kod DNT. U Grafikonu 4.2. prikazan je postotak oštećenja potencijalno osjetljive populacije koštana pri primjerni linearno rastućih doza nikosulfurona 7, 14, 21 i 28 dana nakon tretiranja.



Grafikon 4.2. Prosječna ocjena učinka nikosulfurona na potencijalno rezistentnu populaciju (R) koštana 7, 14, 21 i 28 dana nakon tretiranja

Rezultati istraživanja ukazuju na različitu osjetljivost koštana pri primjeni linearno rastućih doza herbicida nikosulfurona (Grafikon 4.2.). Osjetljivost koštana očekivano je najveća pri višim dozama herbicida od 4x – 64x pri čemu više doze ostvaraju bolju učinkovitost. Iako više doze ostvaruju bolji učinak u odnosu na niže doze, doze 1/2x – 2x prilikom zadnjeg ocjenjivanja (28 DNT) imale su 70 i više % oštećenja nadzemne mase potencijalno rezistentne populacije. Kod tretmana sa preporučenom dozom, dvostruko većom, 4x i 8x većom dozom od preporučene, 7 DNT vizualna oštećenja nadzemnog dijela koštana iznosila su između 45-50 %, dok je oštećenje nadzemnog dijela koštana kod dvostruko manje doze od preporučene 7 DNT iznosila oko 20 %. Kod tretmana 16x, 32x i 64x većom dozom od preporučene, progresivan trend je nastavljen od 7 DNT sve do 28 DNT. Najveći progresivan trend od 7 DNT pa sve do 28 DNT vidljiv je kod doza od 4x do 64x puta veće doze od preporučene, gdje je oštećenje nadzemnog dijela 7 DNT iznosio između 50 i 60 %, a prilikom zadnjeg ocjenjivanja (28 DNT) oštećenja nadzemnog dijela iznosila su 95 i više %. Oštećenja prilikom zadnjeg ocjenjivanja također su podjednake kod dvostruko veće doze, preporučene i dvostruko manje doze od preporučene, gdje je oštećenje nadzemnog dijela koštana iznosio oko 70 %.

Iz prikazanog Grafikona 4.1. uočljiv je progresivan trend između manjih i većih

primijenjenih doza herbicida nikosulfurona, ali i progresivan trend između prve i zadnje vizualne ocjene u svim tretmanima. Sedmi dan nakon tretiranja vizualne ocjene su bile najmanje jer je učinkovitost slabija u početnom periodu tretiranja, ali prolaskom navedenog perioda ono se povećalo te je oštećenje nadzemne mase bilo znatno jače. Najveći trend upravo je postignut tretiranjem potencijalno rezistentne populacije dozama 4x – 64x većom od propisane (95-100 %).



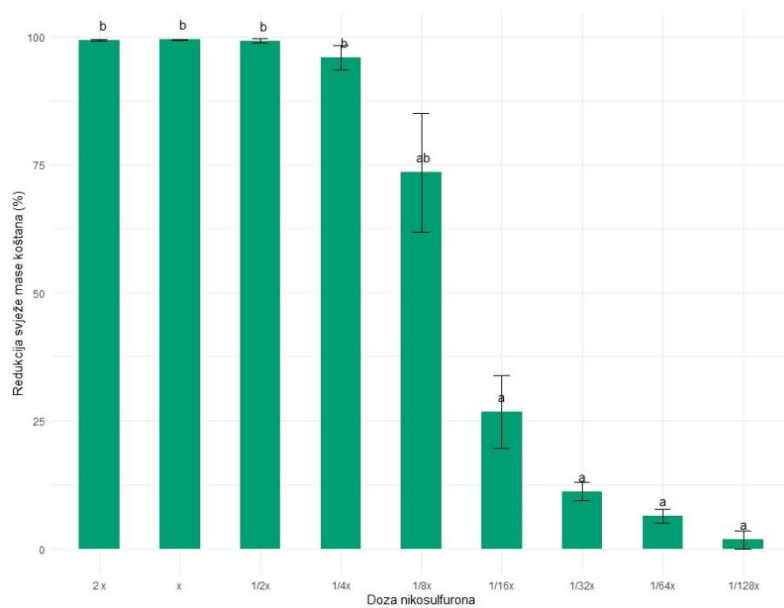
Slika 4.2. Potencijalno rezistentna (R) populacija koštana (foto: M. Klarić, 2023.)

Tablica 4.3. Rezultati analize varijance za svježu masu koštana osjetljive (S) i potencijalno rezistentne populacije (R)

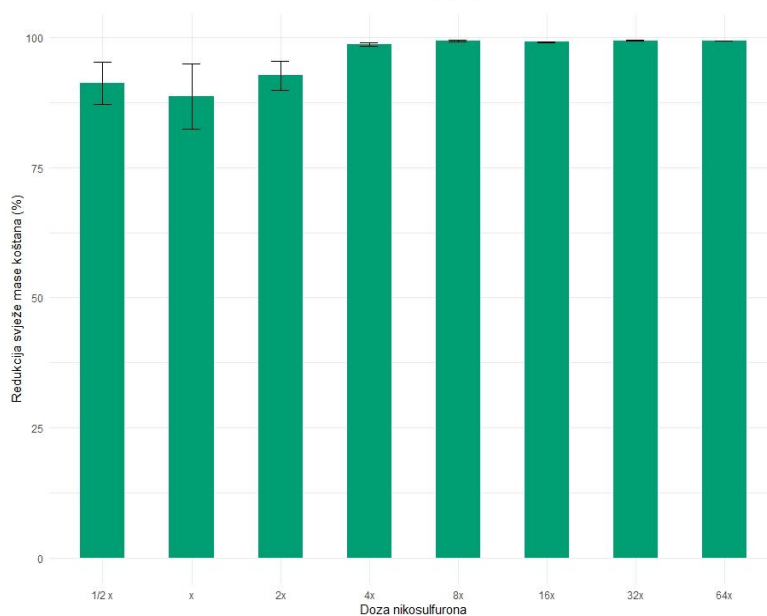
Izvor varijabilnosti	n-1	Pr(>F) % redukcije svježe mase S	% redukcije svježe mase R
Doza (S)	8	< 2,2e-16 ***	
Greška (S)	27		
Doza (R)	7		0,04281 *
Greška (R)	24		

Oznake signifikantnosti za p-vrijednost: <0,001=*** , <0,05 = *

Rezultati analize varijance za svježu masu koštana kod osjetljive (S) populacije i potencijalno rezistentne (R) populacije (Tablica 4.3.) ukazuju na statističku razliku u rezultatima prilikom različitih doza herbicida i očitovanja vizualnih ocjena.

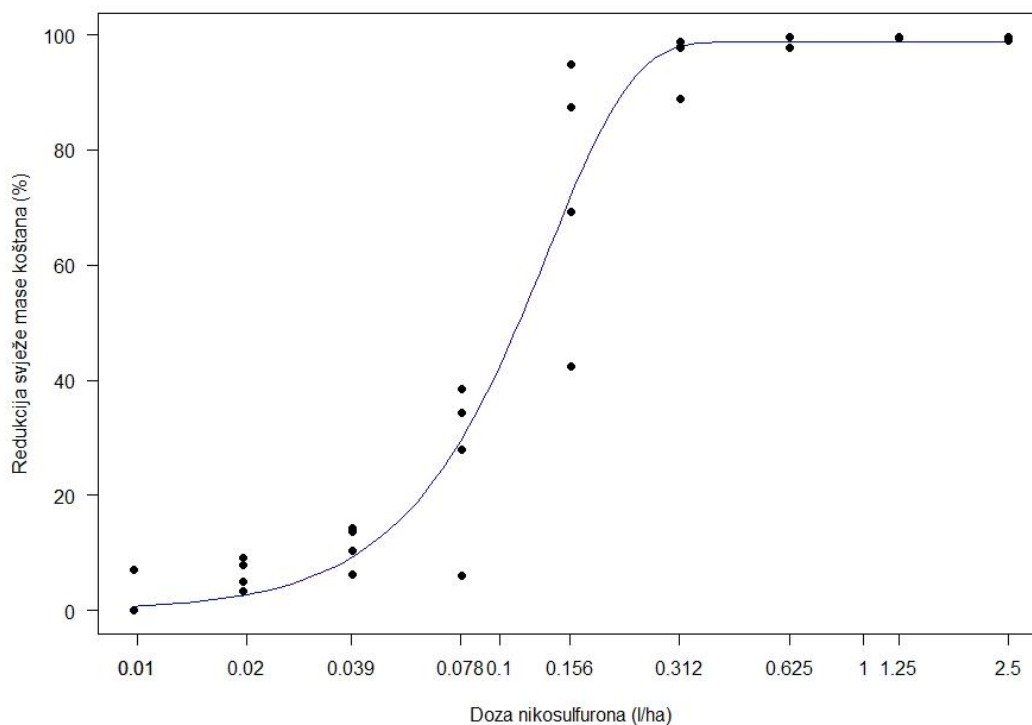


Grafikon 4.3. Prosječna redukcija svježe mase osjetljive populacije (S) koštana pri primjeni linearno padajućih doza nikosulfurona



Grafikon 4.4. Prosječna redukcija svježe mase potencijalno rezistentne populacije (R) koštana pri primjeni linearno rastućih doza nikosulfurona

Promatrajući Grafikon 4.3. i Grafikon 4.4. vidljiva je znatna redukcija svježe nadzemne mase koštana. Kod S populacije (Grafikon 4.3.) redukcija svježe mase je izostajala kako se doza herbicida smanjivala. Iz priloženog grafikona vidljiv je gotovo 100 % učinak za prva tri tretmana, ali kasnijim smanjivanjem doze nikosulfurona, učinak je bio manji. Kod R populacije (Grafikon 4.4.) učinak herbicida nikosulfurona je u svim tretmanima djelovao iznad 90 %. Za razliku od osjetljive populacije, pri istim dozama herbicida nikosulfurona (1/2x - 2x) vidljiva je razlika u redukciji nadzemne mase te ono kod S populacije iznosi 100 %, a kod R populacije iznosi između 92 i 95 %. Kasnijim povećavanjem doze herbicida nikosulfurona, 4x – 64x, učinak herbicida nikosulfurona bio je 100 %.



Grafikon 4.5. Dose-response krivulja (Weibull tip 2) redukcije svježe nadzemne mase osjetljive populacije (S) koštana primjenom linearno padajućih doza nikosulfurona

Iz Grafikona 4.5. vidljivo je da je povećanje doze nikosulfurona slijedilo i povećanje redukcije svježe mase koštana. Utvrđena procijenjena vrijednost učinkovite doze herbicida nikosulfurona potrebna za suzbijanje 50%-tne (ED_{50}) svježe nadzemne mase iznosi 0,11 ($\pm 0,01$) l/ha što je 11 puta niža doza u odnosu na preporučenu dozu nikosulfurona (1,25 l/ha). Procijenjena vrijednost ED_{90} , odnosno učinkovite doze potrebne za suzbijanje 90 % nadzemne mase koštana iznosi 0,21 l/ha, odnosno 6 puta manja doza od preporučene i korištene doze nikosulfurona.

U svijetu je zabilježeno pet slučajeva rezistentnih populacija koštana na nikosulfuron, od kojih se svih pet slučajeva nalaze u Europi. Osim koštana, u svijetu na nikosulfuron su rezistentne i neke od sljedećih korovnih vrsta: *Sorghum halepense*, *Amaranthus retroflexus*, *Stellaria media*, *Setaria viridis*, *Bidens subalternans* i dr. U Republici Hrvatskoj utvrđena je rezistentnost na ALS herbicide (nikosulfuron i foramsulfuron) kod vrste *Sorghum halepense*. Grgić i Rakonić (2020.) utvrdile su da ED_{50} za osjetljivu populaciju divljeg sirka iznosi 1,5 grama nikosulfurona, a za rezistentnu populaciju 121,8 grama nikosulfurona. Također Malidža i sur. (2014.) utvrdili su rezistentnost divljeg sirka na području Srbije na herbicid nikosulfuron, ali i na ostale herbicide iz skupine ALS herbicida, gdje je indeks rezistentnosti divljeg sirka iznosio od 229 do 2198, što označava vrlo visoku rezistentnu populaciju. U sklopu projekta „Monitoring rezistentnosti štetnih organizama na sredstva za zaštitu bilja u Republici Hrvatskoj (2018.- 2020.)“ dokazana je visoka rezistentnost na korovnu vrstu *Sorghum halepense* gdje je od 12 testiranih uzoraka, polovica bila visoko rezistentna, a pri trostruko većoj dozi od

preporučene nije bilo nikakvog učinka (Novak i Novak, 2018). Panozzo i sur. (2015.) utvrdili su u svojem istraživanju rezistentnost i visoku rezistentnost na nikosulfuron u 18 mađarskih i dva talijanska biotipa divljeg sirka. Talijanski biotipovi osim rezistentnosti na nikosulfuron, pokazali su unakrsnu rezistentnost i na ostale ALS herbicide. Zhao i sur. (2023.) utvrdili su rezistentnost vrste *Digitaria sanguinalis* na nikosulfuron u poljima kukuruza. Panozzo i sur. (2017.) utvrdili su višestruku rezistentnost na ALS herbicide, a u istraživanju je korišten upravo nikosulfuron na koštanu, gdje je indeks rezistentnosti iznosio 413. Rezistentna populacija u njihovom istraživanju imala je redukciju nadzemne mase koštana tek pri osam puta većoj dozi od propisane i tamo je redukcija iznosila 90 i više %. Sve doze manje od 8x, nisu uspjele reducirati nadzemnu masu koštana do iznad 50 %.

Prvi korak u dokazivanju rezistentnosti biotest metodom potrebno je bilo utvrditi osjetljivost osjetljive (S) populacije koštana na herbicid nikosulfuron. Osjetljiva populacija sakupljena je sa parcele na kojoj nikada nisu bili upotrebljavani ALS herbicidi. Rezultati provedenih biotestova na osjetljivoj populaciji koštana ukazuju da se radi o visoko osjetljivoj populaciji na istraživani herbicid - nikosulfuron. Malidža i Rajković (2018.) također su utvrđivali osjetljivost na ALS herbicide. Istraživanje je uključivalo herbicide nikosulfuron i imazamoks, a utvrđene su vrijednosti GR₅₀ za nikosulfuron od 1,32 grama te za imazamoks 3,59 grama na osjetljivim populacijama divljeg sirka gdje je također potvrđeno da se radi o visoko osjetljivim populacijama. Hennigh i Al-Khatib (2010.) su u svom istraživanju utvrdili visoko osjetljivu populaciju koštana na herbicid nikosulfuron, rimsulfuron i nikosulfuron u kombinaciji sa rimsulfuronom. Kombinacijom nikosulfurona sa rimsulfurona imala je najbolju učinkovitost, a dobivena je redukcija nadzemne mase koštana od 90 i više %. Za redukciju 50 % nadzemne mase koštana potrebno je 31 % (nikosulfuron), 37 % (rimsulfuron) te 23 % (nikosulfuron u kombinaciji sa rimsulfuronom) manje od preporučene doze herbicida (Hennigh i Al-Khatib, 2010). Damalas i sur. (2012.) utvrdili su osjetljive populacije *Echinochloa oryzoides* i *Echinochloa phyllopogon* na herbicide nikosulfuron, rimsulfuron i foramsulfuron. Obje vrste su uspješno bile suzbijene, kada se je tretiranje obavilo u pravo vrijeme, odnosno u ranijim razvojnim stadijima. Nikosulfuron je imao najbolju učinkovitost redukcije, 83 – 100 % nadzemne mase koštana, rimsulfuron 78 – 100 % nadzemne mase koštana, a foramsulfuron 73 – 79 % nadzemne mase koštana.

Kod potencijalno rezistentne (R) populacije, provodilo se je tretiranje prikupljenog koštana sa linearno rastućim dozama herbicida, gdje je najveća doza bila 64x, odnosno 80 l/ha nikosulfurona. Rezultati su pokazali da je pri 4x – 64x većom dozom od preporučene koštanu reducirana nadzemna masa za oko 95 %. Pri 1/2x – 2x dozom nikosulfurona, također je došlo do redukcije nadzemne mase koštana, ali u manjoj mjeri nego kod S populacije. R populacija je imala reducirani nadzemni dio do 75 %, dok je S populacija imala oko 95 % pri istim dozama herbicida nikosulfurona. Slični rezultati dobiveni su u istraživanju Božić i sur. (2010.) gdje je samo jedna populacija divljeg sirka imala djelomičnu osjetljivost u odnosu na druge biotipove te je naglasak stavljen na početni stadij rezistentnosti.

5. ZAKLJUČAK

Provedenom biotest metodom, odnosno *dose-response* metodom na potencijalno rezistentnoj i osjetljivoj populaciji koštana utvrđeno je sljedeće:

- populaciji koštana koja je sakupljena i prikupljena sa lokacije Bazija djelomično je smanjena osjetljivost u odnosu na osjetljivu populaciju te se ovom biotest metodom može zaključiti početak razvoja rezistentnosti kod potencijalno rezistentne populacije
- najveća oštećenja kod osjetljive (S) populacije utvrđena su kod najvećih primijenjenih doza herbicida nikosulfurona $2x - 1/2x$ (90 - 97 %), a najveća oštećenja kod potencijalno rezistentne (R) populacije utvrđena su kod većih primjenjivanih doza $4x - 64x$ (95 - 100 %)
- *dose - response* krivuljom osjetljive (S) populacije procijenjena je doza herbicida nikosulfurona koja je potrebna za redukciju 50 % nadzemne mase te ona iznosi 0,11 ($\pm 0,1$) l/ha; što je za oko 11,5 puta manja doza od preporučene (1,25 l/ha), a za redukciju 90% nadzemne mase koštana ono iznosi 0,21 l/ha, što je šest puta manja doza od preporučene (1,25 l/ha)
- usporedno gledajući rezultate vizualnih ocjena potencijalno rezistentne (R) i osjetljive (S) populacije kod dvostruko manje, preporučene i dvostruko veće doze od preporučene, uočava se razlika u oštećenju nadzemnog dijela koštana; kod S populacije 28 DNT iznosi između 95 i 100 %, a kod R populacije ono iznosi između 70 i 75 %

6. LITERATURA

1. Abbott W.S. (1925). A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide, *Journal of Economic Entomology*. 18 (2): 265–267.
2. Alvarado, V., Bradford, K.J., (2002). A hydrothermanl time mode explains the cardinal temperatures for seed germination. *Plant Cell Environ* 25, 1061 – 1069
3. Anghel, G., Chirilă, C., Ciocârlan, V., Ulinici, A. (1972). The weeds from agricultural cultures and their combating. Ed. Ceres, Bucharest.
4. Azmi, M., (1988). Weed competitions in rice production. Proc. of the National Seminar and Workshop on Rice Field Management (Eds. Chang et al.) 141-152.
5. Bajwa, A. A., Jabran, K., Shahid, M., Ali, H.H., Chauhan, B.S., Ehsanukkah, (2015). Eco-biology and management of *Echinochloa crus-galli*. *Crop protection* 75 (2015) 151 – 162
6. Barić K., Bažok R., Pintar A. (2019). Potrošnja pesticida u hrvatskoj poljoprivredi u razdoblju od 2012. do 2017. godine, *Glasilo biljne zaštite*. 19: 537- 548.
7. Barić, K., Ostojić, Z. (2017). Opis problema rezistentnosti korova na herbicide. *Glasilo biljne zaštite*, XVII (5) 485 – 493
8. Barić, K., Ostojić, Z. (2023). Herbicidi. U: Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj za 2023. godinu. *Glasilo biljne zaštite*. vol. 23, 1-2:241-251.
9. Beckie, H.J., (2006). Herbicide-resistant weeds: management tactics and practices. *Weed Technol.* 20, 793-814
10. Bogdan, I., Guş, P., Rusu, T., Moraru, P. I., Pop, A. I. (2007). Research concerning the weeding level of autumn wheat – potato – maize – and soybean crop rotation, in Cluj county. *Bulletin of USAMV-CN*, 63-64, 283-290. Ed. AcademicPres®, Cluj-Napoca.
11. Božić, D., Elezović, I., Sarić, M., Onć, Jovanović, E., Vrbničanin, S. (2010.), Reakcije populacija *Sorghum halepense* L. (Pers.) na nikosulfuron, rimsulfuron i prosulfuron+primisulfuron-metil
12. Charudattan, R., (2001.), Biological control of weeds by means of plant pathogens: significance for integrated weed management in modern agro-ecology. *BioControl* 46, 229-260.
13. Chin, D.V., (2001.), Biology and management of barnyardgrass, red sprangletop and weedy rice. *Weed Biol. Manage* 1, 37-41.
14. Damalas, C. A., Lithourgidis A. S., Eleftherohorinos I. G., (2012). *Echinochloa* species control in maize (*Zea mays* L.) with sulfonylurea herbicides applied alone and in mixtures with broadleaf herbicides. *Crop protection* 34, 70-75
15. Gibson, K.D., Fischer, A.J., Foin, T.C., Hill, J.E., (2002.), Implications of delayed *Echinochloa* spp. germination and duration of competition for integrated weed management in water-seeded rice. *Weed Res.* 42, 351-358.
16. Gligić, V., (1953). Etimološki botanički rečnik, Sarajevo: "Veselin Masleša"
17. Grgić, T., (2021.), Utvrđivanje rezistentnosti ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia* L.) na herbicid tifensulfuron; diplomski rad
18. Heap I. (2023). International Herbicide - Resistant weed database

<http://weedscience.org/> - pristup 12. srpnja 2023.

19. Hennigh, D.S., Al-Khatib, K., (2010). Response of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*), green foxtail (*Setaria viridis*), longspine sandbur (*Cenchrus longispinus*) and large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) to nicosulfuron and rimsulfuron. *Weed Sci.* 58, 189-194.
20. Holm L., Doll J., Holm E., Pancho J., Herberger J. (1997): *World Weeds: Natural Histories and Distribution*. John Wiley & Sons, New York.
21. Holm, L. G., Plucknett D, L., Pancho J. V. and Herberger, J. P. (1977). *The world's worst weeds – distribution and biology*. University Press of Hawaii, Honolulu, Hawaii. 609 pp.
22. Holm, L., G., Pancho, J., V., Herberger, J., P., Plunknett, D., L., (1991). *A geographical atlas of world weeds*. Krieger Publishing Company, Malabar.
23. Huang, S., Watson, A., Duan, G., Yu, L., (2012.), Preliminary evaluation of potential pathogenic fungi as bioherbicides of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in China. *Int. Rice Res. Notes* 26.
24. Khanh, T.D., Elzaawely, A.A., Chung, I.M., Ahn, J.K., Tawata, S., Xuan, T.D., (2007.), Role of allelochemicals for weed management in rice. *Allelopathy J.* 19, 85-96
25. Malidža G., Rajković M. (2018). Rezistentnost korova na herbicide u Srbiji sa predlogom mera za ublažavanje rezistentnosti. *Zbornik radova sa savetovanja, Novi Sad str.* 21-35
26. Malidža G., Rajković M., Vrbničanin S., Božić D. (2014). Identification and distribution of ALS resistant *Sorghum halepense* populations in Serbia. *Book of abstract of the 17th European Weed Research Society Symposium.* 115
27. Marambe, B., Amarasinghe, L., (2002.), Propanil-resistant barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* L.) in Sri Lanka: seedling growth under different temperatures and control. *Weed Biol. Manage* 2, 194-199.
28. Novak, N., Novak, M. (2018). Osjetljivost divljeg sirka na herbicid nikosulfuron; projekt „Monitoring rezistentnosti štetnih organizama na sredstva za zaštitu bilja u Republici Hrvatskoj (2018.- 2020.)“
29. Ostojić, Z. (2011). Naši napasni korovi - Koštan zakorovljuje gotovo sve kulture, *Gospodarski list.* 168, 1; 13-13.
30. Panozzo S, Scarabel L, Rosan V and Sattin M (2017). A New Ala-122-Asn Amino Acid Change Confers Decreased Fitness to ALS-Resistant *Echinochloa crus-galli*
31. Panozzo, S., Scarabel, L., Balogh, Á., Heini, J., Dancza, I., Sattin, M. (2015). First European cases of *Sorghum halepense* to ALS inhibitors: Resistance patterns and mechanisms
32. Păunescu, G. (1997). Researches regarding the depth influence and durability upon caryopsis germination of *Echinochloa crus-galli*. *Proplant* 97, p.155-164.
33. Rice, E.L., (1984.), *Allelopathy*, second ed. Academic Press, New York, pp. 301-332.
34. Ritz, C., Baty, F., Streibig, J. C., Gerhard, D. (2015). Dose-Response Analysis Using R. *PLOS ONE*, 10(12).
35. Rusu, T., Bogdan, I. (2012). Influence of Degree Infestation with *Echinochloa crus-galli* Species on Crop Production in Corn, Herbicides - Properties, Synthesis and

Control of Weeds.

36. Rusu, T., Gus, P., Bogdan, I., Moraru, P.I., Pop, A.I., Sopterean, M., L., Pop, L.,I. (2010). Influence of infestation with *Echinochloa crus-galli* species on crop production in corn. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, vol. 8(2/2010), p. 760-764, WFL Publisher Science and Technology, Helsinki, Finlanda.
37. Sadeghloo, A., Asghari, J., Ghaderi-Far, F. (2013). Seed germination and seedling emergence of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) and barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*), *Planta daninha*, 31 (2): 259 – 266.
38. Smith, R. J., Shaw, W. C. (1996). Weed and their control in rice production, U.S. Government Printing Office, Washington D.C., Agric. Handbook 292, 64.
39. Steinmaus, S. J., Prather, T. S., Holt, J. S. (2000). Estimation of base temperatures for nine weed species. *Journal of Experimental Botany* 51: 275 – 286.
40. Šćepanović M., Šoštarčić V., Pintar A., Lakić J., Barić K. (2020). Pojava rezistentnih populacija korova na herbicide inhibitore acetolaktat-sintaze u Republici Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite*. 6: 628-629
41. Šoštarčić, V.; Masin, R.; Loddo, D.; Svečnjak, Z.; Rubinić, V.; Šćepanović, M. Predicting the Emergence of *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. in Maize Crop in Croatia with Hydrothermal Model. *Agronomy* 2021, 11, 2072.
42. Vengris, J., Kacperska-Palacz, A. E., Livingston, R. B. (1966). Growth and development of barnyardgrass in Massachusetts. *Weeds*, 14, 299 – 301.
43. Wilson, M.J., Norsworthy, J.K., Scott, R.C., Gbur, E.E., (2014). Program approaches to control herbicide-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Mid-southern United States rice. *Weed Technol.* 28, 39-46
44. Wilson, R. (1979). Irrigation weed seed. *Farm, Ranch and Home Quarterly*, 26, 16-18
45. Zhao, B., Xu, X., Li, B., Qi, Z., Huang, J., Hu, A., Wang, G., & Liu, X. (2023). Target-site mutation and enhanced metabolism endow resistance to nicosulfuron in a *Digitaria sanguinalis* population. *Pesticide biochemistry and physiology*, 194, 105488