

**Ivana MAJIĆ<sup>1</sup>, Emilija RASPUDIĆ<sup>1</sup>, Branimir NJEŽIĆ<sup>2</sup>, Gabriella KANIŽAI ŠARIĆ<sup>1</sup>,  
Ankica SARAJLIĆ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku

<sup>2</sup>Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet, Institut za genetičke resurse  
imajic@pfos.hr

## **VAŽNOST PLODOREDA I BIONEMATOCIDA U SUZBIJANJU *Meloidogyne hapla* i *Paratylenchus bukowinensis* U MRKVI I PERŠINU**

### SAŽETAK

Suzbijanje i održavanje razine populacije biljno parazitskih nematoda ispod ekonomskoga praga štetnosti u korjenastom povrću zahtijeva integrirani pristup primjene agrotehničkih mjera i bioloških sredstava za zaštitu bilja jer kemijski nematocidi nisu dozvoljeni. Ciljevi istraživanja bili su utvrditi utjecaj plodoreda na populaciju *Meloidogyne hapla* (sjeverna nematoda korijenovih kvržica) i učinkovitost bionematocida Nemakey<sup>TM</sup> u suzbijanju *Paratylenchus bukowinensis* (igličaste nematode). Pokus je postavljen u ljetnom usjevu mrkve i peršina tijekom 2016. godine u Tvrđavici kod Osijeka. Populacija *M. hapla* smanjena je ispod ekonomskoga praga štetnosti uvođenjem kupusnjača u plodored koje su uzgajane na foliji. Prije sjetve mrkve i peršina, populacija *P. bukowinensis* kretala se od 155 do 470 nematoda u 100 mL tla, a vrhunac populacije od 217 do 920 nematoda u 100 mL tla utvrđen je pri vađenju. Bionematocid je bio slabo učinkovit u suzbijanju populacije igličastih nematoda u mrkvi. Utvrđena su ekonomski značajna oštećenja korijena mrkve (63 %) i peršina (43 %) od *P. bukowinensis*. Simptomi oštećenja mrkve i peršina od igličastih nematoda vrlo su slični simptomima napada nematoda korijenovih kvržica pri čemu je korijen biljke deformiran, ali nema kvržica. Koliko nam je poznato, do sada u RH nisu opisana u literaturi znatna oštećenja korjenastoga povrća od igličastih nematoda

**Ključne riječi:** nematode korijenovih kvržica, igličaste nematode, deformiranost korijena, kupus, Nemakey<sup>TM</sup>

### UVOD

Nematode korijenovih kvržica (*Meloidogyne* spp.) rasprostranjene su u cijeloj Hrvatskoj, a od 1980- tih godina najčešće su zabilježene štete na krastavcima, paprici i rajčici (Oštrec, 1991; Raspudić i sur., 2006; Goreta Ban i sur., 2014). Smatraju se ekonomski najznačajnijim biljno parazitskim nematodama korjenastog povrća. Infektivne ličinke ubušuju se cijelim tijelom u korijen, te svojim enzimima potiču stvaranje hipertrofiranih stanica zbog čega se na

korijenu razvijaju simptomi u obliku kvržica. Ostali simptomi zaraze ovise o vrsti nematode korijenovih kvržica, a može se pojaviti deformiranost (rašljivost) korijena i razvoj sekundarnoga korijenja (čupavo korijenje) s kvržicama. Najvažnija vrsta u usjevu mrkve u polju jest *M. hapla*, a u zaštićenim prostorima česte su vrste *M. incognita*, *M. javanica*, *M. chitwoodi* i *M. fallax* (Wesemael i sur., 2011; Seo i sur., 2015). *M. hapla* (sjeverna nematoda korijenovih kvržica) parazitira na više od 550 biljnih vrsta. Ženka tijekom života može odložiti više od 1000 jaja. Jedna generacija završava svoj razvoj najranije za sedam dana do osam tjedana. Temperatura tla znatno utječe na potencijal štetnosti *M. hapla* u mrkvi. Najopasnije su kada su temperature tla pri sjetvi ili u početnim stadijima razvoja biljke više od 13 °C. Ispod ove temperature razvoj nematoda korijenovih kvržica usporen je pa je time i njihova štetnost zanemariva. Ovisno o državi, ekonomski prag štetnosti za *M. hapla* u mrkvi znatno se razlikuje (Gugino i sur., 2006.). Prisutnost već jedne ličinke *M. hapla* u 100 mL tla može uzrokovati ekonomski značajne gubitke, no u nekim istraživanjima prag štetnosti više je od 100 nematoda u 100 mL tla (Vrain, 1982.). Suzbijanje nematoda u mrkvi i peršinu otežano je i kompleksno s obzirom da kemijski nematocidi nisu dozvoljeni.

Osim na korjenastom povrću, igličaste nematode (*Paratylenchus* spp.) važni su štetnici kupusnjača i koštičavih voćnih vrsta. Igličaste su nematode ektoparaziti odnosno nakon što pronađu mjesto ishrane na korijenu usnom bodljom (stiletom) sišu biljne sokove, pri čemu ne ubušuju cijelim tijelom u biljku. Pri temperaturi od 25 do 28 °C razvoj jedne generacije traje oko 30 dana. Populacija igličastih nematoda u tlu najveća je u zoni korijena biljke. U uvjetima nedostatka biljke domaćina te ekstremne suše ili drugoga stresa, igličaste nematode usporavaju svoj razvoj i ostaju u četvrtom stadiju ličinke. Ličinka četvrtoga stadija iznimno je otporna na ekstremne abiotske i biotske uvjete, nema razvijen stilet i ne hrani se te nije aktivna sve do pojave optimalnih uvjeta (Ishibashi i sur., 1975). Izlučevine korijena biljke domaćina potiču preobrazbu ličinki igličastih nematoda iz nižih u više stadije razvoja. *P. bukowinensis* stalni je i ekonomski značajan štetnik u Poljskoj na peršinu i celeru (Brzeski & Radzikowska, 1980; Brzeski, 1991). U istraživanju Chałańska i sur. (2017), unatoč primjeni nematocida s djelatnom tvari fostiazat populacija *P. bukowinensis* načinila je značajne ekonomske štete u usjevu celera. Simptomi oštećenja od igličastih nematoda jesu deformiran korijen sa smeđim nekrotičnim pjegama (lezijama), ali bez kvržica i razvijenoga sekundarnoga korijenja.

U zaštiti korjenastog povrća od tih štetnika prijeko je potrebna istovremena primjena više mjera integrirane zaštite bilja, a najvažnije su: plodored, zdrav sadni materijal, pomicanje rokova sjetve/sadnje, biofumigacija (zelena gnojidba), solarizacija (najmanje 30 dana) te upotreba biljnih ojačivača i biopesticida (biljni ekstrakti, nematofagne gljivice i dr.). Za smanjenje

populacije nematoda korijenovih kvržica u plodored s mrkvom treba uvesti kupusnjače, luk i žitarice, a luk, rajčicu i pšenicu za smanjenje populacije igličastih nematoda.

Ciljevi istraživanja bili su utvrditi utjecaj plodoreda na populaciju nematoda korijenovih kvržica (rod *Meloidogyne*) i učinkovitost sredstva Nemakey™ u suzbijanju igličastih nematoda (rod *Paratylenchus*).

## MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno u ljetnom usjevu mrkve i peršina tijekom 2016. godine u Tvrđavici (45°33'59.7" N, 18°42'13.1" E) kod Osijeka. Tlo je pjeskovito (aluvijalno), a cijela proizvodna površina navodnjavana je sustavom kap po kap. Zajednica nematoda u tlu i biljnom materijalu na ovoj površini praćena je od 2013. godine. Mrkva (sorta Maestro) posijana je krajem srpnja 2016. godine na od 2000 m<sup>2</sup>. Pretkultura mrkvi, u proljeće bio je luk srebrenac. Pet dana nakon sjetve mrkve, kroz sustav za navodnjavanje primijenjen je jedan tretman pripravka Nemakey™ (Merkez Anadolu Kimya Ltd. Şti) u preporučenoj dozi (10 L ha<sup>-2</sup>). Nemakey™ jest tekuće organsko gnojivo i biljni ojačivač s nematocidnim djelovanjem. Sadrži ekstrakte kadifice, sezama i timijana, koji repelentnim djelovanjem smanjuju populaciju biljno parazitskih nematoda u tlu te masne kiseline koje mogu djelovati nematotoksično. U plodoredu s mrkvom, 2014. godine uzgajan je krumpir, a 2015. godine kupus (sorta Tiara F1) te na manjem dijelu površine kelj (sorta Famosa F1) i brokula (sorta Coronado F1). Kupusnjače su uzgajane na crnoj PE foliji od travnja do studenoga.

Peršin (sorta Arat) posijan je u svibnju 2016. na površini od 1500 m<sup>2</sup>. Prethodnih godina na istoj površini nisu utvrđene nematode korijenovih kvržica (*Meloidogyne* spp.), niti je populacija ostalih biljno parazitskih rodova nematoda prelazila ekonomski prag odluke. U 2015. godini pretkultura peršinu bila je cvjetača.

Da bi se utvrdila inicijalna populacija nematoda, prije sjetve mrkve (u srpnju) i peršina (u svibnju), u 2016. godini, prikupljen je prosječan uzorak tla nematološkom sondom na dubini od 25 cm. Kod vađenja mrkve i peršina (u listopadu) prikupljeno je pet uzoraka tla, a na svakom od 10 nasumično odabranih mjesta iskopano je 10 biljaka i utvrđeno je oštećenje od biljno parazitskih nematoda. Glavni simptomi u procjeni oštećenja korijena biljno parazitskim nematodama bili su deformiran i rašljasti korijen, obrastao sekundarnim korijenjem ili s razvijenim kvržicama na primarnom ili sekundarnom korijenu.

Izdvajanje nematoda iz tla obavljeno je metodom Baermannovih lijevaka (1917.). Nematode su prema morfološkim obilježjima identificirane do roda, odnosno do vrste iz rodova *Meloidogyne* i *Paratylenchus* prema ključevima Andrassy (2007). Identifikacija nematoda iz roda *Meloidogyne* potvrđena je

primjenom metode lančane reakcije polimerazom (PCR). Rezultati istraživanja analizirani su statističkim programom SAS 9.3 (PROC MEANS; PROC FREQ), a grafički prikazi deskriptivnih statističkih parametara obrađeni su računalnim programom EXCEL.

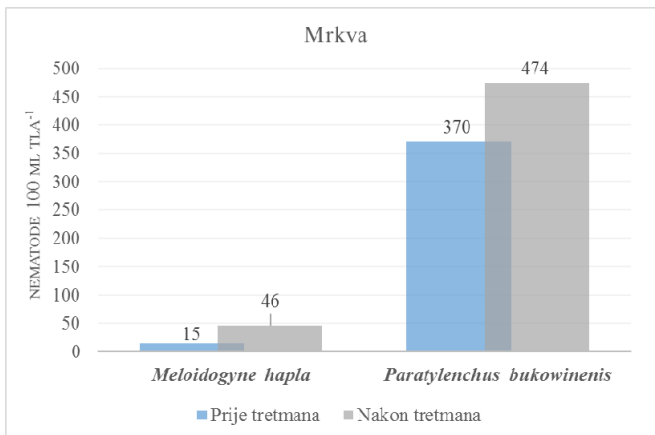
## REZULTATI

Utjecaj plodoreda na populaciju nematoda korijenovih kvržica u usjevu mrkve praćen je od 2013. godine, kad je prosječna brojnost populacije *M. hapla* pri vađenju mrkve (sorta Napoli) iznosila 684 jedinke 100 mL tla<sup>-1</sup>, a više od 70 % korijena mrkve bilo je deformirano i tržišno neprihvatljivo. Unatoč visokom prinosu nastali su ekonomski značajni gubitci. U 2014. godini, na istoj površini, a prije sjetve krumpira utvrđeno je prosječno 52 jedinke *M. hapla* 100 mL tla<sup>-1</sup>. Pri vađenju krumpira nisu uočeni simptomi oštećenja. U jesen 2015. godine u usjevu kupusnjača na istoj površini utvrđeno je prosječno 15 jedinki *M. hapla* 100 mL tla<sup>-1</sup>.

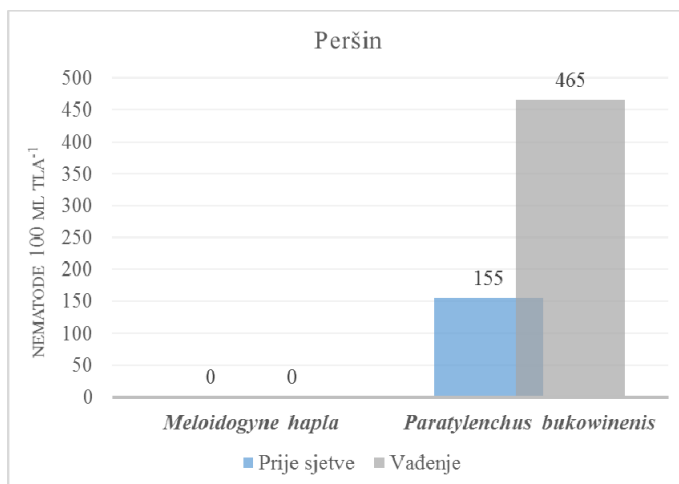
U 2016. godini vrsta *M. hapla* je utvrđena u usjevu mrkve, a *P. bukowinensis* u oba usjeva. Populacije ostalih rodova biljno parazitskih nematoda (*Ditylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Tylenchorhynchus* i *Tylenchus*) u uzorcima tla bile su malobrojni, a njihov značaj u proizvodnji mrkve i peršina je bio zanemariv.

Pri vađenju mrkve, utvrđena je veća populacija obje vrste biljno parazitskih nematoda u odnosu na brojnost prije sjetve mrkve (grafikon 1.). Brojnost *M. hapla* kretala se od 12 do 58 nematoda po uzorku tla, a brojnost *P. bukowinensis* od 217 do 920 nematoda po uzorku tla.

U usjevu peršina, nije utvrđena prisutnost *M. hapla*, a prije sjetve utvrđeno je 155 nematoda *P. bukowinensis* u prosječnom uzorku tla (grafikon 2.). Vrhunac populacije *P. bukowinensis* u peršinu utvrđen je pri vađenju usjeva. Utvrđeno je najmanje 320, a najviše 560 igličastih nematoda po uzorku tla.



**Grafikon 1.** Brojnost populacije nematoda korijenovih kvržica i igličastih nematoda u usjevu mrkve u 2016. godini



**Grafikon 2.** Brojnost populacije nematoda korijenovih kvržica i igličastih nematoda u usjevu peršina u 2016. godini

Utvrđena su oštećenja korijena mrkve i peršina sa simptomima deformiranosti, rašljivosti, nekrotičnih lezija (pjega) i reduciranog rasta (slike 1. i 2.).

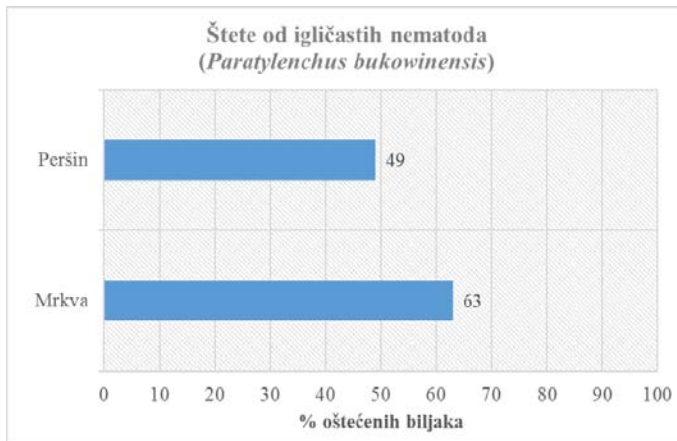


**Slika 1.** Simptomi oštećenja mrkve od *P. bukowinensis* (snimila I. Majić)



**Slika 2.** Simptomi oštećenja peršina od *P. bukowinensis* (snimila I. Majić)

Oštećenje korijena mrkve nastalo zbog ishrane igličastih nematoda *P. bukowinensis* kretalo se od 30 % do 100 % pregledanih biljaka, dok je oštećenje na korijenu peršina utvrđeno na 30 do 60% pregledanih biljaka. Prosječno je utvrđeno 63 % oštećenog korijena mrkve, odnosno 49% oštećenog korijena peršina (Grafikon 3).



**Grafikon 3.** Oštećenje korijena mrkve i peršina od igličastih nematoda u 2016. godini

## RASPRAVA

Uvođenjem krumpira, kupusnjača i luka kao loših domaćina u plodored s mrkvom, smanjila se populacija *M. hapla*, a sadnjom kupusa na crnoj foliji postignut je djelomičan učinak solarizacije, odnosno nastali su nepovoljni ekološki uvjeti za rast i razvoj nematoda. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da se populacija nematoda korijenovih kvržica smanjila bez primjene kemijskih mjera, uz pravilan plodored i solarizaciju, a uzgoj mrkve moguć je bez vidljivih simptoma oštećenja unatoč prisutnosti vrste *M. hapla*. Kirkegaard & Sarwar (1998) navode da sve vrste kupusnjača imaju nematocidni ili nematostatični utjecaj na rod *Meloidogyne*, a najviše takav utjecaj imaju vrste s visokim sadržajem glukozinolata. U plodored se uvode kupusnjače kao alternativna mjera u suzbijanju *M. hapla*, zaorava se njihov usjev s ciljem biofumigacije i koriste se pripravci s ekstraktima kupusnjača (Zasada & Ferris, 2004).

Od 2013. godine, praćenjem dinamike populacije nematoda u tlu igličaste nematode nisu utvrđene ili su utvrđene u vrlo niskoj populaciji. Pretpostavljamo da je populacija igličastih nematoda dodatno unesena u tlo zaraženim supstratom korištenim za presadnice kupusnjača u 2015. godini. Kupusnjače su iznimno dobar domaćin igličastim nematodama (Brzeski & Radzikowska, 1980). Utvrđena je slaba učinkovitost bionematocida Nemakey™ na populaciju nematoda korijenovih kvržica i igličastih nematoda. Testirani pripravak sadrži spojeve koji su u prethodnim istraživanjima dokazali antagonističko i toksično djelovanje na nematode (Nježić i sur., 2014). Učinkovitost bioloških pripravaka ovisi o koncentraciji aktivne tvari pripravka, o broju tretmana i o strukturi tla (Chitwood, 2002). Smatramo da su potrebna dodatna istraživanja da bi se utvrdila optimalna doza pripravka, razdoblje djelovanja i potreban broj tretmana. Preporuku za upotrebu botaničkih pesticida s nematocidnim svojstvima kao i druge alternativne metode integrirane zaštite bilja propisuje Europska komisija u direktivi 2009/128/CE.

Vrsta *P. bukowinensis* dokazala je potencijal da u ljetnom usjevu mrkve i peršina u pjeskovitom tlu na području Osijeka može prouzročiti štetu na više od 50% usjeva. Prag štetnosti za igličaste nematode u mrkvi iznosi od nekoliko stotina nematoda u 200 g tla do nekoliko tisuća nematoda u 100 mL tla (Rickwood i sur., 2002). U našem istraživanju utvrđeno je 370 igličastih nematoda u 100 mL tla te naši rezultati pokazuju na niži ekonomski prag štetnosti jer drugi autori koriste veliki raspon ekonomskoga praga štetnosti igličastih nematoda u mrkvi. Brzeski & Radzikowska (1980) utvrdili su da inicijalna populacija od 30 igličastih nematoda u 100 mL tla dovodi do ekonomski značajnih gubitaka u usjevu peršina. U ovom istraživanju inicijalna populacija bila je pet puta veća te su nastala značajna oštećenja korijena. Isti autori navode da se populacija igličastih nematoda smanjuje za 60 %

.....

uvođenjem pšenice u plodored, a peršin na istu površinu treba sijati tek nakon pet godina.

## ZAKLJUČAK

Odabirom loših biljnih domaćina (krumpir, kupusnjače i luk) može se smanjiti brojnost populacije *M. hapla* u mrkvi. Na površinama na kojima se planira sjetva korjenastog povrća, potrebno je analizirati zajednicu nematoda u tlu u pretkulturi i prije sjetve glavnog usjeva da bi se pravovremeno moglo intervenirati. Bionematocid Nemakey<sup>TM</sup> primijenjen u preporučenoj dozi ima slabu učinkovitost na igličaste nematode, međutim potrebno je provesti dodatna laboratorijska istraživanja da bi se moglo točnije procijeniti djelovanje na nematode. Prema našem saznanju, prvi put objavljujemo ekonomski značajne štete u usjevu mrkve i peršina u Hrvatskoj nastale zbog parazitacije igličastih nematoda vrste *P. bukowinensis*.

## SUMMARY

The management of plant parasitic nematodes in root vegetable crops requires an integrated approach of the application of agro-technical measures and biological pesticides, since chemical nematicides are not allowed. This study was undertaken to assess the impact of the four-year crop rotation on the population of *Meloidogyne hapla* (northern root knot nematode) and efficiency of bionematicide Nemakey<sup>TM</sup> in suppressing population of *Paratylenchus bukowinensis* (pin nematode). The research was carried out in Tvrđavica in 2016, in the summer crops of carrots and parsley. Populations of root knot nematodes were reduced when cabbage, grown on plastic was introduced in crop rotation. Populations of *P. bukowinensis* ranged from 155 to 470 nematodes in 100 mL of soil prior sowing of carrot and parsley, and the peak of the population was at harvest, when 217 to 920 nematodes in 100 mL of soil were detected. Bionematicide did not suppress population of pin nematodes, and both crops suffered minimum of 50% of yield damage. Symptoms of pin nematode and root knot nematode damage are similar, whereas pin nematodes do not cause formation of root galls and development of secondary roots. To the best of our knowledge, these are the first findings of economically important damages from *P. bukowinensis* in Croatia on carrots and parsley.

**Keywords:** root knot nematodes, pin nematodes, root deformation, cabbage, Nemakey<sup>TM</sup>

## LITERATURA

**Andrássy, I.** (2007). Free-living Nematodes of Hungary, (Nematoda, Errantia). II. Hungarian Natural History Museum, Budapest.



- Baermann, G. (1917).** Eine einfache Methode Zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden) larven in Erdproben. Geneesk. Tijdschr. Ned.- Indie. 57: 131-137.
- Brzeski, M. W. (1991).** Decline rate of *Paratylenchus bukowinensis* under non-host crops. Revue de nématologie, 14(4): 634-1537 .
- Brzeski, M. W., Radzikowska, A. (1980).** Pathogenicity of *Paratylenchus bukowinensis* to parsley. Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych, 4: 5 – 53.
- Chaćańska, A., Bogumił, A., Miszczak, A., Zagibajto, K. (2017).** Evaluation of the nematicide fosthiazate (Nemathorin 10 G) for the management of pin nematode *Paratylenchus bukowinensis* Micoletzky, 1922 in crop of celery *Apium graveolens* L. var. *rapaceum* (Mill.) Gaudin. Progress in Plant Protection, doi: 10.14199/ppp-2017-008
- Chitwood, D. J. (2002).** Phytochemical based strategies for nematode control. Annual review of Phytopathology, 40(1): 221-249.
- Goreta Ban, S., Dumičić, G., Raspuđić, E., Vuletin Selak, G., Ban, D. (2014).** Growth and yield of grafted cucumbers in soil infested with root-knot nematodes. Chilean journal of agricultural research, 74(1): 29-34.
- Gugino, B. K., Abawi, G. S., Ludwig, J. W. (2006).** Damage and management of *Meloidogyne hapla* using oxamyl on carrot in New York. Journal of Nematology, 38(4): 483-490.
- Ishibashi, N., Kondo, E., & Kashio, T. (1975).** The induced molting of 4th-Stage larvae of pin nematode, *Paratylenchus aciculus* Brown (Nematoda: Paratylenchidae), by root exudate of host plant: ecological significance of dormancy in plant parasitic nematodes. III. Applied Entomology and Zoology, 10(4): 275-283.
- Kirkegaard, J.A., Sarwar, M. (1998).** Biofumigation potential of brassicas - I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown Brassicas. Plant Soil 201: 71–89.
- Nježić, B., de Sutter, N., Moens, M. (2014).** Interaction of *Tagetes patula* cv. Single Gold with the life cycle of the plant-parasitic nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *Pratylenchus penetrans*. Russian Journal of Nematology, 22(2): 101-108.
- OJEC (2009).** Directive 2009/128/EC of the European parliament and of the council of 21 October 2009 establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides.
- Oštrec, Lj. (1991).** Problemi i suzbijanje nematoda (*Meloidogyne* spp.) u staklenicima. Agronomski glasnik, 1-2: 43-48.
- Raspuđić, E., Ivezić, M., Brmež, M., Mlinarević, Z. (2006).** Suzbijanje fitoparazitnih nematoda gukavosti korjena (*Meloidogyne* spp.) u paprici. Fragmenta Phytomedica et Herbologica, 29 (1-2): 61-67
- Rickwood, A. A., Mepal, E., Hockland, S., Ellis, S. A., Mowthorpe, A. H., Duggleby, M., Holmes, T. (2002).** Carrots and parsnips: Review and investigation of factors influencing crop damage by plant-parasitic nematodes. [http://horticulture.ahdb.org.uk/sites/default/files/research\\_papers/FV%20232%20final%20report.pdf](http://horticulture.ahdb.org.uk/sites/default/files/research_papers/FV%20232%20final%20report.pdf) (pristupljeno 18.4.2017.)
- Seo, Y., Kim, Y. S., Park, Y., Kim, Y. H. (2015).** Comparisons of pathological responses in carrot to root-knot nematodes. The Plant Pathology Journal, 31(4):441–445.
- Vrain, T. C. (1982).** Relationship between *Meloidogyne hapla* density and damage to carrots in organic soils. Journal of Nematology, 14 (1): 50.

.....  
**Wesemael, W. M., Viaene, N., Moens, M.** (2011). Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. *Nematology*, 13(1): 3-16.

**Zasada, I.A., Ferris, H.** (2004). Nematode suppression with brassicaceous amendments: Application based upon glucosinolate profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 36: 1017–102.

**Znanstveni rad**