Utvrđivanje vrste Globodera rostochiensis (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 u uzorcima tla iz lokaliteta Belica

Pinturić, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:905943

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Matea Pinturić

UTVRĐIVANJE VRSTE *Globodera rostochiensis* (WOLLENWEBER, 1923) BEHRENS, 1975 U UZORCIMA TLA IZ LOKALITETA BELICA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET
Fitomedicina

MATEA PINTURIĆ

UTVRĐIVANJE VRSTE *Globodera rostochiensis* (WOLLENWEBER, 1923) BEHRENS, 1975 U UZORCIMA TLA IZ LOKALITETA BELICA

DIPLOMSKI RAD

Mentor: izv.prof.dr.sc. Dinka Grubišić

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana _____

s ocjenom_____ pred Povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Dinka Grubišić _____

2. izv. prof. dr. sc. Tanja Gotlin Čuljak _____

3. izv. prof. dr. sc. Ivanka Žutić _____.

UTVRĐIVANJE VRSTE *Globodera rostochiensis* (WOLLENWEBER, 1923) BEHRENS, 1975 U UZORCIMA TLA IZ LOKALITETA BELICA

SAŽETAK

Zlatna krumpirova cistolika nematoda – *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 ubraja se među najvažnije štetne organizme krumpira u svijetu. Prvi nalaz vrste *G. rostochiensis* u Republici Hrvatskoj zabilježen je 2001. godine na području Belice u Međimurskoj županiji (Oštrec i Grubišić, 2002). Zaraza je utvrđena na poljima gdje je krumpir uzgajan u monokulturi. Od tada se provodi sustavno praćenje pojave i raširenosti krumpirovih cistolikih nematoda u Republici Hrvatskoj. Kako je analizom uzoraka tla određena prisutnost zlatnožute krumpirove cistolike nematode, istraživanja su nastavljena i sljedećih godina na cijelom području Republike Hrvatske. Do danas je vrsta *G. rostochiensis* utvrđena na pojedinim lokalitetima u Međimurskoj, Varaždinskoj, Zagrebačkoj i Primorsko-goranskoj županiji.

U ovom radu prikazani su rezultati istraživanja prisutnosti vrste *G. rostichiensis* u uzorcima tla prikupljenim 2003. g. na lokalitetu Belica u Međimurskoj županiji. Cilj rada bio je utvrditi intenzitet zaraze i visinu populacije te vrste brojanjem vitalnih cista izdvojenih iz uzoraka tla. Osušeni uzorci tla podvrgnuti su postupku izdvajanja cistolikih nematoda metodom flotacije, Spearsovim flotacionim uređajem, a intenzitet zaraze određen je s obzirom na brojnost cista u 100 ml tla. Prisutnost zlatne krumpirove nematode utvrđena je u svih pet analiziranih uzoraka tla, a prosječan broj cista iznosio je 434 ciste/100 ml tla. Prosječan broj vitalnih cista iznosio je 93,41 jaja i ličinki/g tla čime je prekoračen ekonomski prag štetnosti od 20 jaja i ličinki/g tla. Zbog visoke populacije tog karantenskog štetnika na uzorkovanoj površini, potrebno je provoditi mjere integrirane zaštite krumpira od krumpirovih cistolikih nematoda što uključuje: plodored, sadnju otpornih kultivara, sterilizaciju tla, „trap cropping“ te primjenu nematocida.

Ključne riječi: Zlatna krumpirova cistolika nematoda, uzorkovanje tla, Spearsov flotacioni uređaj, vitalnost cista

IDENTIFICATION OF SPECIES *Globodera rostochiensis* (WOLLENWEBER, 1923) BEHRENS, 1975 IN SOIL SAMPLES FROM THE LOCALITY OF BELICA

SUMMARY

Golden potato cysts nematode – *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 is among the most harmful organisms of potatoes in the world. First discovery of *G. rostochiensis* in Croatia was in Belica in Međimurje county in the year 2001 (Oštrec and Grubišić, 2002). Disease is determined in the fields on which potato was grown as monoculture. Since then it has been carried out systematic monitoring of the occurrence and spread of potato cyst nematodes in the Republic of Croatia. As the analysis of these samples determined the presence of golden potato cyst nematode, research has continued in the following years on the whole Croatian territory. To date, *G. rostochiensis* was found in some locations in Međimurje, Varaždin, Zagreb and Primorsko-goranska county.

This paper presents the results of the presence of *G. rostochiensis* in soil samples collected in 2003, on the locality of Belica in Međimurje county. The aim of this study was to determine the intensity of infection and the population height by counting vital cysts isolated from soil samples. The dried soil samples were subjected to the process of separating cyst nematodes by flotation method in Spears flotation device. Intensity of infection was determined by the number of cysts in 100 ml of soil. The presence of golden potato nematode was found in all of five analyzed soil samples, and the average number of cysts was 434 cysts/100 ml of soil. The average number of vital cyst was 93,41 eggs and larvae/g soil which exceeded economic thresholds of 20 eggs and larvae/g soil. Due to the high population of that quarantine pest on the sampled surface, it is necessary to implement measures of integrated pest management including: crop rotation, planting resistant cultivars, soil sterilization, trap cropping, and nematocide application.

Key words: Golden potato cyst nematode, soil sampling, Spears flotation device, cysts vitality

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. PREGLED LITERATURE 2
2.1. KRUMPIR (*Solanum tuberosum* L.) 2
2.1.1. Podrijetlo i introdukcija u Europu 2
2.1.2. Proizvodnja u svijetu i Hrvatskoj 2
2.1.3. Morfologija 3
2.2 ZLATNA KRUMPIROVA CISTOLIKA NEMATODA *Globodera rostochiensis* (WOLLENWEBER,1923) BEHRENS, 1975 6
2.2.1. Sistematska pripadnost 7
2.2.2. Morfologija i anatomija 7
2.2.3. Biologija i ekologija 8
2.2.4. Štetnost vrste 9
2.2.5. Domaćini 11
2.2.6. Mogućnosti suzbijanja 11
2.2.7. Utvrđivanje krumpirovih cistolikih nematoda 13
3. MATERIJALI I METODE 15
3.1. Metodika izdvajanja cistolikih nematoda 15
3.2. Morfološka identifikacija cistolikih nematoda 17
3.3. Utvrđivanje vitalnosti cista 18
4. REZULTATI I RASPRAVA 19
5. ZAKLJUČCI 20
6. LITERATURA 21

1. UVOD

Zlatna krumpirova cistolika nematoda *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 jedna je od najopasnijih štetnika krumpira, koja ima status karantenske vrste.

U Hrvatskoj je vrsta *G. rostochiensis* do 2001. godine bila na A1 listi karantenskih štetočinja bilja, a njena moguća pojava praćena je kroz obavezne preglede uzoraka tla uzetih s površina na kojima se proizvodi sjemenski krumpir. Na postojanje ove nematode na ograničenom području Republike Hrvatske, Žumberka i Delnica, ukazali su još 1969. g. Maceljski i Korunić. Kasnije ovi nalazi nisu potvrđeni pa se smatralo da ovaj štetnik ne postoji u Hrvatskoj. Tek je u ljeto 2001. g., na osnovu pregleda zaraženog korijenja krumpira i tla uzetog iz njihove neposredne blizine, utvrđena zaraza na području Belice (Međimurska županija), na površini na kojoj se duži niz godina uzgajao konzumni krumpir. Neposredno po determinaciji vrste *G. rostochiensis*, provedena je prva faza monitoringa njenog rasprostranjenja na području Međimurske, Varaždinske i Bjelovarsko-bilogorske županije (Oštrec i Grubišić, 2002).

Nadzor proizvodnje sjemenskog krumpira, s obzirom na krumpirove cistolike nematode, od velike je važnosti, budući da je sjetva zaraženog sjemenskog materijala jedan od najčešćih načina prenošenja tih štetnika na nezaražene površine. Na površinama na kojima su krumpirove cistolike nematode utvrđene neophodno je provoditi integriranu zaštitu usjeva krumpira, koja zahtijeva dobro poznavanje tih štetnika, pogotovo njihovih patotipova (Grubišić, 2006). Postoji pet različitih patotipova vrste *G. rostochiensis* (Ro1, Ro2, Ro3, Ro4, Ro5) koji se mogu razmnožavati na određenim klonovima i sortama u uzgoju krumpira (Ostojić, 2011). Tek kombinacijom različitih mjera (plodored, sadnja otpornih kultivara, primjena nematocida, metode „trap cropping“) kojima se populacija nematoda u tlu kroz višegodišnji period može sniziti ispod razine ekonomskog praga štetnosti, može se osigurati daljnja proizvodnja krumpira na zaraženom području. Kako se radi o štetniku koji se u tlu može održati i do trideset godina, teško je govoriti o konačnom iskorjenjivanju sa zaraženih površina (Grubišić, 2006).

Cilj istraživanja je utvrditi prisutnost vrste *G. rostochiensis* u uzorcima tla uzetih s površine na kojoj se u višegodišnjoj monokulturi proizvodio krumpir. Utvrditi intenzitet zaraze i visinu populacije, utvrđivanjem vitalnosti cista izdvojenih iz uzoraka tla. Odrediti mjere suzbijanja vrste *G. rostochiensis*, koje je potrebno provoditi na proizvodnoj površini.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. KRUMPIR (*Solanum tuberosum* L.)

2.1.1. Podrijetlo i introdukcija u Europu

Krumpir potječe iz peruanskih Anda, gdje je Inkama, uz kukuruz bio glavna hrana. U Europu su ga u 16. st. introducirali španjolski istraživači, gdje ga po prvi put spominje švicarski botaničar Kaspar Bauhin 1596. g. pod imenom *Solanum tuberosum esculentum*. Kasnije Linnaeus uvođenjem binarne nomenklature 1753. g. imenuje krumpir *Solanum tuberosum* L. U Hrvatsku su ga donijeli graničarski vojnici 1779-1780. godine. U prvoj polovici 18. stoljeća krumpir je postao neizostavna hrana u Europi (Buturac, 2002).

2.1.2. Proizvodnja u svijetu i Hrvatskoj

Krumpir se, od ukupne svjetske proizvodnje, 52 % troši za ljudsku ishranu, 21 % za ishranu stoke, 10 % za sjeme, 12 % za preradu, a ostalo su gubici (Buturac, 2002). Krumpir je danas u svijetu četvrta kultura nakon pšenice, kukuruza i riže. U svijetu se krumpir proizvodi na gotovo 18 milijuna hektara, a prosječni prinos je 16,5 t/ha. Najveća je proizvodnja u Rusiji, Ukrajini, i Poljskoj. U Europi se proizvodi na 3 milijuna hektara, a prosječni prinos je 24,5 t/ha. U Hrvatskoj se krumpir proizvodi na 65 tisuća hektara, a prosječan prinos je 10,2 t/ha (Buturac, 2002). S obzirom na proizvodnju krumpira na prostoru Republike Hrvatske razlikuju se tri proizvodna područja: (1) obalno-otočno gdje se proizvode vrlo rani, rani i srednje kasni kultivari, (2) kontinentalno s proizvodnjom ranih i većim dijelom srednje kasnih kultivara, (3) brdsko-planinsko područje Gorskog Kotara, Like i Žumberka s proizvodnjom jestivog i sjemenskog krumpira. Najznačajnija tržno orijentirana proizvodnja srednje kasnih kultivara u kontinentalnom području odvija se u okolici Čakovca i Varaždina. Za potrebe tvornice čipsa, krumpir se u značajnom opsegu uzgaja i u okolici Hercegovca (Buturac, 2002).

2.1.3. Morfologija

Krumpir je višegodišnja zeljasta biljka (slika 1) koja, ovisno o uvjetima uzgoja i kultivara, doseže visinu do 1 m. Biljka krumpira sastoji se od:

› stabljike sa složenim neparno perastim listovima (cima)

› cvjetova

› plodova bobica sa sjemenkama

› stolona (podzemna stabljika)

› korijena

› gomolja



Slika 1. Biljka krumpira (Val-znanje, 2014)

Stabljika

Stabljika se razvija iz klice gomolja ili iz pravog sjemena. U nadzemnom dijelu je šuplja, a u podzemnom dijelu ne. Boja joj je najčešće zelena, a u nekih kultivara i ljubičasta. Broj stabljika na matičnom gomolju ovisi o kultivaru i fiziološkoj dobi gomolja. Razlikuju se *glavne stabljike* i *sekundarne* ili *bočne stabljike.* Nakon 17 - og lista razvija se cvat, a cvjetni pupovi, mogu abortirati ili se razviti u cvjetove. Bočni izboji nakon 6. do 9. lista također razvijaju cvjetne pupove. Krumpir se razvija u više razina. Glavna stabljika s njezinim složenim listovima čini prvu razinu, prve dvije bočne stabljike s provodnicom čine drugu razinu, a njihova prva dva bočna ogranka treću razinu itd. Lišće donjih razina poslije žuti i otpada. Broj glavnih stabljika je jedan od pokazatelja gustoće sklopa nasada krumpira (Butorac, 2002).

Listovi

Listovi su neparno perasti i na stabljici su naizmjenično raspoređeni na različitim visinama. Sastoje se od lisne peteljke, vršne liske i bočnih liski. Liske su cjelovitog ruba i između njih se mogu razviti sekundarne, a katkad i tercijarne liske, veličina kojih ovisi o sorti. Tijekom rasta cime stari listovi na dnu stabljike žute i otpadaju, a na vrhu stabljike formiraju se novi mladi listovi. Fotosintetski najefikasniji su oni listovi koji su upravo dosegnuli svoju veličinu (Butorac, 2002).

Cvjetovi i plodovi (bobe)

Cvjetovi krumpira razvijaju se u rahlim paštitastim cvatovima i bijele su, ljubičaste ili ružičaste boje. Obilnost cvatnje sortna je karakteristika, a dugi dan, srednje temperature i pojava sekundarnog rasta pojačavaju cvatnju. Viša temperatura (iznad 25 °C) može uzrokovati opadanje cvjetova i tada se razvija vrlo mali broj bobica. Ako cvjetovi ne abortiraju, razvijaju se bobe u kojima se formira 100-200 sjemenki. Sjemenke su sitne, plosnate i ovalne, te ih u jednom gramu može biti 1000-1500 (Buturac, 2002).

Stoloni

Stoloni su podzemne bočne stabljike, a imaju tendenciju horizontalnog rasta (u tami humka). Nakon prve faze vegetativnog rasta cime, vrh stolona zadebljava i počinje se razvijati gomolj. Na glavnoj stabljici može se razviti nekoliko stolona pa svaka glavna stabljika može formirati po nekoliko gomolja. Pod određenim uvjetima, kao npr. pri prevelikom zagrijavanju tla (više od 23 °C), stolon ne formira gomolj, nego izrasta iz humka kao bočna ili latentna stabljika (Buturac, 2002).

Gomolj

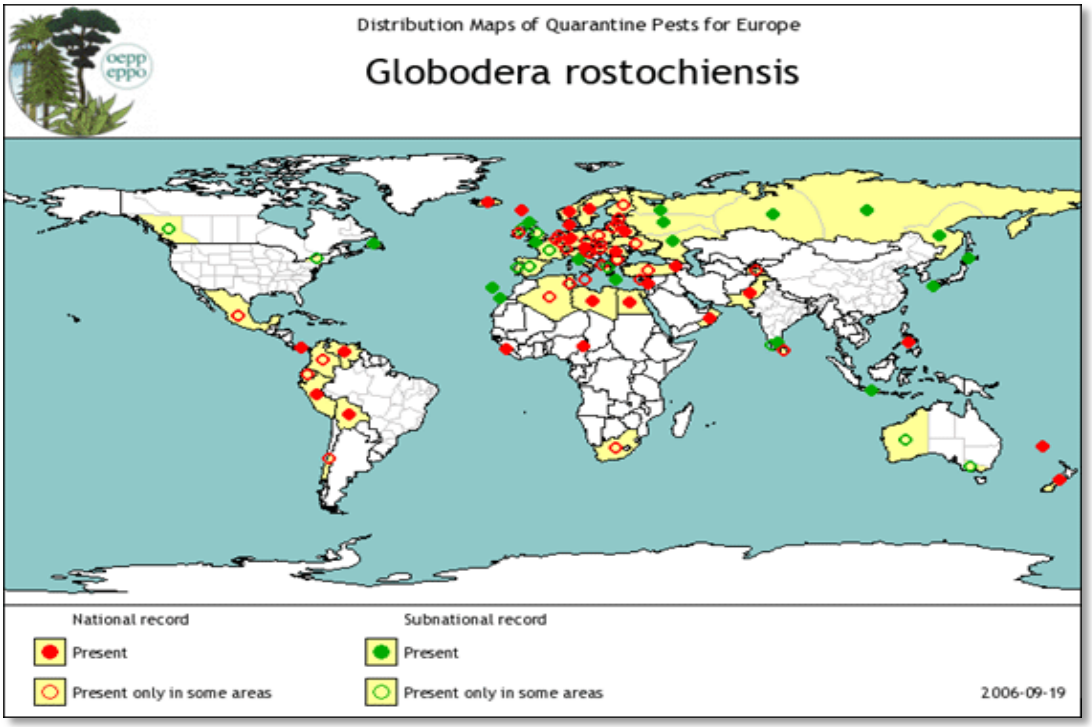
Gomolj je modificirani dio podzemne stabljike - stolona, glavni je rezervni organ biljke krumpira i služi za prezimljenje i reprodukciju. Pokožica gomolja divljih vrsta je žuta, crvena, smeđa do ljubičasta, a u uzgajanih sorti uglavnom žuta (bijela), plava i crvena. Meso gomolja (mekota) najčešće je bijelo, krem bijelo ili žuto, a boja potječe od karotenoida. Na gomolju se razlikuje *pupčasti dio* i *kruna*. Na pupčastom dijelu gomolj je bio pričvršćen za stolon, a na suprotnom kraju koncentrirana su okca (kruna gomolja). Okca gomolja imaju jače ili slabije izražene *obrve* i spiralno su smještena na površini gomolja (Buturac, 2002).

Korijen

Korijen krumpira prilično je plitak (40-50 cm), a u rahlim i dubokim tlima doseže do 1 m dubine. Korijen se razvija na podzemnom dijelu stabljike i bočno se grana 25-45 cm, a pri sjetvi sjemena (sijanci) iz začetog dijela korijenka sjemena razvije se glavni korijen s mnogobrojnim bočnim korijenjem. U površinskom oraničnom sloju tla nalazi se više od 50 % mase korijena, 25 % ide dublje od oraničnog sloja, a pojedinačno korijenje doseže i do 1 m dubine. Korijen se najintenzivnije razvija u fazi cvatnje (Buturac, 2002).

2.2. ZLATNA KRUMPIROVA CISTOLIKA NEMATODA, *Globodera rostochiensis* (WOLLENWEBER, 1923) BEHRENS, 1975

Zlatna krumpirova cistolika nematoda, potječe iz područja Anda u Južnoj Americi odakle se transportom krumpira proširila širom svijeta prije nego je otkrivena i imenovana. Od introdukcije krumpira u Europu, populacija te vrste uz primitivne uvjete uzgoja krumpira rasla je sporo. U razdoblju od 1922. do 1947. g. otkrivena je u mnogim zemljama širom Europe (slika 2). Do danas je ova vrsta, osim u većini europskih zemalja prisutna i u pojedinim područjima, odnosno državama Afrike, Azije, Centralne, Sjeverne i Južne Amerike, Oceanije i Bliskog Istoka. U Republici Hrvatskoj je vrsta *G. rostochiensis* do 2001. godine bila na listi A1 karantenskih štetočinja bilja. Tek je u ljeto 2001. g. na osnovu pregleda zaraženog korijenja krumpira i tla uzetog iz njihove neposredne blizine utvrđena zaraza na području Belice (Međimurska županija), na površini na kojoj se duži niz godina uzgajao konzumni krumpir (Oštrec i Grubišić, 2002).



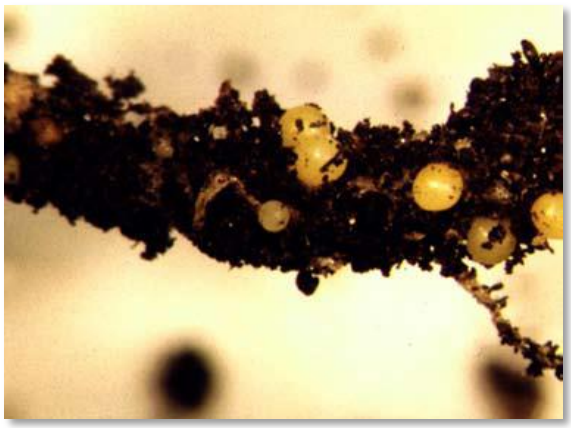
Slika 2. Rasprostranjenost vrste *G. rostochiensis* u svijetu (Padil, 2016)

2.2.1. Sistematska pripadnost

Domena **Eukaryota**
Carstvo **Animalia** Linnaeus, 1758
Podcarstvo **Bilateria** (Hatschek, 1888) Cavalier-Smith, 1983
Grana **Protostomia** Grobben, 1908
Infracarstvo **Ecdysozoa** Anguinaldo et al., 1997 ex Cavalier-Smith, 1998
Nadkoljeno **Aschelminthes** (sin. **Nemathelminthes**)
Koljeno: **Nematoda** (Rudolphi, 1808) Lankester, 1877
Razred: **Secernentea** Von Linstow, 1905 (sin. **Phasmidia**)
Podrazred: **Tylenchia** (Thorne, 1949) Inglis, 1983
Red: **Tylenchida** Thorne, 1949
Podred: **Hoplolaimina** Chizhov & Berezina, 1988
Natporodica: **Hoplolaimoidea** (Filipjev, 1934) Paramonov, 1967
Porodica: **Heteroderidae** (Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941) Skrabilovich, 1947
Potporodica: **Heteroderinae** (Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941)
Rod: ***Globodera*** Skrabilovich 1959 (Behrens 1975)
Vrsta: ***Globodera rostochiensis*** (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975

2.2.2. Morfologija i anatomija

Kod krumpirovih cistolikih nematoda izražen je spolni dimorfizam. Kod zrelih ženki tijelo je mješinasto, a mužjaci su crvoliki. Odrasle spolno zrele ženke bijele su i okruglastog oblika, dugačke od 0,55 mm do 0,80 mm, a široke od 0,40-0,53 mm. Kasnije, poprime zlatnožutu ili narančastu boju (slika 3). Nakon uginuća, ženke se pretvaraju u ciste koje sadrže prosječno 500 jaja. Ciste su smeđe boje, a oblikom i veličinom odgovaraju odrasloj spolno zreloj ženki. Odrasli mužjaci su dugački oko 1,2 mm s usnom bodljom dugom oko 0,028 mm. Infektivne ličinke drugog razvojnog stadija crvolike su i dugačke od 0,43 mm do 0,51 mm, sa stiletom dugim oko 0,021 mm (slika 4) (Ostojić, 2011).



Slika 3. Ciste vrste *Globodera rostochiensis* (Ostojić, 2011)



Slika 4. Prednji dio tijela ličinke krumpirove cistolike nematode - glava i stilet (Nematode.net, 2014)

2.2.3. Biologija i ekologija

Infektivne ličinke krumpirovih cistolikih nematoda, pod utjecajem izlučevina korijena biljke domaćina i pri temperaturi višoj od 10 °C (optimalna 15-20 °C), izlaze iz jaja, prelaze u tlo i prodiru u korijen biljaka domaćina, u kojem se hrane i dalje razvijaju, uništavajući staničje. Ovisno o uvjetima, tijekom vegetacije njihova brojnost može se povećati od 3 do 100 puta.
Nakon ishrane na biljci krumpira i presvlačenja, dolazi do diferenciranja na mužjake i ženke. Ženke odebljaju i poprimaju okruglast oblik te probijaju stanice epiderme korijena, ostavši pri tome stiletom pričvršćene za domaćina. Od ulaska ličinki u korijen do izbacivanja stražnjeg dijela tijela izvan korijena u optimalnim uvjetima prođe oko 50 dana. Nakon oplodnje, u ženkama se razvijaju jaja. Ciste tokom života mijenjaju boju od bijele preko zlatnožute do smeđe boje. U tijelu oplođene ženke se formira 200-500 jaja u kojima se nakon embrionalnog razvoja formira ličinka. Jaja su dobro zaštićena unutar ciste (slika 5), a ličinke dožive prvo presvlačenje unutar jajeta (Ostojić, 2011).



Slika 5. Cista s jajima (Ostojić, 2011)

Pri temperaturi iznad 10 °C i ako se u blizini nalazi krumpir ili druga biljka hraniteljica, izlučevine korijenovog sustava stimulativno djeluju na izlazak ličinki iz cista. Ličinka drugog stupnja – „infektivna ličinka“ probija jajnu ovojnicu, napušta cistu i ubušuje se u korijenov sistem krumpira. Stiletom probija epidermu korijena ubušujući se u tkivo u kome nastavlja ishranu i razvoj. U stanicama tkiva korijena krumpira nastavlja se razvoj (presvlačenje) do spolne zrelosti. Ličinke prolaze kroz četiri stadija. Kada ženke izbace zadnji dio tijela na površinu biljnog tkiva, mužjaci napuštaju biljno tkivo korijenovog sustava, odlaze u tlo, gdje ostaju oko 10 dana, te nakon spolne zrelosti oplođuju ženku. U kontinentalnim klimatskim područjima, pri odgovarajućim ekološkim uvjetima (temperatura ispod 40 °C, veća vlažnost tla i dr.) zlatna krumpirova cistolika nematoda može razviti dvije generacije godišnje (travanj - srpanj, kolovoz - rujan). Za krumpirove nematode je karakteristično da ličinke ne izlaze iz jaja u odsustvu biljke domaćina kao i da se nalaze u dijapauzi tokom jeseni i zime. Ciste koje otpadaju s korijena u tlu mogu ostati vitalne i do 20 godina (Ostojić, 2011).

2.2.4. Štetnost vrste

Krumpirova cistolika nematoda snižava prinos uzgajane kulture. Ovisno o visini populacije nematoda, na pojedinim parcelama štete mogu biti neznatne do potpune. Štete su veće tamo gdje se krumpir uzgaja na lakšim tipovima tala i u vrlo uskom plodoredu. Opasnost od povećanja šteta na zaraženim površinama uvjetovana je monokulturom krumpira. Posebno su opasne u područjima gdje se ne sade otporni kultivari. Simptomi zaraze cistolikim nematodama nisu specifični. Napadnute biljke često pokazuju simptome nedostatka hranjiva jer ih korijen nije u mogućnosti apsorbirati u potrebnoj količini iz tla. Glavni simptom je pojava oaza (plješina) u polju, gdje se uočava slabiji porast biljaka (slike 6 i 7). Središnja mjesta tih oaza mogu biti i potpuno bez vegetacije (Poje i Rehak, 2011).



Slika 6. Oaze ili plješine kao posljedica krumpirove nematode (Ostojić, 2011).



Slika 7. Rijedak sklop biljaka u fazi cvatnje krumpira (Poje i Rehak, 2011).

Biljke koje se nalaze u tim oazama pokazuju simptome žućenja i uvijanja listova (slika 7). Takvi simptomi se pojavljuju pri visokom stupnju zaraze (visoka populacija nematoda u tlu). Biljke koje rastu unutar takvih oaza cvatu znatno kasnije ili uopće ne cvatu (slika 8). Nematode se tijekom vađenja krumpira i kasnije obradom tla šire pa zaraza može u konačnici zahvatiti cijelu površinu (Poje i Rehak, 2011).



Slika 8. Tipični simptomi na cimi krumpira kao posljedica napada zlatne krumpirove cistolike nematode (Ostojić, 2011)

Procjenjuje se da krumpirove nematode uzrokuju gubitak prinosa u zaraženim područjima Europe u visini od 10 %, a u SAD su štete još i veće. Tamo gdje se ne poduzimaju mjere zaštite zabilježene su i totalne štete. Zaraza od 10 jaja/g ili 500 ličinki/100 cm^3 tla može izazvati gubitak od 10-15 % priroda (Maceljski, 2002). Smatra se da je slaba zaraza kad se u gramu tla nalazi 1-15 jaja, umjerena zaraza 16-65 jaja, a jaka zaraza više od 65 jaja na gram

tla (Oštrec i Grubišić, 2002). Evans i Stone (1977) cit. Turner i Evans (1998) navode kako je ekonomski prag štetnosti 20 jaja i ličinki/g tla.

Ocjena intenziteta zaraze u uzorcima tla prema kriterijima EPPO (1995) cit. Grubišić (2006) označava se kako slijedi:

1 - slaba zaraza 1 cista u 100 ml tla

2 - srednja zaraza 2 do 25 cista u 100 ml tla

3 - jaka zaraza > 25 cista u 100 ml tla.

2.2.5. Domaćini

Osim krumpira, domaćini zlatne krumpirove cistolike nematode su patlidžan (*Solanum melongena* L.), rajčica (*Licopersicon esculentum* Mill.) te preko 90 vrsta biljaka iz porodice Solanaceae uključujući i korove kao što su *Solanum dulcamara* L., *Solanum nigrum* L., *Hyoscyamus niger* L. (Oštrec i Grubišić, 2002).

2.2.6. Mogućnosti suzbijanja

Jednom kada se vrsta *G. rostochiensis* pojavi, teško ju je iskorijeniti, stoga su od velike važnosti preventivne mjere zaštite. Najvažnija preventivna mjera je pravovremeno otkrivanje zaraze u čiju svrhu se provodi monitoring (sustavno praćenje) s obzirom da na osnovu vizualnog pregleda to nije moguće na vrijeme utvrditi.

Ciljevi suzbijanja tog štetnika, kratkoročno, jesu prevenirati značajne gubitke kvalitete i visine prinosa krumpira, no dugoročno gledajući, spriječiti daljnji porast populacije štetnika ponovljenim uzgojem krumpira na zaraženim površinama. Sniženjem početne populacije za 98 % trebalo bi rezultirati potpunom kontrolom štetnika, odnosno sprječavanjem ili minimaliziranjem gubitaka prinosa. Kako bi se postigla ova razina suzbijanja krumpirovih cistolikih nematoda, potrebno je primijeniti i kombinirati dvije ili tri različite mjere suzbijanja (Grubišić, 2006).

Kada se utvrdi zaraza, pristupa se karantenskim mjerama kojima se sprječava njeno širenje kao i porast populacije na zaraženim površinama.

U suzbijanju zlatne krumpirove cistolike nematode, kao jedne od najtežih vrsta za suzbijanje, koristimo sustav integrirane zaštite koji uključuje:

1. plodored,
2. sadnju otpornih i tolerantnih kultivara krumpira,
3. trap cropping,
4. solarizaciju tla,
5. primjenu nematocida.

Plodored

Plodored mora biti najmanje trogodišnji i jedna je od najvažnijih preventivnih mjera. U plodored treba uključiti biljke koje nisu domaćini zlatne krumpirove cistolike nematode: žitarice, šećernu repu, stočnu repu, crvenu djetelinu, zob, raž, lan i neke trave (Oštrec, 1998). Plodoredom se populacija ove nematode može smanjiti za 57 % tijekom prve godine te za 40 % tijekom druge godine (Devine *et al*., 2001, cit. Oštrec i Grubišić, 2002). U svakom slučaju u plodoredu treba isključiti bilo koju kulturu iz porodice Solanaceae, a osobitu pozornost treba obratiti na uništenje samoniklog krumpira te korova iz te porodice (Oštrec i Grubišić, 2002).

Sadnja otpornih sorata

Uloga sjetve otpornih sorata od velike je važnosti pri smanjenju populacije vrste *G. rostochiensis*. Naime, uzgojem otpornih sorata populacija ove vrste u tlu se smanjuje za 40-98 % (Miroshnik, 2001, cit. Oštrec i Grubišić, 2002). Utvrđeno je da ciste koje su se razvile na otpornoj sorti sadrže manji broj jaja (40) dok ciste nastale na osjetljivoj sorti sadrže 200-500 jaja, a ličinke iz jaja formiranih na rezistentnoj sorti slabije su infektivne (Nysaes.cornell.edu, cit. Oštrec i Grubišić, 2002). Prije odabira otpornih sorata potrebno je utvrditi točan patotip ili kombinaciju patotipova ove vrste koji se javljaju na određenim prostorima, budući da pojedine sorte mogu biti otporne kako na pojedine, tako i na kombinaciju više patotipova. U Narodnim novinama (NN 87/06), Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva objavilo je 2006. g. popis sorata krumpira, priznatih u Republici Hrvatskoj, za koje je utvrđeno da su otporne na krumpirove cistolike nematode. U popisu se nalazi pedesetak sorata krumpira otpornih na patotip Ro1, te nekoliko sorata krumpira otpornih na patotipove Ro1, Ro2, Ro3 i Ro5 (Narodne novine, 2006).

Trap cropping

Ova metoda podrazumijeva uzgoj krumpira dovoljno dugo da bi se stimulirao izlazak ličinke iz jajeta te njihovu „invaziju“ na korijenje krumpira i potom njegovo uništenje. Biljke moraju biti uništene prije nego što dođe do oplodnje ženki, tako da u tlu ne bi ostala nova jaja. Na ovaj način, populacija vrste *G. rostochiensis* u gornjih 20 cm tla može biti umanjena godišnje za 45 %, više nego prakticirajući plodored (Whitehead, 1977 cit. Whitehead i Turner, 1998).

Solarizacija tla

U vrućim klimatima ili u umjerenim klimatima u uvjetima staklenika, sunce može podići temperaturu tla prekrivenog jednim ili s dva sloja prozirne polietilenske (PE) folije do te razine da usmrti krumpirove cistolike nematode jednako učinkovito kao i zemljišni fungicidi (barem u gornjih 20-30 cm tla). Na otvorenim i u umjerenim klimatima letalna temperatura može se postići tek u nekoliko gornjih cm tla. Solarizacija tla prikladna je na manjim površinama i u regijama s dugim i vrućim ljetima. Troškovi PE folije za velike površine te troškovi vezani za njihovo postavljanje i uklanjanje su nedostaci ove tehnike (Whitehead i Turner, 1998).

Primjena nematocida

Nematocidi se primjenjuju injektiranjem u tlo, zalijevanjem tla, inkorporacijom u tlo ili fumigacijom tla, no bez obzira na njihovu formulaciju, kada dospiju u tlo svi djeluju kao fumiganti. Primjena nematocida u svijetu je vezana uz velike financijske izdatke, a često rezultira nedovoljno učinkovitim sniženjem populacije te nematode. Kako je uz primjenu nematocida vezan i niz ekotoksikoloških problema, mnoge zemlje izbjegavaju njihovu uporabu.

U Hrvatskoj dozvolu imaju pripravci na bazi djelatnih tvari: dazomet i fostiazat (Glasilo biljne zaštite, 2015).

2.2.7. Utvrđivanje krumpirovih cistolikih nematoda

Prilikom otkrivanja, ali i praćenja rasprostranjenja krumpirovih cistolikih nematoda, mogu se koristiti dvije metode (OEPP/EPPO, 1991 cit. Grubišić, 2006):

1. prikupljanje uzoraka tla u nasadima krumpira te analiza uzoraka u laboratoriju,
2. vađenje biljaka krumpira i pregled korijenja na prisutnost ženki ili cista vrste *G. rostochiensis* tijekom vegetacije.

Posljednja navedena metoda nije široko primjenjivana u EPPO regiji, ali je korištena nekoliko godina u Novom Zelandu radi otkrivanja niskih populacija krumpirovih cistolikih nematoda, koje je u tamošnjim uvjetima bilo gotovo nemoguće utvrditi europskim metodama uzorkovanja (Wood *et al*., 1983, cit. Grubišić, 2006).

Prikupljanje uzoraka tla u nasadima krumpira

Vjerojatnost da će uzorak tla, bilo koje veličine, sadržavati jednu ili više cista ovisi o prosječnoj gustoći, ali i o proširenosti populacije na uzorkovanoj površini. Isto tako, vjerojatnost da će populacija određene prosječne gustoće biti detektirana, ovisi o količini pregledanog tla ili preciznije o broju uboda sondom (koji čine uzorak) te njihovom prostornom rasporedu po uzorkovanoj površini. Kako bi se na površini utvrdile relativno niske populacije tog štetnika, potrebno je pregledavati što više tla, uzetog kroz što više uboda sondom. Uzorkovana parcela može biti bilo koje veličine, jedino ograničenje je da cijelom svojom površinom ima jednaku povijest glede uzgoja krumpira.

Pravilno provedeno uzorkovanje tla, s ciljem utvrđivanja krumpirovih cistolikih nematoda, mora zadovolji sljedeće uvjete (OEPP/EPPO, 1991 cit. Grubišić, 2006):

1. konačan uzorak koji ulazi u postupak ekstrakcije nematoda mora biti dovoljno velik, kako bi se postigla točnost,
2. uzorak je dobiven uzorkovanjem dovoljnog broja točaka na površini, kako bi se osigurala njegova reprezentativnost,
3. laboratorijska obrada uzoraka mora biti provedena uz minimalnu mogućnost pogreške od strane provodioca ekstrakcije nematoda iz uzorka tla.

U većini zemalja Europe koristi se ***nizozemska metoda***, prema kojoj se uzimaju četiri uzoraka tla/ha. Svaki uzorak se sastoji od 50 poduzoraka (uboda polucilindričnom sondom) do dubine 10 cm tla. Masa svakog uzorka je 600-1000 g (Oštrec, 1998). Poduzorci se uzimaju «cik-cak» rasporedom idući od jedne do druge bočne granice parcele duž cijele uzorkovane površine, a tlo je potrebno prikupljati u polietilenske vrećice te ga u cijelosti proslijediti u nematološki laboratorij. Ova metoda je ujedno i jednostavnija (Grubišić, 2006).

3. MATERIJALI I METODE

Uzorci korišteni za analizu, prikupljeni su i dostavljeni s lokaliteta Belica u Međimurskoj županiji 2003. godine.

3.1. Metodika izdvajanja cistolikih nematoda

Izdvajanje nematoda iz uzoraka tla

Svaki uzorak tla, po dopremanju u nematološki laboratorij, stavljen je na sušenje (na zraku u laboratorijskim uvjetima), potom izmiješan, a za postupak izdvajanja uzeto je 100 ml tla po uzorku (slika 9).

U provedenom istraživanju postupak izdvajanja cista iz uzorka tla proveden je Spearsovim flotacionim uređajem (slika 10), čiji se rad temelji na principu flotacije (Spears, 1968. cit. Grubišić, 2006). Uređaj se sastoji od cilindrične posude zapremine oko 10 l na čijem dnu se nalazi crijevo kroz koje se dovodi uzlazna struja vode (na kraju crijeva u posudi je rasprskavajuća dizna). S vanjske strane posude u prstenastim nosačima, nalaze se sita od kojih gornje služi za odvajanje krupnih čestica i taloga (dimenzije otvora sita 1,5-2 mm), a donje (dimenzije otvora sita 100-175 μm) za odvajanje cista. Ciste se izdvajaju tako što se odgovarajući uzorak tla stavlja u cilindričnu posudu. Uzlazna struja vode (oko 4 l/min) podiže ciste, sitnije čestice tla i druge nečistoće. Sitnije čestice tla i ciste prolaze kroz gornje krupnije sito te dolaze na donje sito, gdje se zadržavaju. Ispiranje cista iz uzorka traje oko 5 min, nakon čega se mlazom vode talog s gornjeg sita ispire na donje sito, a sadržaj s donjeg sita potom ispire u posebnu staklenu ili plastičnu posudu čije su unutarnje stijenke prethodno obložene plastičnom trakom (slika 11). U posudu se stavi nekoliko kapi detergenta, tako da se ciste i ostale sitne nečistoće zalijepe za stijenke/traku na posudi. Traka se iz posude vadi kroz nekoliko minuta, stavlja na čvrstu podlogu od polistirena (slika 12) i dok je još vlažna pomoću binokularne lupe pregledava se na nju pričvršćen sadržaj (slika 13) te se broje ciste koje se izdvajaju specijalnim «kopljem». Isprani sadržaj može se iz posudice pregledavati direktno, uz istovremeno izdvajanje cista. Ciste izdvojene iz uzoraka tla spremaju se u epruvete ili bočice (slika 14) za potrebe identifikacije (Grubišić, 2006).



Slika 9. Uzorci tla pripremljeni za ispiranje (100 ml) (Dubičanac, 2014)



Slika 10. Spearsov flotacioni uređaj za ispiranje uzoraka (Dubičanac, 2014)



Slika 11. Izdvajanje cista iz ispranog uzorka pomoću posude obložene PVC trakom (Dubičanac, 2014)



Slika 12. Traka s cistama postavljena na podlogu od polistirena (Dubičanac, 2014)



Slika 13. Pregled i izdvajanje cista pomoću binokularne lupe (Dubičanac, 2014)



Slika 14. Bočice s cistama (Dubičanac, 2014)

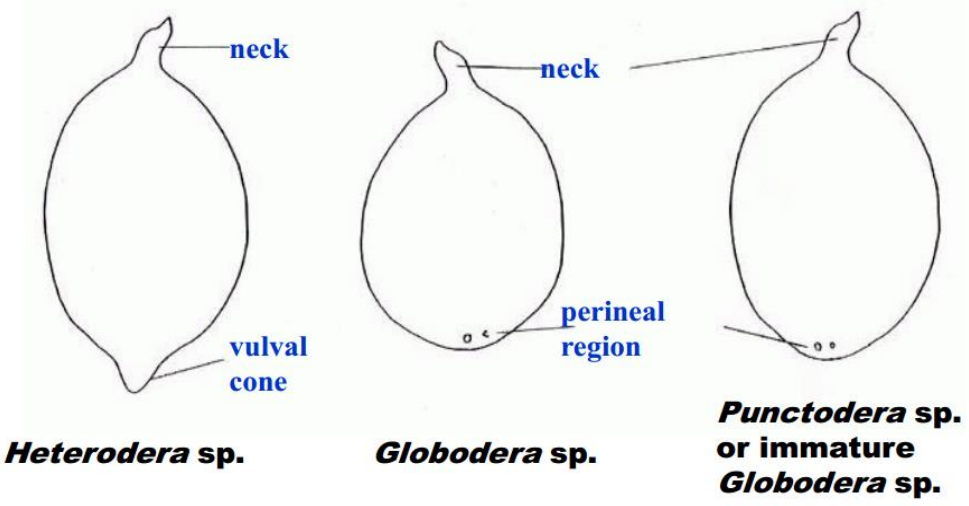
3.2. Morfološka identifikacija cistolikih nematoda

Razdvajanje cista roda *Globodera* od ostalih rodova cistolikih nematoda

Nakon ekstrakcije cista iz uzoraka tla, prva faza u identifikaciji krumpirovih cistolikih nematoda podrazumijeva razdvajanje okruglih ili kruškolikih (ovalnih) cista (rod *Globodera* i *Punctodera*) od cista limunastog oblika (rod *Heterodera*).

Prikaz izgleda cista rodova *Heterodera, Globodera* i *Punctodera* dan je na crtežu 1. Rutinska identifikacija cista provodi se na osnovu oblika cista i pregleda perinealne regije (Fleming i Powers, 1998). Vrste roda *Heterodera* tvore ciste s izbočenjem na prednjoj strani (ostatkom vrata ženke) i stražnjim izbočenjem (vrh vulvalnog konusa). U cista roda *Heterodera,* izražene su veće varijacije u formi, simetriji i veličini te se identifikacija ne može provoditi samo na osnovu tako varijabilnih i subjektivnih morfoloških karakteristika. Kroz svoj razvoj, ciste roda *Globodera* nisu prošle tolike promjene glede rasta u duljinu kao ciste roda *Heterodera*, što je rezultiralo njihovim jače zaobljenim oblikom. Ciste roda *Globodera* su gotovo okrugle s prednjim izbočenim dijelom. U nekim slučajevima, razvoj cista ovoga roda može biti reduciran, što rezultira njihovim izduljenim-jajolikim izgledom, sličnim onome u roda *Punctodera*. U vrsta roda *Punctodera* oblik cista je obično kruškoliki, s vratom koji se gotovo stapa sa siluetom tijela.

Iako je koristan inicijalni indikator u dijagnostici, treba istaknuti da su veličina i oblik cista varijabilni te je identifikacija roda i vrsta vjerodostojnija ukoliko se temelji na drugim karakteristikama cista. Najvažnije značajke u morfologiji cista za identifikaciju rodova i vrsta nalaze se u vulvalnoj konusnoj regiji ili perinealnoj regiji (Grubišić, 2006).



Crtež 1. Tipični oblici cista rodova *Heterodera, Globodera* i *Punctodera* (Bioforsk.no, 2014)

3.3. Utvrđivanje vitalnosti cista

Ovisno o starosti i stanju cista, sadržaj jaja i ličinki u njima može značajno varirati. Kako bi se procijenila vitalnost (varijabilnost) izdvojenih cista krumpirovih cistolikih nematoda, neophodno je istražiti stanje sadržaja cista. Kod malog broja cista (< 10), ciste mogu biti razrezane pojedinačno s posebnim skalpelom ili iglom, što je u oba slučaja dugotrajno i zamorno. Znatno brža metoda pregleda (< 50 cista) je drobljenje cista u kapljici vode (Turner, 1998 cit. Grubišić, 2006).

Za potrebe utvrđivanja vitalnosti cista brojena su puna jaja i ličinke (2. stadij) zlatne krumpirove nematode oslobođeni drobljenjem 10 cista u Huijsmansovom homogenizatoru (slika 15) (Huysman, 1967. cit. Grubišić, 2006). U kapljicu vode stavljenu u homogenizator dodaje se 10 cista te se ručno, pažljivom rotacijom zaobljenog štapića po unutarnjoj stijenci homogenizatora, ciste drobe i iz njih oslobađaju jaja, odnosno ličinke. Sadržaj iz homogenizatora ispire se u mjernu posudu. Pomoću mikroskopa Axiolab Zeiss (pod povećanjem 50 x) pregledavan je sadržaj posudice za brojanje. Ova metoda utvrđivanja vitalnosti cista usporediva je s metodikom prema Bijloo (1995) cit. Grubišić (2006).



Slika 15. Drobljenje cista u Huijsmansovom homogenizatoru (Dubičanac, 2014)



Slika 16. Mjerna posuda za brojanje jaja/ličinki (Dubičanac, 2014)

4. REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati analize uzoraka tla, prikupljenih na krumpiristu u lokalitetu Belica 2003. godine, na prisutnost zlatne krumpirove cistolike nematode prikazani su u Tablici 1.

Iz podataka prikazanih u Tablici 1. vidljivo je da je zaraza vrstom *G. rostochiensis* utvrđena u svih pet analiziranih uzoraka, tj. da je zaraza proširena cijelom proizvodnom površinom. Broj cista u uzorcima tla varirao je od 262-493, što prosječno iznosi 434 ciste/100 ml tla. Neujednačen broj cista u uzorcima posljedica je višegodišnjeg uzgoja krumpira, te postepenog raznošenja cista po proizvodnoj površini kultivacijom. Prema kriterijima o intenzitetu zaraze, s obzirom na brojnost cista, zaraza zlatnom krumpirovom cistolikom nematodom je jaka (> 25 cista/100 ml tla). Također, prema podacima iz tablice možemo vidjeti da su u svih pet uzoraka ciste bile vitalne te se broj jaja i ličinki kretao od 50,56-158,25/g tla (prosječno 93,41 jaja i ličinki/g tla). Prema tim podacima možemo sa sigurnošću zaključiti da je prekoračen ekonomski prag štetnosti od 20 jaja, ličinki/g tla (Evans i Stone, 1977. cit. Turner i Evans, 1998). S obzirom na visok broj vitalnih jaja i ličinki tog karantenskog štetnika, a s obzirom na uobičajenu intenzivnu proizvodnju krumpira na proizvodnoj površini, potrebno je poduzeti sve raspoložive mjere zaštite kojima bi se spriječio daljnji porast populacije, ali i širenje zlatne krumpirove nematode na nezaraženim površinama.

Tablica 1. Broj i vitalnost cista te intenzitet zaraze vrstom *G. rostochiensis* u uzorcima tla s pokusne parcele na lokalitetu Belica, 2003.

Uzorak	Broj cista / 100 ml tla	Vitalnost	Broj jaja i ličinki /g tla	Intenzitet zaraze
1	**472**	**167**	**78,82**	**3***
2	**466**	**151**	**70,36**	**3**
3	**262**	**193**	**50,56**	**3**
4	**478**	**291**	**139,09**	**3**
5	**493**	**321**	**158,25**	**3**

* Intenzitet zaraze: 1 slaba zaraza (1 cista u 100 ml tla); 2 srednja zaraza (2 do 25 cista u 100 ml tla); 3 jaka zaraza (> 25 cista u 100 ml tla) (EPPO, 1995 cit. Grubišić, 2006).

5. ZAKLJUČCI

Temeljem analize uzoraka tla na prisutnost zlatne krumpirove cistolike nematode prikupljenih s parcele na lokalitetu Belica 2003. godine proizlaze zaključci navedeni u nastavku.

1. Karantenska vrsta *G. rostochiensis* utvrđena je u svih pet analiziranih uzoraka.
2. Broj cista utvrđenih u poduzorku od 100 ml tla iznosio je 262-493, odnosno prosječno 434 ciste/100 ml tla. Neujednačen broj cista u uzorcima svjedoči o postepenom širenju zaraze iz žarišta po cijeloj površini, kroz višegodišnji uzgoj krumpira u monokulturi.
3. Prema kriterijima o intenzitetu zaraze s obzirom na brojnost cista, zaraza vrstom *G. rostochiensis* na proizvodnoj površini jakog je intenziteta (> 25 cista/100 ml tla).
4. Temeljem određivanja vitalnosti cista utvrđen je broj od 50,56-158,25 jaja i ličinki/g tla čime je prekoračen ekonomski prag štetnosti od 20 jaja i ličinki/g tla.
5. Zbog jake zaraze tim karantenskim štetnikom na uzorkovanoj površini, potrebno je provoditi mjere integrirane zaštite bilja koje uključuju: plodored, uništavanje korovnih biljaka iz porodice Solanaceae, sadnju otpornih kultivara, sterilizaciju tla (solarizacijom), „trap cropping“ te primjenu nematocida.
6. S obzirom da se nematode čak i u uvjetima male brojnosti vitalnih jedinki brzo umnožavaju, uz integriranu zaštitu krumpira potrebno je kontinuirano provoditi monitoring tj. sustavno praćenje tog štetnika.

6. LITERATURA

1. Bioforsk.no (2014). Identification of potato cyst nematodes (PCN) challenge with identification, <http://www.bioforsk.no/ikbViewer/Content/75105/Holgado%20PCN%20IEF1%20june%2010.pdf>. Pristupljeno 22. svibnja 2014.
2. Buturac, I. (2002). Krumpir (*Solanum tuberosum* L.). U: Lešić, R., Borošić J., Buturac I., Ćustić, M., Poljak, M., Romić, D.: Povrćarstvo, Zrinski Čakovec, str: 332-369.
3. Fleming, C. C., Powers, T. O. (1998). Potato cyst nematode diagnostics: Morfology, differential hosts and biochemical techniques. U: Marks, R. J., Brodie, B. B. (eds): Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control. CAB International. Wallingford (GB), str: 91-114.
4. Glasilo biljne zaštite (2015). Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj za 2015. godinu, Hrvatsko društvo biljne zaštite 1-2, 56-57.
5. Grubišić, D. (2006). *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 Nematoda: Heteroderidae) novi član nematofaune u Republici Hrvatskoj, Doktorska disertacija, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
6. Maceljski, M. (2002). Poljoprivredna entomologija, Zrinski Čakovec, str: 471-473.
7. Narodne novine (2006). Popis sorata krumpira, priznatih u Republici Hrvatskoj, za koje je utvrđeno da su otporne na krumpirove cistolike nematode (NN 87/06), <http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2006_07_87_2067.html>. Pristupljeno 10. ožujka 2016.
8. Nematode.net (2014). <http://nematode.net/NN3_frontpage.cgi?navbar_selectionspeciestable&subnav_selection=Globodera_rostochiensis>. Pristupljeno 22. svibnja 2014.
9. Ostojić, I. (2011). Krumpirove cistolike nematode *Globodera rostochiensis* Woll. i *Globodera pallida* Stone, Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilišta u Mostaru, <http://fmpvs.gov.ba/texts/230_552_1088_h.pdf>. Pristupljeno 22. svibnja 2014.
10. Oštrec, Lj. (1998). Zoologija. Štetne i korisne životinje u poljoprivredi, Zrinski, Čakovec
11. Oštrec, Lj., Grubišić, D. (2002). Pojava zlatne krumpirove cistolike nematode *Globodera rostochiensis* (Woll.) u Republici Hrvatskoj, Glasilo biljne zaštite 1: 3-9.

12. Padil (2016). Pests and diseases image library, <http://pbt.padil.gov.au/index.php?q=node/6&pbtID=149>. Pristupljeno 10. ožujka 2016.
13. Poje, I., Rehak, T. (2011). Zlatnožuta krumpirova cistolika nematoda – *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) i blijedožuta krumpirova cistolika nematoda – *Globodera pallida* (Stone, 1973). Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo. Zavod za zaštitu bilja, Zagreb
14. Turner, S. J., Evans, K. (1998). The origins, global distribution and biology of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* (Woll.) and *Globodera pallida* Stone). U: Marks, R. J., Brodie, B. B. (eds): Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control. CAB International. Wallingford (GB), str: 7-26.
15. Val-znanje (2014). <http://www.val-znanje.com/modem/zdravlje-ljekovite-biljke>. Pristupljeno 22. svibnja 2014.
16. Whitehead, A. G., Turner, S. J. (1998). Menagement and regulatory control strategies for potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis and Globodera pallida*). U: Marks, R. J., Brodie, B. B. (eds): Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control. CAB International. Wallingford (GB), str: 135-152.