

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Nikola S. Grujić

POPULACIONA DINAMIKA I ODRŽIVI
MODALITETI SUZBIJANJA *GLOBODERA*
ROSTOCHIENSIS (WOLL.) I *G. PALLIDA*
(STONE) (NEMATODA: HETERODERINAE)
U USLOVIMA ZAPADNE SRBIJE

doktorska disertacija

Beograd, 2017.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Nikola S. Grujić

POPULATION DYNAMICS AND
SUSTAINABLE CONTROL MODALITIES OF
GLOBODERA ROSTOCHIENSIS (WOLL.)
AND *G. PALLIDA* (STONE) (NEMATODA:
HETERODERINAE) IN THE CONDITIONS OF
WESTERN SERBIA

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2017

Komisija:

Mentor:

dr Milan Radivojević, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije:

dr Radmila Petanović, redovni profesor u penziji
Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet,
dopisni član SANU

dr Laslo Barši, docent
Univerzitet u Novom Sadu-Prirodno-matematički
fakultet

dr Biljana Vidović, docent
Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet

dr Zoran Bročić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Izrazitu zahvalnost dugujem svom mentoru, prof. dr Milanu Radivojeviću koji me je uveo u svet nematoda i naučnih istraživanja. Zahvaljujem mu se na pomoći tokom izrade ove disertacije, podršci i poverenju koje mi ukazuje već punih dvanaest godina.

Zahvaljujem se članovima komisije na posvećenom vremenu, kritičkim komentarima i korisnim sugestijama koje su uticale da ova doktorska disertacija bude bolja. Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Radmili Petanović i doc. dr Biljani Vidović na konstantnoj podršci i dragocenim savetima tokom svih ovih godina.

Veliku zahvalnost za pomoć u terenskom radu na Ponikvama dugujem dipl. inž. Dragoljubu Kuzmanoviću i Milisavi Stanić, kao i porodici Čosić, a za pomoć u radu na Javoru dipl. inž. Milu Bogdanoviću.

Hvala svim zaposlenim na Katedri za entomologiju i poljoprivrednu zoologiju na razumevanju, podršci i pomoći tokom izrade doktorske disertacije, i što čine da vreme provedeno na fakultetu bude u prijatnom radnom okruženju.

Hvala svim mojim nastavnicima koji su velikodušno delili svoja znanja i iskustva, i iz čijeg sam rada i ponašanja učio kako da budem bolji.

Zahvalan sam roditeljima na безусловnoj ljubavi a mojoj majci na konstantnom nenametljivom prisustvu, toplini i neizmernoj, neprekidnoj podršci.

Zahvaljujem se porodici i prijateljima na ljubavi i iskrenoj podršci.

Mojoj Duški hvala na ljubavi, pomoći i strpljenju.

Ova disertacija ne bi mogla biti uspešno izvedena bez finansijske podrške Uprave za zaštitu bilja Ministarstva poljoprivrede i zaštite životne sredine Republike Srbije, kroz projekte kojima je rukovodio mentor ove doktorske disertacije prof. dr Milan Radivojević, kao i projekta 46008 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Populaciona dinamika i održivi modaliteti suzbijanja *Globodera rostochiensis* (Woll.) i *G. pallida* (Stone) (Nematoda: Heteroderinae) u uslovima zapadne Srbije

Sažetak

Krompirove cistolike nematode (KCN), *Globodera rostochiensis* (Woll.) i *G. pallida* (Stone) su među najvažnijim karantinskim štetočinama krompira u svetu. Kod nas su nađene tek početkom ovog veka, na nekoliko lokaliteta u zapadnoj Srbiji, sa dominacijom žute KCN, *G. rostochiensis*. Bela KCN, *G. pallida*, je nađena na samo jednoj parceli i u režimu je iskorenjivanja. U Srbiji su obe vrste KCN na IA listi štetnih organizama. Do sada su kod nas KCN proučavane uglavnom sa aspekta prisutnih vrsta i patotipova, i njihovog rasprostranjenja. Ova disertacija se bavi ispitivanjem populacione dinamike obe vrste, i sa praktične strane razvija održive modalitete njihove kontrole u agroekološkim uslovima zapadne Srbije.

Kao eksperimentalni lokaliteti odabrane su Ponikve kod Užica sa dve populacije žute KCN i Ograđenik na planini Javor sa populacijom bele KCN. Višegodišnja istraživanja obuhvatila su brojne ogledе, od laboratorijskih *in vitro* testova, preko saksijskih, do ogleda u približno poljskim, mikroplot i poljskim proizvodnim uslovima. Populaciona dinamika u približno poljskim uslovima je praćena tokom tri godine za žutu i dve godine za belu KCN. U ogledima su simulirane tri realne situacije u proizvodnim uslovima, relevantne za njihovo održavanje i suzbijanje. Prva je odsustvo biljaka domaćina tj. simulacija parloga; druga prisustvo osetljivog domaćina (krompir sorte *désirée*) i treća prisustvo otpornog krompira koji deluje kao biljka klopka (sorta *agria* za žutu i sorta *innovator* za belu KCN).

Minimalne temperature zemljišta potrebne za aktivaciju invazionih larvi (L2) javljaju se već u aprilu, i iznose 5,2 °C za *G. pallida* i između 5,5 °C i 8 °C za *G. rostochiensis*. Obe vrste imaju dva talasa piljenja L2 iz cista, koji se poklapaju sa kišnim periodima tokom vegetacione sezone. Za završetak ciklusa razvića KCN i pojavu nove generacije cista bilo je

potrebno manje od dva meseca u kišnoj godini a u tipičnim klimatskim uslovima između dva i tri meseca. Najveći broj ispiljenih L2 iz drugog talasa piljenja ne uspeva da završi ciklus razvića. Ima indikacija da se iz drugog talasa piljenja L2 mogu razviti malobrojni adulti, ali ne i čitava generacija, pa obe vrste KCN u ispitivanim uslovima imaju jednu generaciju godišnje.

Na osetljivoj sorti krompira *désirée* dolazi do uvećanja populacije KCN i do osam puta. Pod uticajem otpornih biljaka klopki godišnje smanjenje gustine populacija KCN bilo je između 80-92%, odnosno 97% posle dve godine uzastopnog gajenja. Smanjenje vitalnosti populacija KCN u simulaciji parloga bilo je intenzivnije u prvoj godini posle osetljivog useva kada je iznosilo 46-64%. U drugoj godini zabeleženo je smanjenje vitalnosti populacije od 25-30%, sa kumulativnim padom tokom dve godine od oko 70%.

Primenjeni deo disertacije bavi se pasivnim i aktivnim suzbijanjem KCN i njihovim kombinovanjem, na zaraženim parcelama sa različitom istorijom gajenja krompira. Zbog razlika u virulentnosti KCN ispitivan je uticaj biljaka klopki, odabranog sortimenta krompira i drugih gajenih i divljih biljnih vrsta, kao neophodan uslov za njihovo optimalno korišćenje u aktivnom suzbijanju KCN. Utvrđen je visok stimulatívni efekat korenskih eksudata domaćeg sortimenta paradajza na piljenje L2 KCN. Sličnu stimulaciju piljenja L2 KCN pokazale su lokalne populacije *Solanum nigrum*. Ova korovska vrsta nije domaćin i predstavlja mogući agens kontrole KCN. *Physalis alkekengi* i *Tagetes patula* nisu pokazale potencijal kao biljke klopke. Sve ispitivane sorte krompira pokazale su visok stimulatívni efekat na piljenje L2 KCN i visoku otpornost prema jednom ili oba patotipa KCN prisutna u Srbiji.

Višegodišnje parloženje kao metod pasivnog suzbijanja pokazalo je da smanjenje gustine populacije usled spontanog piljenja L2 *G. rostochiensis* u polju iznosi 20% godišnje a kod *G. pallida* 27%. Mnogo niža inicijalna vitalnost populacije bele KCN u uslovima parloga pada ispod nivoa ekonomske štetnosti posle osam godina. Stoga, na manje infestiranim parcelama, u situacijama kada se želi minimizirati rizik od širenja KCN (kao u slučajevim pojave IA karantinske *Globodera pallida*) i u situacijama kada je ekonomski prihvatljivo napuštanje ratarske proizvodnje na infestiranoj parceli, parloženje može biti uspešno i preporučeno kao jedan od održivih modaliteta suzbijanja KCN u zapadnoj Srbiji.

U mikroplot ogledu utvrđeno je da gustina sadnje biljaka klopki krompira sorte *agria* od 9 biljaka po m² površine zemljišta, koja odgovara gustini sadnje u konvencionalno gajenom usevu krompira, predstavlja optimalnu gustinu sadnje za dobijanje gotovo maksimalnog efekta smanjenja populacije *G. rostochiensis* od oko 70%. Godišnje smanjenje populacije *G. rostochiensis* pod uticajem krompira otporne sorte *agria*, u proizvodnim uslovima na površini od 0,5 ha u dve godine iznosilo je 79 i 84%. Demonstriran je neželjeni uticaj samoniklih osetljivih biljaka krompira na održavanje i podmlađivanje populacija KCN. Njihova veća prisutnost u zemljištu, jedan je od razloga za oko 10% slabiji efekat suzbijanja KCN otpornom sortom *agria* u mikroplot eksperimentu u odnosu na ogled sproveden u proizvodnim uslovima.

Na delovima parcele na kojima je kombinovano gajenje krompira otporne sorte *agria* u jednom ili dva ciklusa, uz prethodno i naknadno višegodišnje parloženje, ukupno smanjenje gustine populacije *G. rostochiensis* posle devet godina iznosilo je 99%. Devet godina parloženja na trećem delu visoko infestirane parcele smanjilo je gustinu populacije za 85%, ostavljajući gustinu populacije *G. rostochiensis* višestruko iznad praga ekonomske štetnosti. Sa nastavkom registrovanog godišnjeg smanjenja populacije procenjeno je da bi ova populacija pala ispod štetnih nivoa tek nakon dvadeset godina parloženja. Dobijeni rezultati ukazuju da na jako infestiranim površinama i lokalitetima gde su KCN u širenju, parloženje kao metod pasivne kontrole KCN nema ekonomsku i fitosanitarnu opravdanost. Stoga, na visoko infestiranim parcelama optimalna strategija suzbijanja KCN je omogućavanje prirodnog smanjenja brojnosti populacije KCN u uslovima parloga, tokom više godina, i potom gajenje visoko otpornih sorti, uz paralelno obavezno suzbijanje samoniklih biljaka osetljivih sorti krompira. Ova predložena strategija mogla bi biti jedna od uspešnih i održivih metoda kontrole KCN u zapadnoj Srbiji.

Ključne reči: krompirove cistolike nematode, KCN, utvrđivanje vitalnosti, disekcija cista, patotip, otporne sorte, *Solanum* sp., biljke klopke, parloženje

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Entomologija i poljoprivredna zoologija

UDK: 632.651.32(497.11)(043.3)

Population dynamics and sustainable control modalities of *Globodera rostochiensis* (Woll.) and *G. pallida* (Stone) (Nematoda: Heteroderinae) in the conditions of Western Serbia

Summary

Potato cyst nematodes (PCN), *Globodera rostochiensis* (Woll.) and *G. pallida* (Stone) are one of the major quarantine pests of potato worldwide. They were discovered in Serbia only at the beginning of this century at few localities in Western Serbia, with the domination of yellow PCN, *G. rostochiensis*. White PCN, *G. pallida*, has been registered only at one field which is under official eradication regime. Both PCN species have been included in IA list of harmful organisms. Until now, PCN in Serbia have been studied mainly in terms of present species and pathotypes and their distribution. This thesis deals with the population dynamics of both species and, from a practical aspect, development of sustainable PCN control modalities in agro-ecological conditions of Western Serbia.

As experimental localities Ponikve near Užice was selected with two populations of yellow PCN and Ogradjenik at the Mountain Javor with a population of white PCN. Multi-annual research included numerous experiments, from laboratory *in vitro* tests and pot experiments to semi-field, microplot and field experiments. In semi-field experiments the population dynamics was monitored over three years for yellow and two for white PCN. The experimental simulations included three real situations in production conditions, relevant to PCN maintenance and control. The first one was absence of host plants *i.e.* simulation of fallow, the second was presence of susceptible host (potato cultivar Désirée) and the third was presence of resistant potato as simulation of a trap crop (potato cultivar Agria for yellow and Innovator for white PCN).

The minimum soil temperature necessary for activation of invasive juveniles (J2) was reached as early as April, *i.e.* 5.2 °C for *G. pallida* and between 5.5 °C and 8 °C for *G. rostochiensis*. The invasive juveniles of both species hatched out of cysts in two waves, which coincided with rainy periods during the growing season. To complete the life cycle

and from the first cysts of a new generation it took less than two months in a rainy year and from two to three months in typical climatic conditions. The majority of J2 hatched in the second wave failed to complete the life cycle. There are indications that few J2 hatched in the second wave may develop into adults, but not the whole generation, so both PCN species in tested conditions have one generation per year.

The PCN population on a susceptible potato cv. Désirée multiplied up to eight times. Under the influence of resistant potato plants, the annual decrease of PCN population density was between 80-92% and 97% after two consecutive years of planting. PCN population viability decline in simulation of fallow was more intensive in the first year after the susceptible potato, amounting to 46-64%. In the second year, recorded population decrease was 25-30%, with a cumulative decline of 70% over two years.

The applied part of the thesis deals with passive and active PCN control measures and their combination in the infested fields with different potato cropping field history. Due to differences in the PCN virulence, the influence of trap plants, selected potato cultivars and domesticated and wild plant species, was investigated as a necessary condition for their optimal use for the active control of PCN. The root exudates of domestic tomato cultivars showed a high stimulatory effect on PCN J2 hatching. The similar effect on J2 was recorded for *Solanum nigrum*. This weed species is not a PCN host and therefore, it could be used as a potential PCN control agent. *Physalis alkekengi* and *Tagetes patula* showed no potential for use as trap crops. All studied potato cultivars demonstrated high stimulatory effect on the PCN J2 hatching and high resistance towards one or both PCN pathotypes present in Serbia.

Multi-annual fallow in the fields, as a passive control method, showed that annual population density decline due to spontaneous J2 hatching was 20% for *G. rostochiensis* and 27% for *G. pallida*. The much lower initial population density of white PCN, declined after eight years of fallow below the economic threshold. Therefore, in cases of PCN less infested fields, when the minimal risk of PCN spreading is required (as in case of IA quarantine *G. pallida*) and when from economic aspect plant production could be abandoned in the infested fields, fallow, as a passive PCN control method, can be successful and recommended modality of sustainable PCN management in Western Serbia.

In microplot experiment it was recorded that planting density of 9 resistant potato cv. Agria plants per 1 m², which corresponds to the planting density of conventionally cropped potato, was optimal planting density to obtain nearly the maximal effect of *G. rostochiensis* population reduction of approximately 70%. The annual population decrease of *G. rostochiensis* under conventionally cropped resistant cultivar Agria in field conditions in two 0.5 ha field parts accounted for 79 and 84% in two years. The adverse effect of susceptible volunteer potato plants was demonstrated on PCN populations maintenance and rejuvenation. Their higher density in soil was one of the reasons for approximately 10% weaker effect of potato cv. Agria on PCN decline in microplots comparing to the field conditions.

In parts of the field where cultivation of resistant potato cv. Agria, cropped once or twice, was combined with fallow before and after, a total reduction of *G. rostochiensis* population density was 99%. Nine years of fallow in the third part of the highly infested field reduced the PCN population viability by 85%, leaving the population density several times over the economic threshold. With annual population decline levels registered in this field, PCN population would decrease under economic threshold only after 20 fallow years. The results indicate that in the highly infested fields in localities where PCN are in spreading, fallow, as a passive control measure, does not have economic and phytosanitary justification. Therefore, the optimal strategy of PCN management in highly infested fields is enabling natural PCN population decrease in fallow, over several years, followed by cultivation of highly resistant potato cultivars, with parallel eradication of volunteer susceptible potato plants. This proposed strategy could be one of the successful and sustainable PCN control methods in Western Serbia.

Keywords: Potato cyst nematodes, PCN, population viability, cyst dissection, pathotype, resistant cultivars, *Solanum* sp., trap crops, fallow

Scientific field: Biotechnical Sciences

Scientific discipline: Entomology and Agricultural Zoology

UDC: 632.651.32(497.11)(043.3)

Sadržaj

1	UVOD	1
2	PREGLED LITERATURE	6
2.1	Taksonomija krompirovih cistolikih nematoda (KCN)	6
2.2	Detekcija i identifikacija vrsta KCN	7
2.3	Bioekologija KCN	12
2.3.1	Životni ciklus KCN.....	12
2.3.2	Mehanizmi preživljavanja nepovoljnih uslova.....	15
2.3.3	Populaciona dinamika KCN	17
2.3.4	Specijalizacija KCN i interakcije sa biljkama	18
2.3.4.1	Patotipovi KCN i izvori otpornosti	18
2.3.4.2	Ispitivanje stepena otpornosti biljaka prema KCN	22
2.4	Mehanizmi štetnosti i ekonomski značaj	24
2.5	Širenje i rasprostranjenost KCN.....	26
2.6	Integralna zaštita krompira od krompirovih cistolikih nematoda	29
2.6.1	Sprečavanje širenja KCN	29
2.6.2	Pasivno suzbijanje	30
2.6.3	Aktivno suzbijanje	33
2.6.3.1	Hemijske mere	33
2.6.3.2	Biofumigacija.....	34
2.6.3.3	Biološka kontrola KCN mikroorganizmima	36
2.6.3.4	Biljke klopke.....	36
	NAUČNI CILJEVI ISTRAŽIVANJA	42

POLAZNE HIPOTEZE	43
3 MATERIJAL I METODE	44
3.1 Eksperimentalni lokaliteti i populacije KCN	44
3.1.1 Lokalitet Ponikve kod Užica	45
3.1.2 Lokalitet Ograđenik na planini Javor.....	47
3.2 Opšte metode ispitivanja KCN.....	49
3.2.1 Uzorkovanje i izdvajanje cista iz zemljišta	49
3.2.2 Izdvajanje slobodnoživećih stadijuma iz zemljišta	50
3.2.3 Razrada poboljšane metode procene vitalnosti cista disekcijom	50
3.3 Identifikacija vrsta i patotipova eksperimentalnih populacija	53
3.3.1 Određivanje vrsta.....	53
3.3.2 Određivanje patotipova KCN.....	54
3.4 Ispitivanje populacione dinamike	56
3.4.1 <i>Globodera rostochiensis</i> , patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve.....	56
3.4.1.1 Ogled 1	56
3.4.1.2 Ogled 2	58
3.4.2 <i>Globodera pallida</i> , patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik	60
3.5 Ispitivanje interakcije KCN i odabranih vrsta biljaka	60
3.5.1 <i>In vitro</i> testovi provokacije piljenja larvi KCN	60
3.5.2 Ispitivanje uticaja <i>Tagetes patula</i> na populaciju <i>G. rostochiensis</i> u mikroplot ogledu	64
3.5.3 Biotestovi ispitivanja otpornosti nekih biljaka prema KCN	65
3.5.3.1 Ispitivanje statusa <i>Solanum nigrum</i> i <i>Physalis alkekengi</i> kao domaćina KCN u laboratorijskim uslovima	65

3.5.3.2	Ispitivanje otpornosti sorte krompira <i>crisps4all</i> u laboratorijskim uslovima	66
3.6	Pracjenje višegodišnje dinamike populacije metodom transekta u kontrolnim punktovima.....	66
3.7	Mikroplot ogled optimizacije sklopa otpornog krompira sorte <i>agria</i> kao biljaka klopki za suzbijanje <i>G. rostochiensis</i> , patotip Ro1	67
3.8	Poljski ogled suzbijanja <i>Globodera rostochiensis</i> , patotip Ro1	68
3.9	Statistička analiza	69
4	REZULTATI.....	71
4.1	Određivanje vrsta i patotipova KCN	71
4.1.1	Određivanje vrsta.....	71
4.1.2	Određivanje patotipa ispitivanih KCN.....	72
4.2	Poboljšana metoda procene vitalnosti cista disekcijom.....	75
4.3	Populaciona dinamika KCN u uslovima zapadne Srbije	78
4.3.1	<i>Globodera rostochiensis</i> , patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve.....	78
4.3.1.1	Ogled 1	79
4.3.1.2	Ogled 2	90
4.3.2	<i>Globodera pallida</i> , patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik	98
4.4	Ispitivanje interakcije KCN i odabranih vrsta biljaka	108
4.4.1	<i>In vitro</i> testovi provokacije piljenja larvi KCN	108
4.4.2	Ispitivanje uticaja <i>Tagetes patula</i> na populaciju <i>G. rostochiensis</i> u mikroplot ogledu	118
4.4.3	Biotestovi ispitivanja otpornosti nekih biljaka prema KCN	122
4.5	Održivi modaliteti suzbijanja KCN u zapadnoj Srbiji.....	125

4.5.1	Višegodišnje praćenje efekata pasivnog i aktivnog suzbijanja KCN na zaraženim parcelama	125
4.5.1.1	<i>Globodera rostochiensis</i> , patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve	126
4.5.1.2	<i>Globodera pallida</i> , patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik.....	128
4.5.2	Optimizacija gustine sadnje biljaka klopki za suzbijanje žute KCN	130
4.5.3	Poljski ogled aktivnog suzbijanja <i>Globodera rostochiensis</i> , patotip Ro1 gajenjem otpornog krompira	134
5	DISKUSIJA	141
5.1	Određivanje vrsta i patotipova	141
5.2	Poboljšana metoda procene vitalnosti cista disekcijom.....	144
5.3	Populaciona dinamika.....	146
5.3.1	<i>Globodera rostochiensis</i> , patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve.....	147
5.3.2	<i>Globodera pallida</i> , patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik	153
5.4	Ispitivanje interakcije KCN i odabranih vrsta biljaka	154
5.4.1	<i>In vitro</i> testovi provokacije piljenja larvi KCN	155
5.4.2	Uticaj <i>Tagetes patula</i> na populaciju <i>Globodera rostochiensis</i> u mikroplot ogledu	156
5.4.3	Biotestovi ispitivanja otpornosti nekih biljaka prema KCN	156
5.5	Održivi modaliteti suzbijanja KCN u zapadnoj Srbiji.....	158
5.5.1	Višegodišnje praćenje efekata pasivnog i aktivnog suzbijanja KCN na zaraženim parcelama	158
5.5.1.1	<i>Globodera rostochiensis</i> , patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve	159
5.5.1.2	<i>Globodera pallida</i> , patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik.....	159
5.5.2	Optimizacija gustine sadnje biljaka klopki za suzbijanje žute KCN	160

5.5.3	Poljski ogled aktivnog suzbijanja <i>Globodera rostochiensis</i> , patotip Ro1 gajenjem otpornog krompira	163
6	ZAKLJUČCI	169
7	LITERATURA	172
	PRILOZI	198
	BIOGRAFIJA AUTORA	200
	IZJAVE	201

1 UVOD

Cistolike nematode (Tylenchida: Heteroderinae) su obligatni paraziti korena biljaka i poznate su po ekonomskoj štetnosti prvenstveno u ratarstvu. Krompirove cistolike nematode (KCN), *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 i *Globodera pallida* (Stone, 1973) Behrens, 1975 su oligofagi i hrane se samo na pomoćnicama (Solanaceae). Među gajenim se kao glavni domaćin KCN ističe krompir (*Solanum tuberosum tuberosum* L.), gde čine i najveće štete u proizvodnji, a tu su i paradajz, i plavi patlidžan. Među domaćinima KCN su i pojedine vrste divlje korovske flore pomoćnica iz nekoliko rodova (Sullivan *et al.*, 2007). I krompir i KCN su poreklom iz Južne Amerike, odakle su prvo preneseni u Evropu, a iz nje vremenom dalje po svetu (Turner i Evans, 1998).

KCN su dve vrlo slične vrste, i u morfološkom i biološkom smislu. Od malih morfoloških razlika ističe se boja zrelih ženki pred formiranje cista, po kojoj je *G. rostochiensis* nazvana žutom a *G. pallida* belom KCN. Razlike u biologiji ove dve vrste, a prvenstveno razlike u spektru biljaka domaćina, su od velikog praktičnog značaja za njihovu kontrolu (Fleming i Powers, 1998a). Ove razlike su prisutne između vrsta KCN ali i na intraspecijskom nivou, na osnovu kojih je izdvojeno više patotipova (Kort, 1974), pet u okviru žute, i tri u okviru bele KCN (Kort *et al.*, 1977). Patotipovi KCN se razlikuju upravo po virulentnosti prema različitim genotipovima krompira i njegovih divljih srodnika (Canto Saenz i De Scurrah, 1977; Kort *et al.*, 1977). Današnji diverzitet genotipova krompira i srodnih vrsta korišćenih u selekciji gajenog krompira meri se u hiljadama a broj trenutno gajenih sorti u svetu u stotinama (EU, 2016). I pored mnoštva dostupnih sorti, praktično nema potpuno otpornih komercijalnih sorti prema svim patotipovima obe vrste KCN. Mnoge sorte krompira poseduju visoku ili delimičnu otpornost prema jednom ili nekoliko patotipova, a znatan broj, često baš onih masovno gajenih, kakva je u Srbiji sorta *désirée*, su potpuno osetljive na sve patotipove KCN.

Do poslednjih decenija prošlog veka, u Evropi je dominirao prvi patotip *G. rostochiensis*, prema kojem postoji mnoštvo komercijalnih sorti sa potpunom otpornošću

dobijenom od *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* CPC 1673 baziranoj na H1 genu za rezistentnost (Ellenby, 1952). Otpornost sortimenta prema *G. pallida* je većinski parcijalna i poligeneske je prirode što ovu vrstu čini značajno težom za suzbijanje od žute KCN (Marks i Brodie, 1998). Gajenjem otpornih sorti prema decenijski najzastupljenijem prvom patotipu *G. rostochiensis*, a zbog nepostojanja potpune otpornosti prema *G. pallida* u proizvođačima dostupnom sortimentu krompira, izvršen je selekcioni pritisak čime poslednjih decenija započinje period dominacije *G. pallida* u mnogim zemljama Evrope koje se dugo suočavaju sa problemom KCN. Skorašnja istraživanja govore da su u Engleskoj i Velsu, KCN prisutne na 64% krompirišta, sa dominacijom *G. pallida* i prisustvom na 92% ispitivanih površina (Minnis *et al.* 2002), i da se ovaj trend nastavlja na pomenutom prostoru (Dybal-Lima *et al.*, 2016).

Decenijska iskustva zapadno-evropskih zemalja pokazala su da hemijske mere kontrole KCN ne daju zadovoljavajuće rezultate, posebno dugoročno. Stoga je težište integralne zaštite usmereno ka administrativnim preventivnim merama sprečavanja introdukcije i širenja (karantinu i dr.), pasivnim merama suzbijanja višegodišnjim gajenjem nedomaćina, a u domenu aktivnog suzbijanja, uzgajanju otpornih biljka-biljaka klopki, pre svega otpornog sortimenta krompira i drugim biološki orijentisanim merama. Sa skorašnjom zabranom upotrebe većine hemijskih nematocida zbog ekotoksikološke neprihvatljivosti (Anon., 2009) u Evropi je ovaj trend još intenzivniji. Zbog ekonomskog značaja i kompleksnosti suzbijanja, u zemljama Evropske Unije, kao i u mnogim drugim, KCN se nalaze na karantinskim listama štetnih organizama (EPPO A2 list; EU Anex designation I/A2 i dr.) (EPPO/CABI, 1997; Anon., 2013b).

I u Srbiji su KCN posebno regulisani štetni organizmi i obe vrste se nalaze na IA listi štetnih organizama (Anon., 2010a). Prema dosadašnjim saznanjima, *G. rostochiensis*, i to samo njen prvi patotip koji je dominantan i u Evropi, prisutna je u nekoliko užih područja u zapadnoj Srbiji, našem glavnom području gajenja semenskog krompira. U zapadnoj Srbiji je i jedini pouzdani dosadašnji nalaz *G. pallida*, patotip 2/3, na jednoj izolovanoj proizvodnoj parceli na planini Javor.

Ovakvo stanje prisutnosti KCN u našoj zemlji je drugačije od današnjeg u zemljama zapadne Evrope i govori o tome da se KCN još nisu značajno proširile u Srbiji. Dominacija

prvog patotipa *G. rostochiensis* prema kome postoje potpuno otporne sorte krompira daje šansu da se njeno dalje širenje bar znatno uspori, a u slučaju *G. pallida* ako je moguće i potpuno spreči.

Lokalno širenje KCN sa infestiranih parcela na okolne odvija se raznošenjem KCN zemljištem sa mehanizacijom, vetrom, površinskim vodama, semenskim krompirom itd. Raznošenje KCN na udaljene parcele pre svega je sa zaostalim zemljištem na semenskom krompiru koji potiče sa infestiranih parcela. Iskustva zemalja koje se problemom KCN bave već decenijama pokazuju da je lokalno širenje nemoguće sprečiti ali ga je moguće usporiti pravovremenim korišćenjem određenih mera borbe.

U ukupnom integralnom pristupu kontroli KCN, preventivnim aspektom administrativne kontrole bavi se fitosanitarni sistem, kroz inspekcijsku kontrolu uvoza, i domaće proizvodnje i prometa semenskog krompira, kojim se sprečavaju nove introdukcije KCN i usporava proces širenja na lokalitetima gde su već registrovane (Anon., 2008; Anon., 2010a; Anon., 2013a).

Da bi metode suzbijanja KCN bile uspešno korišćene, potrebno je poznavanje populacione dinamike u specifičnim agroekološkim uslovima (Marks i Brodie, 1998). Dosadašnja svetska znanja o populacionoj dinamici KCN odnose se na uslove Južne Amerike, Zapadne, Centralne i Severne Evrope i Rusije (Marks i Brodie, 1998). Za prostor Srbije objavljen je jedan rad koji se tiče populacione dinamike *G. rostochiensis* u saksijским uslovima u Beogradu (Bačić *et al.* 2011). U oblasti zapadne Srbije, koji predstavlja naš najznačajniji region proizvodnje krompira, a koju odlikuje brdsko-planinski reljef, srednje visoke nadmorske visine i kombinacija humidne umereno kontinentalne i planinske klime, nije bilo prethodnih proučavanja sezonske dinamike KCN. Dosadašnja ispitivanja KCN kod nas, uključujući i dve prethodne disertacije (Bačić, 2008 i Oro, 2011), bavila su se pretežno detekcijom, identifikacijom i rasprostranjenjem KCN u Srbiji (Krnjaić *et al.*, 2000; Radivojević *et al.*, 2001; Krnjaić *et al.*, 2002; Krnjaić *et al.*, 2005; Radivojević *et al.*, 2006a; Radivojević *et al.*, 2006b; Radivojević *et al.*, 2007; Krnjaić *et al.*, 2008; Radivojević i Stančić, 2009; Radivojević i Labudović, 2010; Bačić, 2010; Bačić *et al.*, 2013, Bačić, 2014; Grujić *et al.*, 2016).

Primenjeni deo istraživanja ove disertacije odnosi se na razradu održivih modaliteta suzbijanja KCN u agroekološkim uslovima Zapadne Srbije. Na osnovu svetskih dosadašnjih iskustava, optimalne i u svakom pogledu održive jesu različite varijante manipulacije samim sistemom biljne proizvodnje na zaraženoj površini. Osnovna strategija kontrole je iznurivanje prisutnih populacija, a u nekim situacijama i potpuno iskorenjivanje, uskraćivanjem biljaka domaćina (Radivojević, 2009).

Sa karantinskog aspekta idealno rešenje kontrole KCN je uskraćivanje domaćina na duže vreme, prenamenom infestirane parcele ili potpunim obustavljanjem proizvodnih aktivnosti tj. parloženjem. Ovakav, pasivan način suzbijanja KCN je široko primenjiv kao jedan od održivih modela kontrole KCN. Na pasivnom pristupu se insistira u područjima sa retkim nalazima KCN i/ili parcelama infestiranim sa IA karantinskom vrstom *G. pallida*, jer je tako minimalan rizik od širenja tj. raznošenja KCN sa parcele. Pasivno suzbijanje je pogodno i u situacijama kada je ekonomski održivo odustajanje od ratarske proizvodnje na infestiranim parcelama sa KCN za duži niz godina. Na ovaj način dolazi do spontanog izumiranja populacije od manje od 10% do preko 50% godišnje u zavisnosti od klimatskih, orografskih, edafskih i agroekoloških razlika, i infestacije KCN na parcelama bez domaćina mogu opstati i duže od 20 godina. (Turner, 1996). Godišnja smanjenja populacija KCN u agroekološkim uslovima zapadne Srbije u uslovima parloga nisu poznata a neophodna su za određivanje optimalne dužine plodosmene krompira.

Na područjima gde su KCN već prisutne na većem prostoru, obustavljanje proizvodnje nema ekonomsku opravdanost. Sa stanovišta zaštite prinosa, na slabije infestiranim površinama oligofagne KCN moguće je održavati dugoročno na niskom nivou korišćenjem višegodišnjeg plodoreda bez domaćina (Whitehead i Turner, 1998). Međutim, sa karantinskog aspekta to nije dovoljno jer i posle dužih plodoreda rizik od širenja ne nestaje, a parcele ipak bivaju, sa stanovištva proizvođača, isuviše dugo isključene iz proizvodnje krompira, najznačajnije ratarske kulture u zapadnoj Srbiji. Stoga, na lokalitetima gde su u većoj meri prisutne, KCN treba suzbijati metodama koje intenzivnije i brže dovode do pada populacije, idealno do nivoa ispod granice detekcije, a sa ciljem minimiziranja rizika od širenja KCN sa zaraženih parcela. U ovom slučaju u plodored se

uključuju otporni biološki agensi-biljke klopke (rezistentne sorte krompira i druge otporne biljke), koje svojim korenskim lučevinama ubrzavaju izumiranje KCN (Radivojević, 2009).

Zbog inter- i intraspecijskih razlika u virulentnosti KCN neophodni uslovi za optimalno korišćenje biljaka klopki je utvrđivanje otpornosti korišćenog sortimenta krompira i drugih domaćih gajenih i divljih vrsta biljaka koje mogu biti korovi i uticati na populacije KCN. Potrebno je ispitati i efekat koji ove biljke ispoljavaju na piljenje L2 KCN kao bitne osobine biljaka klopki.

U cilju određivanja optimalnih mera borbe protiv KCN, neophodno je znanje o promenama gustine populacije KCN u tri realno prisutne situacije u proizvodnoj praksi. To su, kao nepoželjna praksa, gajenje osetljivog domaćina, a kao poželjna ugarenje u širem smislu i gajenje otpornih sorti krompira. Poslednje dve situacije predstavljaju osnovne održive metode pasivnog i aktivnog suzbijanja KCN. Praćenje populacione dinamike KCN u uslovima gajenja osetljive sorte krompira bitno je i zbog procene uticaja samoniklih biljaka krompira koje se zadržavaju više godina na proizvodnim površinama (Den Ouden, 1967). Krajnji praktičan cilj ovog rada je da se putem mera pasivnog i aktivnog suzbijanja, i njihovog kombinovanja, predlože modaliteti uspešnog održivog suzbijanja KCN na infestiranim lokalitetima u agroekološkim uslovima zapadne Srbije.

2 PREGLED LITERATURE

Internacionalno priznati karantinski organizmi, krompirove cistolike nematode: ”zbog svojih malih veličina i kriptične prirode, ekstremne specijalizacije i intimne povezanosti sa domaćinima, i zbog svoje neverovatne prilagođenosti na višegodišnje preživljavanje bez pogodnog domaćina, predstavljaju ogroman problem proizvođačima, savetodavcima i zakonodavcima u mnogim regijama proizvodnje krompira u svetu” (Marks i Brodie, 1998).

2.1 Taksonomija krompirovih cistolikih nematoda (KCN)

KCN spadaju u cistolike nematode (Nematoda: Heteroderinae). Okrugle cistolike nematode kojima nedostaje terminalni konus su prvenstveno bile uključene u rod *Heterodera*, tipski rod familije Heteroderidae. Skarbilovich (1959) prvi svrstava sve vrste sa okruglastim cistama osnivajući podrod *Globodera* (lat. globus = okrugao, st.gr. deros = koža), ostavljajući vrste limunastih cista u podrodu *Heterodera*. Behrens (1975) je uzdigao podrod *Globodera* do statusa roda, što u nezavisnim istraživanjima potvrđuju i Mulvey i Stone (1976).

Zrele ženke i ciste su okrugle, nemaju terminalni konus. Vulvalna oblast je cirkumfenestralna. Vulvalni otvor <15 µm. Anus nema fenestru. Ostaci vagine, podmost i bule su retko prisutne. Kutikula ima uočljiv sloj D. Sva jaja se zadržavaju u telu, nema jajne kese. Površina jaja je glatka. Lateralno polje mužjaka ima četiri linije, spikula je veća od 30 µm, distalno usmerena. L2 sa četiri linije na lateralnom polju. Rep je konusan, zašiljen, fazmidi u obliku pore (Baldwin i Mundo-Ocampo, 1991; Subbotin *et al.*, 2010).

Vrste koje pripadaju ovom rodu su: *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Skarbilovich, 1959 (tipska vrsta); *G. artemisiae* (Eroshenko i Kazachenko, 1972) Behrens, 1975; *G. bravoae* Eranco, Cid del Prado i Lamothe-Argumedo, 2000; *G. leptonepia* (Cobb i Taylor, 1953) Skarbilovich, 1959; *G. mali* (Kirjanova i Borisenko, 1975) Behrens, 1975; *G. mexicana* Subbotin, Mundo-Ocampo i Baldwin, 2010; *G. millefolii* (Kirjanova i Krall, 1965) Behrens, 1975; *G. pallida* Stone, 1973; *G. tabacum* (Lownsbery i Lownsbery, 1954) Behrens, 1975.; *G. zelandica* Wouts, 1984.; *G. elingtonae* Handoo, Carta, Skantar i

Chitwood, 2012 i *G. capensis* Knoetze, Swart i Tiedt, 2013 (Subbotinet *al.*, 2010; Handoo *et al.*, 2012; Knoetze *et al.*, 2013).

2.2 Detekcija i identifikacija vrsta KCN

Za izbor optimalnih mera suzbijanja neophodno je utvrditi dve suštinske osobine, gustinu populacije u zemljištu i vrstu i patotip KCN (Whitehead i Turner, 1998).

Utvrđivanje gustine populacije KCN na nekoj parceli vrši se prikupljanjem uzoraka zemljišta sa infestirane parcele, zatim izdvajanjem cista iz uzoraka zemljišta i potonjeg utvrđivanja njihove vitalnosti tj. broja jaja odnosno već formiranih L2 u cistama. Procenjena gustina populacije KCN najčešće se izražava kao broj vitalnih jaja/L2 po jedinici mase suvog zemljišta. Preporučene metode detekcije KNC sumirane su u preglednom radu koji daje EPPO (Anon., 2013b).

Uzorkovanje zemljišta i procena brojnosti cista. Prvi problem kod utvrđivanja gustine populacije je to što je raspored cista KCN na nekoj parceli vrlo heterogen. U početnim godinama introdukcije KCN bivaju skoncentrisane u oazama oko samih mesta unosa. U takvim oazama se nalazi najgušća populacija i one se eliptično šire u pravcu kretanja mehanizacije (Been i Schomaker, 2006).

Na prostorni raspored populacija nematoda kao najznačajniji faktori utiču: vreme prisutnosti u polju, specifičnosti u biologiji vrste (npr. način polaganja jaja), dostupnost domaćina, gustina sklopa domaćina u usevu, razvijenost korenovog sistema, učestalost gajenja domaćina, način i učestalost obrade i pripreme zemljišta, navodnjavanje i drugo.

Poznavanje prostornog rasporeda, odnosno njegova najbolja procena, je od suštinskog značaja za optimiziranje načina prikupljanja uzoraka zemljišta na infestiranim parcelama, radi dobijanja željene preciznosti i reprezentativnosti (Been i Schomaker, 2006). U odnosu na većinu vrsta nematoda grupisanost je posebno izražena kod cistolikih pa i KCN, s obzirom na činjenicu da su ženke velikog fekunditeta i da ne polažu jaja.

Prostorni raspored cista KCN u jednom polju ima dve glavne komponente, horizontalni i vertikalni (Been i Schomaker, 2006).

Vertikalni raspored populacije KCN zavisi od dubine zemljišnog profila i razvijenosti korenovog sistema kroz zemljišni profil. Uglavnom oko 90% populacije KCN je prisutno u prvih 35 cm zemljišnog profila i brojnost im postepeno opada sa povećavanjem dubine, bivajući vrlo retko prisutne u nekolicini zemljišta na dubinama od 80 cm. Been i Schomaker (2006) su pokazali da je vertikalni raspored u prvih 25 cm zemljišnog profila prilično homogen što posledično ne zahteva oprez pri uzorkovanju.

Horizontalni raspored KCN je mnogo nehomogeniji od vertikalnog. U okviru jedne parcele KCN su prilično grupisane u pojedinim delovima (oazama). U praksi se javlja nekoliko različitih situacija odnosno tipova horizontalnog rasporeda. Prva situacija predstavlja prostorni raspored na samim počecima introdukcije KCN, druga u kojoj dolazi do postepenog širenja po parceli i poslednja sa prisustvom KCN na celoj parceli u prenamnoženju.

Sa inicijalnim introdukcijama nematode će se rasprostirati na površinama od nekoliko m² gde će njihova grupisanost biti vezana za sam koren i neposrednu blizinu korenovog sistema. Zadržavanje jaja u okviru tela ženki i naposljetku cista značajno "pojačava" grupisanost u poređenju sa većinom drugih vrsta nematoda, pogotovo onih slobodnoživećih, migratornih i oviparnih vrsta, tako da će i u okviru ovako malih površina, subpopulacije nematoda biti skoncentrisane samo u delovima gde koren postoji. Brojnost cista čak i između 10 cm udaljenih zona može da varira preko 100%, od 130 do 260 cista u 70 g zemljišta (Been i Schomaker, 2006). Navedena varijabilnost uslovljava velike greške u proceni brojnosti cista i posledično, gustine populacije.

Za razliku od drugih nematoda modaliteti distribucije i kasnijeg širenja KCN su prilično specifični, a oblici grupisanja (oaze) manji, pravilnijeg karakterističnog oblika i načina širenja (Been i Schomaker, 2000).

Najznačajniji vid širenja nematoda po parceli je poljoprivrednom mehanizacijom. Širenje se odvija više duž pravca obrade zemljišta, manje bočno, što uslovljava postepeno povećavanje površine oaza u vidu elipsi. Od inicijalne oaze narednih godina se duž redova javljaju nove sekundarne infestacije koje se na isti način eliptično šire, dok se vremenom,

KCN ne raznesu po celoj parceli. Na širenje, naravno, utiče i učestalost gajenja osetljivih domaćina.

Više autora testiralo je efikasnost različitih načina uzorkovanja zemljišta (Turner, 1993, Been i Schomaker, 2000; Been i Schomaker, 2006; Bellvert *et al.*, 2008). Pored putanje kretanja tokom uzorkovanja na reprezentativnost uzorka utiče i veličina uzorka i broj uboda sondom tj. poduzoraka koji će ga sačiniti odnosno distance između tačaka prikupljanja poduzoraka. Standard u EU za uzorkovanje parcela na kojima se gaji krompir namenjen semenskoj proizvodnji bude veličine bar 1500 ml/ha zemljišta a koji se sastoji od najmanje 100 poduzoraka prikupljenih kretanjem po parceli u pravougaonoj mreži, tako da distanca između prikupljenih poduzoraka ne bude veća od 20 m duž pravca kojim se kreće mehanizacija a udaljenost između uzdužnih pravaca uzorkovanja ne bude veća od 5 m (Anon., 2007a). Ovakav način uzorkovanja obezbeđuje uspešnost detekcije KCN u polju sa verovatnoćom od 90% čija je gustina populacije u oazama 50 cista po kilogramu zemljišta i veća (Been i Schomaker, 2000). Pored pravougaone mreže kao prihvatljiva putanja kretanja prilikom uzorkovanja smatra se i kretanje paralelnim cik-cak prohodima duž pravca obrade zemljišta (Been i Schomaker, 2006).

Procena vitalnosti cista. Procena vitalnosti cista se obično vrši tako što se celokupan uzorak izdvojenih cista mrviti u vodi ne bi li se oslobodile larve i jaja iz cista i potom vrši utvrđivanje broja vitalnih jaja tj. L2 nekom od metoda iz tako dobijene suspenzije. Broj vitalnih jaja moguće je utvrditi vizuelnim pregledom (Lamondia *et al.*, 1986), pomoću testova piljenja (Been i Schomaker, 2001), ili nekom od metoda za bojenje samo vitalnog sadržaja (npr. Shepherd, 1962). Po nekim novim metodama vitalnost cista moguće je utvrditi merenjem količine trehaloze koja je prisutna u perivitelinskoj tečnosti jaja (Van den Elsen *et al.*, 2012) ili količine RNK kvantitativnim PCR metodom (Beniers *et al.*, 2014). Metode za utvrđivanje vitalnosti cista KCN preporučene od EPPO date su u standardu PM 7/40 (3) (Anon., 2013b).

Sve ove metode su prihvatljivo precizne u određivanju vitalnosti prosečne ciste u uzorku i sve imaju neke prednosti i nedostatke. Problem u proceni vitalnosti populacije nastaje iz činjenice da se vitalnost utvrđuje za samo mali deo populacije (desetine ili stotine cista) od uglavnom milionskih populacija. U većini slučajeva istraživači su zainteresovani

za utvrđivanje samo vitalnog dela populacije i broj jajnih opni iz kojih su se ispilile larve se ne utvrđuje. Neke od pomenutih metoda ne daju ni mogućnost za utvrđivanje nevitnog sadržaja cista. Tek sa utvrđivanjem i nevitnog sadržaja u svakoj cisti možemo imati informaciju o prosečnom ukupnom broju jaja (i punih i praznih) po cisti u uzorku. Ukupan broj jaja, punih i praznih, bitan je za određivanje relativne vitalnosti svake ciste i relativne vitalnosti uzoračke populacije kao procenitelja vitalnosti populacije u polju.

Odstupanje ukupnog broja jaja po cisti u uzorku od onog u populaciji je bitno iz sledećih razloga. Broj jaja po cisti je jako varijabilan u populaciji i kreće se od svega nekoliko do više stotina. Literaturni podaci govore da se prosečan broj jaja po cisti kreće oko 200-250 dok Whitehead (1995) navodi da je maksimum od 765 L2 po cisti zabeležen od Hesling (1959). Izdvajanjem uzorka sa prosečnim brojem jaja po cisti manjim ili većim od onog u populaciji dolazi se do potcenjivanja ili precenjivanja vitalnosti populacije. Efekti mera za suzbijanje KCN ocenjuju se poređenjem početne (Pi) i krajnje (Pf) gustine populacije u polju pa greške u proceni vitalnosti cista izazvane ovim faktorom vode posledično i u greške procene pada vitalnosti i pogrešnih zaključaka o efikasnosti neke metode za kontrolu KCN.

Individualna disekcija cista radi utvrđivanja vitalnosti populacija KCN je vršena sporadično do polovine prošlog veka (Fenwick, 1951; Hesling, 1959; Carden, 1965), međutim, posle dizajniranja homogenizatora za mrvljenje grupe cista (Bijloo, 1954), i njegove modifikacije (Seinchorst i Den Ouden, 1966), koje je značajno smanjilo vreme potrebno za određivanje vitalnosti, napuštena je kao metoda od većine istraživača.

Identifikacija vrsta. Morfološka identifikacija vrsta iz roda *Globodera* se zasniva na nekoliko morfometrijskih i morfoloških karakteristika. Među značajnijim mogu se izdvojiti: broj kutikularnih nabora između anusa i fenestre, Granekov indeks (količnik rastojanja anusa od fenestre i širine vulvalnog basena), dužina stileta i oblik bazalnih bubrešića L2, dužina repa i hijalinskog regiona L2 i dužina tela L2 (Subbotin *et al.*, 2010).

Vrste KCN su morfološki vrlo slične. Recimo, *G. rostochiensis* se razlikuje od *G. pallida* po žutim nasuprot belim ženjkama u sazrevanju, većem broju kutikularnih nabora između vulve i anusa (16-31 naspram 8-20), većem Granekovom indeksu (2,5-4,5 naspram

2,1-3,0), obliku bazalnih bubrešćića stileta (zaobljeni naspram bubrešćića sa anteriornim ispupčenjima), kraćim stiletom (20-22 naspram 23-24 μm) i zaobljenijem naspram više zašiljenom repu (Subbotin *et al.*, 2010). Kao što se iz pomenutog može videti, mnoge vrednosti distinktivnih karaktera se prilično preklapaju kod ove dve vrste. To posebno komplikuje identifikaciju vrste u slučajevima kada je u jednom uzorku prisutno više vrsta, kada je nedostupno više stadijuma (npr. iz zemljišta su izdvojene samo nevitale ciste), kod vrlo heterogenih populacija i kada je dostupan relativno mali broj individua u uzorku (Fleming i Powers, 1998b).

Manduric *et al.* (2004) su se bavili utvrđivanjem individualnih morfoloških razlika u populacijama *G. rostochiensis* i *G. pallida* uz utvrđivanje specijskog identiteta molekularnim metodama za svaku cistu i svaku L2 koju su prethodno morfološki opisali i identifikovali. Njihovi rezultati potpuno potvrđuju kompleksnost i preklapanja vrednosti taksonomskih karaktera u morfologiji krompirovih cistolikih nematoda i govore o pouzdanoj identifikaciji vrste na osnovu morfologije kada je dostupan dovoljan broj individua i kada se u identifikaciji koristi više stadijuma, iako pozitivna identifikacija vrste nikad nije bila stopostotna u ispitivanom uzorku.

Molekularna identifikacija vrsta u okviru roda *Globodera* moguća je korišćenjem PCR-ITS-RFLP, sekvenciranjem ITS regiona ribozomalne RNK i drugih nuklearnih i mitohondrijskih gena, a za identifikaciju ekonomski najznačajnijih vrsta ovog roda, *G. rostochiensis*, *G. pallida* i *G. tabacum* razvijeni su PCR testovi sa specijski specifičnim prajmerima (Subbotin *et al.*, 2010). Vrlo sugurna identifikacija vrste KCN pomoću multipleks PCR testova sa specijski specifičnim prajmerima potvrđena je do danas na mnogim populacijama širom sveta sa više setova prajmera (Mulholland *et al.*, 1996; Bulman i Marshall, 1997; Fullaondo *et al.*, 1999; Madani *et al.*, 2005, 2008).

Za identifikaciju novointrokovanih populacija KCN preporučuje se kombinovanje morfoloških i molekularnih metoda (Anon., 2013b).

2.3 Bioekologija KCN

2.3.1 Životni ciklus KCN

Razviće KCN obuhvata tri razvojna stadijuma: jaje, stadijum larve sa četiri razvojna stupnja i stadijum odraslih, mužjake i ženke. Ženke zadržavaju jaja u svom telu i po uginjavanju se nazivaju cistama. Po oplođenju, tokom embrionalnog razvića, u jajetu KCN dolazi do formiranja embriona i prvog larvenog stupnja. Sa prvim presvlačenjem u okviru stadijuma jajeta formira se larva drugog stupnja (L2), koja poseduje usnu bodlju odnosno stilet. L2 predstavljaju dormantan stadijum u životnom ciklusu KCN i neispiljene L2 ostaju zaštićene u okviru cista više godina. Aktivna faza životnog ciklusa započinje piljenjem L2 iz jaja čime se završava period dormantnosti. Posle piljenja iz jaja, L2 napuštaju ciste kroz prirodne otvore i kreću se kroz zemljište u potrazi za korenom domaćina. Po pronalaženju korena, L2 se ubušuju u koren odmah iza korenove kape i kreću intracelularno kroz pericikl do mesta koje će odabrati za formiranje mesta ishrane. Po odabiru inicijalne ćelije, šupljim stiletom probadaju ćelijski zid, ubacuju u ćeliju pljuvačni koktel enzima, kojim kroz složen proces iniciraju formiranje sincicijuma kao stalnog mesta ishrane. Po uspostavljanju specifičnih struktura za usvajanje ćelijskog sadržaja, započinje sledeće presvlačenje i formiranje larve trećeg stupnja (L3). Ishranom, telo L3 se širi i ubrzo dolazi do sledećeg presvlačenja i formiranja larve četvrtog stupnja (L4) i dodatnog širenja sa krajnjim presvlačenjem u ženke odnosno mužjake. Usled širenja tela ženke po presvlačenju, pod pritiskom, površinska tkiva korena pucaju i veći deo tela ženke biva van korena sa vulvom, polnim otvorom, dostupnim mužjacima radi kopulacije i oplođenja.

Mušjaci se razvijaju sličnom brzinom kao i ženke ali zadržavaju crvoliki habitus tela, napuštaju koren i privučeni seksualnim hormonima, kopuliraju sa ženkama. Kopulacija se može odigrati sukcesivno sa više mužjaka. Mušjaci KCN se ne hrane i žive kratko oko dve nedelje.

KCN nemaju polne hromozome (Turner i Rowe, 2006), što omogućava variranje odnosa polova u zavisnosti uslova spoljašnje sredine (Ellenby, 1954), pre svega dostupnosti

hrane tj. intenziteta napadnutosti korena domaćina. Pri velikoj napadnutosti korena odnos polova može biti više puta veći u korist mužjaka (Trudgill, 1967).

Posebnu ulogu u životnom ciklusu imaju L2 koje obavljaju dve, samo njima svojstvene, važne funkcije. To su preživljavanje nepovoljnih uslova i invazija korena domaćina sa formiranjem sincicijuma kao stalnog mesta ishrane (Radivojević, 2009).

Piljenje. Proporcionalno mali deo prisutnih L2 u cistama se pili spontano, samo po uspostavljanju optimuma abiotske prirode. Najveći broj L2, da bi se ispilio iz jaja zahteva prisustvo korenskih lučevina domaćina u zemljištu, čime se prekida mirovanje i aktivira piljenje (Clarke i Perry, 1985). Ova gotovo potpuna zavisnost KCN od domaćinovih korenskih lučevina evolutivna je adaptacija zbog ograničenog kruga domaćina koji se svodi na vrste roda *Solanum* i srodnih rodova fam. Solanaceae (Turner i Rowe, 2006). Ovakva evolutivna prilagođenost je suprotna onoj kod nekih drugih sedentarnih endoparazitnih nematoda kao što su npr. *Heterodera schachtii* Schmidt među cistolikim i *Meloidogyne* sp., među korenovim galogenim nematodama. Pomenute nematode imaju širok krug domaćina kod kojih većina invazivnih L2 za piljenje ne zahteva prisustvo korenskih eksudata domaćina iako je piljenje masovnije u njihovom prisustvu (Perry, 1989).

Posle prvog presvlačenja L2 ostaju sklupčane u jajetu koje ispunjava perivitelinska tečnost. Trehaloza prisutna u perivitelinskoj tečnosti izaziva osmotski stres usled kojeg dolazi do smanjivanja količine vode u telu L2 u odnosu na aktivno stanje ispiljenih larvi (Perry, 1989). Takva parcijalna dehidracija L2 dovodi do njihovog smanjenog metabolizma i posledično sporijeg trošenja energije, što dalje omogućava preživljavanje nepovoljnih uslova i odsustvo domaćina (Perry, 2002). Posle izlaganja jaja korenskim lučevinama koje sadrže faktore piljenja, dolazi do menjanja propustljivosti jajne membrane i to njenog unutrašnjeg lipidnog sloja, pri čemu dolazi do izlaska trehaloze iz perivitelinske tečnosti u spoljašnju sredinu i sukcesivnog ulaska vode u perivitelinsku tečnost (Clarke i Perry, 1985). Sa smanjenjem koncentracije trehaloze u perivitelinskoj tečnosti i smanjenja osmotskog pritiska dolazi i do rehidracije L2, ubrzavanja njihovog metabolizma, veće pokretljivosti i konačno piljenja iz jaja a potom i napuštanja cista (Ellenby i Perry, 1976).

Korenski eksudati sadrže brojna hemijska jedinjenja koje utiču na piljenje L2. Ona se mogu razvrstati na faktore piljenja (eng. hatching factors) koji stimulišu piljenje L2 i koji mogu

predstavljati više različitih jedinjenja (Devine et.al., 1996; Devine i Jones, 2000), inhibitore piljenja (hemijska jedinjenja koja inhibiraju već izazvano piljenje) i stimulatore faktora piljenja (materije koje aditivno deluju na piljenje preko faktora piljenja a same nemaju nikakav efekat na piljenje L2) (Byrne *et al.*, 1998). Faktori piljenja mogu biti specijski specifični (da izazivaju samo piljenje L2 bele ili žute KCN) i specijski nespecifični. Takođe, neki faktori piljenja mogu izazivati intenzivnije piljenje neke od KCN vrsta a drugi ne (Byrne *et al.*, 2001). Jedan od retkih faktora piljenja KCN koji je identifikovan i detaljno hemijski opisan je solanoklepin A sa formulom C₂₇H₃₀O₉ (Mulder *et al.*, 1993; Schenk *et al.*, 1999).

U praktičnom smislu, piljenje je jedan od ključnih momenata u ciklusu razvića KCN, gde se uticanjem na njegovo iniciranje, a onemogućavajući na neki način završetak razvića, može omogućiti suzbijanje KCN, jer jednom ispiljene L2, uginjavaju ukoliko ne nađu koren osetljivog domaćina (Radivojević, 2009).

Formiranje sincicijuma. Kao što je već pomenuto, prilikom prodora u koren L2 KCN dolaze do krajnjeg mesta ishrane i u odabranu ćeliju prodiru stiletom kroz koji u ćeliju domaćina ubacuju proteinski koktel, produkt ezofagalnih žlezda, kojim će dovesti do promena ćelijske strukture i formiranja sincicijuma. Prisustvo brojnih efektor kodiranih u genomu cistolikih nematoda detektovano je u jedru biljne ćelije (npr. Quentin et al., 2013) a u genomu KCN je dokazano prisustvo gena koji kodiraju celulaze, pektinaze, pektin liaze i slične enzime, lučevine ezofagalnih žlezda koje učestvuju u razgradnji ćelijskih zidova i formiraju sincicijuma (Smant *et al.*, 1998; Yan *et al.*, 1998; Popeijus *et al.*, 2000; Bohlmann i Sobczak, 2014).

Inicijalna ćelija sincicijuma nalazi se u primarnoj kori korena posle čega dolazi do inkorporiranja okolnih, 20 do preko 100 uglavnom floemskih ćelija u sincicijum parcijalnom razgradnjom ćelijskih zidova, hipertrofije novouključenih elemenata, proliferacije organela i povećanja metaboličke aktivnosti (Jones i Northcote, 1972; Castelli *et al.*, 2006; Fudali, 2007; Bohlmann i Sobczak, 2014). Sincicijum postaje multinuklearna tvorevina sa intenzivnim metabolizmom koja se ponaša kao metabolički i energetski „usisivač“ (eng. *metabolical/nutrient sink*), čime se značajno remeti sprovodna sposobnost korena tokom više nedelja razvića KCN.

U suprotnosti sa relativno ustaljenim načinima formiranja sincicijuma u osetljivim domaćinima istraživanja patogeneze na otpornim domaćinima su pokazala dva postinfekcijska mehanizma rezistentnosti protiv cistolikih nematoda. U oba mehanizma se govori o inicijalnom formiranju funkcionalnog sincicijuma (Castelli *et al.*, 2006). Po jednom mehanizmu otpornosti, karakterističnom za otporne sorte sa H1 rezistentnim genom prema prvom patotipu *G. rostochiensis*, L2 uspešno penetriraju u koren i formiraju sincicijum, a posle deset dana dolazi do hipersenzitivne reakcije i nekroze ćelija koje okružuju sincicijum i nematodu, i njegove degradacije (Castelli *et al.*, 2006). Drugi mehanizam rezistentnosti takođe uključuje odloženi vid hipersenzitivne reakcije bez nekrotičnih promena oko sincicijuma. Ovo je karakteristično za hibride kod kojih je rezistentnost prema KCN dobijena iz *Solanum vernei* (Castelli *et al.*, 2006). U retkim slučajevima kada i dođe do formiranja sincicijuma na otpornom domaćinu, oni su manji, uglavnom omogućavaju razvoj samo mužjaka a malobrojne ženke KCN su male i smanjenog fekunditeta (Mullin i Brodie, 1988; Castelli *et al.* 2006; Kaczmarek, 2014).

2.3.2 Mehanizmi preživljavanja nepovoljnih uslova

Nepovoljne uslove L2 cistolikih nematoda uspevaju da prebrode prekidanjem razvoja ulaskom u stanje dormantnosti, tj. stanje smanjenog metabolizma. Dormantnost se u literaturi povezuje sa dva pojma: mirovanjem (eng. quiescence) i dijapauzom. Mirovanje se može definisati kao spontan reverzibilan proces prekida razvića kao odgovor na nepovoljne uslove spoljašnje sredine, gde se razviće nastavlja po uspostavljanju povoljnih uslova (Turner i Rowe, 2006). Mirovanje može biti obligatno, kao kod KCN i ono je vezano za određeni stadijum u razviću odnosno L2 kod KCN. Fakultativno mirovanje nije vezano za određeni stadijum u razviću kao kod npr. nematode *Ditylenchus dipsaci*. U zavisnosti od tipa nepovoljnog spoljašnjeg faktora na razviće u literaturi se pominju različiti tipovi mirovanja: mirovanje izazvano niskim temperaturama (kriobioza, lat. cryobiosis), visokim temperaturama (termobioza), smanjenom koncentracijom kiseonika (anoksibioza), osmotskim stresom (osmobioza) i decikacijom (anhidrobioza) (Perry, 1999).

Razdvajanje tipova mirovanja je donekle arbitrarno imajući u vidu da bez obzira na vrstu nepovoljnih činioca, prilikom mirovanja uvek dolazi do dehidracije individue (Perry, 1999). Većina istraživanja vezana za biohemijske i fiziološke mehanizme dormantnosti jesu u stvari fokusirana na proces anhidrobioze (Perry, 2002). Mogućnost kontrolisanja postepene dehidracije L2 KCN predstavlja glavni faktor u dugom preživljavanju nepovoljnih uslova i ekstremnih situacija. Jedan od interesantnih primera je mogućnost KCN da prežive zamrzavanje na čak $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ više godina (Rolf *et al.*, 1997). Uz dehidraciju navodi se nagomilavanje jedinog poznatog neredukujućeg disaharida glukoze, trehaloze, za koji se veruje da omogućava održanje funkcionalne strukture proteina (Womersley *et al.*, 1998).

S druge strane, dijapauza se definiše kao stanje prekinutog razvoja gde piljenje ne počinje ukoliko se ne ispune neki specifični uslovi. Sposobnost ulaska u dijapauzu omogućava L2 KCN da prebrode duge periode nepovoljnih uslova za piljenje kao što su periodi nepovoljnih temperatura (zima) ili periodi odsustva domaćina. Dijapauza može biti obligatna i fakultativna.

Obligatna dijapauza je inicirana endogenim faktorima koje KCN usvajaju od parazitirane biljke na kojoj su se razvile, nematode je mogu imati samo jednom tokom životnog ciklusa i prisutna je samo u prvoj vegetacionoj sezoni od nastanka KCN. Dužina obligatne dijapauze zavisi od fotoperioda kojem je bila izložena parazitirana biljka. Naprimera, nematode razvijene na biljkama gajenim na konstantom svetlu ne ulaze u obligatnu dijapauzu (Hominick *et al.*, 1985). Za prekidanje obligatne dijapauze najznačajniji faktor je temperatura. KCN tako prolaze kroz obligatnu dijapauzu na niskim temperaturama tokom zime i ona se u umerenim klimatima prekida uglavnom sredinom proleća. L2 koje nisu bile izložene niskim temperaturama od bar $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ duže od 16 nedelja neće se piliti KCN ni u prisustvu korenskih lučevina domaćina (Perry, 2002).

Fakultativna dijapauza je inicirana egzogenim faktorima kao što su dužina dana i temperatura ali od druge sezone kao vid privikavanja na nove klimatske uslove posle introdukcije. Posle izlaska iz dijapauze L2 ulaze u fazu mirovanja koje se obično prekida u proleće sa povećanjem temperature i za najveći broj L2 KCN tek sa prisustvom korenskih lučevina domaćina (Turner i Rowe, 2006).

2.3.3 Populaciona dinamika KCN

Populaciona dinamika KCN se značajno razlikuje u zavisnosti od režima gajenja biljaka na infestiranim parcelama. Kada u plodoredu nema domaćina, populacije KCN će se postepeno smanjivati usled spontanog piljenja L2 iz cista. Zbog postojanja dijapauze, veći deo L2 ostaje neispiljen u cistama i proces pražnjenja traje godinama. Turner (1996) detektuje vitalne L2 u cistama čak posle više od 20 godina odsustva domaćina. Smatra se da je kroz spontano piljenje godišnje smanjenje populacije *G. pallida* oko 20%, za razliku od oko 33% kod *G. rostochiensis* (Evans, 1993; Minnis *et al.*, 2004).

U prisustvu domaćina, smatra se da je piljenje L2 KCN između 60 i 80% (Turner i Evans, 1998). Mimo razlika u potencijalima korenskih lučevina različitih sorti krompira da izazovu piljenje L2 i drugih faktora, najznačajniji abiotski faktori koji utiču na populacionu dinamiku su temperatura i vlažnost zemljišta (Robinson *et al.*, 1987b).

Vrste KCN se razlikuju u svojim temperaturnim potrebama za optimalno piljenje i razmnožavanje. Smatra se da sa je *G. rostochiensis* ima veće potrebe za toplotom i da je temperaturni optimum za piljenje ove vrste oko 20 °C sa minimumom od 5,9 °C (Mugniery, 1978) i maksimumom preko 27 °C (Turner i Evans, 1998). *G. pallida* je bolje prilagođena hladnijim klimatima sa optimalnim temperaturama za piljenje L2 manjim od 20 °C i u literaturi zabeleženim minimumom od 3,9 °C (Langeslag *et al.*, 1982) i maksimumom od 27 °C. Na temperaturi od 24 °C ispiljeno je 60% L2 *G. rostochiensis* i ispod 20% L2 *G. pallida* (Mulder, 1988 citirano u Turner i Evans, 1998).

Najveći broj L2 KCN se pili tokom proleća i početkom leta i u klimatima severne i zapadne Evrope KCN imaju jedan talas piljenja (Marks i Brodie, 1998). U toplijim i vlažnijim klimatima i/ili godinama KCN mogu imati i drugi talas piljenja krajem leta i početkom jeseni (Inagaki, 1977; Greco *et al.*, 1988; Stanton i Sartori 1990; Renčo, 2007; Jiménez-Pérez *et al.*, 2009; Bačić *et al.*, 2011).

Brojni faktori mogu uticati na razmnožavanje i razviće KCN. Na reproduktivni odnos, odnosno intenzitet uvećanja populacije KCN, pored drugih faktora, utiče početna gustina populacije (Turner i Evans, 1998). Sa nekoliko L2/g zemljišta uvećanje populacije na osetljivom domaćinu može biti i preko 60 puta, dok se kod velikih početnih gustina populacije ona može čak i smanjiti (Van Riel i Mulder, 1998). Sa velikim brojem ubušenih

L2 u koren onemogućeno je stvaranje dovoljno velikih sincicijuma za optimalnu ishranu ženki usled čega dolazi do razvića većeg broja mužjaka, jer pol L2 nije predodređen (Trudgill, 1967).

Uticao temperature na razviće i razmnožavanje se razlikuje kod vrsta KCN (Mugniery, 1978). U eksperimentima Mulder (1988, citirano u Van Riel i Mulder, 1998) uvećanje populacije je bilo slično kod obe vrste na 18 °C; na temperaturama višim od 18 °C obimnije je bilo razmnožavanje *G. rostochiensis*, a *G. pallida* na 15 °C i nižim. Na temperaturi od 24 °C uvećanje populacije *G. rostochiensis* je nekoliko puta bilo veće od *G. pallida*, a na 27 °C nije bilo razmnožavanja KCN. Slične temperaturne optimume i limite kod vrsta KCN utvrdio je i Franco (1979).

U Evropi KCN imaju uglavnom jednu generaciju godišnje. Međutim, u toplijim klimatima moguća je pojava i druge generacije KCN. Druga generacija *G. rostochiensis* zabeležena je u Italiji pri temperaturama 18-22 °C na kasnoj sorti krompira (Greco *et al.*, 1988) i u Čileu (Greco i Moreno, 1992).

2.3.4 Specijalizacija KCN i interakcije sa biljkama

U okviru roda *Globodera* se jasno izdvajaju dve grupe koje parazitiraju vrste iz porodice Solanaceae (Evans i Rowe, 1998). Jednu čini kompleksna vrsta *G. tabacum* sa duvanom kao glavnim domaćinom a drugu čine krompirove cistolike nematode *G. pallida* i *G. rostochiensis* koje parazitiraju krompir. Međutim, sve su prilike da će se i skoroopisana *G. ellingtonae* svrstati među KCN (Subbotin, 2016 lična komunikacija). KCN se sreću još na divljim vrstama iz roda *Solanum* i na po nekoliko vrsta rodova *Datura*, *Hyoscyamus*, *Lycopersicon*, *Physalis*, *Physiclaina*, *Salpiglossis* i *Saracha* (Sullivan *et al.*, 2007). Razlike u spektru biljaka domaćina između vrsta KCN postoje na specijskom i intraspecijskom nivou, i od velikog su praktičnog značaja za njihovu kontrolu.

2.3.4.1 Patotipovi KCN i izvori otpornosti

Pod terminom „patotip“ podrazumeva se „grupa individua nematoda koja poseduje zajednički(e) gen(e) za (a)virulentnost koji se razlikuju od gena ili njihovih kombinacija

prisutnih kod drugih grupa“ (Cook i Starr, 2006). Više šema za utvrđivanje patotipova KCN je predloženo posle intenzivnih decenijskih istraživanja. Sve se zasnivaju na sposobnosti ili nesposobnosti populacija KCN da se razmnožavaju na određenim diferencijalnim vrstama/podvrstama/varijetetima/sortama biljaka.

Obe vrste KCN imaju više patotipova (Kort, 1974). Po prvoj široko prihvaćenoj šemi *G. rostochiensis* ima pet patotipova označenih kao Ro1, Ro2, Ro3, Ro4 i Ro5, dok u okviru *G. pallida* postoje tri patotipa označena internacionalno kao Pa1, Pa2 i Pa3. (Kort *et al.*, 1977). Uskoro je utvrđeno da ovakva podjela na patotipove može primeniti samo za populacije prisutne u Evropi i zemlje širom sveta u koje su KCN introdukovane upravo iz Evrope. U Južnoj Americi odakle su poreklom KCN, njihov diverzitet pa i u smislu virulentnosti je značajno veći. U prilog tome ide i činjenica o skoro otkrivenoj novoj vrsti KCN, *Globodera ellingtonae* (Handoo *et al.*, 2012). Neke od virulentnih grupa/patotipova u Južnoj Americi (Kolumbija i Peru) identifikovane su iste godine, štampane čak u istom volumenu istog časopisa. Po Canto Saenz i De Scurrah (1977) koji su ispitali 56 populacija KCN postoji 4 patotipa *G. rostochiensis* i 7 *G. pallida*. Neke populacije KCN su prilično homozigotne u virulentnosti i takve su Ro1 populacije žute i Pa1 bele KCN. Međutim, varijabilnost i heterogenost je mnogo veća kod drugih patotipova, pre svega *G. pallida*.

Trudgill (1985) je dao kritički osvrt na šemu Kort *et al.* (1977), a Nijboer i Parlevliet (1990) su dali predlog nove klasifikacije patotipova KCN evropskih populacija. Po ovoj šemi predložene su promene u smislu grupisanja pet patotipova *G. rostochiensis* iz šeme po (Kort *et al.*, 1977) u tri, gde su Ro1 i Ro 4 objedinjeni u Ro1, Ro2 i Ro3 u Ro2/3 a Ro5 zadržan zasebno. Po Nijboer i Parlevliet (1990) razdvajanje u Evropi prisutnih patotipova je na Pa1 i Pa2/3. U okviru populacija Pa2 i Pa3 nije uvek moguće napraviti razlike korišćenjem diferencijalnih testova predloženih od Kort *et al.* (1977) i sugerise se da se u ovom slučaju govori o manje ili više virulentnim populacijama ili virulentnim grupama u okviru patotipa (Trudgill, 1985; Nijboer i Parlevliet, 1990). U Velikoj Britaniji je u okviru populacija Pa2/3 patotipa ustanovljeno postojanje više tipova sekvence mitohondrijalnog gena CytB. Kod nekih populacija je prisutan samo jedan tip dok je kod drugih prisutno i više od jednog mitotipa CytB što sugerise da su poljske populacije Pa2/3 ustvari mešane populacije patotipova Pa2 i Pa3 što posebno komplikuje identifikaciju

patotipova *G. pallida* u toj zemlji (Eves-Van Den Akker *et al.*, 2015). Logično je pretpostaviti da je slična situacija i u drugim zemljama sa dugom istorijom prisustva KCN. Pored toga, Phillips *et al.* (1992) su opisali netipično virulentnu populaciju Lufnes u Velikoj Britaniji koja se razlikuje i od Pa2, Pa3 i Pa2/3 populacija, a Niere (2016) je registrovao i prevazilaženje rezistentnosti otporne sorte krompira i atipičnu Pa3 populaciju u Nemačkoj.

U ovom radu prihvaćena je podela patotipova po Nijboer i Parlevliet (1990) i podržana je sledećim. Sorte krompira sa ugrađenim H1 genom za rezistentnost, koji funkcioniše po principu gen za gen rezistentnosti, i daje potpunu otpornost, poreklom je iz *S. tuberosum* spp. *andigena* CPC 1673. H1 razdvaja patotipove *G. rostochiensis* Ro1/4 od Ro2/3 i Ro5 (Kort *et al.* 1977). Razvajanje patotipova *G. rostochiensis* pojedinačno Ro1 od Ro4, Ro2 od Ro3 od Ro 5 u okviru ovih grupa je sa varijetetima krompira koji sadrže poligensku otpornost koja je parcijalne prirode (ne daje potpunu otpornost) (Jacobs *et al.*, 1996) gde često multiplikacija cista na njima više varira i usled različitih eksperimentalnih uslova prilikom procene otpornosti, što može da poveća nepouzdanost procene. Kod *G. pallida* utvrđena su dva major gena koja funkcionišu po principu monogenske rezistentnosti, dajući potpunu otpornost. Gen H2 iz *S. multidissectum* klon PH1366/ ugrađen u hibrid P55/7 koji razdvaja patotip Pa1 od Pa2/3, potpuno inhibirajući razmnožavanje Pa1 populacija (Kort *et al.*, 1977) i Gpa2 gen dobijen iz *S. tuberosum* ssp. *andigena* klona CPC 1673 (istog iz koga je izolovan i H1) koji potpuno inhibira razmnožavanje malobrojnih populacija patotipa Pa2 (populacije D 234 i D236 (sinonimi 383, 372 i 350) iz Holandije (Arntzen *et al.*, 1993, 1994) koji deli čak 88% sličnosti sa genom za rezistentnost prema nekim fitoparazitnim virusima (Roupe van der Voort *et al.* 1997; van der Vossen *et al.*, 2000).

Međutim, za najzastupljenije patotipove *G. pallida* Pa2, Pa3 i Pa2/3 prisutne u Evropi identifikovana rezistentnost poligene je prirode i parcijalna je. Detektovano više lokusa (eng. QTL= quantitative trait loci, (specifičnih mesta u genomu krompira na kojima se nalaze geni poligene otpornosti, najčešće 2-5) koji nose parcijalnu otpornost prema patotipovima Pa2, Pa3 i Pa2/3 bele KCN (Gpa, Gpa4, Gpa5, Grp1, Gpa6, GpaM1, GpaIV_{adg}, GpaV_{spls} i GpaXI_{spl})(Kreike *et al.*, 1994; Roupe van der Voort *et al.*, 1998,

2000; Dalton *et al.*, 2013). Od posebnog su značaja geni iz klonova *S. vernei* hibrid 69.1377/94 (Gpa) koji onemogućavaju razvoj nekih populacija Pa2 i Pa3, i poligeni iz *S. vernei* Vt62.33.3 koji razdvajaju neke Pa2 od nekih Pa3 populacija, onemogućavajući razvoj Pa2 (Subbotin *et al.*, 2010). Otpornost iz *S. tuberosum* spp. *andigena* CPC 2802 je smatrana prvo monogenom (gen H3) (Howard *et al.*, 1970) ali je potom ustanovljeno da je i ona poligenske prirode (GpaIVadg) (Dale i Phillips, 1982).

Ugrađivanje gena otpornosti u komercijalne sorte krompira je komplikovaniji i dugotrajniji proces. Samo je nekoliko gena uspešno ugrađeno u napredne hibride od kojih se selekcijom mogu dobijati komercijalne sorte otporne prema više patotipova *G. pallida*. Jedan od takvih naprednih hibrida je tetraploidni AM78-3778 (i njegovi diploidni derivati 3778-14 i 3778-16). AM78-3778 je interspecijski hibrid dobijen ukrštanjem između *S. tuberosum* i nekoliko divljih srodnika, *S. vernei* 24/20, *S. vernei* ssp. *ballsii* 2/1, *S. vernei* LGU 8, *S. oplocense* EBS 1786 i *S. tuberosum* ssp. *andigena* CPC 1673 (Roupe van der Voort *et al.* 1998). Sličan njemu je i tetraploid AM78-3704, sa diploidnim derivatima 3704-76 i 3704-27, koji u pedigreu pored prethodno nabrojanih divljih srodnika ima i *Solanum spegazzinii* 440 (Roupe van der Voort *et al.*, 2000).

Isti autori ispitivali su otpornost ovih tetraploida i njihovih derivata prema tri populacije Pa2 (Pa2-D383, Pa2-D350, Pa2-HPL1) i tri Pa3 (Pa3-1097, Pa3-Rookmaker, Pa3-74.768.20) i prema po jednoj populaciji Ro1 i Ro5 *G. rostochiensis* (Roupe van der Voort *et al.*, 1998; van der Vossen *et al.*, 2000). Ustanovljena je potpuna otpornost prema svim ispitivanim Ro1, Pa2 i Pa3 populacijama i parcijalna prema Ro5 kod svih genotipova osim jednog diploida koji je pokazao parcijalnu rezistentnost prema svim Pa3 populacijama kod kog je izgubljena i rezistentnost prema *G. rostochiensis*.

Tetraploidni hibrid AM78-3778 je jedan od roditelja hibrida RZ84-2580 koji je jedan od roditelja sorte *innovator* (EU, 2016). Sorta *crisps4all* dobijena je ukrštanjem RZ85-238 i RZ87-44, koji sudeći po oznakama verovatno imaju slično poreklo, a za koje nema dostupnih podataka o poreklu na internet stranici Evropske baze varijeteta krompira (EU, 2016).

Razdvajanje patotipova *G. pallida* korišćenjem poligenske rezistentnosti, koja je parcijalna, tj. omogućava razmnožavanje u nekom obimu, je otežano i sledećim

činjenicama. Stopa reprodukcije (Odnos krajnje (Pf) i početne populacije u inokulumu (Pi)) jedne populacije može značajno da varira u zavisnosti od uslova spoljašnje sredine i gustine populacije inokuluma prilikom testiranja virulentnosti, zbog čega može doći do greške u proceni patotipa i ne može se pouzdano koristiti za razdvajanje Pa2 i Pa3 patotipa *G. pallida* (Trudgill, 1985; Mugniéry et al., 1989). Zbog toga je preporučeno od Mugniéry *et al.* (1989) a potom kao standard i usvojeno od EPPO (Anon., 2006) i EU, da se umesto reproduktivnog faktora koristi Relativna osetljivosti (RO, odnos krajnje populacije na ispitivanoj sorti krompira i krajnje populacije na kontrolnoj osetljivoj sorti) kao parametar za procenu virulentnosti populacija KCN odnosno otpornosti sortimenta (Anon., 2007a).

Trudgill (1985) govori da je potrebno ustanoviti realističniji metod za procenu relativne virulentnosti različitih KCN populacija koje bi omogućile razlikovanje virulentnih grupa u okviru patotipa. Bilo je više pokušaja da se molekularnim metodama dođe do molekularnih markera koji bi mogli da razdvoje virulentne grupe, međutim, oni nisu bili u potpunosti uspešni. Istraživanja Picard *et al.* (2008) i Plantard *et al.* (2008) omogućila su utvrđivanje zajedničkog porekla evropskih populacija *G. pallida* ali ne i vezu sa patotipovima.

Ipak i uprkos svim problemima i nesavršenostima testiranja virulentnosti patotipova KCN, koju su postavili Kort *et al.* (1977), ova šema za utvrđivanje patotipova je još uvek u upotrebi u mnogim nematološkim laboratorijama jer specifični molekularni markeri koji bi razlikovali patotipove još nisu utvrđeni (Hockland *et al.*, 2012).

2.3.4.2 Ispitivanje stepena otpornosti biljaka prema KCN

U nematologiji, otpornost se definiše kao sposobnost biljke da spreči, umanja ili savlada razviće nematoda čime se u nekoj meri onemogućava razmnožavanje (Cook i Evans, 1987; Trudgill, 1991), dovodeći tako do opadanja brojnosti njihovih populacija. Tako, otporna biljka postaje biološki agens suzbijanja KCN. Domaćini KCN mogu biti različite otpornosti odnosno osetljivosti prema KCN, pa tako, otpornost biljke može da varira od niske gde se nematode neometano i obilno razmnožavaju do potpune ili visoke otpornosti kod biljaka koje potpuno onemogućavaju razmnožavanje nematoda ili je ono neznatno.

Tradicionalno, stepen otpornosti vrste ili varijeteta/sorte se izražava Stopom reprodukcije ili reproduktivnim indeksom ($SR = Pf/Pi$), gde su Pf i Pi, krajnja i početna brojnost populacije nematoda. Stopa reprodukcije se koristi za poređenje sa Pf/Pi odnosom dobijenim na kontrolnoj vrsti/varijetetu/sorti poznate reakcije. Preporuka EPPO (Anon., 2006) i EU (Anon., 2007a) je da se za procenu otpornosti sorti krompira prema KCN, odnosno virulentnosti KCN, koristi Relativna osetljivost (RO) (eng. Relative susceptibility) koji je količnik $Pf_{\text{ispitivane sorte}}$ i $Pf_{\text{osetljive kontrolne sorte}}$ pomnožen sa 100%, gde se za kontrolnu sortu preporučuje sorta krompira *désirée* ili neka slična sorta koja se pokazala kao ista ili bolja od sorte *désirée*. Vrednostima relativne osetljivosti se dodeljuju numeričke vrednosti na skali od 1 do 9 gde skor 9 predstavlja vrlo visoku otpornost a 1 izrazitu osetljivost ispitivane sorte (Prilog 1).

Diferencijalne varijetete/klonove *S. tuberosum* i divljih srodnika po Kort *et al.* (1977) (Prilog 3) za utvrđivanje patotipova je teško nabaviti, pa se ispitivanje virulentnosti lokalnih populacija KCN često vrši putem dostupnog sortimenta krompira u zemlji za koje se zna da imaju određenu diferencijalnu otpornost. Tako se npr. u Austriji i Hrvatskoj biotestovi za ispitivanje virulentnosti populacija KCN u cilju utvrđivanja patotipova, vrši na sortama Hermes, Gina, Romina, Belita, Ponto i Florijn (Grubišić *et al.* 2006).

Sortiment krompira koji se može naći u prometu u našoj zemlji reguliše se Zakonom o priznavanju sorti poljoprivrednog bilja (Anon., 2010b). Zaključno sa oktobrom 2016. godine u registar sortimenta krompira bilo je upisano 113 sorti krompira za koje su dozvole za promet izdate u periodu od 2005. do 2016. godine (Anon., 2016). Celokupan sortiment predstavljaju strane sorte sa izuzetkom dve (*désirée* i *kenebek*), poreklom strane sorte ali zbog široke rasprostranjenosti svrstane u kategoriju odomaćenih. Sortiment je analiziran sa aspekta otpornosti prema patotipovima KCN i to samo onim prevalentnim u Evropi, za koje postoji i najveći rizik od introdukcije u našu zemlju. Za proveru otpornosti pojedinih sorti krompira konsultovane su internet stranice evropskog (EUK, 2016) i britanskog (UK, 2016) registra sortimenta krompira, selekcionerskih kuća i Holandske uprave za sigurnost hrane pri Ministarstvu ekonomskih poslova (NL, 2016). Više od polovine sortimenta ne poseduje nikakvu otpornost prema KCN. Među sortama sa nekom otpornošću, najzastupljeniji sa nešto ispod 50% je sortiment sa visokom otpornošću prema prvom patotipu G.

rostochiensis Ro1. Četiri sorte su sa najvišim stepenom otpornosti prema svim patotipovima ove vrste. Pet sorti je sa nekom otpornošću prema pojedinim patotipovima obe vrste a samo dve sorte sa otpornošću prema svim prevalentnim patotipovima obe vrste. Treba napomenuti da se “potpuno otpornim” mogu smatrati samo one sorte krompira koje imaju koeficijent osetljivosti (RO) ispod 1%, tj. koje onemogućavaju razmnožavanje KCN ispod 1% onog kakvo je na kontrolnoj visoko osetljivoj sorti. Samo takve sorte se mogu koristiti kao biološki agensi u suzbijanju KCN konvencionalnim gajenjem i dovesti do optimalnog smanjenja gustine populacije KCN. Gajenjem sorti krompira sa RO većim od jedan neminovno dolazi do podmlađivanja populacije KCN. U tom smislu, prema u Srbiji prisutnim patotipovima Ro1 i Pa2/3, proizvođačima u Srbiji su dostupne samo tri sorte krompira *arsenal*, *innovator* i *crisps4all*. Sorte sa najboljom dostupnom otpornošću prikazane su u prilogu 2.

Dostupnost zvanično registrovanih sorti ni u kom slučaju ne oslikava procentualno učešće sortimenta u proizvodnji krompira u Srbiji, već isključivo daje pregled prisutne otpornosti u dostupnom sortimentu kao potencijalnih mera kontrole prisutnih KCN i preventivnog delovanja na širenje potencijalno introdukovanih patotipova koji još nisu prisutni. Po nezvaničnim podacima Uprave za zaštitu bilja iz 2004. godine o proizvodnji semenskog krompira u Srbiji, oko 80% ukupno gajenih sorti nije posedovalo nikakvu otpornost ni prema jednom patotipu KCN. Podaci o uvezenom semenskom materijalu koji se kontroliše na karantinske nematode u fitonematološkoj laboratoriji Katedre za entomologiju i poljoprivrednu zoologiju Poljoprivrednog fakulteta u Zemunu, kao jedne od tri nematološke laboratorije kojima je poverena kontrola uvoza semenskog krompira na KCN, pokazuju da poslednjih godina u pogledu otpornosti prema KCN ima promena u uvoženom sortimentu krompira kod nas, međutim, među sortama sa nekom otpornošću prema KCN ipak dominiraju sorte krompira otporne prema samo Ro1 *G. rostochiensis*.

2.4 Mehanizmi štetnosti i ekonomski značaj

Efekti KCN na usev krompira počinju sa invazijom korena odnosno ubušivanjem L2 u biljno tkivo korena krompira. Povrede i patološki proces formiranja sincicijuma utiču na

sprovodnu sposobnost korena. Međutim, posledice prisustva KCN u korenu nisu ograničene samo na koren jer podzemni i nadzemni organi biljke su u konstantnoj interakciji i međuzavisnosti, i nematode utiču na oba (Evans i Haydock, 1990).

Mehanizmi oštećivanja biljaka pominjani u literaturi odnose se na poremećaj hormonalnog sistema napadnute biljke, poremećaj usvajanja makro i mikro elemenata i povećanje stresa na sušu remećenjem usvajanja vode i smanjenja transpiracije (Schans i Arntzen, 1991). Schans (1991) utvrdio je da tri dana posle infestacije zemljišta sa 65 L2/g zemljišta *G. pallida* došlo do smanjenja fotosinteze i transpiracije za oko 35%. Posle 30 dana od sadnje krompira na infestiranom zemljištu sa gustom populacije od 100L2/g zemljišta dolazi do smanjenja fotosintetske aktivnosti lišća od 70% (Schans i Arntzen, 1991). Fatemy *et al.* (1985) su utvrdili da se abscisinska kiselina poreklom iz ćelija korenove kape napadnutih biljaka nagomilava u lišću i izaziva zatvaranje stoma, što posledično vodi u smanjenje transpiracije, fotosinteze i smanjenja produkcije organske materije.

Biljke parazitirane od strane KCN pate od poremećaja usvajanja makroelemenata što se ogleda u smanjenoj koncentraciji N, P i K u nadzemnoj masi kod parazitiranih biljaka. S tim u vezi, uz smanjenje fotosinteze, dolazi i do smanjenja biomase nadzemnih biljnih delova (Van Oijen *et al.*, 1995).

KCN na usvajanje i protok vode kroz sprovodna tkiva deluju slično suši, međutim, mogu i da povećaju efekte suše kod infestiranih biljaka što se ogleda kroz intenzivnije smanjenje sinteze organske materije nego kod nenapadnutih biljaka, kao što navode Haverkort *et al.* (1991). Evans *et al.* (1977) i Smit i Vameralli (1998) registruju smanjenje dužine korena infestiranih biljaka. Fasan i Haverkort (1991) su kod biljaka infestiranih sa KCN utvrdili smanjenje broja listova, površine listova, visine biljaka, težine stabla i prosečne težine krtola. Evans *et al.* (1975) i Evans *et al.* (1977) zaključuju da KCN zajedno sa sekundarnim patogenima ubrzavaju starenje korena, što se posledično odražava i na prevremeno završavanje vegetacije gajenih biljaka. Svi prethodno navedeni negativni uticaji KCN posledično vode do smanjenja prinosa krompira.

Krompir (*Solanum tuberosum* L.) je vrlo značajna ratarska i povrtarska kultura, sedma po zastupljenosti u Srbiji, koja se prema podacima Republičkog zavoda za statistiku poslednjih godina gaji na 70-80 hiljada ha.

KCN predstavljaju među nematodama najznačajnije štetočine krompira i jedne od svakako najznačajnijih među štetnim organizmima u proizvodnji krompira uopšte. U Engleskoj se smatraju najznačajnijim štetočinama krompira. Procene šteta koje čine KCN je teško uopštiti jer njihov efekat na prinos zavisi od brojnih klimatskih, bioloških i proizvodnih faktora. U Evropi je njihov uticaj na prinos prilično intenzivno istraživano i ukupne štete se procenjuju na 9% na godišnjem nivou (Evans i Rowe, 1998).

Gubici u prinosima kod osetljivih sorti krompira kreću se i do 80%, što prvenstveno zavisi od gustine populacije KCN u polju (Marks i Brodie, 1998). Procene pragova štetnosti variraju u istraživanjima različitih autora u različitim zemljama. U Italiji Greco *et al.*, (1982) navodi da štete izazivaju gustine populacija veće od 2 L2/g zemljišta. Nešto veće pragove štetnosti od 5 L2/g zemljišta daju Trudgill (1986) i Whitehead (1995). Trudgill *et al.* (2014) registruju uglavnom minimalne štete sa gustinama populacija KCN ispod 10 L2/g zemljišta. Sa svakim povećanjem gustine populacije od 20 L2/g zemljišta dolazi do smanjenja prinosa za 2,75 t (Brown, 1969). U oazama gde su u prenamnoženju dolazi do potpunog uništenja useva i u ekstremnim situacijama prinosi mogu biti manji od mase posadenih semenskih krtola (Whitehead i Turner, 1998).

2.5 Širenje i rasprostranjenost KCN

Aktivno kretanje KCN je vrlo ograničeno i smatra se da migratorne L2 mogu da pređu distancu do 1 m. KCN se u velikoj većini slučajeva raznose u stadijumu cista sa infestiranim zemljištem. Izvođenjem agrotehničkih mera ciste se šire po parceli. Lokalno dalje širenje KCN sa infestiranih parcela na okolne odvija se raznošenjem KCN sa zemljištem zaostalim na poljoprivrednoj mehanizaciji, vetrom, površinskim vodama, semenskim krompirom itd. Raznošenje KCN na udaljene parcele pre svega je sa zaostalim zemljištem na semenskom krompiru koji potiče sa infestiranih parcela. To je i najopasniji vid širenja jer tako dospevaju na udaljena nekontaminirana područja, i to na parcele gde će

se gajiti krompir, na kojem odmah dolazi do rapidnog uvećanja populacije u oazama i odatle daljeg širenja po parceli i na okolne površine (Turner i Evans, 1998). Zbog otežane detekcije niskih gustina populacija, procenjuje se da KCN bivaju otkrivene i do 20 godina od prve introdukcije (Banks *et al.*, 2012). Isti autori navode koncentrično širenje KCN od oko 5 km godišnje od mesta prve introdukcije ovih štetočina.

KCN su u Evropu donete iz Južne Amerike, najverovatnije polovinom 19. veka kada je veliki broj divljih vrsta porodice Solanaceae uvezen u Evropu u cilju selekcije krompira na otpornost prema plamenjači krompira, iako se ne isključuju i moguće ranije pojedinačne introdukcije (Marks i Brodie, 1998). *Globodera rostochiensis* je prva registrovana vrsta KCN u Evropi (Kühn, 1881 citirano u Evans i Rowe, 1998) nađena u blizini grada Rostoka u Nemačkoj po kome i dobija ime. Početkom 20. veka utvrđene su i prve štete na krompiru i širenje u privatnim povrtnjacima u Nemačkoj i Severnoj Irskoj (Zimmermann, 1914 citirano u Evans i Rowe, 1998; Clayden, 1985).

Iz Evrope su potom raznete širom sveta gde je *Globodera rostochiensis* detektovana u 73 a *Globodera pallida* u 55 zemalja (EPPO, 2015). Najrasprostranjenije su u zemljama zapadne, srednje i severne Evrope, koje su i najznačajniji proizvođači krompira, gde uprkos sistematskim merama suzbijanja, opstaju već više od jednog veka. U zemljama u regionu *G. rostochiensis* je uglavnom u fazi širenja (Hrvatska, Rumunija, Bugarska, Mađarska) a *G. pallida* u fazama skorašnje introdukcije (EPPO, 2015).

Rasprostranjenost KCN u Srbiji. Prvi nalazi KCN u Srbiji su novijih datuma, iako se opravdano pretpostavlja da su tu prisutne mnogo duže (Radivojević, neobjavljeni podaci). Prvo je registrovana *G. rostochiensis* sa područja Ponikava u blizini Užica (Krnjajić *et al.*, 2000; Radivojević *et al.*, 2001; Krnjajić *et al.*, 2002). Nekoliko godina kasnije pronađena je i *G. pallida* na planini Javor (Radivojević *et al.*, 2006).

Od 2005. godine kontrola proizvodnje krompira na prisustvo KCN poverena je PSS Institutu "Tamiš" u Pančevu, Institutu za zaštitu bilja i životnu sredinu u Beogradu, Poljoprivrednim stručnim službama i Poljoprivrednom fakultetu u Zemunu. Ispitivanje prisustva KCN na površinama predviđenim za proizvodnju semenskog krompira vrši se na oko 700 ha (1400 uzoraka) godišnje (PSS Institut "Tamiš" i Institutu za zaštitu bilja i

životnu sredinu), kontroliše se 250 uzoraka iz merkantilne proizvodnje krompira (vizuelni pregled, Poljoprivredne stručne službe), i oko 200 uzoraka se uzima godišnje za pregled parcela na lokalitetima sa pozitivnim nalazima na KCN u okviru posebnog nadzora infestiranih površina koje je povereno Poljoprivrednom fakultetu u Zemunu i dr Milanu Radivojeviću, kao odgovornom istraživaču (Anon., 2015b).

Do danas KCN su detektovane na 31 parceli u tri okruga, Zlatiborskom (katastarske opštine Bioska, Tabanovići, Loret, Kremna i Kladnica), Moravičkom (KO Milatovići, Kaona, Gojna Gora, Teočin, Guča) i Mačvanskom okrugu (KO Krupanj, Rujevac i Tomanj) (Radivojević, neobjavljeni podaci). Pri ponovnim detaljnijim uzorkovanjima na nekim od parcela na kojima je ranije bilo utvrđeno prisustvo KCN, iste nisu nađene. Međutim, na priličnom broju parcela na kojima je potvrđeno prisustvo KCN, gustina i raspored populacija KCN je na visokom nivou. Ovakvo stanje govori o dužoj prisutnosti KCN u ovim lokalitetima i verovatno lokalno široj rasprostranjenosti KCN (Radivojević, neobjavljeni podaci) u nekim lokalitetima.

Do 2009. gotovo svi nalazi KCN poticali su iz uzoraka zemljišta sa parcela namenjenih za proizvodnju semenskog krompira. Od 2009. kada je počela kontrola merkantilne proizvodnje javljaju se i prvi nalazi KCN na ovakvim parcelama (Bačić, 2014). Na osnovu do sada saopštenih radova i preliminarnih podataka na osnovu do sada obrađenih uzoraka, u Srbiji su prisutne *Globodera rostochiensis*, njen prvi patotip Ro1 i *G. pallida*, patotip Pa2/3 (Radivojević *et al.*, 2007; Radivojević i Stančić, 2009; Radivojević i Labudović, 2010; Bačić, 2010). Do sada nije detektovano istovremeno prisustvo vitalnih populacija obe vrste na jednoj parceli iako ima indicija da je to bio slučaj na jednoj parceli na Gojnoj Gori, gde je prvo identifikovana *G. pallida* (Oro *et al.*, 2010) a potom *G. rostochiensis* (Bačić *et al.*, 2013). Grujić *et al.* (2016) na istoj parceli utvrđuju prisustvo samo vitalnih L2 *G. rostochiensis* i potvrđuju postojanje praznih cista čije morfološke karakteristike ukazuju na moguće ranije prisustvo i *G. pallida*.

2.6 Integralna zaštita krompira od krompirovih cistolikih nematoda

Brojna višedecenijska, gotovo vekovna, istraživanja i iskustva, i naučna i proizvodna, pokazuju da nijedna od mera zaštite primenjena pojedinačno ne vode uspešnom dugoročnom suzbijanju KCN. Kako svaka od ovih, u narednim poglavljima opisanih mera borbe ima svoje nedostatke, njihova kombinovana implementacija jedino omogućava održivu dugoročnu kontrolu KCN. Rezistentne sorte krompira u isplaniranom integralnom sistemu mera moraju imati primat (Trudgill *et al.*, 2003; Cook i Starr, 2006).

Sve metode koje se koriste protiv KCN se mogu grubo podeliti na metode za sprečavanje njihovog širenja i metode pasivnog i aktivnog suzbijanja.

2.6.1 Sprečavanje širenja KCN

Zbog ekonomskog značaja i kompleksnosti suzbijanja, u našoj zemlji, EU kao i u mnogim zemljama u svetu, KCN se nalaze na karantinskim listama štetnih organizama (EPPO/CABI, 1997; Anon., 2010a; Anon., 2013b).

Na nivou EU mere sprečavanja širenja KCN regulisane su trenutno važećom regulativom Evropske komisije 2007/33/EC (Anon., 2007a). U Srbiji ovo problematika regulisana je sa nekoliko zakonskih i podzakonskih akata (Anon., 2008; Anon., 2013a; Anon., 2015b)

Sprečavanje introdukcije KCN u zemlju vrši se kontrolom prisustva KCN u uvoženom semenskom krompiru a sprečavanje širenja unutar zemlje kontrolisanjem prisustva KCN na parcelama namenjenim proizvodnji semenskog krompira.

Regulativa koja je važila do 2005. godine u Srbiji i bavila se ovom tematikom na infestiranim površinama sa KCN zabranjivana je svaka poljoprivredna proizvodnja koja podrezujeva rizik raznošenja infestiranog zemljišta (Anon., 2005). Zarad usklađivanja sa važećim propisima u EU, zakonodavac u Srbiji od 2013., uz dozvolu fitosanitarnog inspektora, dozvoljava regulisanu proizvodnju merkantilnog krompira na infestiranim parcelama sa KCN. Dozvoljava se gajenje isključivo otpornih sorti krompira sa najvišim stepenom otpornosti (Anon., 2013a).

I u EU i u Srbiji promet tako proizvedenog merkantilnog krompira podrazumeva prethodno uklanjanje infestiranog zemljišta sa krtola, pranjem ili četkanjem (Anon., 2013a Anon., 2013b), kojim se gotovo potpuno mogu ukloniti ciste *Globodera* sp (Kimpinski i Platt, 1983; Gardner *et al.*, 2006; Grujić i Radivojević, 2011). U Belgiji se gotovo sav semenski krompir pere (Moens, 2014 lična komunikacija) u privatnim industrijskim postrojenjima koja često vrše usluge sečenja, dezinfekcije, skladištenja i prodaje. U Holandiji je slično. Tako naprimer, u samo jednoj kompaniji, godišnje se uslužno opere 13-16 hiljada tona semenskog krompira (Dekubbe, 2016).

2.6.2 Pasivno suzbijanje

U metode pasivnog suzbijanja KCN mogu se ubrojiti sve one koje dovode do postepenog smanjenja populacije uz minimalno učešće čovekovog rada. To se postiže onemogućavanjem ishrane KCN na osetljivom domaćinu kroz duži vremenski period i predstavlja uspešan način suzbijanja. Pasivno suzbijanje KCN se postiže dužim plodoredom, zaparložavanjem parcela, zasnivanjem veštačkih livada ili na neki drugi način koji podrazumeva odsustvo obrade zemljišta čime se smanjuje rizik od širenja KCN. Nedostatak ove metode je što se sa uobičajenim plodoredom od nekoliko godina gustine populacija ne padaju ispod nivoa štetnosti a populacije KCN se mogu održati vitalnim i više od dve decenije bez domaćina (Turner, 1996).

Ugar, u širem smislu, je jedan od najšire korišćenih metoda za suzbijanje KCN. Koristi se iz dva osnovna razloga. Prvi je redukcija populacija KCN kroz sponatano piljenje tokom više vegetacijskih ciklusa, a drugi, ne manje važan, je očuvanje kompetitivnih, antagonističkih, predatorskih i parazitskih organizama koji doprinose većem smanjenju gustine populacije PCN na infestiranim parcelama (Nusbaum i Ferris, 1973), kao efekat koji se često u literaturi pominje kao “supressive soils” efekat. Efektivnost korišćenja plodoreda zavisi od specifičnosti u biologiji prisutne vrste KCN tj. brzine/dinamike spontanog piljenja L2 iz cista koje je uslovljeno brojnim faktorima kao što su početna gustina populacije, tip zemljišta, način obrade zemljišta i vrsta useva u prethodnim

vegetacijama, klimatski faktori, prisustvo divljih domaćina, zaostale samonikle biljke krompira iz prethodnih vegetacija i drugi (Trudgill *et al.*, 2014).

Pad gustine populacije KCN u odsustvu biljaka domaćina je istraživano intenzivno u mnogim zemljama koje su se suočile sa problemom KCN. I pored brojnih naučnih i stručnih radova na ovu temu, dobijeni rezultati istraživanja se značajno razlikuju u različitim zemljama. Na osnovu vrlo opsežnih istraživanja na desetinama parcela Turner (1996) sugerira da je smanjenje gustine populacija KCN veće u prvim godinama posle osetljivog useva nego u kasnijim godinama. U prvoj godini posle gajenja osetljivog krompira smanjenja populacije se razlikuju po zemljama. Najveći pad populacije od 80% u prvoj godini posle useva krompira zabeležen je u Švedskoj (Andersson, 1987). Isti autor navodi smanjenja od oko 60% u severnijim delovima zemlje. Sličan pad vitalnosti populacije od 60% zabeležen je u Velikoj Britaniji (Cole i Howard, 1962) i Irskoj (Devine *et al.*, 1999). Smanjenje populacije KCN od 40-45% registrovano je u Nemačkoj (Stelter, 1970), a oko 33% u Holandiji (Huijsman, 1957 citirano u Cole i Howard, 1962). Istraživanja smanjenja gustine populacije KCN tokom višegodišnjeg perioda takođe variraju i različiti autori navode prosečna godišnja smanjenja na ispitivanim parcelama tokom četvorogodišnjeg perioda praćenja od 49% (Den Ouden, 1974) i 33% (Huijsman, 1961) u Holandiji, oko 20% (Cole i Howard, 1962; Den Ouden, 1970; Whitehead, 1995) u Holandiji, Irskoj i Velikoj Britaniji, do ispod 10% godišnje tokom trinaestogodišnjeg praćenja smanjenja gustine populacije KCN u Severnoj Irskoj (Turner, 1996).

Po zakonskim regulativama koje su važile do 2013, a ticale se KCN i njihovog suzbijanja, na parcelama na kojima su identifikovane KCN u Srbiji, zabranjivana je svaka poljoprivredna proizvodnja koja bi dovela do raznošenja infestiranog zemljišta sa parcela (Anon., 2005). Po istoj regulativi proizvođači su imali pravo da traže ponovno uzorkovanje infestiranih parcela tek nakon isteka perioda od 5 godina. Na osnovu naših iskustava takve parcele su uglavnom bivale i posle 5 godina još uvek infestirane vitalnim cistama (Radivojević i Grujić, 2010). Slične situacije navodi i Turner (1996) u Severnoj Irskoj, koja nalazi vitalne ciste čak i posle više od 20 godina odsustva krompira sa infestiranih površina.

Iako je u literaturi bilo navoda o godišnjim smanjenjima gustine populacije i daleko ispod 33%, iz nekog razloga je 33% godišnji pad populacije KCN već dugo prihvaćen kao

standard, i kao takav korišćen prilikom formiranja administrativno ograničavajućih rokova (npr. obavezujuć petogodišnji plodored za semenske useve krompira, petogodišnja zabrana proizvodnje krompira po detekciji KCN, itd) prilikom fitosanitarne kontrole semenskog krompira i KCN u Evropi a i u Srbiji. Trudgill *et al.* (2014) navode godišnja smanjenja vitalnosti KCN od 15-33,5% (prosečno 26%) na više lokaliteta tokom 2-4 godine praćenja. Trudgill *et al.* (2014) konstatuju da čak i uz 33,5% godišnjeg pada vitalnosti KCN, gustina populacije neće biti ispod 10 L2/g zemljišta (koju smatraju ekonomskim pragom štetnosti), čak ni posle osam godina parloga.

Smatra se da je u proseku spontano piljenje *G. rostochiensis* za oko 40% veće nego kod *G. pallida*, sa smanjenjem populacije od 33% naspram 20% kod *G. pallida* (Evans, 1993; Minnis *et al.*, 2004). Turner (1996) sugeriše moguće brže smanjenje populacije KCN sa redovno obrađivanih u odnosu na parcele na kojima su zasnovane veštačke livade.

Poljoprivredna proizvodnja krompira u Srbiji je specifična na mnogo načina. Jedna od specifičnosti je i neobraćanje pažnje na uklanjanje zaostalih krtola krompira prilikom vađenja ili čak namerno ostavljanje tržišno neprihvatljivih (ozelenjenih, manjih od tržišno prihvatljivih, oštećenih i sl.). Takođe, nikakva se pažnja ne poklanja suzbijanju samoniklih biljaka krompira tokom narednih vegetacija posle gajenja na KCN osetljivog useva. Samonikle biljke krompira mogu biti problem sa različitih aspekata zdravlja biljaka. Oni mogu biti nosioci fitopatogenih virusa, bakterija i gljiva, biti nepoželjni korovi i osetljivi domaćini za mnoge štetočine među kojima su i KCN. Iako se stručna i naučna javnost slaže da samonikli krompiri imaju ulogu u održanju populacije KCN malo je radova koji su se time bavili i pokušali da kvantifikuju uticaj samoniklih osetljivih biljaka krompira na KCN. U našoj zemlji nije bilo istraživanja na ovu temu.

Sa fitosanitarnog aspekta, pasivno suzbijanje parloženjem/zasnivanjem veštačkih livada, predstavlja idealan način suzbijanja KCN. Sa ekonomskog aspekta, pasivno suzbijanje može biti prihvatljivo proizvođačima u zapadnoj Srbiji koji su u posedu većih obradivih površina i koji se pored ratarske bave i stočarskom proizvodnjom. Za većinu poljoprivrednih proizvođača koji poseduju svega nekoliko hektara poljoprivrednog zemljišta, isključivanje infestiranih parcela iz ratarske proizvodnje je potpuno neprihvatljivo.

2.6.3 Aktivno suzbijanje

2.6.3.1 Hemijske mere

Nematocidi fumiganti. Metil bromid, 1,3-dihlorpropen (1,3-D) i metil-izotiocijanat (MITC) (sam, mešan sa drugim ili preko prekursora) su tri nematocida koja su bila prisutna u kontroli KCN više decenija u svetu. Montrealskim Protokolom se reguliše prestanak proizvodnje hemijskih jedinjenja (hlorflorouglenika (CFC), halona, ugljeniktetrahlorida i metil hloroformida) koja utiču na smanjenje ozonskog omotača oko Zemlje i predviđa da razvijene zemlje prestanu sa potrošnjom metil bromida do 2005. godine a zemlje u razvoju do 2015. godine (UNEP, 1992). 1,3-dihlorpropen se regulativom Evropske Komisije 2007/619/EC (Anon., 2007b) takođe povlači iz upotrebe u svhu suzbijanja zemljišnih patogena i ne nalazi se na listi pesticida koji su u prometu na tržištu u Srbiji. Metil izotiocijanat (MITC) je jedini fumigant prisutan i registrovan u svrhu dezinfestacije zemljišta. Nastaje u zemljištu razgradnjom više aktivnih materija, kao što su: metam natrijum, metam kalijum i dazomet. U Srbiji se od pomenutih može naći samo dazomet, kao preparat registrovan pod imenom Basamid Granulat (Chemical Agrosava/Chemtura Agrosolutions).

Nematocidi nefumiganti. Nekoliko nefumigantnih pesticida iz grupa organofosfata i karbamata je bilo manje ili više efektivno protiv KCN. To su pesticidi koji po mehanizmu delovanja spadaju u inhibitore holinesteraze koji na nematode uglavnom deluju nematostatički.

Što se tiče organofosfatnih nematocida, parcijalna kontrola *G. rostochiensis* je postignuta primenom sledećih aktivnih materija: fensulfotionom, tionazinom, fenamifosom, diazinomom, terbufosom, etoprofosom i drugim (Brodie, 1983). Sve ove aktivne materije su lipofilne i zahtevaju dobro mešanje sa zemljištem pa se primenjuju pri freziranju zemljišta. Takođe vrlo se lako vezuju za organske komponente zemljišta čime im se značajno smanjuje efikasnost u jako humusnim zemljištima. Tako su na primer, sa 11,2 kg aktivne materije fenamifosa, etoprofosa i isazofosa po ha, delimično kontrolisane KCN u Engleskoj na peskovitim zemljištima dok je na glinušama taj efekat izostao (Whitehead *et al.*, 1994).

Zbog svojih kumulativnih toksičnih efekata organofosfati se danas slabo koriste u kontroli KCN (Marks i Brodie, 1998).

Od nematocida među karbamatima nekoliko oksim-N-metilovanih karbamata, pre svega aldikarb i oksamil, se pokazalo delotvorno u suzbijanju KCN (Minnis *et al.*, 2004). Od pomenutih samo se oksamil može naći na tržištu Srbije u preparatu Vydate 10 l, koji se mahom koristi za dezinfestaciju zemljišta pri proizvodnji rasada. 2013. godine pokrenuta je procedura i na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu su rađeni registracioni ogledi za Vydate 10 G kao nematocida za suzbijanje *Pratilenchus* sp. (Radivojević i Grujić, 2014) u šećernoj repi i KCN u krompiru. I aldikarb i oksamil su aktivne materije visoke toksičnosti, dobro rastvorljive u vodi i mogu se primenjivati u različitim tipovima zemljišta uključujući i zemljišta bogata organskom materijom. Manje su efikasne u alkalnim zemljištima čija pH vrednost prelazi 8. Takođe do njihove degradacije dolazi brzo na povećanim temperaturama zemljišta. Najbolje ih je koristiti u obliku granulata mešanjem u prvih 15 cm zemljišnog profila neposredno pre sadnje (Haydock *et al.*, 2012).

Aldikarb i oksamil primenjeni u redove pri sadnji krompira u koncentraciji 5,6 kg a.m. po ha su parcijalno kontrolisali *G. rostochiensis* ili mešane populacije obe vrste KCN (Moss *et al.*, 1976). Kontrola *G. pallida* preparatima na bazi ovih aktivnih materija pokazala se lošijom i varijabilnijom u odnosu na *G. rostochiensis*. Whitehead *et al.* (1984), u studiji gde je istraživana uticaj 5,6 kg a.m. oksamila po ha na multiplikaciju *G. rostochiensis* (na 76 tipova zemljišta) i *G. pallida* (na 62 tipa zemljišta), navode da su se u proseku nivoi populacija *G. rostochiensis* smanjili za 80% dok je prosečno smanjenje brojnosti *G. pallida* iznosio svega 42%. Autori ovakve rezultate objašnjavaju sporijim i manje intenzivnim piljenjem invazivnih L2 iz cista *G. pallida*, odnosno relativno kratkim delovanjem oksamila (2-3 nedelje) za koje vreme samo deo invazivnih L2 ove vrste napusti ciste. Takođe, navodi se da komercijalno primenjene doze ovih aktivnih materija nisu imale uticaja na mortalitet neispiljenih L2 u cistama ili pak na provociranje njihovog piljenja.

2.6.3.2 Biofumigacija

Biofumigacija predstavlja agronomsku praksu koja koristi isparljive materije koje su produkt raspadanja tkiva raznih biljnih vrsta iz porodice Brassicaceae, u cilju suzbijanja

zemljišnih biljnih parazita i štetočina u zemljištu. Najznačajniji biofumuganti su izotiocijanati (ITC), među koje spada i metil-izotiocijanat kao poznata aktivna materija komercijalnih fumiganata metam-natrijuma i dazometa pomenutih ranije u tekstu.

Izotiocijanati nastaju po razgradnji biljnog tkiva usled dejstva enzima mirozinaze koja hidrolizuje glukozinolate. Glukozinolati su tioglukozidi koji predstavljaju sekundarne metabolite porodice Brassicaceae za koje se pretpostavlja da su nastali kroz evoluciju kao jedan od odbrambenih mehanizama biljaka protiv štetočina i parazita (Bohinc *et al.*, 2012).

Biocidna aktivnost mnogih ITC oslobođenih iz biljaka porodice Brassicaceae je poznata i podržana mnogim empirijskim poljskim ogledima (npr. Brown i Morra, 1997). Biocidna aktivnost i efektivnost ITC zavisi od tipa glukozinolata prisutnih u biljci koji su svrstani u šest grupa. Tako neki aromatični ITC mogu biti i 50 puta toksičniji od MITC.

Biljke korišćene u svrhu biofumigacije se gaje kao predusevi ili kao međusevi tako što se biljke usitnjavaju u cilju što većeg oslobađanja glukozinolata iz biljnog tkiva, mešaju sa zemljištem i zaoravaju. Pokrivanjem zemljišta polietilenskim folijama dobijaju se bolji rezultati u suzbijanju zemljišnih patogena i nematoda.

Nekoliko skorašnjih radova navodi uspešno delovanje biofumiganata na KCN. Tako na primer, Lord *et al.* (2011) su istraživali uticaj 22 biljne vrste iz porodice Brassicaceae na *G. pallida in vitro* i u zemljištu. Njihovi rezultati istraživanja govore o uspešnosti u suzbijanju ove vrste sa 12 vrsta, gde su tri sorte *Brassica juncea* pokazale izuzetne rezultate. Naime, zbog visoke koncentracije 2-propenil glukozinolata u ovim biljkama posle zaoravanja i pokrivanja zemljišta polietilenskom folijom, *B. juncea* je izazvala mortalitet od 95% jaja i L2 u cistama *G. pallida*.

Obzirom na povlačenje konvencionalnih fumiganata iz upotrebe biofumigacija predstavlja jedno od alternativnih rešenja u kontroli KCN, pre svega na parcelama sa velikom gustinom populacije KCN u zemljama gde su KCN široko rasprostranjene u kojima je vrlo teško organizovati proizvodnju krompira bez upotrebe fumiganata. Ipak, zbog nespecifičnog delovanja, iako je biofumigacija relativno nov pristup, već ima naučnih radova koji govore o negativnom uticaju na korisne organizme, kao npr. na entomopatogene nematode (Henderson *et al.*, 2009; Ramirez *et al.*, 2009).

2.6.3.3 Biološka kontrola KCN mikroorganizmima

Što se tiče mikroorganizama koji su pokazali patogene efekte prema KCN, najznačajnije su nematofagne gljive i bakterije. Među nematofagnim gljivama čiji je potencijal poznat već decenijama (Mankau, 1980), dve vrste su pokazale najveći potencijal, *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare i Gams i *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson koja je i komercijalno dostupna (preparat Bioact®, Bayer). Micelija ovih gljiva se razvija na korenu gde apresorijama penetriraju u mlade ženke koje se pojavljuju na površini korena i njihova jaja odnosno već formirane larve. Tobin *et al.* (2008) su u poljskim ogledima dokazali oko 50% smanjenja gustine populacije *G. pallida* i preporučili *Pochonia chlamydosporia* za uključivanje u integralne sisteme kontrole KCN.

Među bakterijama jedan od najproučavanijih je rod *Pasteuria* sa poznatom *Pasteuria penetrans* parazitom vrsta roda *Meloidogyne*. Neka skorašnja istraživanja govore o potencijalu korišćenja neidentifikovane *Pasteuria* sp. parazita *Heterodera cajani* Koshy u kontroli KCN. Naime, Mohan *et al.* (2012), navode da 22% endospora inokuluma *Pasteuria* sp. uspele da se priljube uz kutikulu ženki *G. pallida* prokljaju u telo ženki i tamo završe svoj ciklus razvića. Inficirane ženke *G. pallida* nisu potamnele i u sebi nisu sadržale jaja.

Mikorizne gljive su takođe pokazale određeni potencijal u povećanju piljenja KCN i smanjenju invazija korena od strane L2 KCN, što dovodi do smanjenja multiplikacije cista *G. pallida* u laboratorijskim ogledima (Deliopoulos *et al.*, 2007, 2008).

2.6.3.4 Biljke klopke

Osnovni smisao korišćenja biljaka klopke zasniva se na principu stimulacije intenzivnijeg piljenja L2 iz jaja i cista izazvanog korenskim lučevinama biljaka, a zatim onemogućavanja nastavka razvića L2 i razmnožavanja nematoda. Dva su moguća načina da se to ostvari. Jedan je uništavanje biljke domaćina u fazi pre nego što nematode ostave potomstvo a drugi korišćenje otpornih biljaka koje stimulišu piljenje invazivnih larvi a onemogućavaju razmnožavanje nematoda (Scholte, 2000a, 2000b). U oba slučaja dolazi do pada populacije KCN.

Halford *et al.* (1999) navode smanjenje gustine populacija KCN u proseku oko 70% posle pojedinačnog gajenja osetljivih i otpornih sorti krompira i njihovog uklanjanja posle 5-7 nedelja i različitog vremena sadnje. Scholte (2000a) je istraživao uticaj osetljivih i rezistentnih sorti krompira prema beloj KCN prilikom gajenja parcijalno rezistentne sorte 8 nedelja, posle koje je gajena ili otporna ili osetljiva sorta krompira, i utvrdio smanjenje gustine populacije koje je bilo veće od 94%, čak i kada je drugi usev bio osetljiva sorta. Ipak, Scholte (2000a) navodi da krompir nije idealan usev koji treba gajiti kao biljku klopku iz više razloga. Vreme uništavanja useva je od suštinskog značaja jer zakasnelo uklanjanje biljaka sa parcele dovodi do suprotnog efekta željenom tj. povećanja gustine populacije KCN (Lamondia i Brodie, 1986; Halford *et al.*, 1999). Jedan od značajnih faktora koji mogu da uslove nepravovremeno uklanjanje biljke klopke su nepoznavanje minimalnih temperatura zemljišta za aktivaciju KCN, koji mogu značajno odstupati lokalno, u različitim podnebljima ili zemljama (Ebrahimi *et al.*, 2014). Drugi značajan nedostatak osetljivih ili parcijalno rezistentnih sorti krompira je u tome što neminovno, određeni procenat krtola ostaje u polju, koje u sledećim godinama daju samonikle biljke, dovodeći do povećanja gustine populacije KCN (Den Ouden, 1967; Scholte, 2000a; Dewar *et al.*, 2000), što posledično vodi u dodatne troškove njihovog suzbijanja. Takođe postavlja se pitanje i ekonomičnosti proizvodnje, jer u kratkom periodu vegetacije od 5-8 nedelja, prinosi su značajno umanjeni, čak i preko 50% (Halford *et al.*, 1999) a veličina krtola ne zadovoljava tržišne zahteve osim za prodaju kao mladih krompira. Krompir je domaćin i drugim ekonomski štetnim nematodama kao što su *Meloidogyne hapla* Chitwood za koje je utvrđeno povećanje populacija prilikom gajenja krompira kao biljke klopke (Scholte i Vos, 2000). U istraživanjima parcela pod krompirom na prisustvo *Meloidogyne* sp. u Republici Srpskoj utvrđeno je značajno prisustvo ove vrste u oko 50% ispitivanih površina, a na nekim lokalitetima i u većini pregledanih uzoraka zemljišta (Nježić *et al.*, 2012). *M. hapla* je prisutna u Srbiji (Krnjajić i Krnjajić, 1987) ali njeno prisustvo u krompirištima nije ispitivano u skorije vreme. Da bi se izbegla situacija sa nepoželjnim samoniklim krompirima osetljivih i parcijalno rezistentnih sorti, koji zaostaju za usevom biljke klopke krompira, više autora je tragalo za vrstama iz porodice Solanaceae koje stimulišu piljenje L2 i sadrže potpunu otpornost prema KCN, a koje bi imale i dodatnu ekonomsku

opravdanost kao npr. svrhu zelenišnog đubriva. Scholte (2000b) je ispitao sposobnost više populacija desetine vrsta Solanaceae da značajno stimulišu piljenje L2, njihov status kao domaćina KCN, i pogodnost uzgajanja u uslovima umerenog klimata Holandije. Najbolji kandidat ovog istraživanja koji je ispunio sve uslove uz potpunu otpornost prema obe vrste KCN je *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae). Visok stepen piljenja L2 i pad populacije KCN od oko 75% pod uticajem gajenja *S. sisymbriifolium* kao biljke klopke potvrđen je i u narednim radovima (Scholte i Vos, 2000b; Timmermans, 2005, 2006, 2007a; 2007b). Seme *S. sisymbriifolium* je dostupno na tržištu i polako ulazi u upotrebu u zemljama zapadne i severne Evrope (Magnusson i Holgado, 2010; Sasaky-Crawley, 2012). Nedostatak gajenja ove vrste je u tome što zahteva prilično intenzivnu agrotehniku i zaštitu. Takođe, nalazi se na listi invazivnih vrsta u Australiji a brzo se širi i u nekim oblastima severozapadne Indije (Srivastava *et al.*, 2015). Prisutna je i u desetak evropskih zemalja a na Sardiniji se smatra i korovom pojedinih useva (Zimmermann *et al.*, 2004; EPPO, 2008). Pored *S. sisymbriifolium* Scholte (2000b) je utvrdio potpunu rezistentnost uz snažan efekat na piljenje invazivnih larvi KCN *S. quitoense*, *S. mauritanum*, *S. macrocarpon* i *S. viarum*, međutim, smatra ih nepogodnim usevom kao biljaka klopki zbog lošeg porasta u umerenom klimatu.

Snažnu stimulaciju piljenja L2 kod obe vrste KCN i potpunu otpornost prema *G. rostochiensis* i *G. pallida* pokazale su i neke populacije *S. nigrum* (Doncaster, 1953; Scholte, 2000b; Boydston, 2010). Osetljivost dve populacije *S. nigrum* prema *G. rostochiensis* se pominje u literaturi iako autor trakve populacije smatra hibridima *S. nigrum* i *Solanum villosum* Mill. osetljive prema *G. rostochiensis* (Rott *et al.*, 2011). *Solanum nigrum* je jedna od čestih korova na njivama pa i krompirištima u našoj zemlji. U Srbiji nisu vršena ispitivanja virulentnosti srpskih populacija KCN prema *S. nigrum*. Otpornost populacija *S. nigrum* prema KCN, prisutnih na nekom prostoru potrebno je proveriti iz dva razloga. Prvo, zbog smanjenja rizika uvećavanja populacija na potencijalno osetljivim biljkama kao korovima u krompirištima, a drugi je pozitivan efekat koji potencijalno otporni genotipovi mogu da izvrše na smanjenje populacije KCN kao biljke klopke.

U preglednom radu o domaćinima KCN Sullivan *et al.* (2007) navode tri vrste roda *Physalis* kao moguće domaćine KCN. Nekoliko izvora navodi različite alkaloidne, fisalne, prisutne u jestivim plodovima *Physalis alkekengi* L. i *P. angulata* L. i njihovo baktericidno i leišmanicidno delovanje (Kawai *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2005; Rasheed *et al.*, 2010). Plodovi *P. alkekengi* se koriste u tradicionalnoj dalekoistočnoj Unani medicini kao diuretik, antiseptik i sedativ (Rasheed *et al.*, 2010).

Neke biljke ispoljavaju i nematocidno delovanje. *Tagetes* sp. su korišćene za suzbijanje nekih vrsta nematoda, pre svega vrsta rodova *Pratylenchus* i *Meloidogyne* (Siddiqui i Alam, 1988; Piedra Buena *et al.*, 2008; Hooks *et al.*, 2010). U literaturi ima kontradiktornih rezultata vezanih za uticaj *Tagetes* sp. na piljenje L2 KCN. Omidvar (1961) navodi da korenski eksudati nisu ispoljili ni stimulatívno ni nematocidno delovanje na larve KCN a Di Vito i Sasanelli (1991) utvrđuju inhibitorno delovanje i ekstrakata korena i lišća kadifice na italijanske populacije *G. rostochiensis*. U poljskom eksperimentu sugeríše se moguće blago nematocidno delovanje *Tagetes* sp. (Omidvar, 1962) ali autor gajenje kadifice u svrhu suzbijanja KCN ne smatra ekonomski opravdanim.

Svakako je gajenje potpuno otpornog sortimenta krompira prema KCN najbolje rešenje kako u pogledu suzbijanja KCN tako i iz ekonomskog ugla, proizvodnje najoptimalnijeg useva.

Smanjenja gustine populacije KCN posle gajenja otpornih useva krompira objavljena u literaturi u različitim zemljama širom sveta se obično kreću između 70 i 90% (McKenna i Winslow, 1973; Inagaki, 1978; Andersson, 1987; Woods i Haydock, 2000). Međutim, mogu biti i manja, kao po rezultatima i Efremenko i Klimakova (1973) od 55%.

U Srbiji do sada nije bilo sistematičnih ispitivanja pada vitalnosti populacija KCN pod uticajem rezistentnih sorti krompira. U našoj zemlji, *G. rostochiensis* patotip Ro1 moguće je uspešno suzbijati pomoću više komercijalno dostupnih sorti sa ugrađenim H1 genom otpornosti. Značajan preduslov za uspešno korišćenje neke sorte u cilju suzbijanja KCN, je da je ona već tržišno prihvaćena i prinosna, što je osnovni uslov da bi bila gajena od strane proizvođača. U našim uslovima svest o prisutnosti i štetnosti KCN još uvek je na vrlo niskom nivou kod velike većine naših proizvođača krompira i informacija o sortnoj otpornosti krompira prema KCN ne igra značajnu ulogu prilikom izbora sortimenta,

ukoliko se i uzima u razmatranje. Na sreću, među široko korišćenim sortama krompira u Srbiji i rado prihvaćenim od strane proizvođača, ima i takvih koje su visoko otporne prema *G. rostochiensis* Ro1, a jedna od njih je i sorta *agria*.

Den Ouden (1967) i Dewar *et al.* (2000) su se bavili istraživanjem uticaja samoniklih krompira u usevima nedomaćina KCN, ovsu i šećerne repe i ustanovili da samonikli krompiri utiču na uvećanje i podmlađivanje populacije. Pomenute samonikle biljke krompira koje zaostaju u njivama posle, na KCN, osetljivih useva krompira, mogle bi da utiču na uvećanje i podmlađivanje populacija KCN i tokom gajenja otpornog sortimenta, kao i prilikom ugarenja ili gajenja nedomaćina. Međutim, trenutna saznanja su da u literaturi nema podataka o istraživanjima koja se bave uticajem samoniklih biljaka krompira na pad vitalnosti populacije KCN prilikom gajenja otpornih sorti koje stimulišu značajno intenzivnije piljenje L2 nego biljke nedomaćini, što za cilj može imati mnogo veće uvećanje populacije KCN, što se posledično može odraziti na efekat gajenja otporne sorte i produžetak vremena potrebnog za snižavanje gustine populacije ispod nivoa štetnosti.

Pored otpornosti, bitno je da korenski eksudati otporne biljke stimulišu visok procenat piljenja L2 iz cista KCN, što ne mora uvek biti slučaj. Pre postavljanja saksijskih i poljskih ogleda za ispitivanje efekta otpornih biljaka na KCN obično se prethodno potencijal izazivanja piljenja L2 KCN ispituje *in vitro*. Efekat korenskih lučevina na piljenje L2 lako je ispitati u testovima piljenja gde se vitalne ciste izlažu tečnosti koja sadrži korenske eksudate ispitivane biljke. Pored ispitivane biljke paralelno se postavljaju kontrolni tretmani sa osetljivom biljkom kao pozitivnom kontrolom (često *désirée*) i vodom kao negativnom kontrolom (spontano piljenje u vodi, eng. water hatch). Kao što je pomenuto u poglavlju, spontano piljenje u vodi je neznatno.

Evans (1983) poredi efekat korenskih eksudata 25 sorti krompira na piljenje L2 KCN i ustanovljava oko 2,6% ispiljenih L2 za 4 nedelje u vodi, i prosečno za sve sorte oko 43% L2 *G. rostochiensis* i oko 20% L2 *G. pallida*. Neke otporne sorte pokazuju bolju stimulaciju L2 *G. rostochiensis* nego neke osetljive i obrnuto kod *G. pallida*. Na primer piljenje L2 žute KCN patotipa RO1 u eksudatima sorte *désirée* je 33% a kod otporne *maris piper* 35%. Piljenje L2 Pa3 patotipa *G. pallida* u eksudatima sorte *désirée* je svega 11% a u

eksudatima otporne sorte *mulata* manje od 5% (Evans, 1983). Autor lošije piljenje L2 *G. pallida* tumači višim temperaturam od uglavnom 24 °C tokom ogleda koje pogoduju *G. rostochiensis* a previsoke su za *G. pallida* čiji su optimumi ispod 20 °C. Drugi autori navode da otporni hibridi sa otpornošću dobijenom iz *Solanum vernei* izazivaju lošije piljenje nego osetljive sorte krompira (Turner i Stone, 1981). U istraživnjima italijanskih populacija KCN gde su ogledi sprovedeni na nižim temperaturama od oko 20 °C, Russo i Greco (2006) navode intenzivnije piljenje L2 *G. pallida*, gde je posle šest nedelja ispiljeno 55,7% L2 bele i 47,4% žute KCN. U Na-metavanadatu registruje se suprotno, bolje piljenje L2 *G. rostochiensis* od 32% i *G. pallida* od svega 10,4% (Russo i Greco, 2006).

Korenski eksudati sadrže faktore piljenja, inhibitore piljenja i stimulatore piljenja (Byrne *et al.*, 1998). Među faktorima piljenja u korenskim eksudatima se razlikuju specijski-selektivni (stimulišu intenzivnije piljenje jedne vrste KCN), specijski-specifični (stimulišu piljenje L2 samo jedne vrste) i neutralni (stimulišu podjednako piljenje L2 obe vrste KCN), i njihovo prisustvo i odnosi mogu biti različiti kod različitih sorti i u zavise i od starosti biljke (Byrne *et al.*, 1998). L2 *G. rostochiensis* patotipa Ro1 su se intenzivnije pilile u eksudatima biljaka starijih od 38 dana za razliku od *G. pallida* gde je piljenje intenzivnije u eksudatima mlađih biljaka od 38 dana. Takođe, koncentracija specijski specifičnih i specijski selektivnih komponenti faktora piljenja prema *G. rostochiensis* se povećava sa starenjem biljaka krompira (Byrne *et al.*, 2001).

Pored potencijala eksudata korena biljaka da izazovu piljenje L2 KCN, što je direktna posledica moći faktora piljenja koji se u njemu nalaze, u praktičnom smislu bitna je i daljina rasprostiranja lučevina korena kroz zemljište. Difuzija lučevina korena odnosno faktora piljenja, u dovoljnoj koncentraciji da izazove optimalno piljenje L2 kroz zemljište, zavisi od fizičkih i hemijskih osobina zemljišta, zemljišne mikroflore, kao potencijalnih razgrađivača faktora piljenja, i udaljenosti korena od targetiranih nematoda. Fenwick (1952) navodi da se piljenje L2 KCN smanjuje sa razređenjem test tečnosti sa korenskim eksudatima krompira. Koncentracija lučevina korena pa i aktivnost da izazovu piljenje L2 KCN se smanjuje sa povećanjem distance (Rawsthorne i Brodie, 1987). Sa smanjenjem distance između redova prilikom gajenja rezistentnog krompira, povećava se smanjenje gustine populacije KCN (Lamondia *et al.*, 1987).

NAUČNI CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Disertacija ima dva osnovna naučna cilja, fundamentalni i primenjeni. Osnovni cilj fundamentalnog dela istraživanja je ispitivanje specifičnosti populacione dinamike KCN u zapadnoj Srbiji, koja se u okvirima naše zemlje odlikuje posebnim orografskim i klimatskim uslovima, naročito u višim predelima pogodnim za gajenje semenskog krompira.

Cilj primenjenog dela istraživanja je predlaganje najpovoljnije kombinacije aktivnih i pasivnih mera u okviru održivog pristupa suzbijanja krompirovih cistolikih nematoda koje su kod nas do sada nađene upravo u prostoru zapadne Srbije. Održivost koncepta suzbijanja počiva na ugarenju i gajenju otpornih sorti krompira, kao ekotoksikološki, ekonomski i proizvodno prihvatljivih mera, i sa strane samih proizvođača kao i fitosanitarne službe tj. biljnog karantina.

Osnovni programski ciljevi istraživanja:

- Ispitivanje sortimenta krompira relevantnog za patotipove KCN u Srbiji.
- Utvrđivanje specifičnosti u populacionoj dinamici KCN izloženih osetljivom i otpornom domaćinu i u uslovima bez domaćina.
- Ispitivanje gajenih i divljih vrsta biljaka koje svojim korenskim lučevinama mogu da ubrzaju izumiranje KCN u laboratorijskim uslovima i na infestiranim površinama.
- Optimizacija gustine sadnje otpornih sorti krompira kao biljaka klopki.
- Ispitivanje uticaja samoniklih biljaka krompira na populacionu dinamiku KCN.
- Višegodišnje testiranje održivih (aktivnih, pasivnih i kombinovanih) modeliteta suzbijanja KCN u proizvodnim uslovima.

POLAZNE HIPOTEZE

Uticaj lokalnih agroekoloških uslova na populacionu dinamiku KCN može biti značajan. Očekivane specifične kalendarske vrednosti kritičnih populacionih parametara su neophodne za pravovremeno uključivanje mera za kontrolu i uspešno i održivo suzbijanje KCN.

Proizvodna praksa gajenja semenskog krompira, lokalno korišćen sortiment gajenih biljaka i prisutne divlje vrste biljaka u zapadnoj Srbiji se razlikuju u odnosu na druge zemlje i njihov uticaj na KCN može biti različit.

3 MATERIJAL I METODE

3.1 Eksperimentalni lokaliteti i populacije KCN

Za realizaciju predloženog programa i izradu ove doktorske disertacije obavljena su višegodišnja istraživanja u zapadnoj Srbiji na dva lokaliteta sa populacijama *G. rostochiensis*, sa parcele Ispod Siminog spomenika, u daljem tekstu označene sa S (GPS koordinate: 43°53'28.0"N 19°42'08.7"E) i Lubenac, u daljem tekstu L (GPS koordinate: 43°53'20.9"N 19°42'07.0"E) sa lokaliteta Ponikve kraj Užica (Okrug: Zlatiborski; Katastarska opština: Bioska; Potes: Ponikve; Katastarske parcele: 897 i 894/1) i populacijom *G. pallida*, sa lokaliteta Ograđenik na planini Javor nedaleko od sela Kušići između Ivanjice i Sjenice, označene sa KP6 (Okrug: Moravički; Katastarska opština: Kladnica; Potes: Ograđenik; Katastarska parcela: 6; GPS koordinate: 43°25'49.3"N 20°03'24.4"E). Proizvodne ogledne parcele Ispod Siminog spomenika i Lubenac na Ponikvama su delovi mnogo većih katastarskih parcela.

Pomenute ogledne parcele, od 2005/2006. godine, kada je na njima utvrđeno prisustvo karantinskih KCN, postaju predmet višegodišnjih istraživanja na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu. Ogledi sprovedeni u periodu od 2008. do 2011. godine na ovim parcelama su formalno uključeni u projekat, "Eradikacija krompirovih cistolikih nematoda u žarištima na planini Javor i na Ponikvama" finansiranog od Uprave za zaštitu bilja tadašnjeg Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije. Rukovođenje projektom povereno je mentoru ove doktorske disertacije, dr Milanu Radivojeviću. Istraživačke aktivnosti koje su prethodile izradi ove disertacije uključivale su određivanje prisutnih vrsta i patotipova KCN, i horizontalne rasprostranjenosti KCN na pomenutim parcelama. Tako su na parcelama Lubenac i KP 6 utvrđeni sa KCN najinfestiraniji delovi na kojima će biti sprovedeni svi ogledi, od kojih neki nisu uključeni u ovu disertaciju. Istorijat aktivnosti i plodosmena na oglednim parcelama, odnosno delovima prikazana je u tabeli 1.

Tabela 1. Istorija polja i oglednih aktivnosti na parcelama sa lokaliteta Ponikve i Ograđenik.

Godine	Parcela L (Ponikve)	Parcela S (Ponikve)	KP 6 (Ograđenik)
2000.	livada	parlog	-
2001.	livada	<i>désirée</i>	-
2002.	livada	parlog	-
2003.	livada	parlog	-
2004.	livada	tritikale	-
2005.	livada	<i>désirée</i>	<i>kennebek</i>
2006.	<i>désirée</i>	parlog	parlog
2007.	raž	parlog	parlog
2008.	<i>désirée</i>	ovas	parlog
2009.	<i>agria</i> *	heljda	parlog
2010.	<i>agria</i> **	***	parlog
2011.	raž	***	parlog
2012.	<i>désirée</i>	parlog	parlog
2013.	parlog	parlog	parlog
2014.	parlog	parlog	parlog
2015.	heljda	parlog	parlog

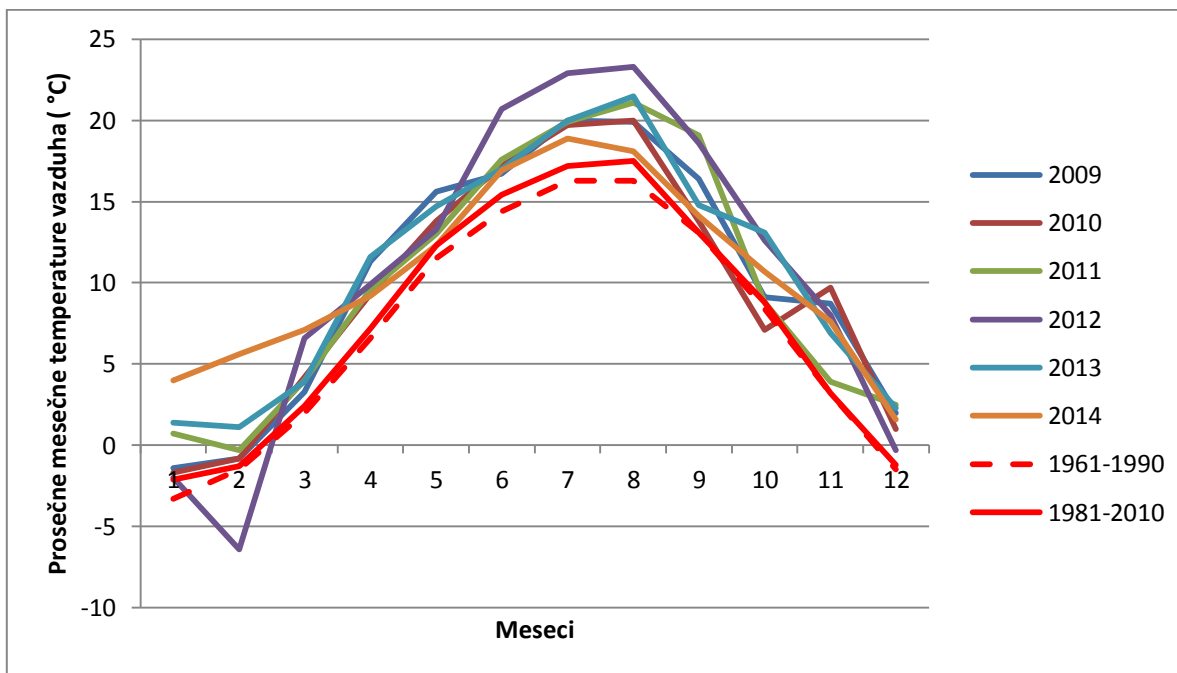
*ogled sa biljkama otporne sorte krompira *agria* gajene na rastojanju 1 m između biljaka.

** ogled optimizacije gustine sadnje otporne sorte krompira *agria* (poglavlje 3.7).

***poljski ogled suzbijanja *G.rostochiensis*, različiti režimi po delovima parcele (poglavlje 3.8).

3.1.1 Lokalitet Ponikve kod Užica

Ponikve predstavljaju zatalasanu visoravan tipa kraškog polja na oko 900 m nadmorske visine, između Užica i Bajine Bašte. Imaju subplaninsku klimu, sa hladnim i dugim zimama, negativnim mesečnim temperaturama u periodu januar-februar, niskom prosečnom godišnjom temperaturom vazduha od 7,7 °C, oko 1000 mm padavina godišnje i prosečnim trajanjem snežnog pokrivača od oko 110 dana u godini (Anon., 2014). Srednje mesečne temperature vazduha za period od 2009. do 2014. i normale za period 1961-1990. i 1981-2010. za klimatološku stanicu RC Užice, date su na slici 1, a srednje mesečne sume padavina na slici 2. Klimatološka stanica RC Užice nalazi se na nadmorskoj visini od 833 m, na oko 11 km udaljenosti vazdušnom linijom od parcela na kojima su vršeni eksperimenti sa KCN na lokalitetu Ponikve.

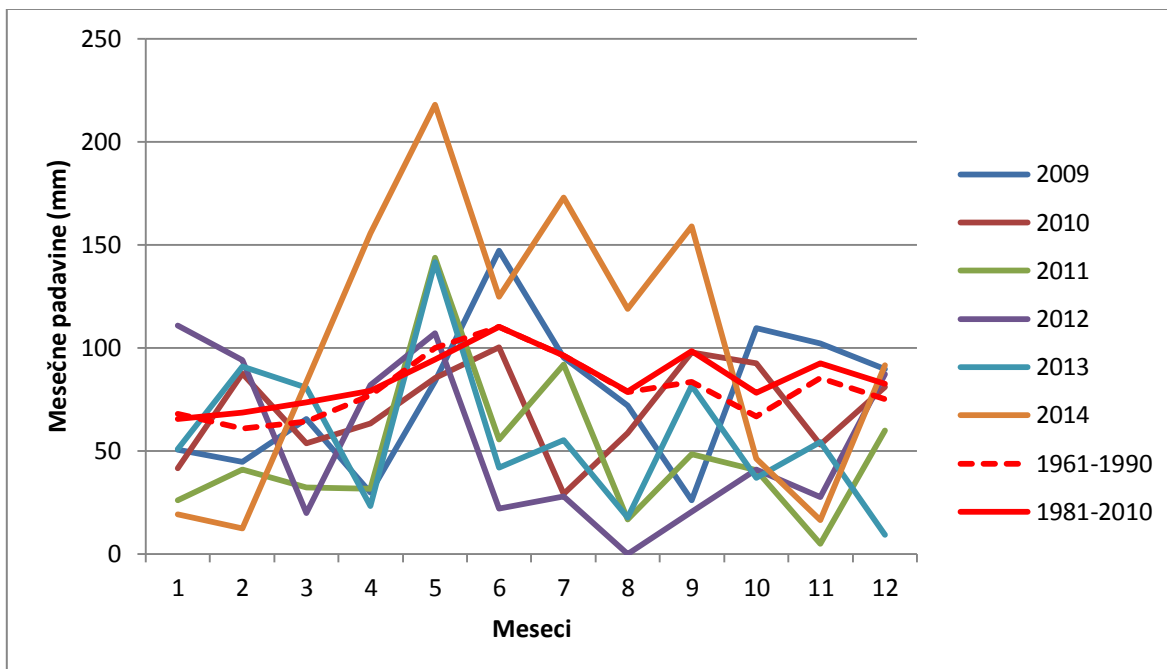


Slika 1. Srednje mesečne temperature vazduha u eksperimentalnim godinama od 2009. do 2014. i normalne vrednosti u periodu 1961-1990. i 1981-2010. za lokalitet Ponikve (klimatološka stanica RC Užice). Izvor: Republički hidrometeorološki zavod Srbije.

Glavni činioci poljoprivredne proizvodnje na lokalitetu Ponikve poslednjih decenija su Vojna ekonomija "Ponikve" i lokalni poljoprivredni proizvođači. Vojna ekonomija se bavila ratarskom proizvodnjom i stočarskom proizvodnjom ovaca. Do 2000. godine ratarska proizvodnja je činila uglavnom proizvodnja semenskog krompira, redovno gajenog na godišnjem nivou od 30-40 ha. Plodored je na pojedinim proizvodnim parcelama obuhvatao nekoliko godina ratarenja sa krompirom svake druge godine, posle čega je na parceli zasnivana livada-pašnjak radi ishrane ovaca. Posle 2000. krompir se gaji na manje od 10 ha godišnje sa dužim plodoredom i ekonomija gotovo da prestaje sa radom 2009. godine a od 2013. postaje vlasništvo Opštine Užice.

Zbog učestalog gajenja krompira, i to po pravilu na KCN osetljive sorte *désirée*, *Globodera rostochiensis* je nađena na većini (oko 40 ha) površina Vojne ekonomije koje su se koristile za proizvodnju krompira (Radivojević *et al.*, 2006). Radnike ekonomije je činilo lokalno stanovništvo koje se privatno, takođe bavilo poljoprivrednom proizvodnjom

krompira. Verovatno je sa korišćenjem semenskog krompira sa infestiranih površina ekonomije došlo i do širenja na okolne poljoprivredne površine u privatnom posedu, sa do sada nekoliko registrovanih pozitivnih nalaza KCN (Radivojević, neobjavljeni podaci). Jedan od nepovoljnih faktora je loša praksa lokalnih proizvođača da koriste sitnu frakciju krtola krompira kao semenski krompir u narednoj godini, čime se bitno doprinosi uspešnom širenju KCN na nove poljoprivredne površine.

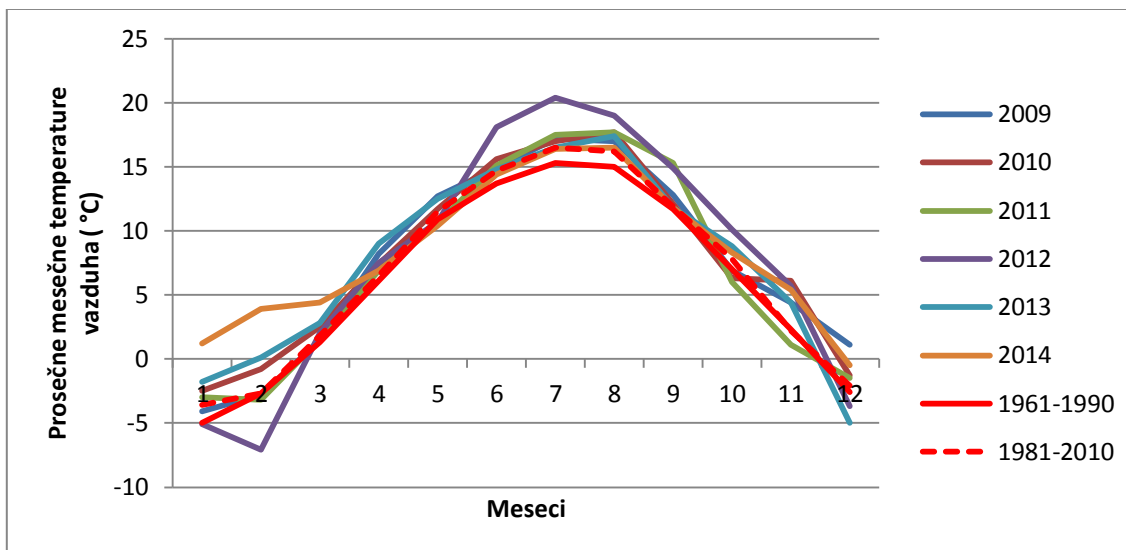


Slika 2. Mesečna suma padavina u eksperimentalnim godinama od 2009. do 2014. i srednje mesečne sume padavina u periodu 1961-1990. i 1981-2010., za lokalitet Ponikve (klimatološka stanica RC Užice). Izvor: Republički hidrometeorološki zavod Srbije.

3.1.2 Lokalitet Ograđenik na planini Javor

Lokalitet Ograđenik se nalazi na zatalasanoj visoravni na nadmorskoj visini od oko 1400 m nadmorske visine. Sama parcela sa pozitivnim nalazom *Globodera pallida* nalazi se na oko 17 km udaljenosti vazдушnom linijom od najbliže Klimatološke stanice Sjenica, koja se nalazi znatno niže, na 1038 m nadmorske visine. Srednje mesečne temperature vazduha za period od 2009. do 2014. i normale za period 1961-1990 i 1981-2010. za

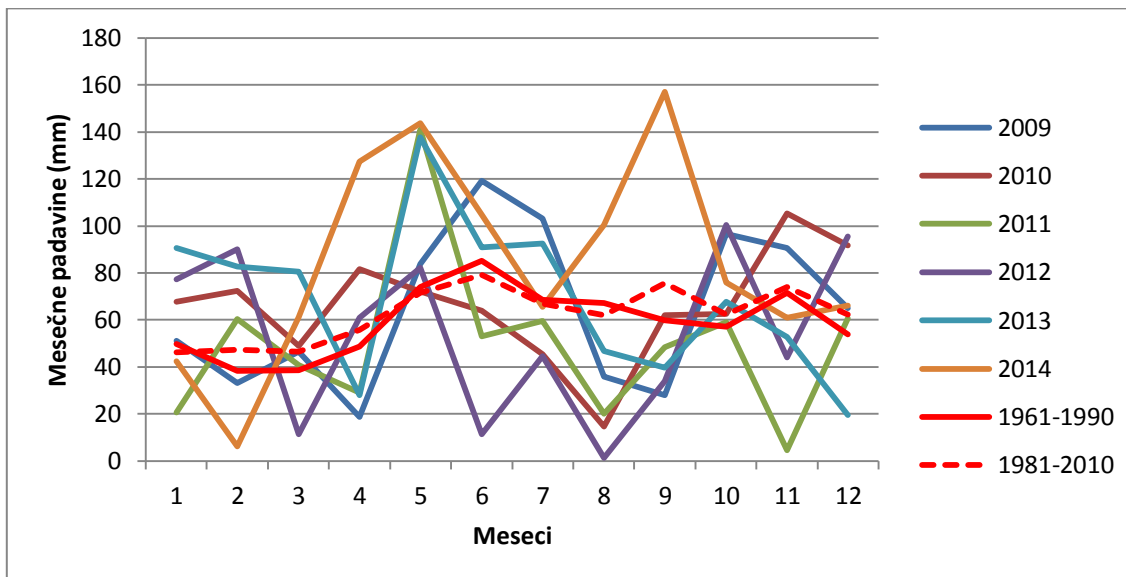
klimatološku stanicu Sjenica, date su na slici 3, a srednje mesečne sume padavina na slici 4. Klima u Sjenici je hladnija i sa manje padavina nego lokalitet Ponikve. Srednja godišnja temperatura za period 1981-2010. je za 1 °C niža i iznosi 6,7 °C a suma godišnjih padavina iznosi oko 750 mm, za četvrtinu manje nego na Ponikvama. Karakterišu je duže i hladnije zime sa negativnim temperaturama u periodu decembar-januar-februar.



Slika 3. Srednje mesečne temperature vazduha u eksperimentalnim godinama od 2009. do 2014. i normale za period 1961-1990. i 1981-2010., za lokalitet Ograđenik (klimatološka stanica Sjenica). Izvor: Republički hidrometeorološki zavod Srbije.

Slično Ponikvama, i na planini Javor nosilac poljoprivredne proizvodnje krompira je bila Zemljoradnička zadruga “Javor”, danas AD “Javor” iz Kušića, koja se sa sličnim plodoredom kao na Ponikvama bavi poljoprivrednom proizvodnjom ratarskih kultura, a pre svega krompira. Na potesima Ograđenik (K.O. Kladnica) i Šanac (K.O. Ravna Gora) su do sada jedini nalazi KCN (Radivojević *et al.*, 2006; Radivojević i Labudović, 2010) na ovim lokalitetima sa lokalizovanim prisustvom na dve parcele i početnim introdukcijama na okolne granične parcele (Radivojević, neobjavljeni podaci). Na ovom lokalitetu je i jedini pozitivan nalaz *G. pallida* u Srbiji na parceli K.P. 6 na lokalitetu Ograđenik koja je od 2005. u službenom režimu pasivne eradikacije obustavljanjem proizvodnje. U poređenju sa

Ponikvama na ovom prostoru KCN su introdukovane znatno kasnije (Radivojević, neobjavljeni podaci).



Slika 4. Mesečna suma padavina u u eksperimentalnim godinama od 2009. do 2014. i srednje mesečne sume padavina u periodu 1961-1990. i 1981-2010., za lokalitet Ograđenik (klimatološka stanica Sjenica). Izvor: Republički hidrometeorološki zavod Srbije.

3.2 Opšte metode ispitivanja KCN

3.2.1 Uzorkovanje i izdvajanje cista iz zemljišta

Uzorkovanje zemljišta vršeno je ubodnom sondom prečnika 2,5 cm iz 5-15 cm dubine zemljišnog profila. Putanje kretanja, veličina uzorka, učestalost prikupljanja poduzoraka i slični detalji dati su u okviru poglavlja Materijal i metode svakog eksperimenta zasebno.

Uzorci zemljišta su rasprostirani na plastične tacne i sušeni na sobnoj temperaturi više dana. Pomoću Fenvikovog aparata oko 200 g zemljišta je ispirano preko sita od 1 mm mlazom vode jačine 5 l/min u trajanju od 5 minuta. Flotacioni nanos je prikupljan na metalno sito od 196 μm . Za izdvajanje i brojanje cista iz flotacionog nanosa primenjen je

metod sa trakom filter papira (Southey, 1974; Turner, 1998). Sa traka filter papira na koje se nahvatao flotacioni nanos ciste su prebrojavane i skupljane disekcionom iglom i malom spatulom pomoću binokulara.

3.2.2 Izdvajanje slobodnoživećih stadijuma iz zemljišta

Za izdvajanje slobodnoživećih crvolikih stadijuma KCN, mužjaka i L2, korišćena je modifikovana metoda po Bermanu (Baermann, 1917) u kombinaciji sa modifikovanom metodom dekantovanja i prosejavanja po Kobu (Cobb, 1918). 200 g zemljišta je razmućeno u plastičnoj posudi zapremine 2 l posle čega se pristupilo postupku dekantovanja i prosejavanja. Posle mešanja suspenzije sa zemljištem dvostrukim presipanjem iz činije u činiju, suspenzija je propuštena kroz sito od 196 μm . Profiltrirani supernatant je posle 20 s propušten kroz sito perforacija od 100 μm i zatim posle 20 s još jednom. Treće propuštanje preko sita od 100 μm urađeno odmah bez čekanja da se išta istaloži. Posle svakog prosejavanja sadržaj koji je na situ ostao je objedinjen u čaše i potom prebačen na Bermanove levke sa sitima i filter papirom. Posle 24 časa suspenzije sa nematodama nataloženim u epruvetama pričvršćenim silikonskim crevom na dnu levka su sakupljene i pod disekcionom lupom utvrđivan je broj L2 odnosno mužjaka KCN.

3.2.3 Razrada poboljšane metode procene vitalnosti cista disekcijom

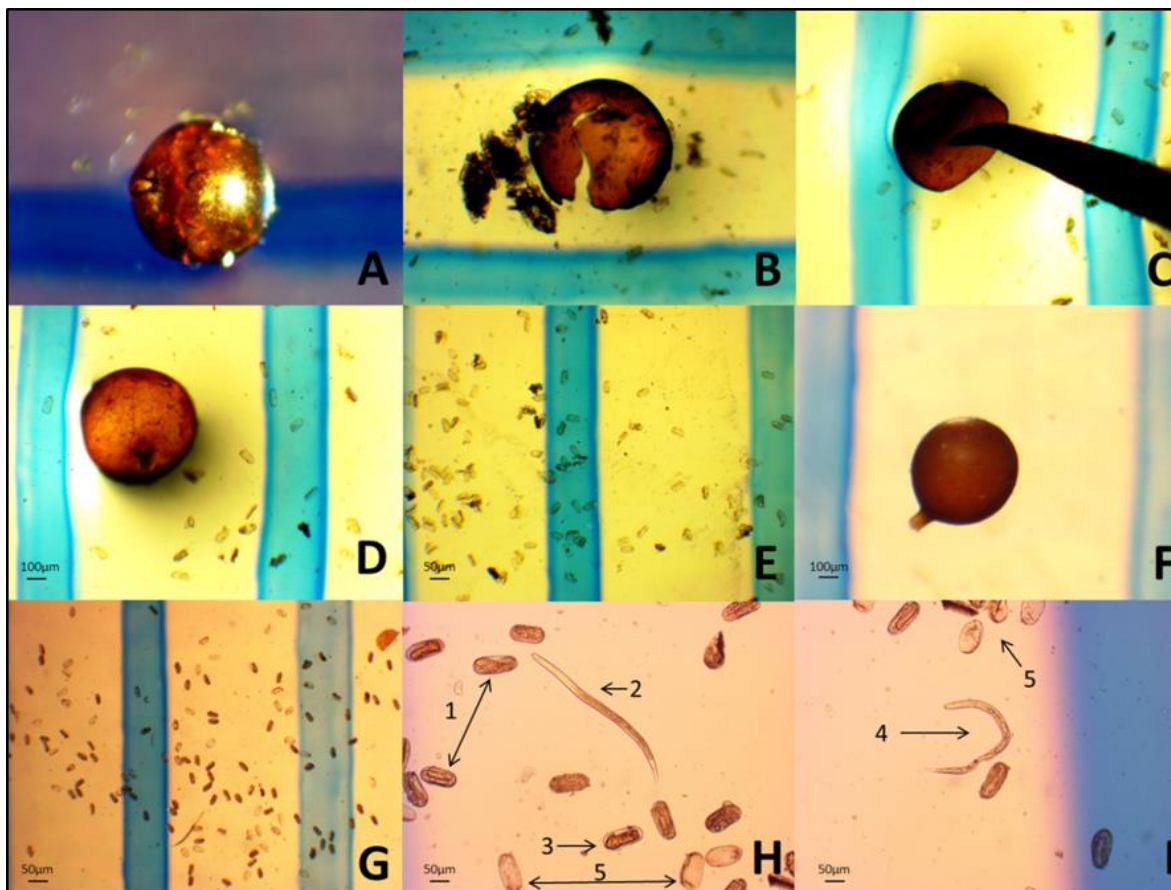
Analiza vitalnosti cista vršena je individualnom disekcijom cista. Uzorak sa suvim cistama je preračivan u sahatno staklo i izmešan. Potom je vrh disekcione igle prethodno uronjen u posudicu sa vodom stavljan u kontakt sa cistama i one nasumično nahvatane na vrh igle (obično nekoliko) premeštane u drugu posudu sa vodom. Postupak je ponavlján dok se ne sakupi uzorak od 50 slučajno odabranih cista. Ciste su ostavljane u vodi nekoliko dana zbog dostizanja optimalne hidriranosti kako zbog lakše manipulacije prilikom disekovanja, tako i da se obezbedi da po otvaranju cista sadržaj ne ispliva na površinu kapi vode. Iz posudice sa vodom ciste su pojedinačno stavljane na predmetno staklo u kap vode.

Na poleđini predmetnog stakla tankim permanentnim markerom je bila prethodno iscrtana mreža sa oko 1 mm distance između linija radi lakšeg prostornog orijentisanja prilikom brojanja. Na ivice poleđine predmetnog stakla zalepljena je lepljiva traka da bi izdigla šrafirana površina predmetnog stakla od binokularskog stakla čime se sprečilo brisanje linija trenjem o binokularsko staklo. Ciste su stavljane u kap vode i pomoću dve tanke entomološke igle, pod vodom je kutikula kidana i sadržaj vađen iz cista. Pošto bi se delovi kutikule cista potpuno odvojili od sadržaja, grupisana jaja su razdvajana i sadržaj ciste je rasprostiran po dnu predmetnog stakla do postizanja optimalne homogenosti, a u cilju kasnijeg lakšeg i preciznijeg brojanja. Prebrojavanje sadržaja uključivalo je brojanje sledećih kategorija kao predloženo od Lamondia *et al.* (1986) i Anon. (2013b). Kao vitalan sadržaj brojana su: vitalna jaja (jaja sa čistom površinom jajnih ljuski u kojima je jasno prisustvo skrupčanih L2) i već ispiljene L2 (koje su blago do srednje savijene, sa jasno izraženom razlikom između prednjeg i srednjeg creva). Pod brojanim nevitalnim sadržajem cista podrazumevane su prazne jajne ljuske i nevitalna puna jaja (ispunjena amorfnom tamnom masom, koja su bez odgovarajućeg turgora i na pritisak iglom ne pucaju i/ili promenjenog oblika). Ispiljene L2 (sa nejasnim prelazom između jednjaka, potpuno prozirne ili potpuno tamne; srednje savijene ili savijene pod uglom što govori o odsustvu odgovarajućeg vitalnog unutrašnjeg pritiska; sa prisutnim krupnim prozirnim vakuolama u srednjem crevu; izmeštenim stiletom) nisu brojane (Slika 5).

Po prebrojavanju vitalnog i nevitalnog sadržaja, podaci su upisivani u tabelu napravljenu u programu *Microsoft Excell*. Napisan je *Macro* u koji su ugrađene formule po kojim se izračunavaju aritmetička sredina, standardne devijacije za sve kategorije vitalnosti, procentualna vitalnost svake ciste, i kojima se kategorizuje svaka cista i sav vitalan sadržaj po cisti, i u uzorku u jednu od 6 kategorija vitalnosti. Sumarni podaci dati su kao zasebna tabela u dnu radne tabele *Excell* dokumenta.

Ellenby (1956) navodi da je piljenje proporcionalno broju jaja po cisti u eksperimentima sa piljenjem L2 iz pojedinačnih cista. S postavljenom hipotezom da procentualno piljenje L2 iz cista ne zavisi od njihove veličine (broja jaja po cisti), sve prebrojavane radne vrednosti ukupnog broja jaja su uprosečene na 200 jaja po prosečnoj cisti u uzorku (kao hipotetički prosečan broj jaja po cisti u populaciji) a zatim su i sve druge

vrednosti (broj punih i praznih jaja) korigovane prema odstupanju uzoračkog proseka od populacionog, tj. 200 jaja po cisti.



Slika 5. Disekcija cista *Globodera* sp. A- Providna nevitalna ili slabo vitalna cista; B- otvorena nevitalna cista sa masom spleljenih praznih jajnih ljuski; C- Vađenje sadržaja iz raspolučene ciste disekcionom iglom; D- Ispražnjena polovina ciste; E- Sadržaj nevitalne ciste na uvećanju do 25x; F- Vitalna cista; G- Sadržaj vitalne ciste; H i I- Sadržaj vitalne ciste na uvećanju od 50x (1- vitalna jaja sa vidljivim skupčanim L2 ispod jajne ljuske, 2- vitalna ispiljena L2, 3- nevitalno jaje sa tamnom amorfnom materijom, 4- nevitalna L2 sa krupnim vakuolama, savijena, bez jasno vidljivog prelaza između prednjeg i srednjeg creva, 5- prazne jajne ljuske).

3.3 Identifikacija vrsta i patotipova eksperimentalnih populacija

3.3.1 Određivanje vrsta

Specijski identitet vrsta sa lokaliteta na kojima su sprovedena ova istraživanja utvrđen je prilikom prvih nalaza (Krnjaić *et al.*, 2000; Radivojević *et al.*, 2001; Krnjaić *et al.*, 2002; Radivojević *et al.*, 2006a). Morfološka identifikacija vrsta populacija sa konkretnih parcela korišćenih u ovom radu bazirana na korišćenju morfometrijskih karakteristika vulvalno-analnog regiona cista urađena je na Katedri za entomologiju i poljoprivrednu zoologiju pre početka izrade ove disertacije (Radivojević *et al.*, 2006a; Radivojević *et al.*, 2006b). Identifikacija populacije *G. rostochiensis* sa parcele Lubenac potvrđena je molekularnim metodama tokom izrade master rada kandidata a populacija *G. pallida* prilikom prvog nalaza *G. pallida* (Radivojević *et al.*, 2006a) i izrade master rada kandidata (Grujić, 2010). Da bi se isključila mogućnost prisustva obe vrste KCN, koje se razlikuju u virulentnosti i populacija sa parcele Ispod Siminog spomenika je proverena molekularnim metodama.

Potvrda specijskog identiteta populacije *G. rostochiensis* sa pomenute parcele molekularnim metodama, urađena je na Poljoprivrednom fakultetu u Banjoj Luci, metodom multipleks lančane reakcije polimeraze (PCR) sa specijski specifičnim prajmerima (Bulman i Marshall, 1997). Za potvrdu specijskog identiteta populacije sa parcele S, genomska DNK je izdvojena 10 puta iz 10 slučajno odabranih cista populacije žute KCN korišćenjem *Qiagen Blood and Tissue Kit* (Qiagen, UK). Ciste su 5 min mrvljene u 1,5 ml *Eppendorf* tubama sa 180 µl ATL pufera uz pomoć plastičnih konusnih homogenizatora. Zatim je u tube dodata proteinaza K i uzorci su ostavljeni 2 sata u termo bloku na 56 °C. Uzorci su potom stavljeni u centrifugu 1 min na 8000 G, posle čega je supernatant prebačen u nove tube. Uzorci su dalje procesuirani po uputstvima proizvođača. Po završetku protokola DNK je sprana dva puta sa 50 µl odgovarajućeg pufera.

Za utvrđivanje vrste KCN korišćen je multipleks PCR protokol sa specijski specifičnim prajmerima (Ferris *et al.*, 1993; Bulman i Marshall, 1997). PCR amplifikacija DNK fragmenata vršena je u 25 µl reagensa sačinjenog od 1 µl (0.2 units) Taq polimeraze (Promega, Southampton, UK), po 1 µl (10 µM) svakog od tri prajmera i 2 µl DNK, 5 µl 5×

pufera, 2,5 µl 0,2 mM dNTP, 1,5 µl 6 mM MgCl₂ i 10 µl dejonizovane vode. Amplifikacija DNK fragmenata vršena je po sledećim koracima. Inicijalni denaturacioni korak na 94°C tokom 5 min, praćen sa 40 ciklusa od 94 °C tokom 30 s, 55 °C tokom 15 s i 72 °C tokom 30 s. PCR amplifikacija je završena na 72 °C tokom 5 min. Umnoženi DNK fragmenti razdvojeni su elektroforezom u 1% agaroznom gelu i 1% TBE. Gelovi su potapani u rastvor etidijum bromida pola sata i DNK vizuelizovana na ultraljubičastom svetlu iluminatora.

3.3.2 Određivanje patotipova KCN

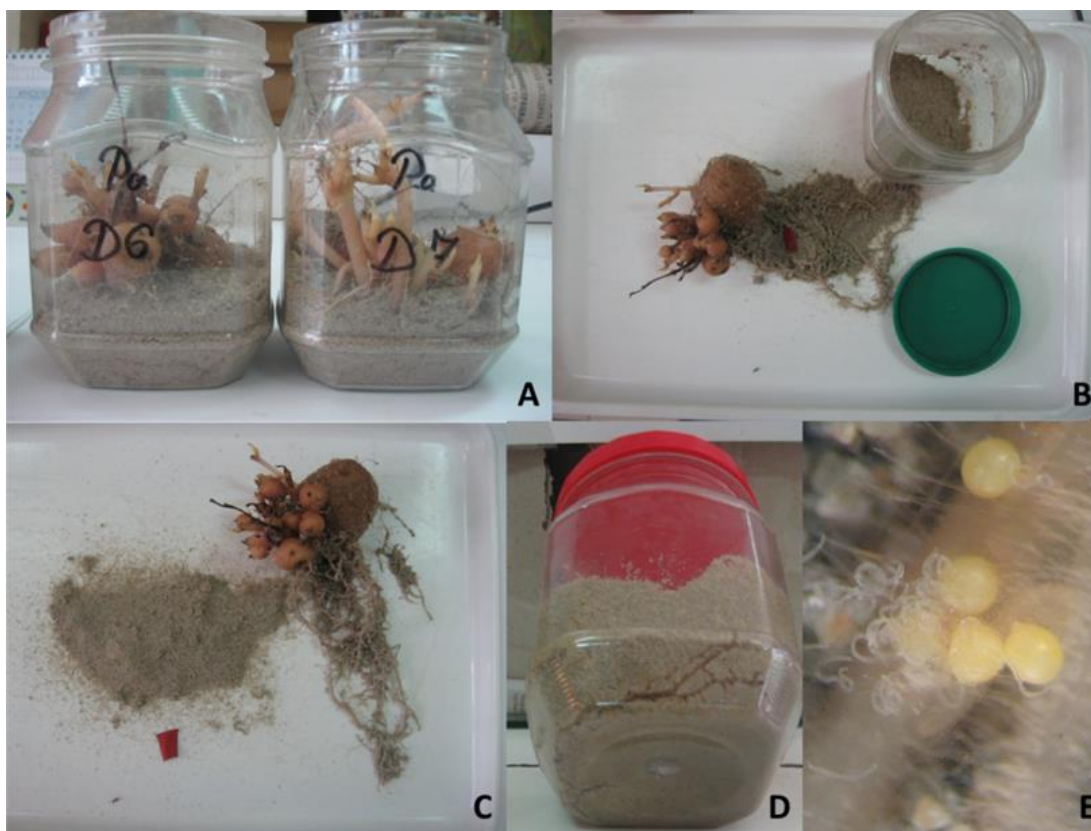
Patotipovi populacija *G. rostochiensis* sa Ponikava i *G. pallida* sa lokaliteta Ograđenik identifikovani su prethodno (Radivojević *et al.*, 2007; Radivojević i Stančić, 2009). Za potvrdu virulentnosti ispitivanih patotipova uz optimizaciju korišćenog diferencijalnog sortimenta krompira ogledi su ponovljeni. Testiranje patotipa *G. rostochiensis* vršeno je u dva ogleda sa sortama *agria*, *crisps4all* i *désirée*, a *G. pallida* sa sortama *innovator*, *crisps4all*, *sante* i *désirée* u 10 ponavljanja sa svakom sortom. Ispitivane diferencijalne sorte sa različitom otpornošću prema patotipovima KCN date su u tabeli 2.

Tabela 2. Diferencijalne sorte krompira korišćene za utvrđivanje patotipova KCN, njihova relativna osetljivost (RO=Pfispitivane sorte/Pf osetljive sorte *désirée* x100%) i definisani skorovi otpornosti od 1 (potpuna osetljivost) do 9 (potpuna otpornost).

	Patotipovi							
	Ro1		Ro2,3		Pa2		Pa3	
	RO (%)	Skor	RO (%)	Skor	RO (%)	Skor	RO (%)	Skor
<i>agria</i>	<1	9		1		1		1
<i>crisps4all</i>	0,0	9 9 (np)	1,3	8 8 (np)	0,6	9 9 (np)		1
<i>innovator</i>		1		1	3,0	8 8 (7)	0,7	9 9 (7)
<i>sante</i>	<1	9 9 (7)	5,0	7 (7)	5,0	7 7 (7,7,9,4)	30,0	3 3 (4)
<i>désirée</i>		1		1		1		1

(Izvori: boldovano crno-HZPC, www.hzpc.com; boldovano crveno-Agrico, www.agrico.com; zagrada-www.europotato.org; normalan font- www.nvwa.nl; np-nema podataka).

Ogledi za određivanje patotipova populacija KCN obavljani su u zatvorenim kontejnerima, plastičnim prozirnim teglama zapremine 800 ml, kao modifikacija metoda datih u EPPO standardu PM 7/40 (3) (Foot, 1977; Phillips *et al.* 1980; Anon., 2013b) (Slika 6).



Slika 6. Eksperimentalni dizajn oglada za ispitivanje patotipova KCN odnosno otpornosti sorti krompira. A, B, C- Tegle sa peskom, krtolama krompira i kesicama sa cistama (inokulum). E- koren krompira uz zidove tegle sa golim okom vidljivim cistama nove generacije; E- okruglaste ženke i crvoliki mužjaci KCN u fazi kopulacije na uvećanju 25x.

Kao supstrat korišćen je pesak koji je prethodno sterilisan višerasovnim zagrevanjem na 150 °C u termostatu. Kontejneri su napunjeni sa 200 g sterilisanog peska, koji je zatim navlažen sa 25 ml vode i istovremeno mešan do postizanja homogene vlažnosti. Krtole sertifikovanog semenskog krompira (prečnika oko 35 mm) su površinski dezinfikovane potapanjem u 2% rastvor hipohlorida u trajanju od 2 minuta i potom naklijavane na sobnoj temperaturi do pojave izdanaka dužine 1-2 cm. Najlonske kesice sa

po 50 cista su postavljane u pesak ispod krtola koje su ukopane do polovine u pesak. Tegle su zatvorene (ne potpuno) i stavljene u drvene kutije u potpunom mraku koje su držane na 18-25 °C. Posle 12-15 nedelja, pošto je na osetljivim sortama utvrđeno da je većina cista braon boje, tegle su otvarane i ostavljane da se pesak osuši nekoliko dana. Zatim se pristupalo izdvajanju cista iz supstrata.

Izdvajanje cista iz peska vršeno je Fenvikovom metodom (Fenwick, 1940). Potom je nataložen pesak iz tela Fenvikovog aparata sakupljen u sito od 196 µm i zatim prebačen u staklene čaše zapremine 1000 ml sa 60% rastvorom saharoze. Pesak je razmućivan u rastvoru šećera 30 s a potom supernatant preliven preko sita od 196µm. Ženke i mlade ciste, veće specifične težine od vode koje su se našle u talogu Fenvikovog aparata su ovom metodom izdvojene u supernatant šećernog rastvora i sa sita prebačene u posudu za brojanje nematoda i prebrojane korišćenjem disekcionog mikroskopa.

3.4 Ispitivanje populacione dinamike

U naredna dva poglavlja opisana je postavka ogleda u poljskim uslovima bliskim prirodnim koji su simulacija tri realne situacije u praksi na infestiranim parcelama. Prva je prisustvo sorte krompira osetljive na KCN, najčešće sorte *désirée*. Druga situacija je obustavljanje proizvodnih aktivnosti na zaraženoj parceli (parloženje) a treća je gajenje otporne sorte krompira kao mere aktivnog suzbijanja u integralnom pristupu zaštite krompira od KCN.

3.4.1 *Globodera rostochiensis*, patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve

3.4.1.1 Ogled 1

Da bi se dobile tražene informacije o populacionoj dinamici populacije *Globodera rostochiensis* patotipa Ro1 na neobrađivanom obodu prirodno zaražene parcele Lubenac na Ponikvama u zemljište provereno bez KCN, ukopane su po tri plastične kofe zapremine 12 l, sa kojih je uklonjeno dno u cilju eliminacije uticaja okolnih biljaka, kao i sprečavanja

emigracije nematoda u okolno zemljište. U ovakvim približno poljskim uslovima bi se očuvao toplotni i vodni režim najbližnji onom u prirodi (Slika 7).

Za inokulaciju zemljišta u oglednim kofama korišćeno je već prirodno infestirano zemljište sa *G. rostochiensis* iz prethodno utvrđenog, najgušće naseljenog dela parcele. U cilju obezbeđivanja što homogenije početne gustine populacije u svim oglednim kofama, prvo je iskopana odgovarajuća veća količina zemljišta koje je u većem koritu temeljno izmešano i potom raspoređeno u ogledne kofe do vrha, koje su nivelisane sa površinom okolnog prostora.

Praćenje populacione dinamike Ro1 *G. rostochiensis* vršeno je u tri varijante, tri kofe, sa otpornom sortom *agria*, osetljivom sortom *désirée* i sa odsustvom biljke hraniteljke (samo zemljište) tokom 2009. i 2010. godine. U varijantama sa krompirom na početku vegetacije 2009. godine na polovini dubine kofe posađene su tri naklijale krtole semenskog krompira frakcije 35 mm čije potomstvo je nastavilo vegetaciju u 2010. godini.



Slika 7. Organizacija oglada za praćenje populacione dinamike KCN u približno poljskim uslovima.

Uzorkovanje. U toku vegetacionog perioda, sa početkom u aprilu ili maju i zaključno sa oktobrom, jednom mesečno iz kofa je uzorkovano zemljište, uobičajenom ubodnom sondom sa 15 uboda po 20-30 g zemljišta po ubodu, ravnomerno po prostoru kofe. Tako su formirani uzorci od oko 400 g zemljišta po kofi za dalju obradu u laboratoriji. 200 g zemljišta je korišćeno za izdvajanje cista a ostatak za izdvajanje migratornih stadijuma po procedurama opisanim u poglavlju Opšte metode ispitivanja KCN.

U kofama u kojima je rastao osetljivi krompir sorte *désirée*, zbog formiranja novih cista u toku vegetacije sa naglašenije grupnim rasporedom, koji odražava raspored korenovog sistema biljaka u kofi, uzorkovanje je bilo nešto drugačije. U oktobru po završenoj vegetaciji, zemljište iz kofe je istreseno u korito, dobro izmešano radi homogenizacije rasporeda cista, i pre vraćanja kofe u rupu u zemljištu iz nje je formiran slučajni uzorak od uobičajenih oko 400 g zemljišta.

Prilikom svakog uzorkovanja, počevši sa aprilom/majem a završavajući u oktobru, vršeno je merenje temperature na 15 cm dubine zemljišnog profila i vlažnosti zemljišta. Relativna vlažnost zemljišta određivana je direktno iz prikupljenih uzoraka zemljišta iz oglednih kofa, kao procenat težine isparene vode u odnosu na težinu vazdušno suvog zemljišta. Praćeni su sledeći populacioni parametri: gustina cista u zemljištu (svakog meseca), gustina trenutno ispiljenih invazivnih migratornih larvi druge generacije u zemljištu (svakog meseca), trenutna gustina mužjaka u zemljištu (svakog meseca) i vitalnost cista (broj neispiljenih L2 u cistama) (za mesece april, jun i oktobar). Broj neispiljenih L2 u cistama u slučaju osetljive sorte *désirée*, gde dolazi do formiranja nove generacije cista, određivana je i za mesec avgust. Vitalnost cista određivana je za slučajnih 50 cista po uzorku po proceduri opisanoj u poglavlju 3.2.3.

3.4.1.2 Ogled 2

Sličan ogled eksperimentu opisanom u prethodnom poglavlju postavljen je i 2014. godine. Na neobrađivanom obodu bašte jednog poljoprivrednog domaćinstva udaljenog

200 m vazdušnom linijom od parcele Lubenac na Ponikvama u zemljište provereno bez KCN, ukopano je 16 plastičnih kofa zapremine 12 L, sa kojih je uklonjeno dno (Slika 7).

Za infestaciju zemljišta u oglednim kofama za razliku od prethodnog ogleda korišćena je laboratorijska populacija dobijena od cista sa prirodno infestirane parcele Lubenac. Ciste korišćene kao inokulum u ovom ogledu odgajene su u vivarijumu Poljoprivrednog fakulteta u Zemunu u kofama od 12 L na sorti krompira *désirée* u prethodnoj godini i iz istih izdvojene dve nedelje pre postavljanja ogleda. Vitalnost laboratorijske populacije proverena je prethodno testom piljenja L2 u rastvoru veštačkog stimulatora piljenja Na-metavanadatu. Po oko 5000 cista, po ponavljanju, je u laboratoriji prebrojano i pomešano sa 100 g peska, i tako napravljeno 16 identičnih kesica od 100 g peska sa 5000 cista za svako ponavljanje. Na oglednom lokalitetu 12 L zemljišta koje je iskopano za ukopavanje kofe bez dna do nivoa okolne zemlje ubacivano je u veće korito. Zemljište je izmrvljeno i u korito je dodat sadržaj kesice sa cistama. Sve je zajedno mešano u cilju homogenizacije cista i tako dobijena gustina populacije od oko 40 cista u 100 g vlažnog zemljišta. Infestirano zemljište je potom vraćeno u oglednu kofu do vrha, koja je nivelisana sa površinom okolnog prostora. Isti postupak je ponovljen sa 16 kofa.

Ogled je postavljen u dve varijante, sa osetljivom sortom *désirée* i sa odsustvom domaćina (samo zemljište) u po osam ponavljanja. U varijanti sa krompirom prilikom postavljanja ogleda na polovini dubine kofa posađene su tri dobro naklijale krtole semenskog krompira sorte *désirée* frakcije 35 mm.

Uzorkovanje. U toku vegetacionog perioda, sa početkom u 29 aprila, zaključno sa 26 oktobrom 2014, svake druge nedelje iz kofa je uzorkovano zemljište, uobičajenom ubodnom sondom sa 7 uboda po 20-30 g zemljišta po ubodu, ravnomerno po prostoru kofe. Tako su formirani uzorci od oko 200 g zemljišta po kofi za izdvajanje migratornih stadijuma po procedurama opisanim u poglavlju Opšte tehnike. Na početku i kraju vegetacije uzeto je dodatnih 200 g zemljišta po kofi koje je korišćeno za izdvajanje cista.

Prilikom svakog uzorkovanja vršeno je merenje temperature zemljišta na dubini od 15 cm. Relativna vlažnost zemljišta određivana je direktno iz prikupljenih uzoraka zemljišta iz oglednih kofa, kao procenat težine isparene vode u odnosu na težinu vazdušno suvog zemljišta. Praćeni su sledeći populacioni parametari: gustina cista u zemljištu (april i

oktobar), gustina trenutno ispiljenih L2 u zemljištu (dvonedeljno), trenutna gustina mužjaka u zemljištu (dvonedeljno) i vitalnost cista (broj neispiljenih L2 u cistama) (april i oktobar). Broj ženki i cista, osim na početku i kraju ogleada, nije kvantifikovan tokom vegetacije, međutim, zabeležen je momenat njihovog pojavljivanja, pregledom materijala sa grubog sita tokom izdvajanja migratornih stadijuma. Vitalnost cista određivana je za slučajnih 50 cista po uzorku po proceduri opisanoj u poglavlju 3.2.3.

3.4.2 *Globodera pallida*, patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik

Ispitivanje populacione dinamike *G. pallida* na lokalitetu Ograđenik vršeno je identičnom metodologijom kao u ogledu 1 opisanom u poglavlju 3.4.1, s razlikom što je umesto krompira otporne sorte *agria* korišćena sorta *innovator*.

3.5 Ispitivanje interakcije KCN i odabranih vrsta biljaka

3.5.1 *In vitro* testovi provokacije piljenja larvi KCN

Prikupljanje test tečnosti sa korenskim eksudatima biljaka za potrebe ogleada sa piljenjem L2 KCN vršeno je na dva načina, oba preporučena od EPPO (Anon., 2013b), uz modifikacije. U svim ogledima prikupljane su korenske lučevine 4-6 nedelja starih test biljaka, koje su gajene u zemljištu, pesku ili Floragard supstratu.

Metoda 1: Test biljke gajene u saksijama zapremine 2 L u supstratu sačinjenom od peska, zemljišta i visokohumusnog Floragard supstrata u jednakim odnosima. Saksije sa biljkama postavljene su na staklene levke sa filter papirom i polako zalivane do popunjavanja vodnog kapaciteta zemljišta. Po otpočinjanju oticanja vode sa dna saksije biljke su polako zalivane sa dodatnih 300 ml vode i ta kroz supstat procedena tečnost sakupljena. Sakupljena tečnost je ponovo sipana u saksije još dva puta. Posle trećeg puta, ocedena

tečnost je profiltrirana kroz filter papir, sipana u plastične boce od 250 ml i čuvana u frižideru na 5 °C, do korišćenja.

Metoda 2: Biljke gajene u saksijama zapremine 1 L u Floragard supstratu. Pod mlazom vode koren biljaka oslobođen od supstrata i potom koren biljaka, pojedinačno, potopljeni u plastične čaše sa 250 ml vode iz česme i ostavljene do sledećeg dana. Posle 20-24 sata biljke izvađene iz vode i eksudat proceden kroz filter papir i čuvan u frižideru na 5 °C. Pre korišćenja filtrati sa korenskim lučevinama dodatno filtrirani kroz bakteriološke filtere (28 mm/100 ml High Flow Syringe Filter 0,2 µm, Sartorius).



Slika 8. Prikupljanje test tečnosti za eksperimente sa piljenjem L2 KCN (A- gajenje biljaka, B- prikupljanje test tečnosti po metodi 1, C- spiranje supstarata sa korena, D- potapanje korena u čaše sa vodom po metodi 2, E- prvo grubo filtriranje, F- šric i špic-bakterijski filter za fino filtriranje).

Organizacija oglada. Ogladi sa piljenjem L2 KCN sprovedeni su u plastičnim epruvetama zapremine 5 ml u koje su stavljane najlonske kesice sa cistama koje su prelivane sa 2-3 ml test tečnosti, tako da omoguće potpuno potapanje cista i konstantan dodir sa tečnošću. Nedeljnom dinamikom, test tečnost je uz prethodno vađenje kesica i intenzivno mućkanje sadržaja, sipana u posudu za brojanje nematoda i ispiljeni L2 prebrojavani pod uvećanjem

disekcionog mikroskopa od 25x. Posle svakog brojanja kesice vraćane u epruvete i test tečnost zamenjena svežom.

Pored ispitivanih vrsta/sorti biljaka, kao kontrolni tretmani korišćeni su eksudati osetljive sorte krompira *désirée* (Anon., 2013b), rastvor veštačkog hemijskog stimulatora piljenja Na-metavanadata u koncentraciji 0,6 mM (Clarke i Perry, 1977) i voda.

Test 1 - Sorte paradajza, plavog patlidžana i kadifice

Ispitivane biljke. U ovom ogledu ispitivan je uticaj korenskih eksudata gajenih biljaka, kadifice, *Tagetes patula* sorte *single gold* i domaćeg sortimenta osetljivih biljaka, sorti paradajza, jabučar (NS seme) i čeri jasmin crveni (IP Smederevska Palanka), i sorte plavog patlidžana domaći dugi (NS seme). Eksperiment je urađen sa po 8 ponavljanja sa svakom od pomenutih test tečnosti, a eksudati prikupljeni po metodi 2, opisanoj prethodno. Eksperiment je trajao 6 meseci, postavljen 14. 6. 2012. sa poslednjim očitavanjem rezultata piljenja 8. 12. 2012.

Inokulum. Za ogled korišćene ciste *G. rostochiensis* i *G. pallida* gajene u kofama tokom 2011. KCN su razmnožavane u zemljištu koje je bilo mešavina neinfesiranog zemljišta i prirodno infestiranog zemljišta sa KCN, koje je činilo otprilike 1/5 ukupnog. Ciste su ekstrahovane u proleće 2012. Po izdvajanju ostavljene u frižideru na 5 °C do 10 dana pred početak ogleda. Korišćeno 50 cista po ponavljanju.

Slučajnim izborom tokom punjenja kesica odvojeno stotinak cista i jedne i druge vrste KCN za određivanje početne vitalnosti inokuluma disekcijom 50 cista i prebrojavanjem vitalnog sadržaja (poglavlje 3.2.3.).

Test 2 - *Physalis alkekengi* i *Solanum nigrum*

Ispitivane biljke. Za ispitivanje uticaja korenskih eksudata na piljenje L2 KCN korišćena je jedna populacija *P. alkekengi* i 8 populacija *S. nigrum*. Semena ispitivanih biljaka sakupljena su tokom 2008. Zbog loše klijavosti, prvo naklijavana nedelju dana na vlažnom

filter papiru i naklijala semena sađena u blokove za rasad, pa posle dve nedelje mlade biljke pikirane u plastične čase zapremine 200 ml. Naklijala semena *Physalis alkekengi* i 4 populacije *S. nigrum* (Beograd-Taš, Ostružnica, Zemun i Fruška Gora) posejana su 15. februara a ostale četiri populacije *S. nigrum* (Pančevo, Laboratorijska populacija, Crvena Crkva i Lukićevo) zbog lošije klijavosti posle 10 dana, 25. februara 2013. Iz krtola krompira osetljive sorte *désirée* isecano je po jedno okce sa 1 cm okolnog tkiva u širinu i u dubinu krtole, isecci su dezinfikovani u 2% rastvoru natrijum hipohlorita i ostavljeni na sobnoj temperaturi da se osuše i formira sloj kalusa. Isecci sa okcima posađeni u čaše zapremine 200 ml 25. februara 2013. Ogled sa piljenjem L2 KCN postavljen je 10 aprila. Prikupljanje eksudata vršeno je od pet biljaka svake vrste/populacije metodom 2, i prikupljeni eksudati po filtriranju sjedinjeni.

Inokulum. Za ogled korišćene ciste *G. rostochiensis* i *G. pallida* gajene dobijene su tokom 2012. Zemljište sa cistama korišćenim u kofama za umnožavanje inokuluma za ogled bilo je prostorno odvojeno tako da su krajem vegetacije ekstrahovane i za ogled korišćene samo ciste dobijene tokom 2012. godine. Ciste ekstrahovane oktobra-novembra 2012. Po izdvajanju ostavljene u frižideru na 5 °C do 10 dana pred početak ogleda.

Slučajnim izborom tokom punjenja kesica odvojeno stotinak cista i jedne i druge vrste KCN za određivanje početne vitalnosti inokuluma disekcijom 50 cista i prebrojavanjem vitalnog sadržaja. Po deset slučajno odabranih cista prebačeno u najlonske kesice. Po jedna kesica prebačena u plastičnu epruvetu zapremine 5 ml. U epruvete naliveno 3ml eksudata i epruvete dalje čuvane u mraku na sobnoj temperaturi (20-25 °C).

Ogled je izvršen u 10 ponavljanja sa *P. alkekengi* i kontrolnim tretmanima sa svakom od vrsta KCN. Sa *G. rostochiensis* i svim *S. nigrum* populacijama u 8 ponavljanja. Sa *G. pallida* i eksudatima Taš i Ostružnica ogled izvršen u 8 ponavljanja i svim ostalim *S. nigrum* populacijama i *G. pallida* u po 4 ponavljanja, zbog manjka kvalitetnog inokuluma cista *G. pallida*.

Test 3 - krompir, otporna sorta *crisps4all*

Ispitivane biljke. Biljke krompira sorti *désirée* i *crisps4all* gajene su u zemljištu u saksijama od 2l i test tečnosti 6 nedelja starih biljaka prikupljani po metodi 1.

Inokulum. Za ogled korišćene ciste *G. rostochiensis* i *G. pallida* dobijene su tokom 2013. Zemljište sa cistama korišćenim u kofama za umnožavanje inokuluma za ogled bilo je prostorno odvojeno tako da su krajem vegetacije ekstrahovane i za ogled korišćene samo ciste dobijene tokom 2013. godine. Ciste su iz zemljišta izdvojene krajem aprila 2014. Po izdvajanju ostavljene u frižideru na 5 °C do 10 dana pred početak ogleda. Izdvojene ciste su prosejane kroz sita od 550 µm a potom kroz sita od 300 µm i za ogled korišćene samo one prečnika između navedenih vrednosti. Eksperiment je postavljen u 10 ponavljanja sa 10 cista po ponavljanju početkom juna 2014. Vitalnost cista obe vrste KCN utvrđena je disekcijom 100 cista iz kesica koje su bile izložene test tečnosti sorte *désirée* po završetku ogleda, i za utvrđivanje početne vitalnosti populacija, vrednostima dobijene vitalnosti disekcijom, dodata je prosečna vrednost ukupno ispiljenih L2 tokom trajanja ogleda.

3.5.2 Ispitivanje uticaja *Tagetes patula* na populaciju *G. rostochiensis* u mikroplot ogledu

Ogled je postavljen na parceli Lubenac na Ponikvama u proleće 2011. godine, u neposrednoj blizini eksperimentalnih blokova na kojima je ispitivan uticaj različite gustine sadnje tokom 2010. Mikroplot ogled postavljen je u eksperimentalnim blokovima površine 1 m² (1 x 1 m) po slučajnom planu u osam ponavljanja sa 9 biljaka *Tagetes patula* po bloku i osam kontrolnih blokova bez biljaka. Biljke su nekoliko nedelja odgajene u saksijama zapremine 0,5 L u stakleniku i potom presađene u zemljište u polju. Uzorkovano je na početku i kraju vegetacije. Uzorci zemljišta uzimani su ubodnom sondom sa 80 uboda (poduzoraka) po eksperimentalnom bloku pri čemu je prikupljeno oko 1,5 kg zemljišta. Ono je izmešano i oko 200 g zemljišta je odneseno u laboratoriju radi dalje analize. Ciste su

izdvajane uobičajnim metodama opisanim prethodno. Vitalnost cista vršena je iz 50 slučajno odabranih cista po svakom bloku.

3.5.3 Biotestovi ispitivanja otpornosti nekih biljaka prema KCN

Uz postavljanje ogleda za ispitivanje potencijala biljaka da izazovu piljenje L2 KCN, sa istim biljkama i inokulumom, paralelno su postavljeni ogledi za ispitivanje njihove otpornosti odnosno da se ispita status istih kao domaćina KCN. Za osetljivi domaći sortiment paradajza i plavog patlidžana, za koje je poznato da su osetljive na KCN, nisu rađeni ogledi ispitivanja otpornosti a sa *Tagetes patula* ispitivanje otpornosti i uticaja na *G. rostochiensis* ispitano je u mikroplot ogledu u polju opisanom u prethodnom poglavlju.

3.5.3.1 Ispitivanje statusa *Solanum nigrum* i *Physalis alkekengi* kao domaćina KCN u laboratorijskim uslovima

Biljke su odgajene u plastičnim čašama zapremine 200 ml kao što je opisano u poglavlju 3.5.1. Po jedna kesica sa 10 slučajno odabranih cista stavljeno u svaku čašu na 3-4 cm dubine. Inokulisano po deset biljaka *Physalis alkekengi*. i deset biljaka krompira sorte *désirée* sa svakom vrstom KCN. (10 april) Svih osam populacija *S. nigrum* inokulisane su sa *G. rostochiensis* u 10 ponavljanja dok su sa *G. pallida* inokulisane samo dve populacije Taš i Ostružnica.

Biljke su gajene dalje u fitotronu u uslovima dugog dana od 12 h, 65% relativnoj vlažnosti vazduha i temperaturi od 26 °C.

3.5.3.2 Ispitivanje otpornosti sorte krompira *crisps4all* u laboratorijskim uslovima

Prvi ogled ispitivanja otpornosti sorte krompira *crisps4all* prema KCN bio je uključen u ogled određivanja patotipova populacija KCN (poglavlje 3.3.2). Da bi se proverila virulentnost populacije *G. pallida* prema sorti krompira *crisps4all*, koja se u prvom ogledu pokazala visoko otpornom prema obe populacije obe vrste KCN prisutnih u Srbiji (Grujić *et al.*, 2014), ispitivanje otpornosti sorte *crisps4all* prema *G. pallida* ponovljeno je još jednom u nezavisnom eksperimentu u proleće 2015. godine.

Ogled je sproveden u zatvorenim kontejnerima, kao što je opisano u poglavlju 3.3.2. Određivanje patotipova KCN. Kao inokulum korišćene su ciste *G. pallida* koje su korišćene kao inokulum 2014. godine i za *in vitro* testove piljenja L2 pri ispitivanju test tečnosti sorte *crisps4all*. Inokulum je činilo 50 cista i ogled je sproveden u 7 ponavljanja sa sortom *crisps4all* i sortom *désirée* kao pozitivnom kontrolom.

Po završetku ogleda dobijena nova generacija cista u ponavljanjima sa sortom *crisps4all* je disekovana i utvrđivan je broj L2 u njima kao što je opisano u poglavlju 3.2.3. Pored izračunavanja Pf/Pi vrednosti i relativne osetljivosti na osnovu broja cista, da bi se dobile preciznije vrednosti promene vitalnosti populacije, Pf/Pi i RO vrednosti su izračunavane i na osnovu ukupog broja L2 u inokulumu i novonastaloj generaciji (Anon., 2006).

3.6 Praćenje višegodišnje dinamike populacije metodom transekta u kontrolnim punktovima

Praćenje višegodišnje populacione dinamike vršeno je na parcelama Lubenac na Ponikvama infestiranoj sa *G. rostochiensis* i parceli KP. 6 na planini Javor infestiranoj sa *G. pallida*. Ove parcele, od detekcije KCN 2005. godine, bile su uključene u program monitoringa finansiranog od Uprave za zaštitu bilja Ministarstva poljoprivrede i zaštite životne sredine Republike Srbije.

Pravolinijski transekti su postavljeni na prethodno identifikovanim najzaraženijim delovima. Da bi se obezbedilo uzorkovanje sa približno istih mesta tokom više godina, obeležen je pravolinijski transekt dužine 50 m označen sa tri GPS tačke i plastičnim cevima ubodenim u zemljište između kojih je razvlačen konopac pri svakom uzorkovanju. Tačke uzorkovanja raspoređene su uz transekt na rastojanju od 1 m. Sa svakih 5 m transekta prikupljan je poduzorak od oko 100 g zemljišta sačinjen od pet uboda sondom na svaki m iz 5-20 cm zemljišnog profila. Kod tako prikupljenih 10 poduzoraka pojedinačno je određena brojnost cista. Vitalnost cista utvrđivana je iz združenog uzorka za svaku godinu uzorkovanja, od 50 slučajno odabranih cista metodom opisanoj u poglavlju 3.2.3. Na parceli Lubenac uzorkovano je od 2008. do 2014. godine a na parceli KP6 od 2006. do 2014.

Plodosmena na ispitivanim parcelama za period 2000-2015. data je u tabeli 1. Linija transekta je na parceli Lubenac tokom 2009. godine delimično presecala ogled u kojem je otporna sorta krompira *agria* gajena na rastojanju od 1 m, a tokom 2010. ogled ispitivanja uticaja gustine sadnje otpornog krompira koji je opisan u poglavlju 3.7. Treba napomenuti i da po konstatovanju prisustva *G. pallida* na parceli KP6 na lokalitetu Ograđenik fitosanitarnim odlukama se parcela stavlja u karantinski režim tako da nije bilo vađenja krompira osetljive sorte *kennebek* u jesen 2005. godine.

3.7 Mikroplot ogled optimizacije sklopa otpornog krompira sorte *agria* kao biljaka klopki za suzbijanje *G. rostochiensis*, patotip Ro1

Ogled za ispitivanje optimalne gustine sadnje biljaka klopki sproveden je u sezoni 2010. godine na parceli Lubenac na Ponikvama. Ogled je sproveden na delu parcele na kome je prethodno identifikovana najveća gustina populacije (oko 2 ciste/g zemljišta). Mikroplot ogled je sproveden u eksperimentalnim parcelicama od 1 m² (1 x 1 m) sa po 6 ponavljanja u svakom tretmanu. Sprovedeno je tri tretmana sa rastojanjem između biljaka od 1 m (4 biljke/1 m²), 0,5 m (9 biljaka/1 m²) i 0,25 m (25 biljaka /1 m²), počevši sa sadnjom krtola krompira od uglova kvadrata. Odabrane gustine sadnje predstavljaju manje,

jednake odnosno veće gustine sadnje od one u komercijalnim usevima krompira (oko 9 biljaka/1 m², sa sadnjom biljaka 0,23 m u redu i 0,92 m između redova)

Uzorci su prikupljeni 24. maja i 21. oktobra 2010. tako što je iz svake parcelice prikupljan uzorak od 1,5-2 kg zemljišta koga je činilo 80 uboda sondom iz 5-15 cm dubine zemljišnog profila. Zbirni uzorak je izmešan i za svaku parcelicu poduzorak od oko 200 g zemljišta odnešen u laboratoriju na dalju analizu. Vitalnost cista ispitivana je za po 50 slučajno odabranih cista po svakoj parcelici metodom opisanom u poglavlju 3.2.3.

Mehaničko uklanjanje samoniklih biljaka krompira sa korenom vršeno je u regularnim intervalima tokom sezone.

3.8 Poljski ogled suzbijanja *Globodera rostochiensis*, patotip Ro1

Ogledna parcela Ispod Siminog spomenika veličine 1.5 ha, koja je deo veće katastarske parcele, prirodno je infestirana sa KCN. Istorija polja na ovoj parceli uključivala je osetljivi krompir sorte *désirée* 2001. godine a zatim bila zaparložena tokom naredne dve godine. Potom je gajena tritikale i 2005. godine opet osetljiva sorta krompira *désirée* (Tabela 1). KCN su detektovane u polju u jesen 2005., proizvodnja je fitosanitarnim odlukama zabranjena i parcela je zaparložena do 2010. godine.

Ogledna parcela je podeljena u tri potparcele, 25 m široke i 200 m duge označene u daljem tekstu kao S1, S2 i S3. Uzorkovalo se ubodom sondom prečnika 25 mm iz dubine zemljišnog profila od 5 do 20 cm. U 2006. godini prikupljen je jedan uzorak od oko 1.5 kg zemljišta sačinjen od oko 100 uboda sondom, idući u cik-cak prohodu preko cele parcele. U i posle 2010. godine uzorkovano je sakupljanjem po 8 uzoraka sa svake od navedenih potparcela. Svaka potparcela podeljena je na 4 pravougaonika (25 x 50 m) i jedan uzorak je prikupljen ubadanjem sonde svakih 30-40 cm idući od temena pravougaonika ka polovini normalne stranice a drugi od polovine stranice ka naspramnom temenu. Tako je prikupljeno osam uzoraka iz svakog dela parcele. Potparcele i putanje uzorkovanja su obeležene GPS a temena pravougaonika i štapovima ubodenim u zemljište. Svaki uzorak je sačinjavalo oko 80 uboda sondom pri čemu je prikupljeno oko 1.5-2 kg zemlje. Svaki uzorak je zatim dobro usitnjen i izmešan u kofi i 150-200 g zemljišta je odneseno u laboratoriju za dalje analize.

Uzorci zemljišta su sušeni na sobnoj temperaturi i ciste izdvajane metodama prikazanim u poglavlju 3.2.3 Uzorkovano je pre sadnje i posle vađenja krtola krompira.

Na delu parcele S2 otporna sorta krompira *agria* je konvencionalno gajena 2010. godine. Krompir je posađen prilično kasno, 9. juna 2010. zbog učestalih i obilnih padavina u prethodnom periodu. Krompir je povaden 6. novembra 2010.godine. U sezoni 2011. *agria* je gajena tako što je 1 t krtola bez tržišne vrednosti (krtole oštećene prilikom vađenja ili manje od 28 mm u prečniku), razbacana po površini prethodno uzoranog zemljišta i plitko zaorana. U 2011. godini, nije bilo žetve krompira u cilju produženja perioda piljenja KCN, usled prisustva samoniklih krompira sorte *agria*.

Na delu parcele S1 krompir je posađen 22. maja 2011. i povaden krajem oktobra 2011. godine. Potparcela S3 je ostala u stanju parloga do 2014. godine.

3.9 Statistička analiza

Eksperimentalni podaci obrađivani su statistički metodom Analize varijanse (ANOVA).

U in vitro testovima provokacije piljenja larvi KCN, efekat različitih test tečnosti na na piljenje L2 KCN testirane su jednofaktorskom ANOVA kojom su poredene vrednosti ukupno ispiljenih L2 u različitim test tečnostima na nivou značajnosti $\alpha=0,99$.

U mikroplot ogledu ispitivanja uticaja kadifice, efekat *Tagetes patula* poreden je sa efektom parloga na KCN pomoću jednofaktorske ANOVA koja je primenjena na Pf/Pi vrednosti L2/g zemljišta.

U mikroplot ogledu optimizacije sklopa otpornog krompira sorte *agria* kao biljaka klopki za suzbijanje *G. rostochiensis*, patotip Ro1, efekat gustine sadnje biljaka krompira sorte *agria* testiran je jednofaktorskom ANOVA koja je primenjena na Pf/Pi vrednosti cista/g zemljišta, L2/cisti i L2/g zemljišta. ANOVA je korišćena i za poređenje Pi i Pf vrednosti (apsolutnih i relativnih) svake od kategorija vitalnosti izraženih kao broj cista i broj L2 po kategoriji vitalnosti.

U poljskom ogledu suzbijanja *G. rostochiensis*, patotip Ro1 otpornom sortom *agria* jednofaktorska ANOVA primenjena je na Pf/Pi vrednosti L2/g zemljišta da bi se ispitali

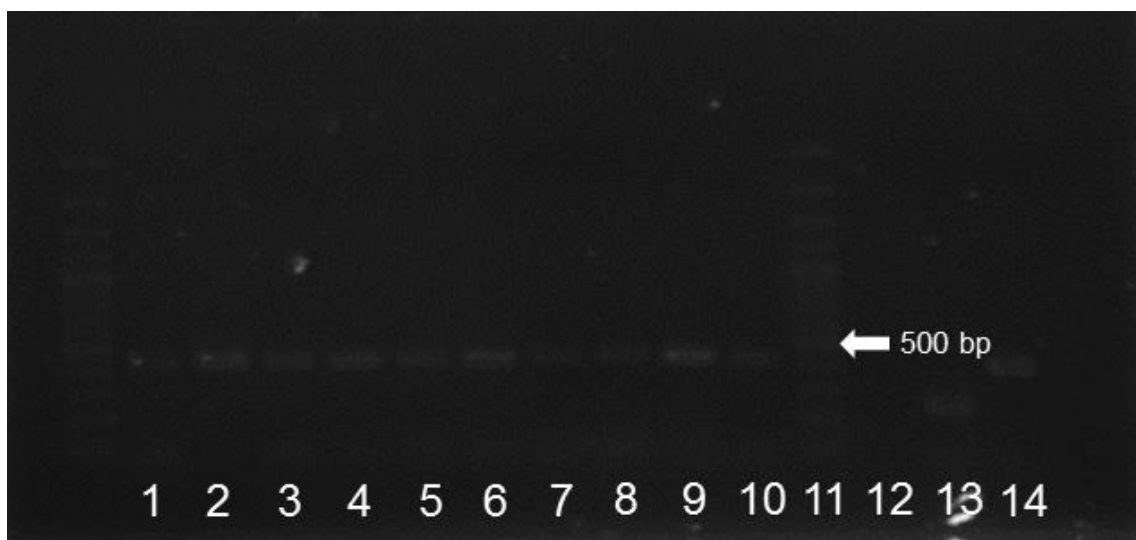
efekti različitih režima gajenja krompira otporne sorte *agria* i ugarenja. Poređeni su efekti konvencionalnog gajenja sorte *agria* tokom jedne godine u različitim godinama na S2 (2010.) i S1 (2011.); dve godine na S2 (konvencionalno i nekonvencionalno gajenje sorte *agria*) sa dve godine na S1 (konvencionalno gajenje sorte *agria* i ugar u narednoj godini) i dve godine ugara na S3; različiti režimi suzbijanja KCN na S1, S2 i S3 su poređeni i za sve godine praćenja (Pf₂₀₁₄/Pi).

4 REZULTATI

4.1 Određivanje vrsta i patotipova KCN

4.1.1 Određivanje vrsta

Molekularna identifikacija potvrdila je pređašnju morfološku identifikaciju, baziranu na morfometriji vulvalno-analnog regiona cista, populacije sa parcele Ispod Siminog spomenika sa lokaliteta Ponikve. Multipleks PCR testom sa specijski specifičnim prajmerima utvrđeno je da su sve ispitivane ciste ove populacije ciste *G. rostochiensis* koju karakteriše fragment DNK dužine 434bp (Slika 9).

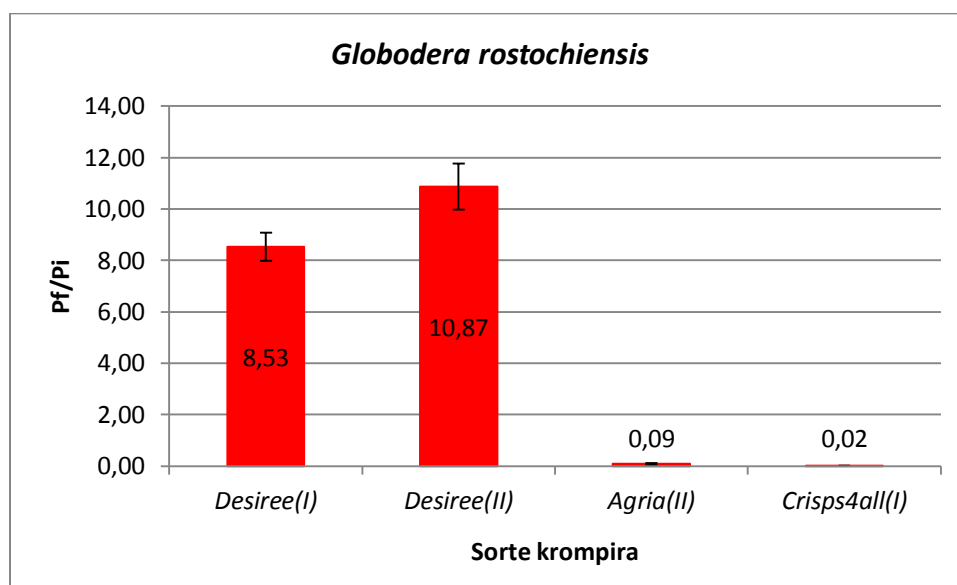


Slika 9. Agarozni gel sa amplifikovanim fragmentima DNK karakteristične dužine od 265 baznih parova (bp) za *Globodera pallida* i 434 bp za *G. rostochiensis* po Bulman i Marshal (1997) (1-10: uzorci sa parcele Ispod Siminog spomenika; 11- 100-1000bp DNK marker; 12- negativna kontrola bez DNK; 13: pozitivna kontrola *G. pallida* i 14- pozitivna kontrola *G. rostochiensis*).

4.1.2 Određivanje patotipa ispitivanih KCN

Globodera rostochiensis

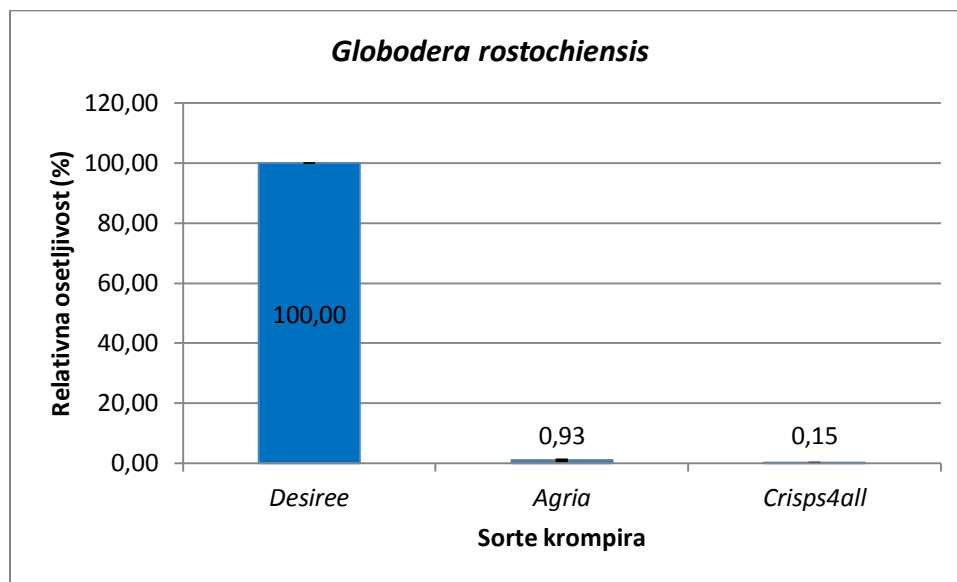
Reproduktivni indeks žute KCN na ispitivanim sortama krompira prikazan je na slici 10. U dva nezavisna ogleda populacija *G. rostochiensis* uvećala se na osetljivoj sorti krompira *désirée* u proseku za oko devet puta. Uvećanje broja cista na obe rezistentne sorte krompira, *agria* i *crisps4all* bilo je neznatno, i u svim ponavljanjima sa Pf/Pi odnosom ispod jedan, sa maksimalnim brojem novoformiranih cista od 11 u samo jednom ponavljanju sa sortom *agria* i maksimumom od tri ciste u nekoliko ponavljanja sa sortom *crisps4all*.



Slika 10. Reprodukivni indeks (Pf/Pi), odnos krajnje i početne brojnosti populacije *Globodera rostochiensis* u dva ogleda I i II na ispitivanim sortama krompira.

Indeks relativne osetljivosti ispitivanog sortimenta krompira prema populaciji žute KCN sa Ponikava pokazao je slične rezultate (Slika 11) Dobijeni indeksi relativne osetljivosti iznosili su 0,93% za sortu *agria* i 0,15% za sortu *crisps4all*, tj. obe sorte krompira imaju najviši stepen otpornosti izražen kroz skor 9. Sorta *crisps4all* je vrlo visoko otporna na prvi patotip Ro1 (skor 9) i visoko do vrlo visoko na patotip Ro2/3 (skor 8) a

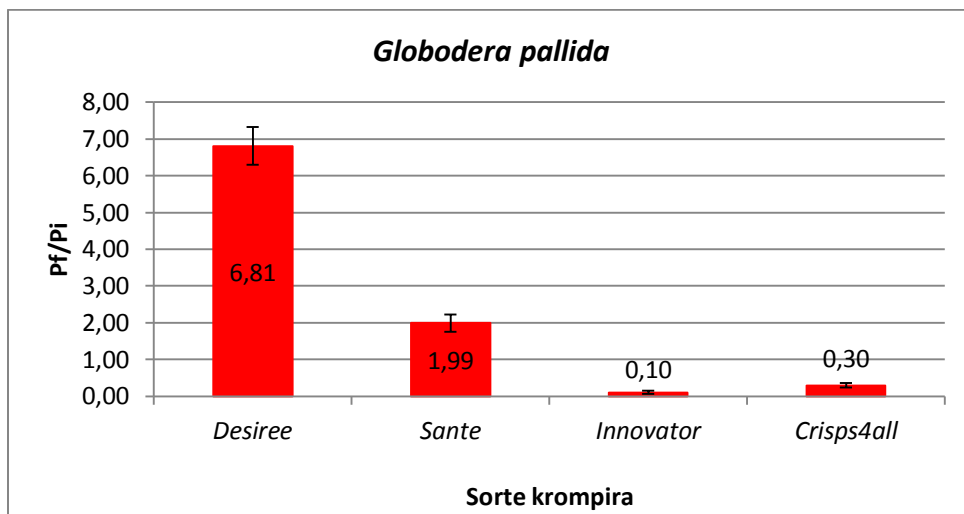
sorta *agria*, vrlo visoko otporna samo na patotip Ro1. Nijedna od sorti krompira ne poseduje otpornost prema patotipu Ro5 (Tabela 2). Na osnovu dobijenih indeksa relativne osetljivosti na diferencijalnim sortama pokazano je da se populacija *G. rostochiensis* po virulentosti može svrstati u prvi patotip ove vrste.



Slika 11. Relativna osetljivost ($Pf_{\text{ispitivane sorte}}/Pf_{\text{desirée}} \times 100\%$) ispitivanih diferencijalnih sorti krompira u odnosu na sortu *désirée* prema ispitivanoj populaciji *Globodera rostochiensis*.

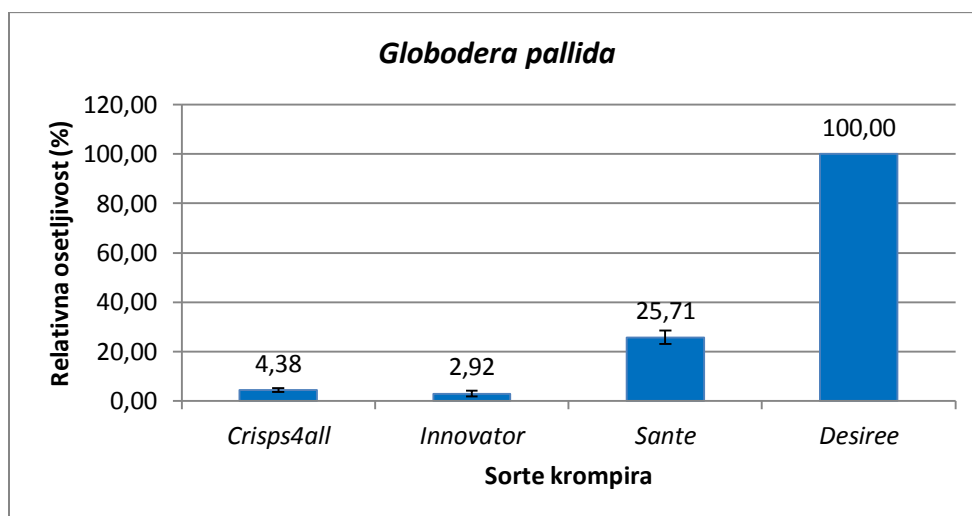
Globodera pallida

Reproduktivni indeks srpske populacije bele KCN na ispitivanim sortama krompira prikazan je na slici 12. Populacija *G. pallida* uvećala se na osetljivoj sorti *désirée* u proseku za oko sedam puta. Uvećanje broja cista na parcijalno rezistentnim sortama krompira se razlikovalo. Najveće uvećanje broja cista od skoro dva puta je registrovano na sorti krompira *sante*. Sorta *crisps4all* bila je znatno lošiji domaćin našoj populaciji bele KCN sa neznatim formiranjem cista, i prosečnim Pf/Pi odnosom od 0,30. Sorta krompira *innovator* pokazala se najotpornijom prema *G. pallida* sa dobijenim Pf/Pi odnosom od 0,10.



Slika 12. Reprodukivni indeks (Pf/Pi), odnos krajnje i početne brojnosti populacije *Globodera pallida* sa lokaliteta Ograđenik na ispitivanim sortama krompira

Slični rezultati u pogledu virulentnosti naše populacije bele KCN prema ispitivanim sortama krompira dobijeni su i poređenjem indeksa relativne osetljivosti diferencijalnog sortimenta (Slika13). Najveću virulentnost KCN su ispoljile na sorti *sante* dostižući oko 25% (skor 4) uvećanja broja cista od onog kakvo je na potpuno osetljivoj sorti *désirée*. Relativna osetljivost *crisps4all* prema populaciji bele KCN bila je 4,4% (skor 7) a sorte *innovator* najmanja, malo ispod 3% (skor 8).



Slika 13. Relativna osetljivost ($Pf_{\text{ispitivane sorte}}/Pf_{\text{désirée}} \times 100\%$) odabranih diferencijalnih sorti krompira u odnosu na sortu *désirée* prema ispitivanoj populaciji *Globodera pallida* sa lokaliteta Ograđenik.

4.2 Poboljšana metoda procene vitalnosti cista disekcijom

Individualnim disekovanjem cista omogućeno je da se za svaku cistu utvrdi brojčana vrednost nevitalnog sadržaja, vitalnog sadržaja i ukupan broj vitalnih i nevitalnih jaja/L2 kao zbir prethodne dve vrednosti. Određivanjem apsolutne brojčane vrednosti ukupnog sadržaja omogućeno je određivanje relativne zastupljenosti vitalnog sadržaja svake ciste, tj. njena procentualna vitalnost. To je dalje omogućilo da svaka cista, radi lakše interpretacije rezultata istraživanja, bude klasifikovana u jednu od 6 arbitrarnih kategorija (kategorija I - nevitalne ciste sa 0% vitalnog sadržaja, II- vrlo slabo vitalne ciste sa 0-10% vitalnog sadržaja, III- slabo vitalne ciste sa 10-35% vitalnog sadržaja, IV- srednje vitalne ciste sa 35-70% vitalnog sadržaja, V- visoko vitalne ciste sa 70-95% vitalnog sadržaja i VI – vrlo visoko vitalne ciste sa 95-100% vitalnog sadržaja).

Tabela 3. Automatski generisani sumarni podaci vitalnosti 50 individualno disekovanih cista u uzorcima pre (Pi) i posle vegetacije (Pf) u istom 1 m² bloku u ogledu ispitivanja optimalne gustine sadnje sorte *agria*

Kategorija vitalnosti	Relativna vitalnost kategorije	0,25m 3 Pi				0,25m 3 Pf			
		Cista po kategoriji	Vitalnih larvi po kategoriji	Cista po kategoriji (%)	Vitalnih larvi po kategoriji (%)	Cista po kategoriji	Vitalnih larvi po kategoriji	Cista po kategoriji (%)	Vitalnih larvi po kategoriji (%)
I	0%	19	0	38,00%	0,00%	27	0	54,00%	0,00%
II	0 - 10%	1	8	2,00%	0,28%	15	175	30,00%	11,57%
III	10 - 35%	9	300	18,00%	10,48%	2	88	4,00%	5,82%
IV	35 - 70%	8	731	16,00%	25,53%	2	147	4,00%	9,72%
V	70 - 95%	13	1824	26,00%	63,71%	3	619	6,00%	40,94%
VI	95 - 100%	0	0	0,00%	0,00%	1	483	2,00%	31,94%
Ukupno		50	2863	100%	100%	50	1512	100%	100%

Sumirani podaci za 50 cista koliko je u svim eksperimentima disekovano po uzorku, dati su kao primer za dva uzorka (Pi i Pf vrednosti za isto ponavljanje) iz ogleda sa

optimizacijom gustine sadnje (poglavlje 3.6.) u tabelama 3 i 4. Prikazani podaci daju uvid u ne samo Pi i Pf vrednosti vitalnog sadržaja cista već i apsolutne i relativne vrednosti: zastupljenost cista po kategorijama, zastupljenost vitalnog i nevitalnog sadržaja svake od kategorija i njihovo smanjenje ili porast u okviru kategorije vitalnosti tokom vremena, što daje uvid u masovnost piljenja iz cista različitih kategorija.

U tabeli 4 su prikazane prosečne vrednosti vitalnog i nevitalnog sadržaja 50 disekovanih cista izraženih u apsolutnim vrednostima i procentualno. Ukoliko uporedimo prosečne apsolutne i relativne Pi i Pf vrednosti, tj. promenu gustine vitalnog dela populacije tokom sezone, videćemo da se vitalnost populacije izražena procentualno smanjila više od tri puta, dok je smanjenje vitalnosti populacije izraženo apsolutnim brojem vitalnih larvi po cisti smanjena za manje od pola. Razlog za to leži u velikim razlikama u ukupnom broju jaja/L2 (vitalnih i nevitalnih) u uzorkcima sa početka i kraja ogleda.

Tabela 4. Automatski generisani sumarni podaci vitalnosti, izbrojanih i modifikovanih vrednosti 50 individualno disekovanih cista u jednom uzorku pre (Pi) i posle vegetacije (Pf) u istom ponavljanju u ogledu ispitivanja optimalne gustine sadnje krompira sorte *agria* (isti uzorci kao u tabeli 3)

		Ukupan sadržaj	Neispiljene vitalne larve	Ispiljene vitalne larve	Nevitalan sadržaj	Vitalan sadržaj	Relativna vitalnost
0,25m 3 Pi	Modifikovana vrednost	200	60,4	11,1	87,7	71,5	34,62%
	Prave izbrojane vrednosti	160,19	48,34	8,92	70,20	57,26	34,62%
0,25m 3 Pf	Modifikovana vrednost	200	21,6	2,4	178,4	24,0	10,82%
	Prave izbrojane vrednosti	251,48	27,18	3,06	224,30	30,24	10,82%

Na primeru iz tabele 4 se može objasniti postupak korigovanja populacionih parametra vitalnosti. Korekcionni faktor je izračunat kao količnik broja 200 i izbrojanog ukupnog broja jaja po prosečnoj cisti u uzorku. Zatim su izbrojane vrednosti punih i praznih jaja pomnožene korekcionim faktorom i tako dobijene korigovane vrednosti prikazane u tabeli. U datom primeru korigovane Pi i Pf vrednosti iznose 71,5 i 24,0. Pad

populacije dobijen korigovanim vrednostima je skoro tri puta, što je u saglasju sa padom brojnosti populacije izračunatim na osnovu relativnih vrednosti prosečne vitalnosti cista.

Tabela 5. Radne i korigovane prosečne vrednosti vitalnog sadržaja u uzorku za Pi i Pf, i Pf/Pi i njihova razlika u mikroplot ogledu sa ispitivanjem gustina sadnje biljaka krompira otporne sorte *agria* gajenih na distanci od 0,5 i 0,25 m.

Ponavljanja	Radne brojane vrednosti			Korigovane vrednosti na ukupno 200 jaja/cisti			Razlika između brojanih i korigovanih Pf/Pi vrednosti
	L2 / cisti			L2 / cisti			
	Pi	Pf	Pf/Pi	Pi	Pf	Pf/Pi	
0,5m / 1	100,50	36,10	0,36	81,00	27,30	0,34	0,02
0,5m / 2	108,20	21,00	0,19	72,80	15,10	0,21	-0,01
0,5m / 3	72,50	27,80	0,38	66,60	27,50	0,41	-0,03
0,5m / 4	30,60	6,40	0,21	30,50	14,10	0,46	-0,25
0,5m / 5	45,70	8,70	0,19	37,70	7,40	0,20	-0,01
0,5m / 6	48,90	17,50	0,36	51,20	14,50	0,28	0,07
\bar{x}	67,73	19,58	0,28	56,63	17,65	0,32	-0,03
S	31,47	11,30	0,09	20,13	8,05	0,11	-0,01
CV (n=6)	46,46	57,71	32,14	35,54	45,73	34,37	
0,25m / 1	24,20	13,40	0,55	30,20	10,70	0,35	0,20
0,25m / 2	38,90	20,20	0,52	39,80	16,10	0,40	0,11
0,25m / 3	57,30	30,20	0,53	71,50	24,00	0,34	0,19
0,25m / 4	58,20	6,00	0,10	67,60	5,40	0,08	0,02
0,25m / 5	79,40	16,70	0,21	74,10	14,80	0,20	0,01
0,25m / 6	58,30	18,80	0,32	53,00	21,30	0,40	-0,08
\bar{x}	52,72	17,55	0,37	56,03	15,38	0,30	0,08
S	18,96	8,00	0,19	18,11	6,81	0,13	0,06
CV (n=6)	35,96	45,58	51,35	32,32	44,27	43,33	
CV (n=12)	43,15%	50,61%	45,81%	32,41%	43,63%	37,31%	8,7%

U tabeli 5 su prezentovane radne i korigovane prosečne vrednosti vitalnog sadržaja po cisti za Pi i Pf, i smanjenje populacije izraženo kroz odnos Pf/Pi iz mikroplot eksperimenta sa različitim gustinama sadnje krompira sorte *agria*. U tabeli 5 su izdvojeni

samo rezultati koji se tiču dve gustine sadnje biljaka zbog lakše interpretacije i isticanja nekih nelogičnosti u rezultatima koji se ovim putem mogu objasniti i otkloniti. Naime, iz tabele 5 se može videti da je pad populacije sa gušćim sklopom biljaka (0,25 m rastojanje između biljaka) od 63% manji od onog gde su biljke krompira gajene na rastojanju od 0,5 m koji iznosi 78%. Posle transformacije podataka, na način objašnjen prethodno i računanjem pada populacije korigovanim podacima, dobijaju se logičnije vrednosti. Pad gustine populacije KCN u gušćem sklopu sada iznosi 70% za razliku od 68% sa biljkama gajenim na rastojanju od 0,5 m. Razlika u Pf/Pi količniku između radnih i korigovanih podataka prelazila je 19% u čak tri od 12 ponavljanja sa maksimalnom razlikom od 25%.

Nije bilo statistički značajne razlike kada je ANOVA primenjena na radne i korigovane vrednosti P_i , P_f i P_f/P_i , međutim, koeficijent varijacije je smanjen kod korigovanih podataka, u proseku za oko 9%.

4.3 Populaciona dinamika KCN u uslovima zapadne Srbije

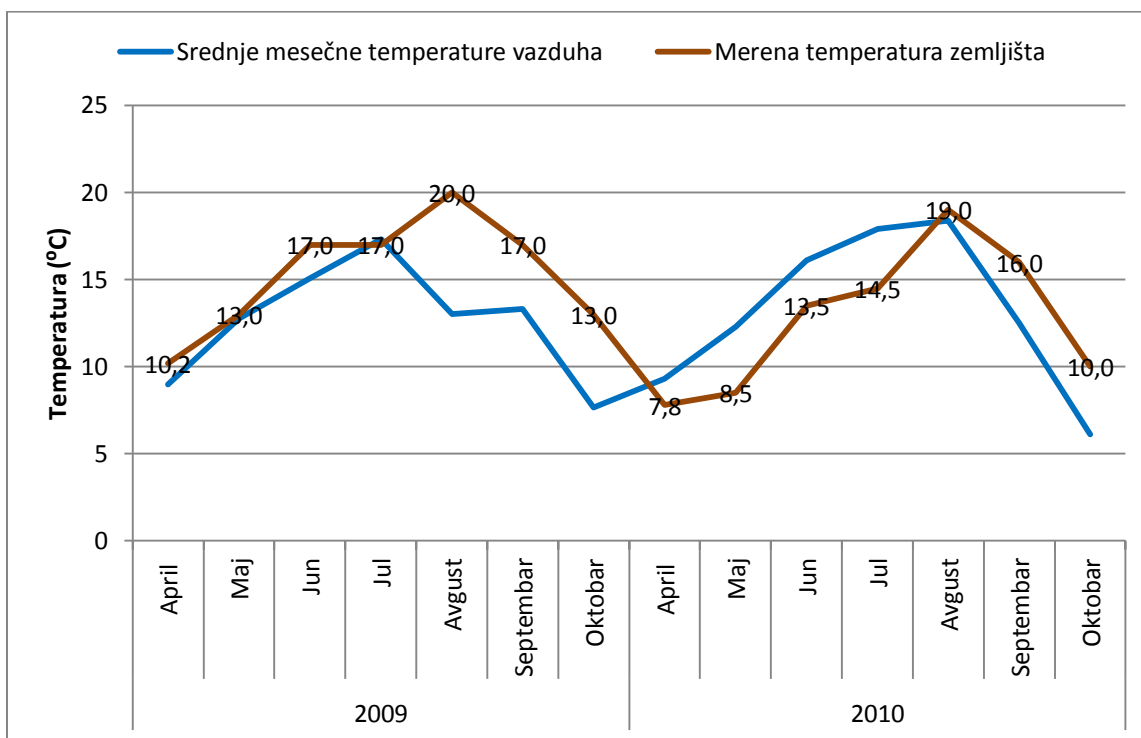
U potpoglavljima koja slede prikazani su rezultati posmatranja populacione dinamike KCN u približno poljskim uslovima metodološki opisane u poglavlju 3.4. Predstavljena je populaciona dinamika KCN u tri ogledno simulirane, realne situacije u proizvodnim uslovima, relevantne za njihovo održavanje i suzbijanje. Prvi je prisustvo osetljivog domaćina (krompir sorte *désirée*); drugi odsustvo biljaka domaćina tj. simulacija parloga i treći prisustvo otpornih biljaka krompira koje deluju kao biljke klopke (sorta *agria* za *G. rostochiensis* i sorta *innovator* za *G. pallida*).

4.3.1 *Globodera rostochiensis*, patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve

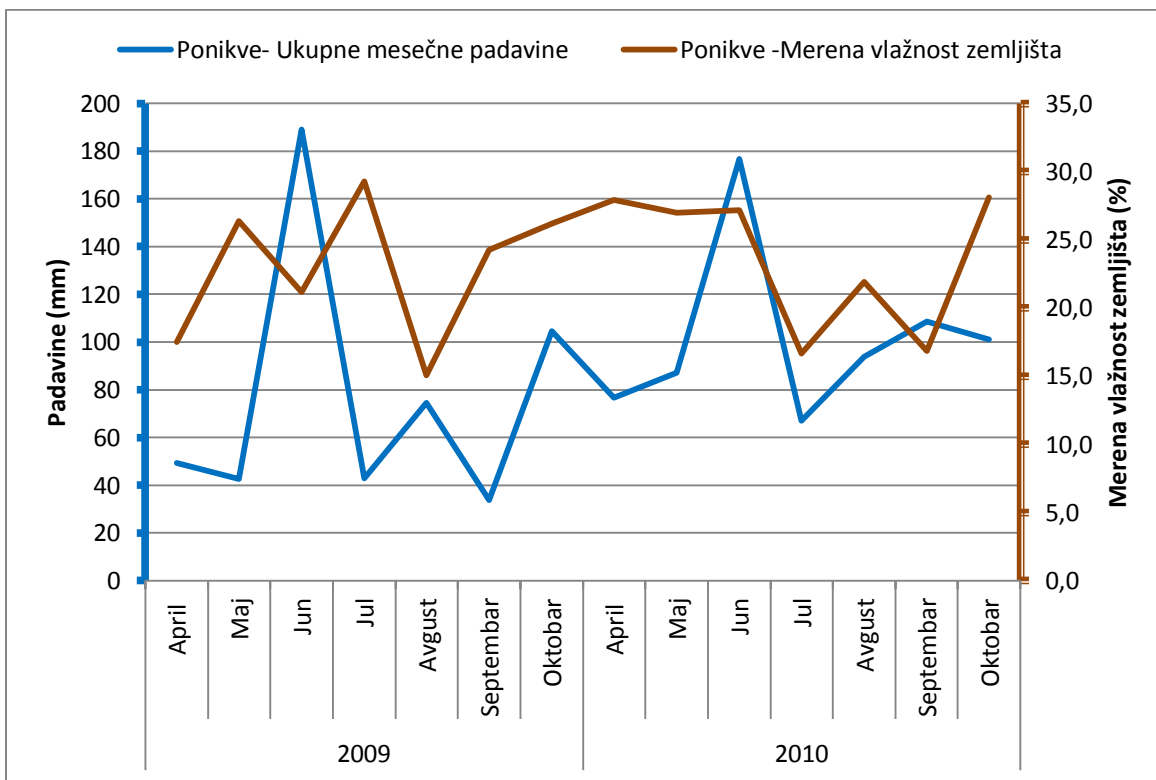
Na lokalitetu Ponikve u dva slična ogleda (poglavlje 3.4.1), utvrđene su promene populacionih parametara žute KCN praćene u regularnim intervalima tokom tri godine posmatranja.

4.3.1.1 Ogled 1

Na slici 14 upoređene su srednje mesečne temperature vazduha na lokalitetu Ponikve tokom 2009. i 2010. godine i merene temperature zemljišta na dubini od 15 cm prilikom svakog mesečnog uzorkovanja. Na slici 15 prikazane su ukupne mesečne padavine i merena vlažnost zemljišta na istom lokalitetu.



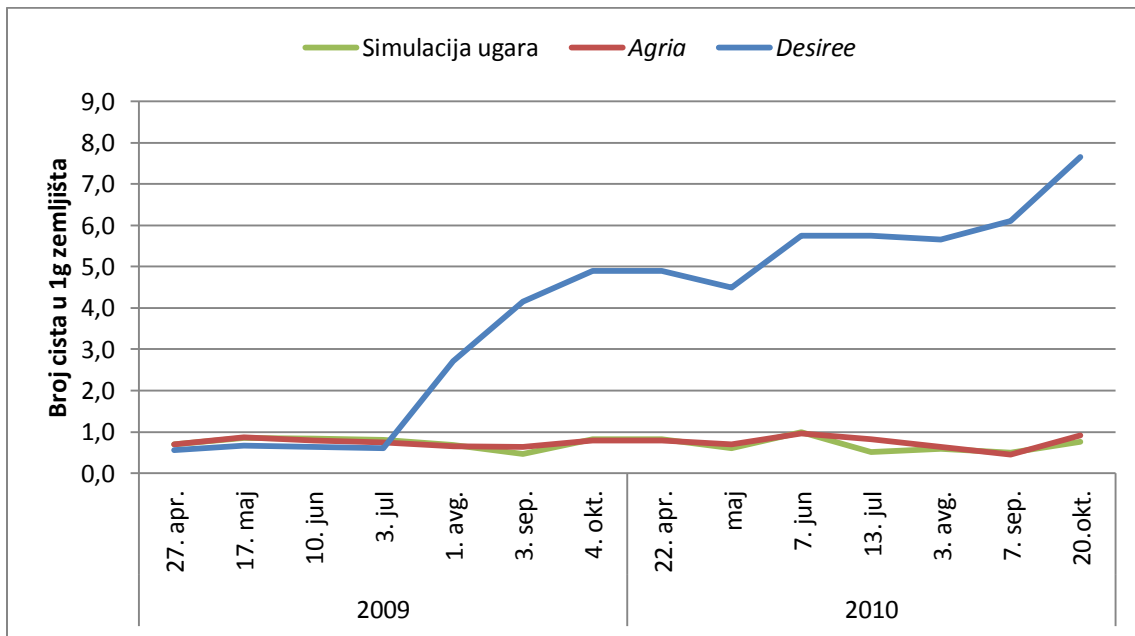
Slika 14. Srednje mesečne temperature vazduha (meteorološka stanica RC Užice) i merene temperature zemljišta na dubini od 15 cm na lokalitetu Ponikve.



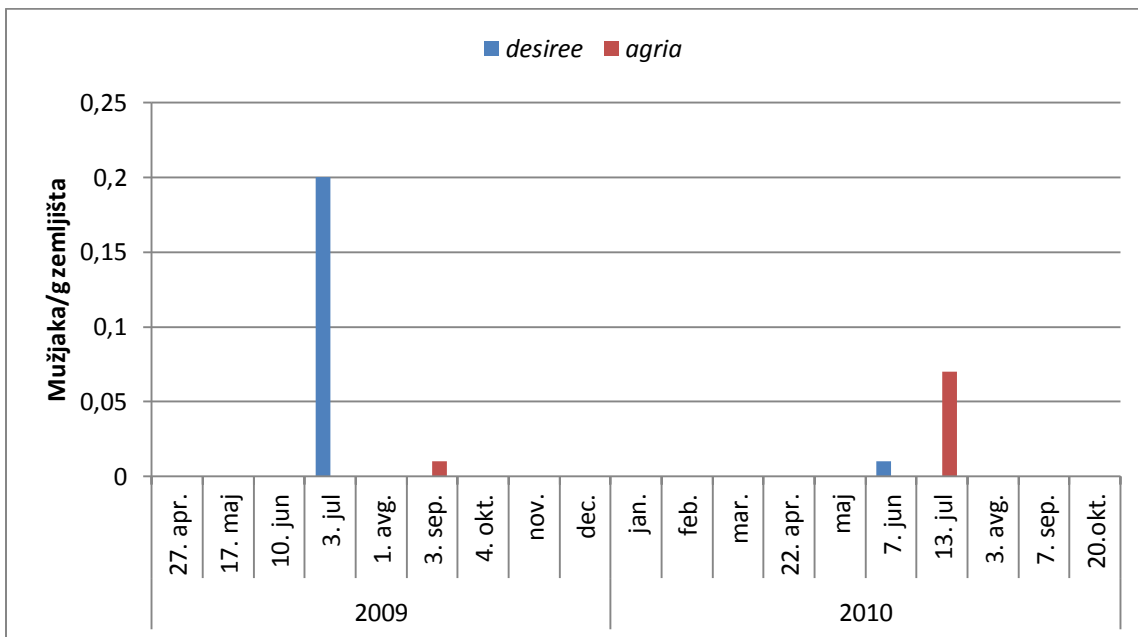
Slika 15. Ukupne mesečne padavine i merena vlažnost zemljišta u oglednim simulacijama na lokalitetu Ponikve.

Sezonska dinamika promene gustine cista u zemljištu na ispitivanom lokalitetu prikazana je na slici 16. Kao što je bilo i očekivano na biljkama krompira osetljive sorte *désirée* došlo je do upadljivog uvećavanja populacije cista počevši sa prvim registrovanim uvećanjem u avgustu 2009. od oko 4,5 puta. Od avgusta do oktobra 2009. broj cista se uvećao oko 2 puta. U 2010. godini prvo povećanje broja cista registrovano je već u junu mesecu od oko 20% i narednim uvećanjem od 130% u oktobru u odnosu na avgust/septembar. Ukupno povećanje populacije tokom dve sezone bilo je oko 12 puta, oko 8 puta tokom 2009. i oko 1,5 puta tokom 2010. u odnosu na početak vegetacije.

U oglednim simulacijama ugara i samoniklih otpornih biljaka krompira nije bilo promene brojnosti cista. Koeficijent varijacije između termina uzorkovanja zabeležen u pomenutim varijantama, uslovljen greškama u izdvajanju usled neravnomernog prostornog rasporeda cista u zemljištu iznosio je oko 20% (22,1 u simulaciji ugara i 18,0 sa sortom krompira *agria*).



Slika 16. Sezonska dinamika promene gustine cista *Globodera rostochiensis* po g zemljišta u oglelnim varijantama simulacije ugara i prisustva biljaka krompira otporne sorte *agria* i osetljive sorte *désirée*.



Slika 17. Sezonska dinamika javljanja mužjaka *Globodera rostochiensis* izražena brojem individua po g zemljišta u oglelnim varijantama sa biljkama krompira otporne sorte *agria* i osetljive sorte *désirée*.

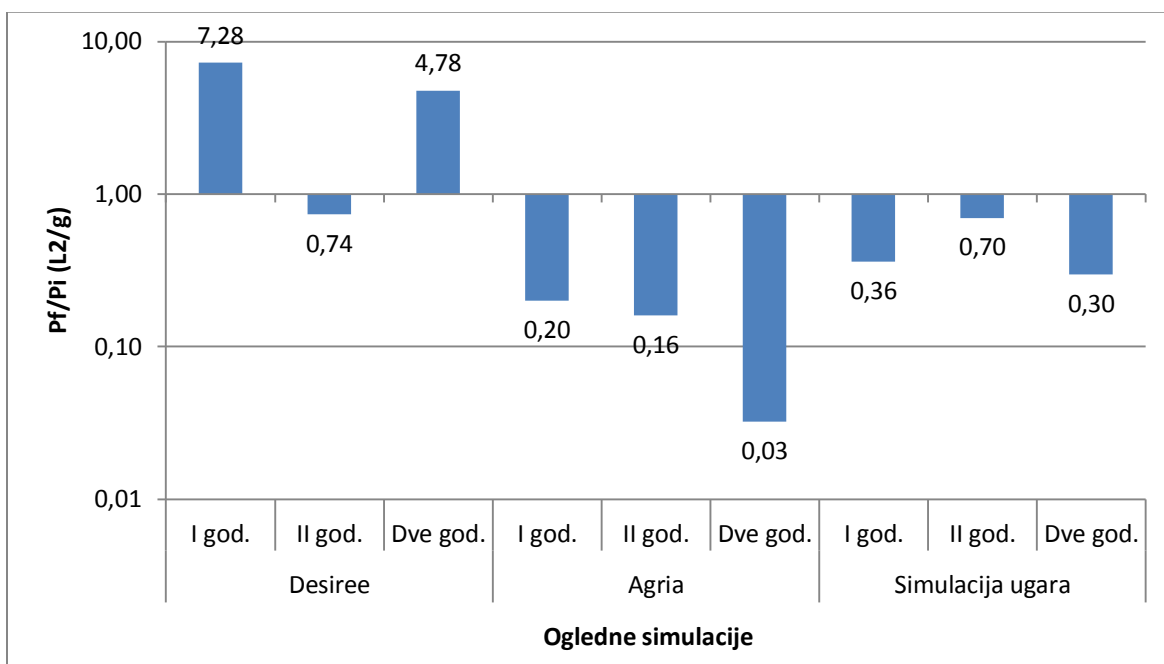
Na biljkama krompira sorte *désirée* prvi mužjaci se javljaju 3. jula 2009. Aprilske temperature vazduha od 9,3 °C (Slika 14) omogućile su rano piljenje i formiranje mužjaka već 7. juna 2010. godine. U ogednoj simulaciji prisustva biljaka krompira sorte *agria* mužjaci su registrovani tek 3. septembra 2009. i 13. jula 2010 (Slika 17). Rana pojava mužjaka na sorti krompira *désirée* u junu 2010. praćena je i malobrojnim uvećanjem broja cista (Slika 16).

Gustina neispiljenih vitalnih L2 iz cista *G. rostochiensis* se na osetljivoj sorti *désirée* u prvoj godini uvećava oko 7 puta sa već visoke inicijalne gustine populacije od 90 L2/g zemljišta na čak 654 L2/g koja predstavlja i populacioni ekvilibrijum jer se u narednoj godini i pored formiranja novih cista (slika 16) populacija održava ispod tog nivoa (Tabela 6) što uslovljava ukupno uvećanje populacije od nešto ispod 5 puta veće od inicijalne (Slika 18). Sa druge strane, smanjenje gustine populacije je evidentno u druge dve ogedne simulacije. Otporna sorta krompira *agria* smanjuje gustinu populacije oko očekivanih 80% u obe godine, sa kumulativnim smanjenjem od 97%, na 4 L2/g zemljišta.

Tabela 6. Vitalan sardžaj cista *Globodera rostochiensis* izražen preko neispiljenih L2/g zemljišta i Pf/Pi vrednosti između intervala uzorkovanja tokom 2009. i 2010. godine u ogednim simulacijama prisustva biljaka krompira osetljive sorte *désirée*, otporne sorte *agria* i simulaciji ugara.

	Ogedne simulacije								
	<i>Désirée</i>			<i>Agria</i>			Ugar		
	L2/g	Pf/Pi	Pf _{okt.} /Pi _{april}	L2/g	Pf/Pi	Pf _{okt.} /Pi _{april}	L2/g	Pf/Pi	Pf _{okt.} /Pi _{april}
Apr. '09.	90			121			105		
Maj '09.		0,61							
Jun '09.	54				0,36			0,45	
Jul '09.		6,84	7,28			0,20			0,36
Avg. '09.	373			43			47		
Sep. '09.		1,75			0,35			0,95	
Okt. '09.	654			15			45		
Apr. '10.	583			24			38		
Maj '10.		0,97							
Jun '10.	563				0,37			0,88	
Jul '10.		1,03	0,74			0,16			0,70
Avg. '10.	580			9			39		
Sep. '10.		0,74			0,43			0,79	
Okt. '10.	429			4			31		

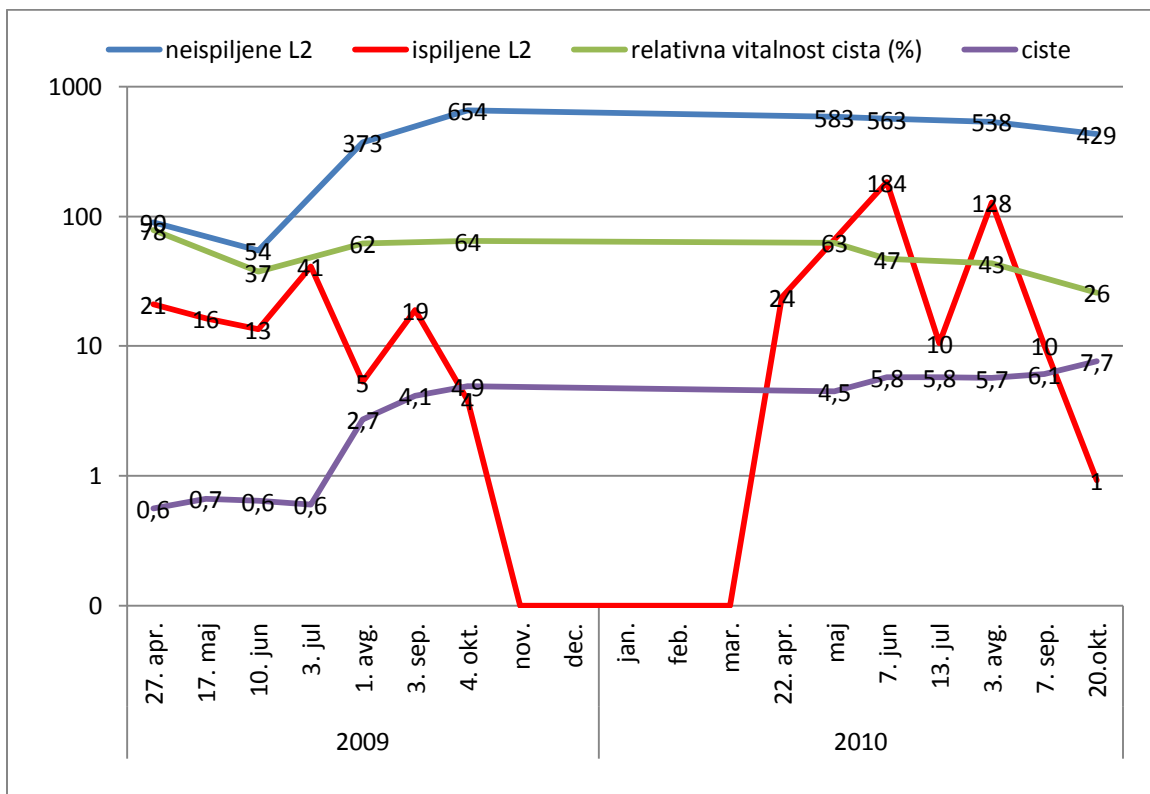
U ogleđnoj varijanti bez biljaka krompira, kao simulaciji ugarenja u širem smislu, gustina populacije se smanjuje za neočekivanih 64% u 2009., više nego duplo manje u narednoj godini i kumulativnim smanjenjem od 70% ostavljajući gustinu populacije iznad 30 L2/g zemljišta.



Slika 18. Stopa reprodukcije (Pf/Pi odnosi) *Globodera rostochiensis* izražena preko neispiljenih larvi (L2) po g zemljišta ispitivane populacije, tokom prve, druge i za obe godine istraživanja u ogleđnim simulacijama prisustva biljaka krompira osetljive sorte *désirée*, otporne sorte *agria* i simulaciji ugara.

Dinamika *Globodera rostochiensis* u prisustvu osetljive sorte krompira *désirée*.

Dinamika piljenja invazivnih L2 *G. rostochiensis* i promena gustina cista u zemljištu sa prisustvom biljaka krompira sorte *désirée* prikazane su na slici 19. Piljenje L2 je bilo značajno već aprila 2009. pri temperaturi zemljišta od 10,2 °C (Slika 14) sa detektovanih 21 L2/100 zemljišta i nastavljeno je smanjenim intenzitetom do juna meseca 2009. Naintenzivnije piljenje izazvano obilnim junskim padavinama bilo je u julu mesecu sa izdvojenih 41 L2/100 g zemljišta. Piljenje L2 je nastavljeno sa značajnim padom u avgustu i novim vrhuncem u septembru mesecu na nivou apirsko/majsko/junskih vrednosti. Invazione larve detektovane su u zemljištu i u oktobru.



Slika 19. Populaciona dinamika *Globodera rostochiensis* u ogleđnoj simulaciji prisustva krompira osjetljive sorte *désirée*, izražena preko relativne vitalnosti prosečne ciste u uzorku, neispiljenih larvi (L2) u cistama/g zemljišta, ispiljenih L2 u momentu uzorkovanja u 100 g zemljišta i brojem cista/g zemljišta.

Slična dinamika piljenja L2 *G. rostochiensis*, ali intenzivnijeg obima registrovana je i naredne 2010. godine (Slika 19). Piljenje L2 je počelo u aprilu pri temperaturi zemljišta od 7,8 °C . Kao i prethodne godine i u 2010. registrovana su dva vrhunca piljenja koji su u odnosu na prethodnu godinu pomereni mesec dana unazad, utvrđena u junu i avgustu mesecu. Piljenje je registrovano i u oktobru pri temperaturama od 10 °C.

Iako se mesečnim uzorkovanjem dobijaju samo trenutne dnevne vrednosti prisutnosti L2 u zemljištu koje predstavljaju broj ispiljenih L2 tokom otprilike nekoliko dana, koliko je potrebno invazivnim larvama od napuštanja cista do invazije korena, dnevne vrednosti registrovanog piljenja bile su dobra procena i mesečnih vrednosti (Slika 19). Naime, registrovano piljenje L2 u zemljištu, preslikava se na smanjenje relativne vitalnosti cista i gustine neispiljenih L2 u zemljištu u intervalima kada nema pojave nove generacije

cista, kao npr. u intervalu april-jun 2009. Međutim, u situacijama kada pri registrovanom piljenju L2 u zemljištu imamo paralelnu pojavu cista nove generacije, javlja se povećanje gustine neispiljenih L2, koje nužno ne prati i proporcionalno povećanje relativne vitalnosti cista, kao u intervalu jun-avgust 2009. U pomenutom vremenskom intervalu uvećanje broja cista je preko četiri puta dok se prosečna relativna vitalnost cista povećala za manje od dva puta. Ako obratimo pažnju na drugi vrhunac piljenja L2 tokom septembra 2009. i populacione parametre za interval avgust-oktobar vidi se sledeće. Broj cista i gustina neispiljenih L2 povećala se skoro duplo, a vitalnost cista samo neznatno, na nivou eksperimentalne greške. Ovo govori o itekako značajnom piljenju L2 iz cista između termina uzorkovanja u avgustu i septembru 2009. Slična situacija pomenutoj, za interval avgust-oktobar u 2009., javlja se i 2010. godine, gde relativno malo povećanje gustine cista uz intenzivno piljenje L2 uslovljava konstantan pad vitalnosti cista tokom cele vegetacione sezone (Slika 19).

Individualna disekcija cista detaljnije opisana u poglavlju 3.2.3, omogućila je klasifikaciju cista na osnovu relativne vitalnosti u šest kategorija vitalnosti, dozvoljavajući poređenje promena vitalnosti cista u okviru kategorija vitalnosti u uzorcima prikupljenim u različitim terminima tokom vegetacionih sezona (Tabela 7). Podaci prikazani u tabeli 7 saglasni su sa prethodno iznetim rezultatima. Očigledno je smanjenje potpuno vitalnih i visoko vitalnih cista u periodima intenzivnog piljenja (aprill-jun) odnosno povećanje svih ostalih kategorija u junu mesecu 2009. Takođe, veći broj vrlo visoko vitalnih cista od 50% u avgustu u odnosu na 4% u junu jasno govori o pojavi nove generacije (Tabela 7). Interesantno je i smanjenje potpuno vitalnih cista u periodu avgust-oktobar na 12% 4. oktobra 2009. godine, koji potvrđuje intenzivno piljenje tokom septembra ali upravo iz novoformiranih cista, što govori o odsustvu dijapauze dela populacije L2 u potpuno vitalnim cistama. Uz smanjenje najvitalnije kategorija cista (Tabela 7) javlja se povećanje broja cista i u septembru i u oktobru 2009. (Slika 16). 22. aprila 2010. godine procenat potpuno vitalnih cista povećan je u odnosu na početak oktobra 2009. i iznosi 22% (Tabela 7) iako se u zemljištu ne detektuje povećanje broja cista (Slika 16). Slična situacija, ali sa razlikama manjeg intenziteta sreće se i tokom 2010. godine. Slične relativnoj promeni cista su promene i njihovog vitalnog sadržaja po kategorijama vitalnosti (Tabela 7).

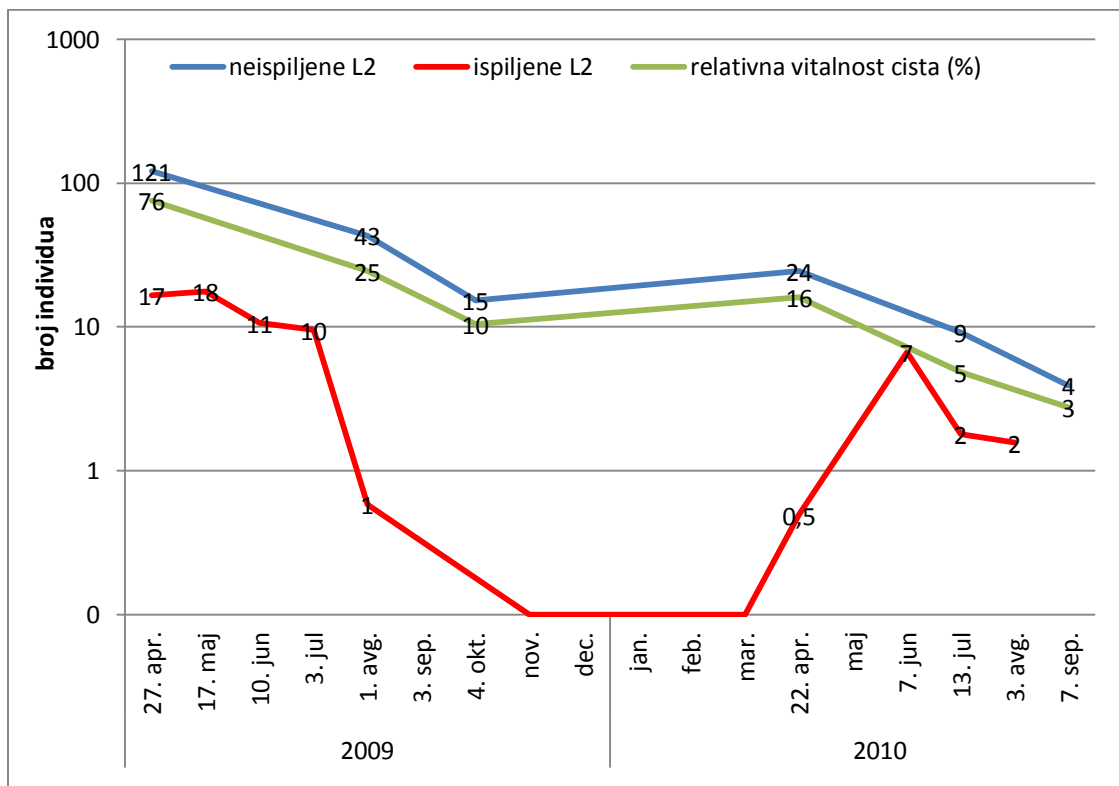
Tabela 7. Procentualno učešće cista i neispiljenih vitalnih invazivnih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* po kategorijama vitalnosti cista u oglednoj simulaciji prisustva krompira osjetljive sorte *désirée*

	Kategorije vitalnosti	27.04. 2009.	10.06. 2009.	01.08. 2009.	04.10. 2009.	22.04. 2010.	07.06. 2010.	03.08. 2010.	20.10. 2010.
L2 po kategoriji vitalnosti (%)	I	0	0	0	0	0	0	0	0
	II	0	1	0	0	1	1	1	2
	III	0	11	1	4	4	8	6	12
	IV	4	28	4	19	12	37	30	55
	V	48	50	12	54	44	48	33	30
	VI	48	9	83	23	39	6	30	0
Ciste po kategoriji vitalnosti (%)	I	14	16	22	8	4	8	12	20
	II	0	14	12	4	8	12	18	24
	III	2	20	2	10	16	18	14	24
	IV	6	26	4	20	14	34	26	20
	V	38	20	10	46	36	26	20	12
	VI	40	4	50	12	22	2	10	0

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja.

Dinamika *Globodera rostochiensis* u prisustvu otporne sorte krompira *agria*. Piljenje L2 *G. rostochiensis* u oglednoj kofi sa biljkama otporne sorte *agria* počelo je u aprilu i do jula meseca bilo na nivou od 18 do 10 L2/g zemljišta sa poslednjim očitavanjem ispiljenih L2 u avgustu mesecu. Registrovana piljenja i migracije kroz zemljište L2 ove vrste pratilo je i konstantno smanjenje relativne vitalnosti cista sa 76% na početku ogleda do svega 10% na kraju vegetacije u oktobru 2009. godine ili izraženo kroz relativni Pf i Pi odnos od 86%.

U narednoj vegetacionoj sezoni zabeležena je slična vremenska dinamika piljenja L2 *G. rostochiensis* sa početkom u aprilu i poslednjom detekcijom L2 u zemljištu u avgustu 2010. uz manje intenzivnije piljenje tokom cele sezone u odnosu na prethodnu (Slika 20). Slabije piljenje L2 tokom 2010. povezano je i sa značajno manjom vitalnošću cista i posledično manjom gustinom neispiljenih L2 u zemljištu. Pad vitalnosti populacije u 2010. izražen kroz Pf/Pi iznosio je 83% a ukupan od početka ogleda 96%. U oglednoj simulaciji prisustva otporne sorte krompira *agria* javlja se odsustvo drugog talasa u populacionoj dinamici piljenja L2 *G. rostochiensis* u odnosu na sortu *désirée*.



Slika 20. Populaciona dinamika *Globodera rostochiensis* u ogednoj simulaciji prisustva krompira otporne sorte *agri*a, izražena preko relativne vitalnosti prosečne ciste u uzorku, neispiljenih L2 u cistama/g zemljišta, ispiljenih L2 u momentu uzorkovanja u 100 g zemljišta i brojem cista/g zemljišta.

Dinamika promene distribucije frekvencija kategorija cista različite vitalnosti, prikazane u tabeli 8, u potpunoj je saglasnosti sa prethodno prikazanim rezultatima. Procentualno učešće cista *G. rostochiensis* iz viših kategorija vitalnosti se postepeno smanjuje, krećući se od situacije sa populacijom od gotovo 60% potpuno vitalnih i svega 6% nevitalnih cista u aprilu 2009., do situacije u oktobru 2010. gde je gotovo polovina cista u populaciji potpuno prazna dok drugu polovinu čine ciste sa manje od 10% vitalnog sadržaja. Još očiglednije su razlike u vitalnosti populacije kada se porede promene relativne brojnosti larvi po kategorijama vitalnosti, gde u aprilu 2009. imamo 80% L2 u kategoriji VI sa 65% L2 sadržanih u cistama kategorije II u oktobru 2010.

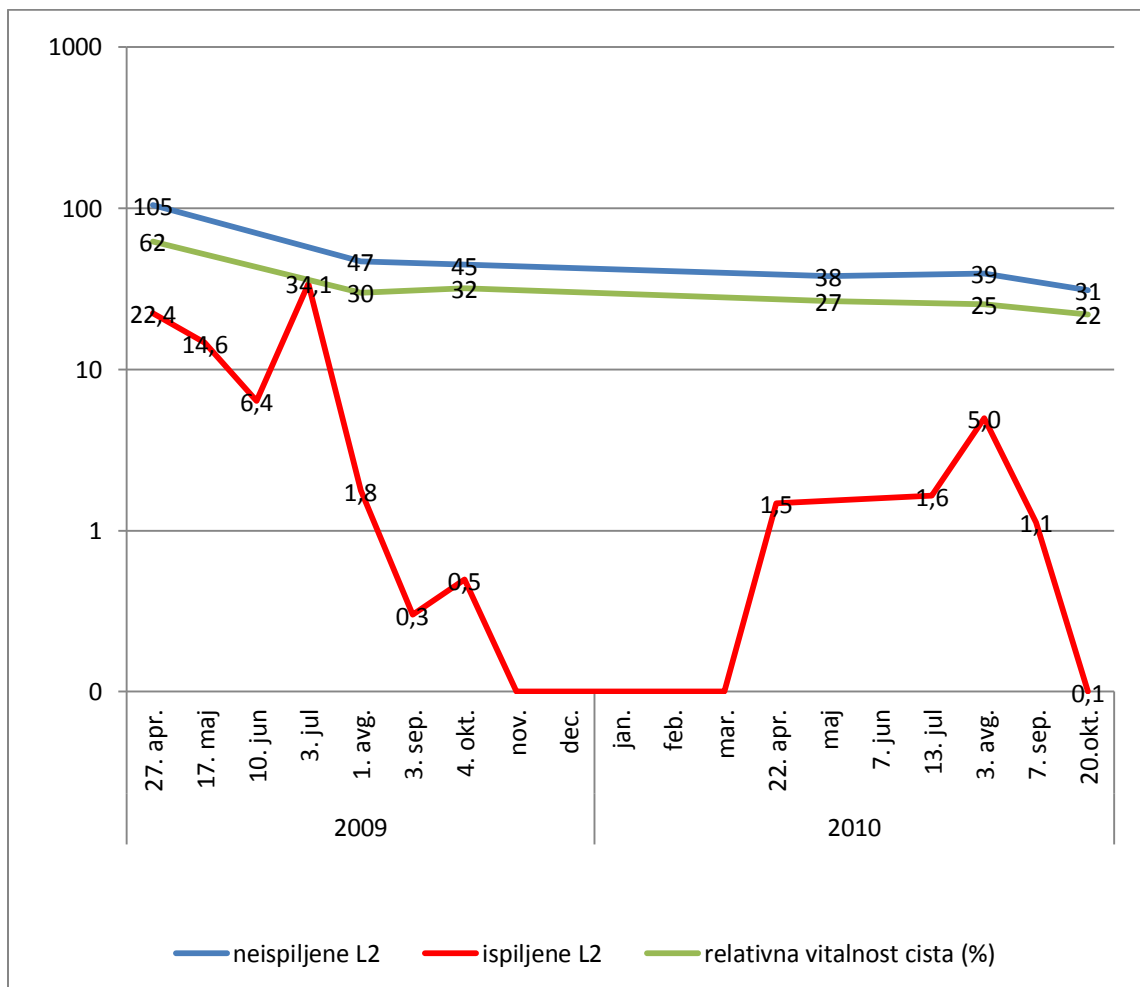
Tabela 8. Procentualno učešće cista i neispiljenih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* po kategorijama vitalnosti cista u ogleđnoj simulaciji prisustva krompira otporne sorte *agri*a

	Kategorije vitalnosti	27.04. 2009.	01.08. 2009.	04.10. 2009.	22.04. 2010.	03.08. 2010.	20.10. 2010.
L2 po kategoriji vitalnosti (%)	I	0	0	0	0	0	0
	II	0	3	11	8	22	65
	III	1	15	57	53	33	35
	IV	6	68	27	30	45	0
	V	13	14	5	9	0	0
	VI	80	0	0	0	0	0
Ciste po kategoriji vitalnosti (%)	I	6	20	34	24	50	46
	II	6	22	30	26	36	48
	III	6	20	30	38	10	6
	IV	10	34	4	10	4	0
	V	14	4	2	2	0	0
	VI	58	0	0	0	0	0

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja.

Dinamika *Globodera rostochiensis* u simulaciji ugarenja. U ogleđnoj simulaciji ugara (Slika 21), prve ispiljene L2 registrovane su u zemljištu u aprilu i piljenje je nastavljeno tokom cele vegetacione sezone 2009. godine, zaključno sa oktobrom, i utvrđenim vrhuncem piljenja u julu mesecu. Slična dinamika piljenja L2 *G. rostochiensis* utvrđena je naredne godine ali smanjenog intenziteta, opet u vezi sa i manjom vitalnošću cista u odnosu na 2009.

Smanjenje relativne vitalnosti prosečne ciste u uzorku iznosilo je 51% u 2009., svega 18% u 2010. godini i ukupnim smanjenjem gustine populacije od 65% tokom dve vegetacione sezone kada je u oktobru 2010. relativna vitalnost cista iznosila oko 22% a gustina L2 *G. rostochiensis* u zemljištu 31 L2/g.



Slika 21. Populaciona dinamika *Globodera rostochiensis* u ogleđnoj simulaciji ugara, izražena preko relativne vitalnosti prosečne ciste u uzorku, neispiljenih invazionih larvi (L2) u cistama/g zemljišta, ispiljenih L2 u momentu uzorkovanja u 100 g zemljišta i brojem cista po g zemljišta.

Kada se pogleda promena vitalnosti cista *G. rostochiensis* u uzorcima po kategorijama vitalnosti (Tabela 9) zapaža se očekivano smanjenje učešća cista veće vitalnosti naspram povećanja manje vitalnih kategorija gde i nakon dve godine učešće svih kategorija vitalnih cista, osim potpuno vitalnih cista (kategorija VI), ostaje relativno izjednačeno, sa procentualnim učešćem kategorija vitalnosti od 12-30%.

Tabela 9. Procentualno učešće cista i neispiljenih invazivnih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* po kategorijama vitalnosti cista u oglednoj simulaciji ugara

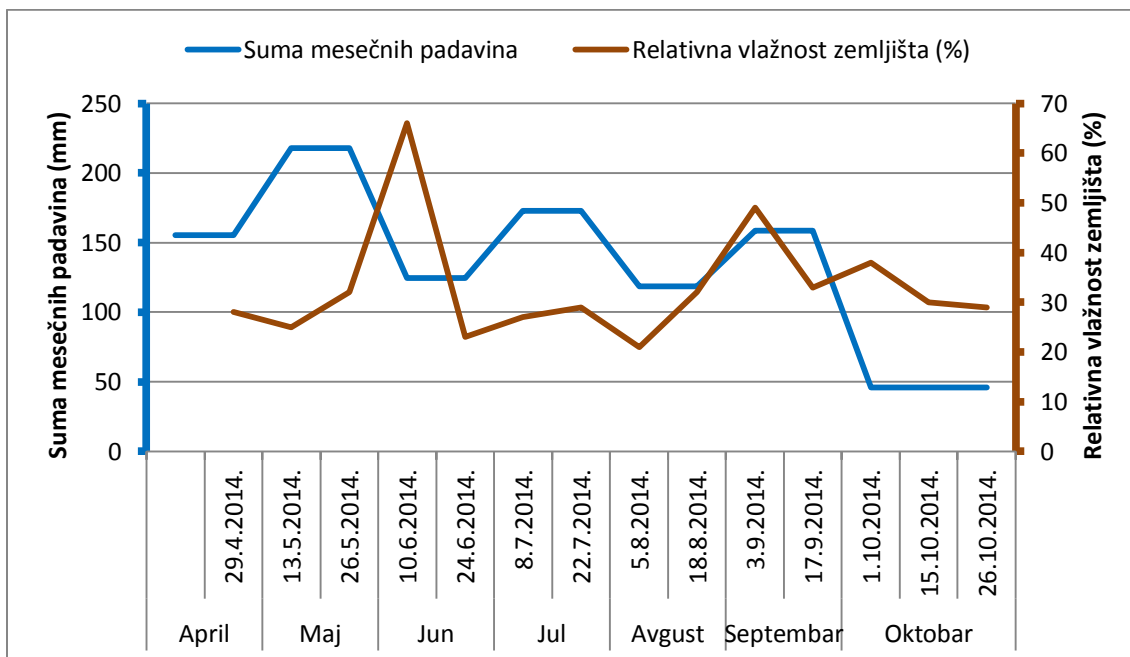
	Kategorije vitalnosti	27.04. 2009.	01.08. 2009.	04.10. 2009.	22.04. 2010.	03.08. 2010.	20.10. 2010.
L2 po kategoriji vitalnosti (%)	I	0	0	0	0	0	0
	II	0	1	1	3	2	3
	III	1	19	11	28	28	18
	IV	1	71	73	65	56	44
	V	30	10	14	4	14	36
	VI	68	0	0	0	0	0
Ciste po kategoriji vitalnosti (%)	I	22	20	18	16	24	30
	II	8	10	14	18	16	24
	III	2	24	18	28	24	18
	IV	4	42	44	36	32	16
	V	22	4	6	2	4	12
	VI	42	0	0	0	0	0

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja.

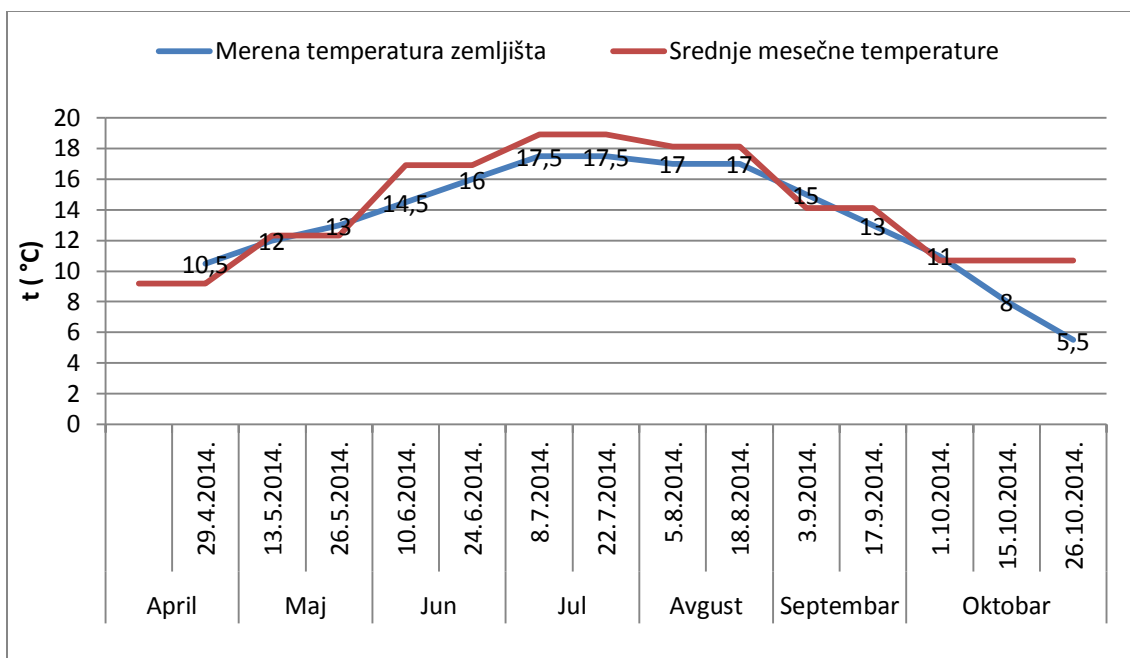
4.3.1.2 Ogled 2

U ogledu sprovedenom 2014. godine populaciona dinamika *G. rostochiensis* praćena je sa učestalijim, dvonedeljnim praćenjem u odnosu na ogled 1 koji je obavljen tokom 2009. i 2010. godine. U ovom eksperimentu glavni akcenat je bio na preciznijem osvetljavanju dinamike spontanog piljenja L2 ove vrste i migracije L2 u zemljištu pod uticajem krompira osetljive sorte *désirée*.

Na slici 22 upoređene su srednje mesečne temperature vazduha na lokalitetu Ponikve tokom 2014. godine i merene temperature zemljišta na dubini od 15 cm prilikom svakog dvonedeljnog uzorkovanja. Slika 23 prikazuje ukupne mesečne padavine 2014. i merenu vlažnost zemljišta u eksperimentalnim kofama isečenog dna na istom lokalitetu. 2014. godina predstavlja atipičnu godinu na lokalitetu i najkišovitija je i druga najtoplija godina u periodu 1951-2014 u Srbiji.

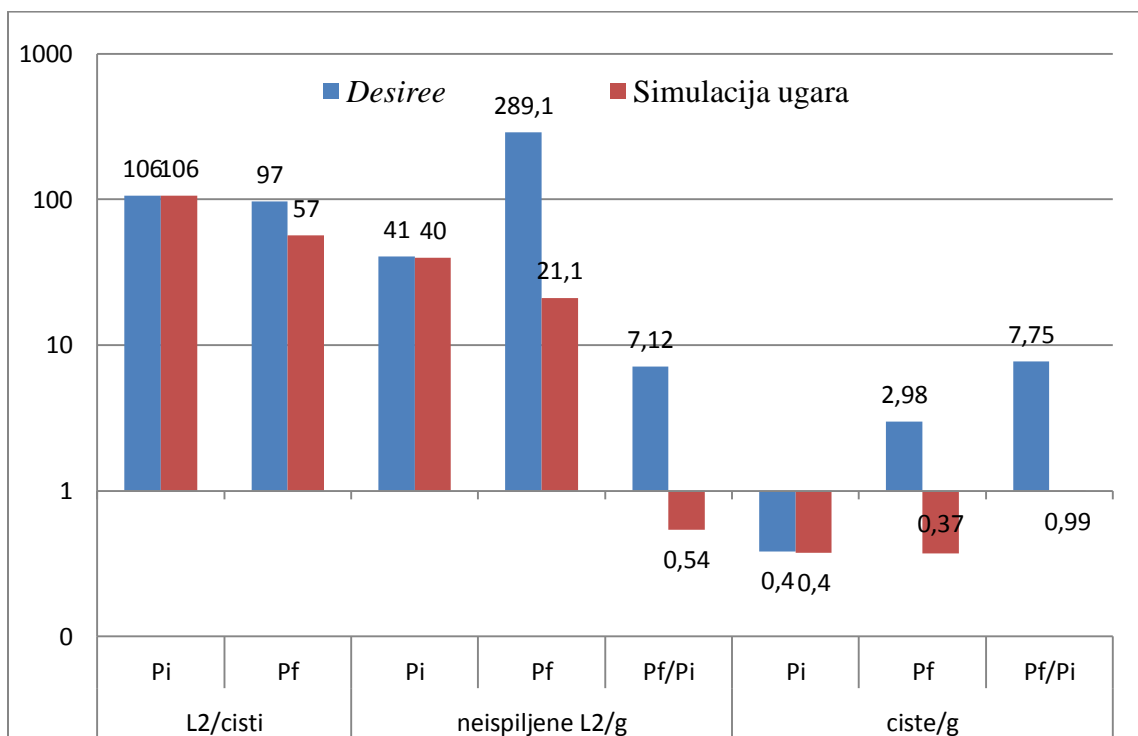


Slika 22. Suma mesečnih padavina i merena relativna vlažnost zemljišta na lokalitetu Ponikve tokom 2014. godine.



Slika 23. Srednje mesečne temperature i merena relativna vlažnost zemljišta na lokalitetu Ponikve tokom 2014. godine.

Broj cista u oglednoj simulaciji ugara je smanjen neznatno u oktobru za oko 1% početne vrednosti u aprilu 2014. Usled spontanog piljenja L2, dolazi do smanjenja gustine populacije L2 za 46%, sa 40 u aprilu na 21 L2/g zemljišta u oktobru mesecu 2014. (Slika 24).

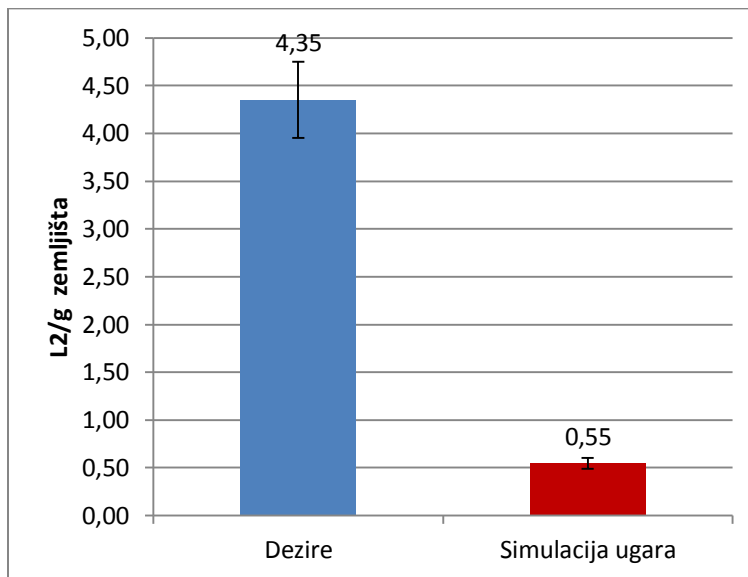


Slika 24. Početne (Pi), krajnje (Pf) i količnik Pf/Pi vrednosti populacionih parametara *Globodera rostochiensis* (L2/cisti, neispiljenih L2/g zemljišta i cista/g zemljišta) u oglednoj simulaciji prisustva biljaka krompira osetljive sorte *désirée* i simulaciji ugarenja tokom 2014. godine.

U simulaciji prisustva osetljivih biljaka sorte *désirée*, očekivano, dolazi do uvećanja populacije *G. rostochiensis*. Broj cista je uvećan sa oko 0,4 u aprilu na 2,98 cista/g zemljišta u oktobru, odnosno 7,75 puta, neznatno manje nego tokom 2009. godine u ogledu 1. Uz povećanje broja, i tokom ovog ogleda javlja se smanjenje vitalnosti cista. Broj neispiljenih L2 po prosečnoj cisti smanjen je sa 106 na 97, a zbog značajnog obrazovanja novih cista apsolutan broj neispiljenih L2 po gramu zemljišta, tj. gustina populacije se povećala za oko 7 puta.

Piljenje L2 *G. rostochiensis* je bilo značajno intenzivnije u oglednim kofama sa krompirom sorte *désirée* nego simulaciji ugara, gotovo osam puta veće (Slika 25).

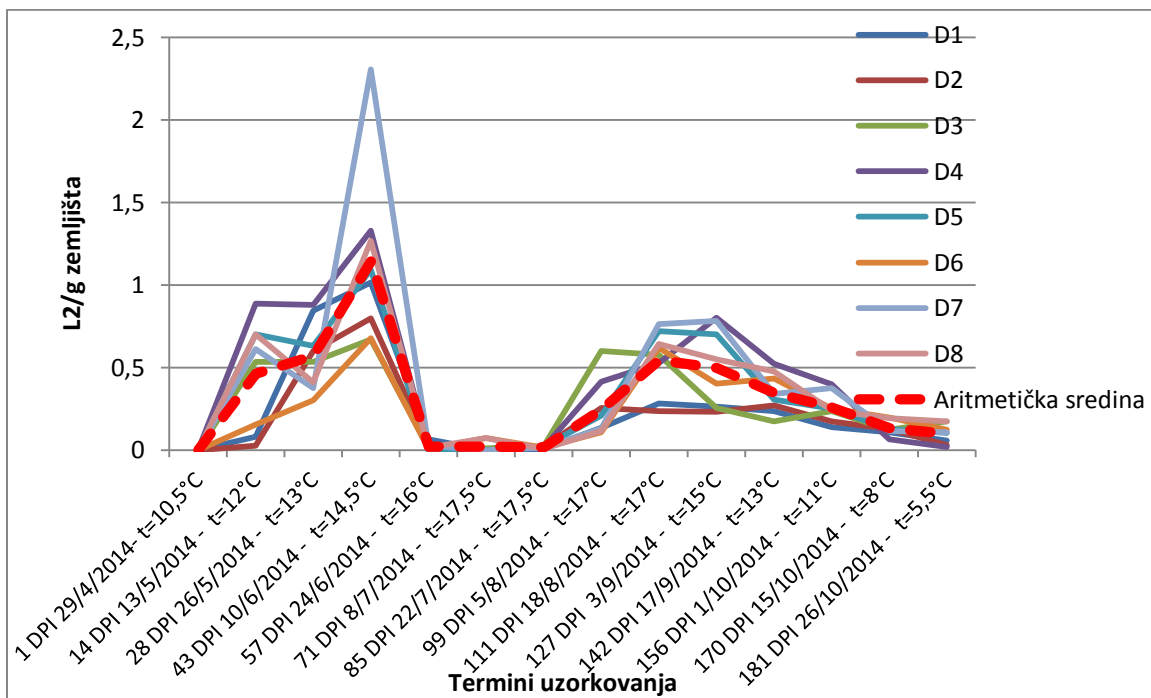
Vremenska dinamika piljenja i migracije L2 kroz zemljište prikazana je na graficima (Slike 26 i 29). Piljenje je u obe varijante značajno već u prvom dvonedeljnom očitavanju 13. maja 2104. pri temperaturi zemljišta od 12 °C.



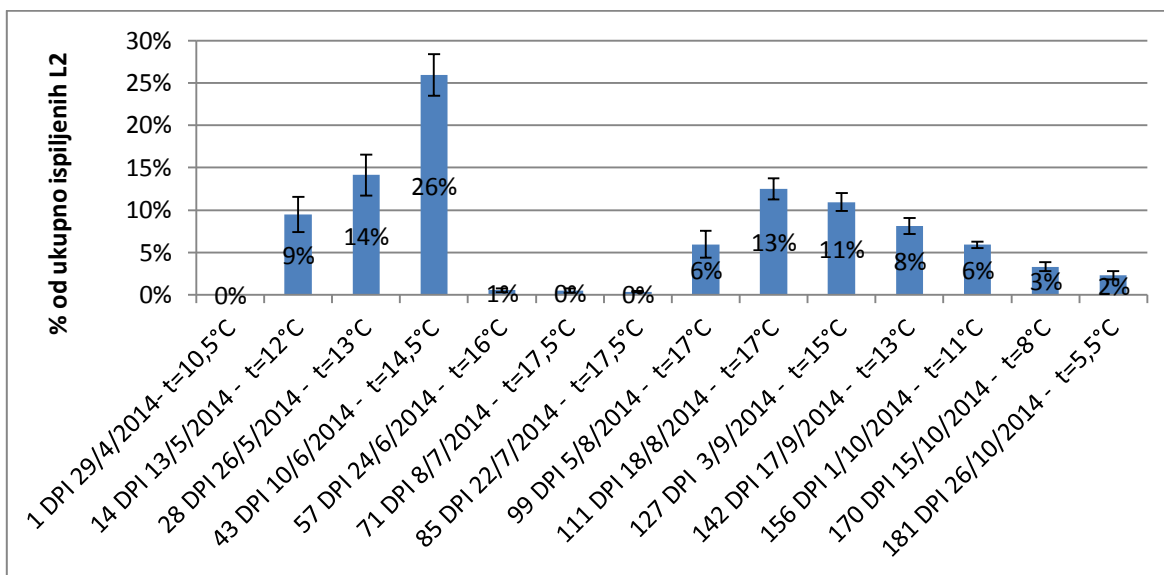
Slika 25. Prosečan broj ukupno ispiljenih invazivnih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* za osam ponavljanja u oglednim simulacijama prisustva biljaka krompira osetljive sorte *désirée* i ugara.

Dinamika *Globodera rostochiensis* u prisustvu krompira osetljive sorte *désirée*. U oglednoj simulaciji prisustva sorte *désirée*, L2 *G. rostochiensis* su bivale registrovane u svim terminima pregleda zemljišta na njihovo prisustvo. Treba istaći detektovano piljenje L2 polovinom i krajem oktobra meseca, pri temperaturama od 8 i 5,5 °C. Takođe, slično prethodnom ogledu iz 2009. i 2010. godine, i 2014. godine se beleže dva vrhunca piljenja u svim ponavljanjima. Prvi u šestoj nedelji od postavljanja ogleda, 10. juna i drugi, 10 nedelja kasnije 18. avgusta 2014. Tokom jula meseca gotovo da nema prisutnih L2 *G. rostochiensis* u zemljištu.

Piljenje L2 *G. rostochiensis* u drugom talasu je bilo duže nego u prethodnom i duplo manjeg intenziteta u vrhuncima (Slika 26). Međutim, gledajući procentualno učešće ispiljenih L2 po terminima uzorkovanja (Slika 27), vidi se da je usled razvučenijeg piljenja u drugom talasu gotovo polovina ukupno detektovanih L2 u zemljištu ispiljena upravo u drugom talasu, koji traje od 22. jula pa sve do 26. oktobra 2014.



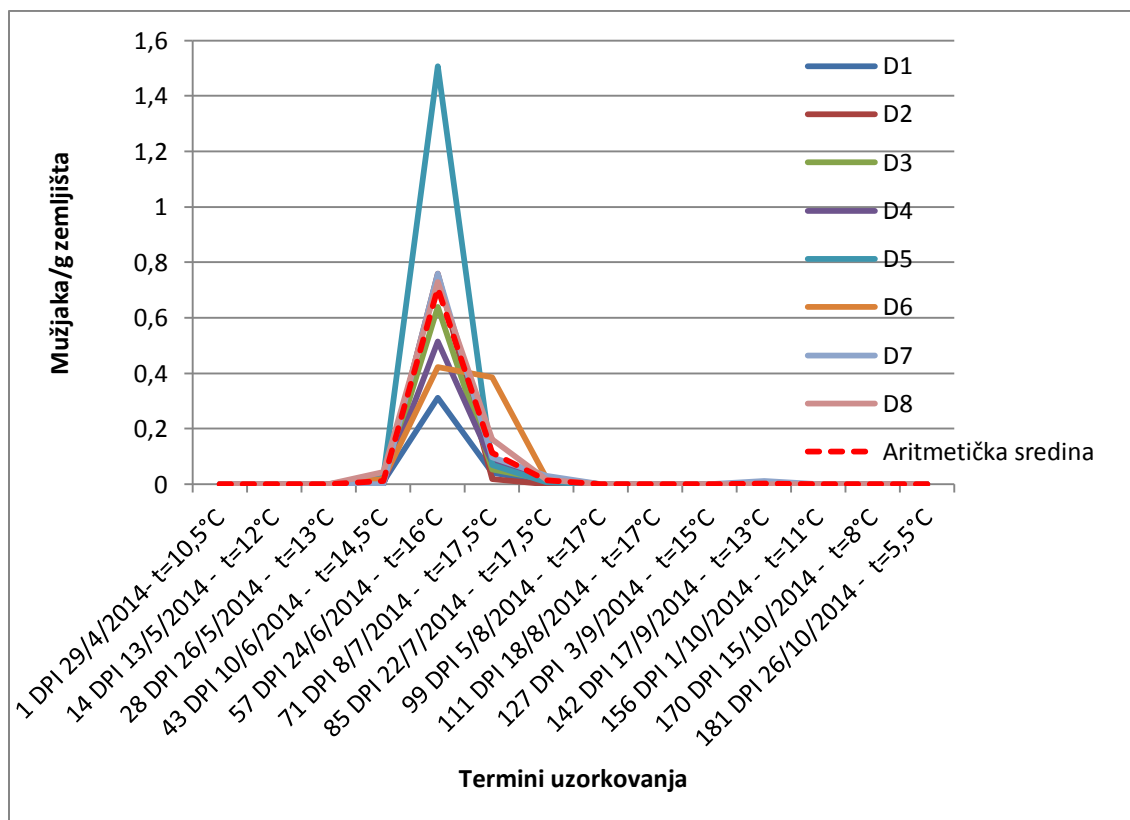
Slika 26. Dinamika piljenja invazivnih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* u ogleđnoj simulaciji prisustva krompira osjetljive sorte *désirée* tokom 2014. godine (D1-D8 ponavljanja; DPI-dana posle inokulacije/sadnje).



Slika 27. Vremenska dinamika piljenja invazivnih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* ogleđnoj simulaciji prisustva krompira osjetljive sorte *désirée* izražena kroz procentualno učešće ispiljenih L2 po terminima uzorkovanja od ukupno ispiljenih tokom 2014. godine.

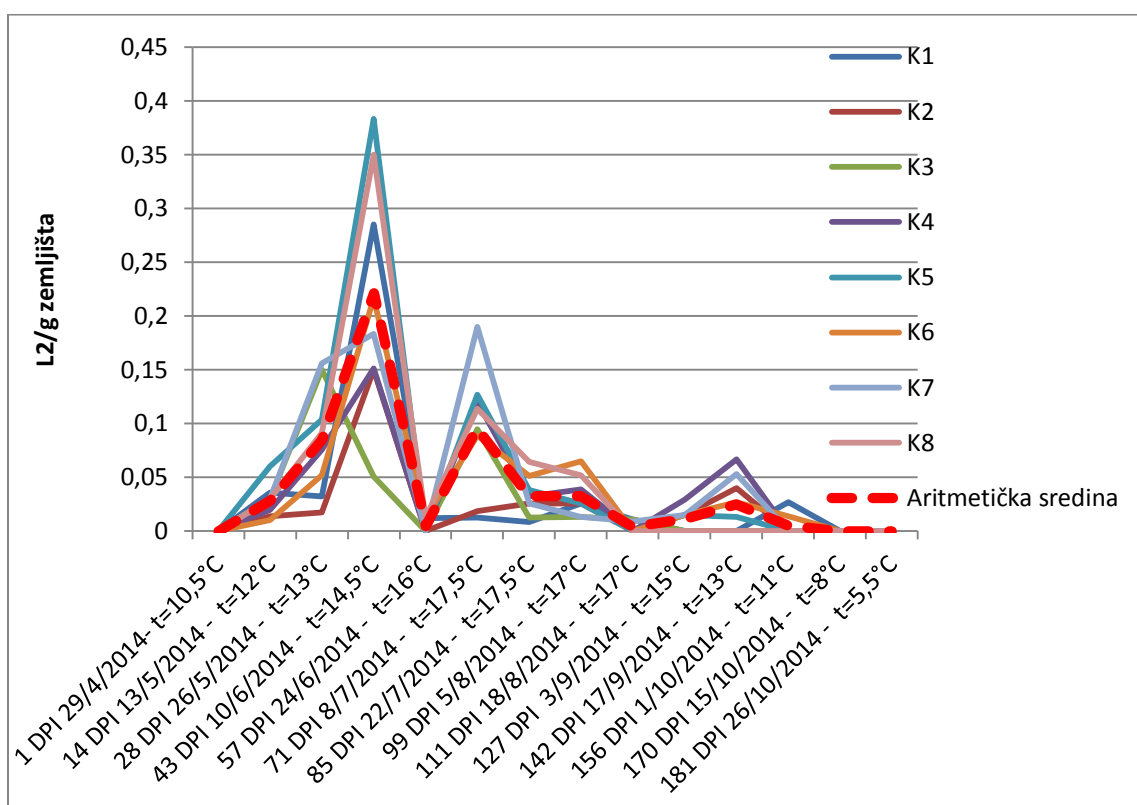
Prvi mužjaci *G. rostochiensis* registrovani su 10. juna a vrhunac prisutnosti u zemljištu detektovan je dve nedelje kasnije iznosivši oko 0,7 individua u gramu zemljišta (Slika 28). Detekcija je bila pozitivna i prilikom dva naredna pregleda sa poslednjim mužjacima zabeleženim u zemljištu 22. jula 2014. godine. Tokom avgusta i prve polovine septembra mužjaka nije bilo u zemljištu, međutim, 17. septembra u 7. ponavljanju detektovana su dva mužjaka druge generacije.

Sa prvim mužjacima javljaju se i prve malobrojne bele ženke na korenu krompira. Već narednog temina 24. 6. 2014. (57 DPI), kada se javlja i vrhunac pojave mužjaka, na korenu krompira beleži se prisustvo belih ženki, dominantno prisustvo žutih ženki i prva pojava cista žute KCN. 71 DPI, 8. 7. 2014. u uzorcima dominiraju podjednako zastupljene žute ženke i ciste KCN uz neznatno prisustvo i belih ženki.



Slika 28. Dinamika migracije mužjaka *Globodera rostochiensis* iz korena biljaka krompira u zemljište u ogleđnoj simulaciji prisustva biljaka krompira osjetljive sorte *désirée* 2014. godine (D1-D8 ponavljanja).

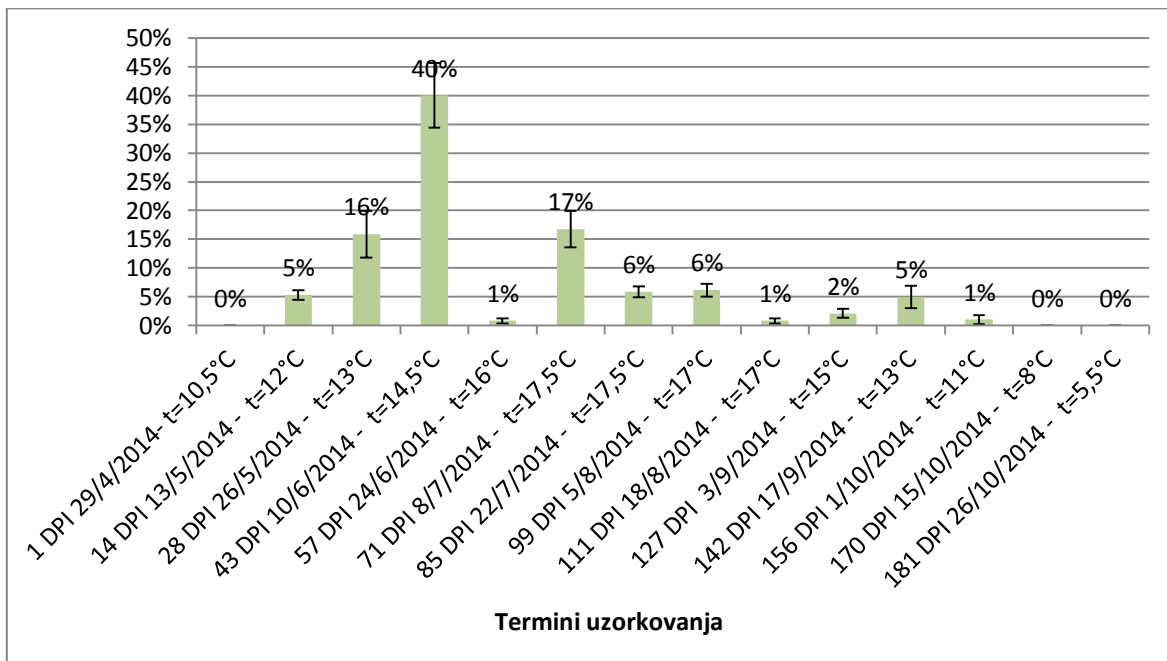
Dinamika *Globodera rostochiensis* u simulaciji ugarenja. Dinamika piljenja L2 *G. rostochiensis* u simulaciji ugarenja, prikazana je na graficima 24 i 25. Prve ispiljene L2 konstatovane su u prvom terminu od postavljanja ogleda 13. maja i bivale detektovane tokom čitave sezone zaključno sa 1. oktobrom 2014. Piljenje L2 prestaje gotovo mesec dana pre nego u simulaciji prisustva domaćina (Slika 26). Registrovana su tri vrhunca piljenja L2, 10. juna, 8. jula i najmanji 17. septembra. Pri poređenju broja ispiljenih L2 u terminima 3. septembar, 17. septembar i 1. oktobar nije se dobila statistički značajna razlika između tri termina uzorkovanja ($p=0.08$).



Slika 29. Vremenska dinamika piljenja invazivnih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* u ogednoj simulaciji ugara tokom vegetacione sezone 2014. godine (Ponavljjanja:K1-K8).

Za razliku od odsustva piljenja L2 *G. rostochiensis* tokom jula meseca u kofama sa biljkama krompira osjetljive sorte *désirée* (Slika 26) u simulaciji parloženja javlja se drugi talas spontanog piljenja L2 (Slika 29). Procentualno učešće ispiljenih L2 po terminima uzorkovanja se razlikuje u ove dve varijante, gde spontano ispiljene L2 *G. rostochiensis* u

simulaciji ugara zaključno sa krajem jula meseca učestvuju sa gotovo 80% od ukupno ispiljenih L2 tokom cele sezone (Slika 30).



Slika 30. Procentualno učešće ispiljenih invazivnih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* u ogleđnoj simulaciji ugara po terminima uzorkovanja od ukupno ispiljenih L2 tokom 2014. godine

Vitalnost cista *G. rostochiensis* prikazana preko procentualnog učešća cista i neispiljenih L2 po kategorijama vitalnosti (Tabela 10) potvrđuje prethodne rezultate. Pod uticajem sorte krompira *désirée* na kojoj se broj cista ove vrste tokom vegetacione sezone povećao gotovo osam puta (Slika 24), krajnju populaciju u oktobru 2014. čini svega 18% potpuno vitalnih cista iz kategorije VI u kojima je manje od 20% ukupne vitalnosti populacije (Tabela 10). Ovo nesumnjivo potvrđuje da je dominantan deo ispiljenih L2 detektovanih u zemljištu u drugom talasu piljenja potekao iz novoformiranih cista. U simulaciji parloga, slično ogleđu 1, piljenje L2 žute KCN je najintenzivnije iz kategorija najvitalnijih cista gde u ovom slučaju kategorije V i VI gotovo potpuno iščezavaju u oktobru, a polovina vitalnih L2 zaostaje u cistama vitalnosti 35-70%. Na kraju vegetacije, najupadljivije promene povećanja broja cista i vitalnog sadržaja u simulaciji ugarenja su u kategoriji III, što sugerise veći procenat L2 u dijapauzi u ovoj kategoriji cista.

Tabela 10. Procentualno učešće cista i neispiljenih invazivnih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* po kategorijama vitalnosti cista u ogednoj simulaciji prisustva osetljive sorte krompira *désirée* i ugara na početku (Pi) i kraju (Pf) vegetacione sezone 2014.

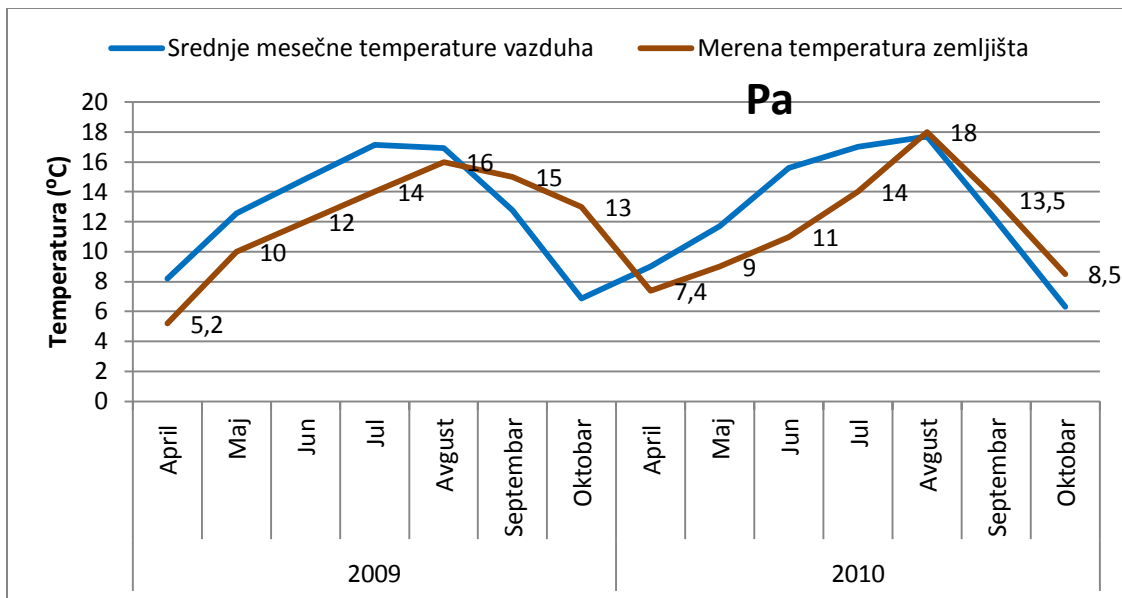
Kategorije vitalnosti cista	Početna vitalnost (Pi)		Krajnja vitalnost u dve ogedne simulacije (Pf)			
	Ciste (%)	L2 (%)	<i>Désirée</i> Pf		Simulacija ugara Pf	
			Ciste (%)	L2 (%)	Ciste (%)	L2 (%)
I	12	0,00	10	0,00	20	0,00
II	2	0,07	2	0,44	10	0,93
III	12	4,29	22	13,86	34	36,87
IV	46	48,51	18	16,44	32	55,09
V	26	42,53	30	49,30	4	7,11
VI	2	4,60	18	19,97	0	0,00

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja.

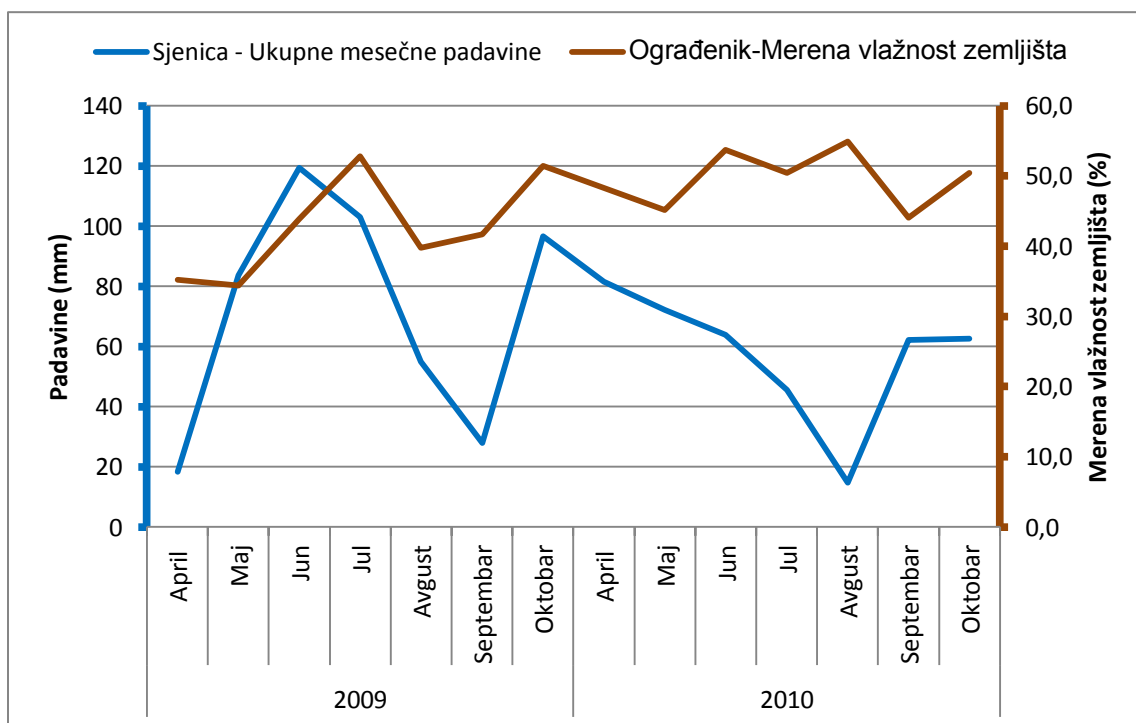
4.3.2 *Globodera pallida*, patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik

Na lokalitetu Ograđenik u ogedu gotovo identičnom ogedu 1 sa žutom KCN (poglavlje 3.4.1), praćena je populaciona dinamika bele KCN sa mesećnim prikupljanjem uzoraka zemljišta tokom dve godine. U tri ogedne simulacije, ustanovljene su promene brojnosti i vitalnosti cista, kao i prisutnost L2 i mužjaka *G. pallida* u zemljištu.

Na slici 31 upoređene su srednje mesećne temperature vazduha na lokalitetu Ograđenik na planini Javor tokom trajanja ogeda 2009. i 2010. godine i merene temperature zemljišta na dubini od 15 cm prilikom svakog mesećnog uzorkovanja. Na slici 32 prikazane su ukupne mesećne padavine i merena vlažnost zemljišta na istom lokalitetu.

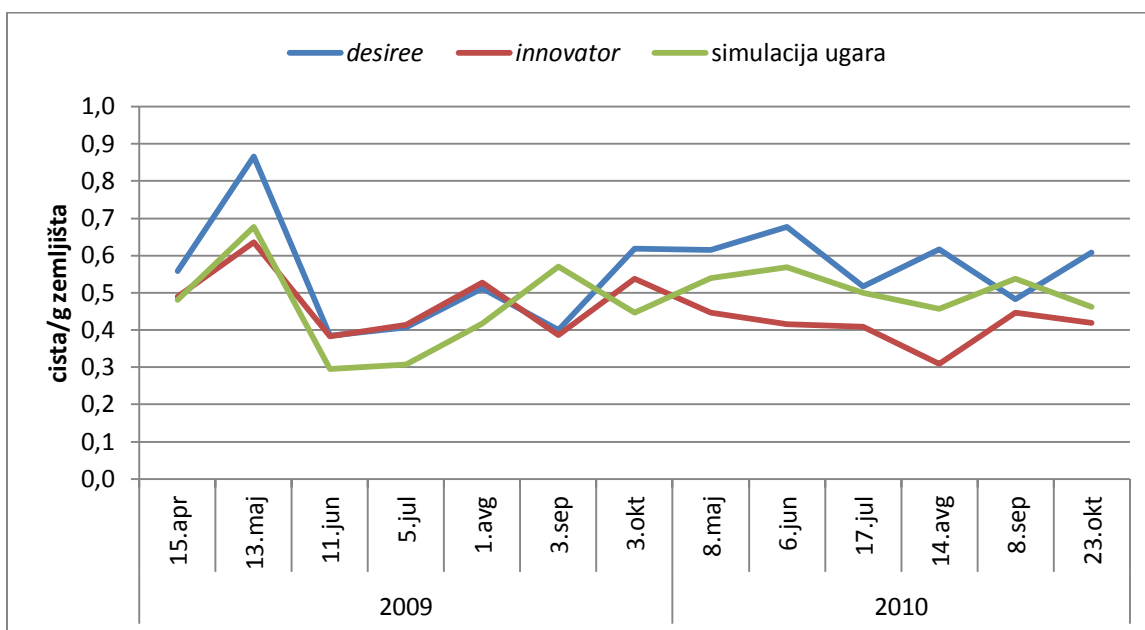


Slika 31. Srednje mesečne temperature vazduha i merene temperature zemljišta na dubini od 15cm za lokalitet Ograđenik tokom 2009. i 2010. godine.



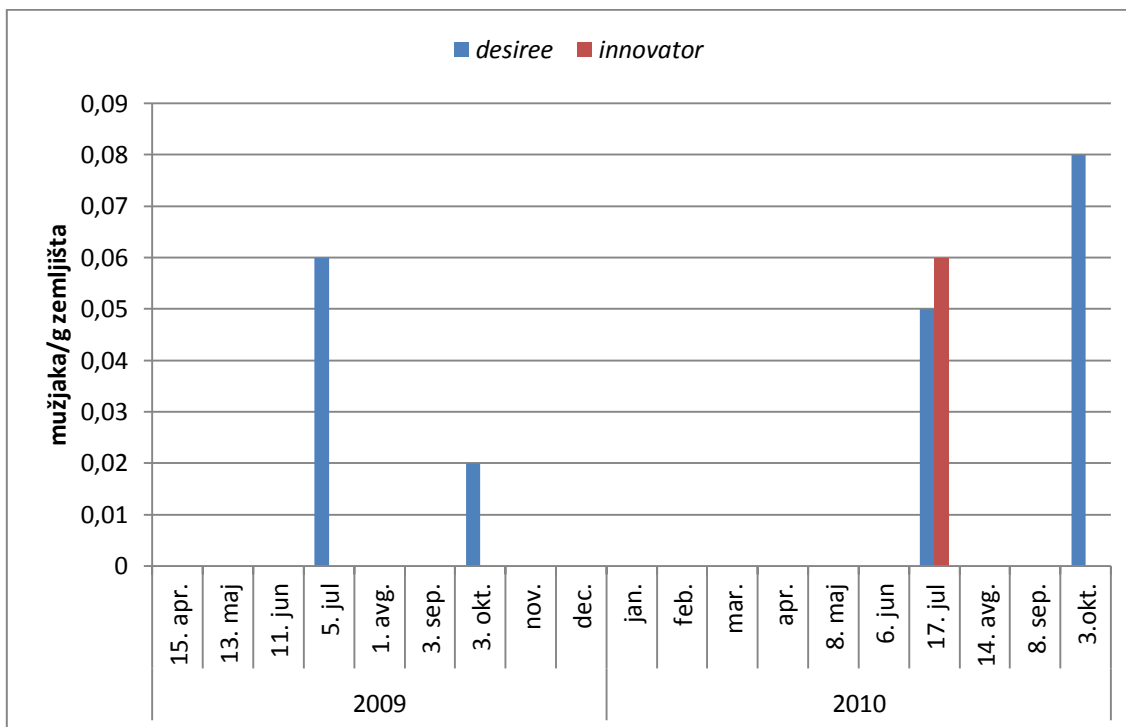
Slika 32. Ukupne mesečne padavine i merena vlažnost zemljišta na lokalitetu Ograđenik tokom 2009. i 2010. godine.

Sezonska dinamika promene gustine cista u zemljištu na ispitivanom lokalitetu prikazana je na slici 33. Neočekivano, na osetljivoj sorti krompira *désirée* nije došlo do primetnog uvećavanja broja cista *G. pallida*. U ogleđnim simulacijama ugara i prisustva otpornih biljaka sorte *innovator* takođe ne dolazi do promena u brojnosti cista u terminima prikupljanja uzoraka tokom obe godine posmatranja. Koeficijent varijacije u broju cista između termina uzorkovanja zabeležen u pomenutim varijantama kretao se oko 20% (19,9% u simulaciji ugara, 16,9% u ponavljanjima sa sortom krompira *innovator* i 23,6% u ponavljanjima kod sorte *désirée*).



Slika 33. Sezonska dinamika promene gustine cista *Globodera pallida* u zemljištu u ogleđnim varijantama sa biljkama krompira otporne sorte *innovator*, osetljive sorte *désirée* i simulaciji ugarenja.

Na biljkama krompira sorte *désirée* prvi mužjaci se javljaju 5. jula 2009. i 17. jula 2010. godine a u ogleđnoj simulaciji sa biljkama krompira otporne sorte *innovator*. 17. jula 2010. U varijanti sa biljkama krompira sorte *désirée*, 3. oktobra 2009. i 2010. godine, registrovana je i druga pojava mužjaka *G. pallida* (Slika 34).

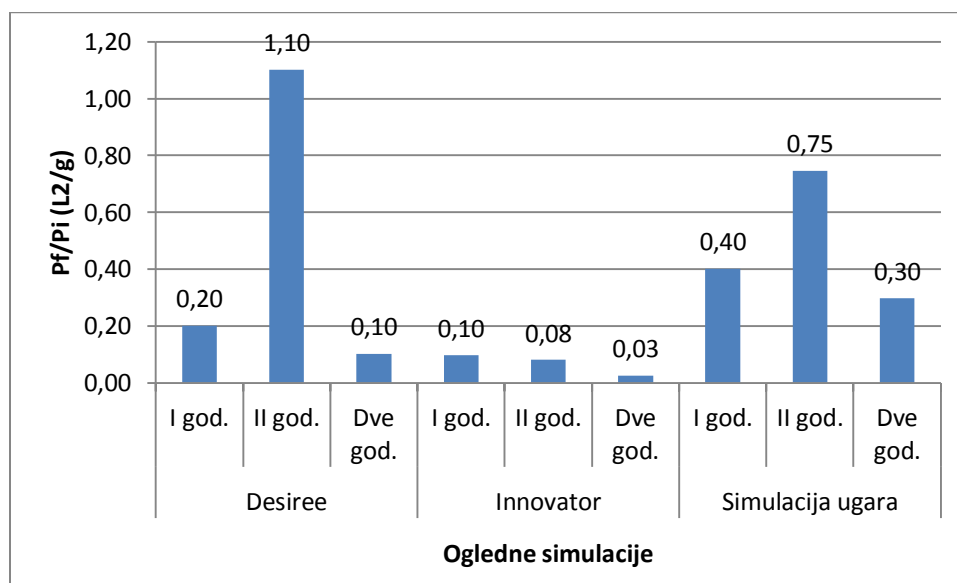


Slika 34. Sezonska dinamika javljanja mužjaka *Globodera pallida* u zemljištu u oglelnim varijantama sa biljkama otporne sorte krompira *innovator* i osetljive sorte *désirée*.

Vitalan sadržaj cista bele KCN se sukcesivno smanjuje tokom obe godine istraživanja u svim oglelnim varijantama, osim neznatnog povećanja u periodu avgust-oktobar 2010. godine na biljkama osetljive sorte *désirée* (Tabela 11). Tokom prve godine smanjenje gustine populacije izraženo preko L2/g zemljišta najveće je kod otporne sorte *innovator* od 90%, potom kod osetljive sorte *désirée* 80% i najmanje, 60% u simulaciji parloga. Ukupno smanjenje gustine populacije tokom dve godine istraživanja iznosi 97% pod uticajem otporne sorte *innovator*, 90% uslovljeno stimulativnim delovanjem na piljenje L2 *G. pallida* korenskih lučevina sorte *désirée* i 70% usled spontanog piljenja L2 u simulaciji parloga (Slika 35).

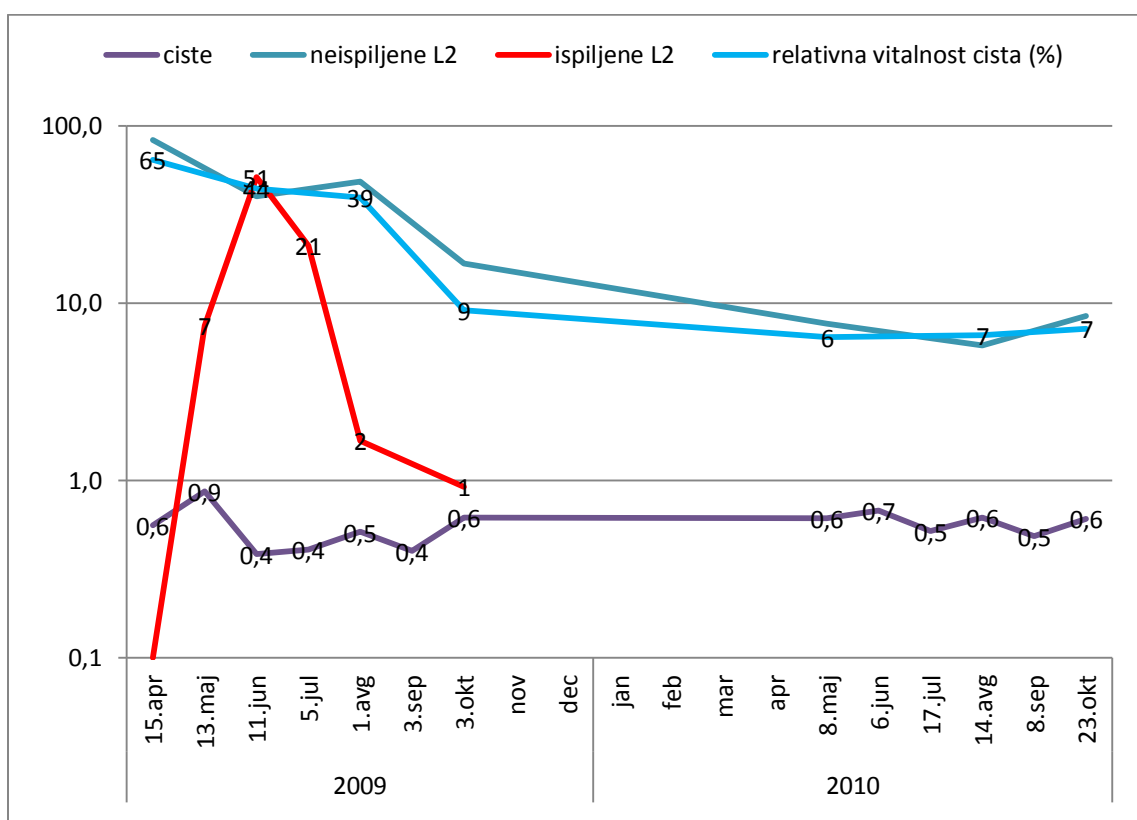
Tabela 11. Vitalan sardžaj cista *Globodera pallida* izražen preko neispiljenih L2/g zemljišta i Pf/Pi vrednosti između intervala uzorkovanja tokom 2009. i 2010. godine u oglednim simulacijama prisustva biljaka krompira osetljive sorte *désirée*, otporne sorte *innovator*, i simulaciji ugara.

	Ogledne simulacije								
	<i>désirée</i>			<i>innovator</i>			parlog		
	L2/g	Pf/Pi	Pf _{oktobar} /Pi _{april}	L2/g	Pf/Pi	Pf _{oktobar} /Pi _{april}	L2/g	Pf/Pi	Pf _{oktobar} /Pi _{april}
Apr. '09.	83			62			72		
		0,48							
Jun '09.	40				0,25			0,38	
		1,21	0,20			0,10			0,40
Avg. '09.	49			16			28		
		0,35			0,38			1,05	
Okt. '09.	17			6			29		
Maj '10.	8			19			29		
		0,75			0,08			1,41	
Avg. '10.	6		1,10	2		0,08	40		0,75
		1,47			-			0,53	
Okt. '10.	8			-			21		



Slika 35. Stopa reprodukcije (Pf/Pi odnosi) neispiljenih L2 ispitivane populacije *Globodera pallida*, tokom prve, druge i za obe godine istraživanja u tri ogledne varijante.

Dinamika *Globodera pallida* u prisustvu osetljive sorte krompira *désirée*. Dinamika promene populacionih parametara *G. pallida* u uslovima gajenja krompira osetljive sorte *désirée* prikazana je na slici 35. Piljenje L2 počinje aprila 2009. pri temperaturi zemljišta od 5,2 °C, intenzivira se u maju i doživljava vrhunac 11. juna 2009. sa registrovanih 51 L2/100 g zemljišta. Piljenje L2 je nastavljeno u julu sa detektovanih 21 L2/100 g zemljišta i značajnim padom u septembru i oktobru mesecu. Tokom naredne 2010. godine ne registruju se ispiljene L2 *G. pallida* u zemljištu. Relativna vitalnost cista se sukcesivno smanjuje sa početnih 65% na 44% u junu, 39% u avgustu, padajući ispod 10% u oktobru 2009. godine sa dodatnim smanjenjem na 6 do 7% tokom naredne godine posmatranja.



Slika 36. Populaciona dinamika *Globodera pallida* u ogleđnoj simulaciji prisustva biljaka krompira osetljive sorte *désirée*, izražena preko relativne vitalnosti prosečne ciste u uzorku, neispiljenih larvi drugog stupnja (L2) u cistama/g zemljišta, ispiljenih L2 u momentu uzorkovanja u 100 g zemljišta i brojem cista po g zemljišta.

Iako promene brojnosti cista *G. pallida* u varijanti sa biljkama krompira osetljive sorte *désirée* nisu uočljive, kada se uporede promene gustina ispiljenih L2 nađenih u zemljištu sa promenama gustine neispiljenih L2 u zemljištu (iz cista) (Slika 36), ipak je primetno blago uvećanje gustine populacije u periodu jun-avgust tokom 2009. godine odnosno maj-oktobar 2010. godine. Ovo sugeriše ipak stvaranje nove generacije bele KCN u malom obimu.

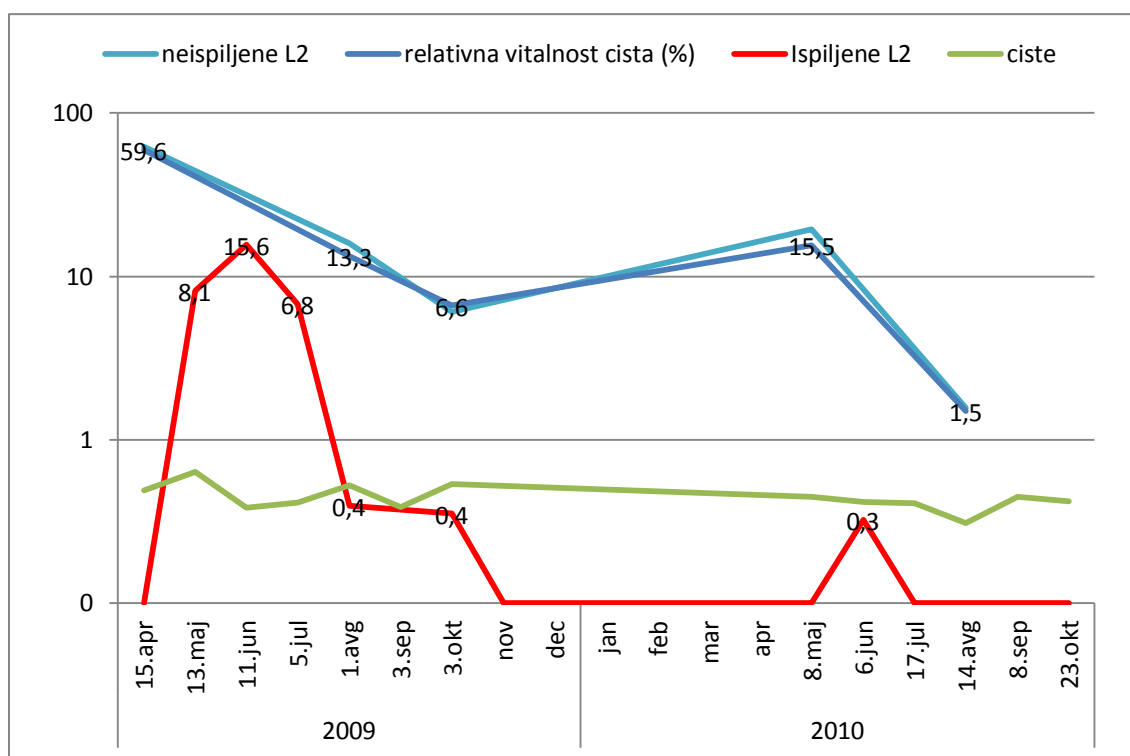
U tabeli 12 je prikazana sukcesivna promena frekvencija cista različitih kategorija vitalnosti po terminima uzorkovanja tokom dve godine posmatranja. Primetno je smanjivanje udela cista veće vitalnosti uz povećavanje udela onih manje vitalnosti tokom perioda posmatranja u većini posmatranih perioda. U periodu jun-oktobar primetno je blago povećanje učešća kategorije VI visoko vitalnih cista u oktobru 2009. godine i maju 2010, što dokazuje formiranje malobrojne nove generacije.

Tabela 12. Procentualno učešće cista i neispiljenih invazivnih larvi (L2) *Globodera pallida* po kategorijama vitalnosti cista u oglednoj simulaciji prisustva biljaka krompira osetljive sorte *désirée*

	Kategorije vitalnosti cista	15.04. 2009.	11.06. 2009.	01.08. 2009.	03.10. 2009.	08.05. 2010.	14.08. 2010.	23.10. 2010.
L2 po kategoriji vitalnosti (%)	I	0	0	0	0	0	0	0
	II	0	1	0	6	6	20	3
	III	2	7	5	17	28	17	0
	IV	10	21	36	9	53	63	26
	V	27	45	58	36	0	0	71
	VI	61	26	0	31	13	0	0
Ciste po kategoriji vitalnosti (%)	I	14	14	20	48	64	64	80
	II	6	12	14	34	20	20	12
	III	8	24	10	10	8	6	0
	IV	12	18	32	2	6	10	2
	V	22	20	24	4	0	0	4
	VI	38	12	0	2	2	0	0

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja.

Dinamika *Globodera pallida* u prisustvu otporne sorte krompira *innovator*. Piljenje L2 *G. pallida* u ogleđnoj simulaciji prisustva samoniklih biljaka otporne sorte *innovator* (Slika 37) počinje u maju i ima vrhunac 11. juna 2009. godine i nastavlja se smanjenom dinamikom na nivou detekcije korišćene metodologije sve do oktobra meseca kada se beleže temperature zemljišta od 13 °C. Tokom naredne godine ne konstatuje se prisustvo L2 u zemljištu ni u jednom od termina osim juna meseca. Piljenje L2 *G. pallida* registrovanih u zemljištu preslikava se na smanjenje vitalnosti cista odnosno gustine neispiljenih L2 u zemljištu. Tako se relativna vitalnost cista od početne oko 60% u aprilu, smanjuje na oko 13% u avgustu, sa krajnjom zabeleženom vitalnošću od oko 7% u oktobru 2009. Neočekivano, narednog maja vitalnost populacije je na nivou avgustovskih vrednosti od prethodne godine. Sezona 2010. se završava sa registrovanom vitalnošću cista od 1,5%.



Slika 37. Populaciona dinamika *Globodera pallida* u ogleđnoj simulaciji prisustva biljaka krompira otporne sorte *innovator*, izražena preko relativne vitalnosti prosečne ciste u uzorku, neispiljenih larvi drugog stupnja (L2) u cistama/g zemljišta, ispiljenih L2 u momentu uzorkovanja u 100 g zemljišta i brojem cista po g zemljišta.

Analiza promena vitalnosti cista kroz promene u zastupljenosti kategorija vitalnosti u periodima pregleda (Tabela 13), pokazuje rapidno smanjenje zastupljenosti visoko vitalnih kategorija i isto tako povećanje broja cista manje vitalnosti. Već od juna meseca isčezava kategorija vrlo visoko vitalnih cista (kategorija VI) a ciste iz kategorije V se nalaze sa zastupljenošću od nekoliko procenata. Najveća zastupljenost cista iz V kategorije vitalnosti, od 6%, nalazi se u avgustu 2010. Tih 6% cista, odnosno 3 od 50 u uzorku, nose 56% ukupne vitalnosti uzorka. Broj potpuno nevitarnih cista se od inicijalnih vrednosti od 18% već u oktobru 2009. dostiže vrednost od oko 50% sa kulminacijom u avgustu 2010. od 72%.

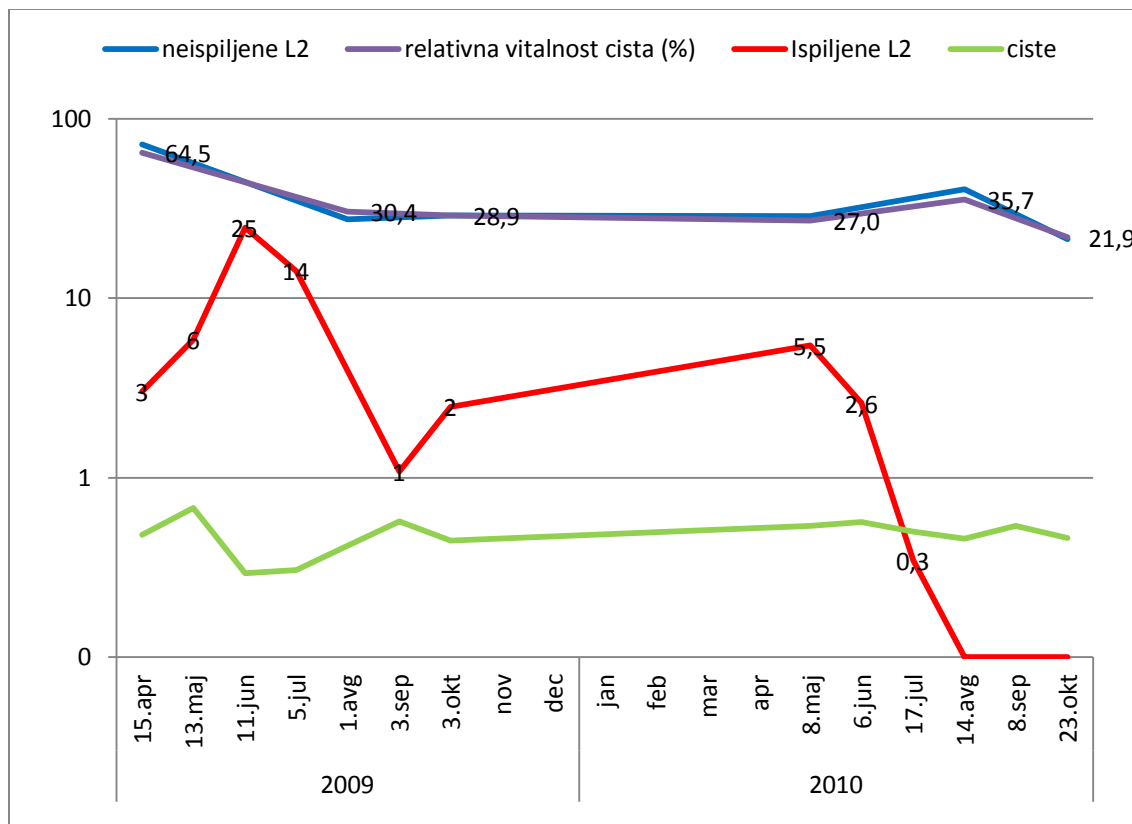
Tabela 13. Procentualno učešće cista i invazivnih larvi (L2) *Globodera pallida* po kategorijama vitalnosti cista u ogleđnoj simulaciji prisustva biljaka krompira otporne sorte *innovator* tokom 2009. i 2010. godine

	Kategorije vitalnosti cista	15.04. 2009.	01.08. 2009.	03.10. 2009.	08.05. 2010.	14.08. 2010.	23.10. 2010.
Vitalne larve (L2) po kategoriji vitalnosti (%)	I	0	0	0	0	0	-
	II	0	3	20	5	24	-
	III	0	35	61	12	76	-
	IV	12	62	0	27	0	-
	V	47	0	19	56	0	-
	VI	40	0	0	0	0	-
Ciste po kategoriji vitalnosti (%)	I	18	38	46	44	72	-
	II	6	22	38	22	20	-
	III	2	26	14	16	8	-
	IV	18	14	0	12	0	-
	V	36	0	2	6	0	-
	VI	20	0	0	0	0	-

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja.

Dinamika *Globodera pallida* u simulaciji ugarenja. U ogleđnoj simulaciji parloga piljenje L2 *G. pallida* počinje 15. aprila na zemljišnim temperaturama od 5,2 °C sa detektovane 3 L2/100 g zemljišta. Broj registrovanih L2 u zemljištu sukcesivno raste sa vrhuncem od 25 L2/100 g zemljišta registrovanih u junu. Julsko piljenje L2 je takođe

primetno, sa minimalnim brojem registrovanih L2 bele KCN u septembru i oktobru mesecu 2009. Naredne godine piljenje L2 *G. pallida* je registrovano u svim terminima, zaključno sa 17. julom 2010, od kada prestaje. Relativna vitalnost cista opada sa početnih 65%, za polovinu, u avgustu i ne menja se značajno tokom obe sezone do narednog oktobra kada registrujemo relativnu vitalnost od oko 20%.



Slika 38. Populaciona dinamika *Globodera pallida* u ogleđnoj simulaciji ugarenja, izražena preko relativne vitalnosti prosečne cista u uzorku, neispiljenih L2 u cistama/g zemljišta, ispiljenih L2 u momentu uzorkovanja u 100 g zemljišta i brojem cista po g zemljišta.

Analizom zastupljenosti kategorija vitalnosti u periodima pregleda cista u simulaciji parloga (Tabela 14), utvrđeno je postepeno smanjenje vitalnosti populacije *G. pallida*. Spontano piljenje L2 ove vrste KCN najintenzivnije je iz kategorije VI. Od početnih 38% zastupljenosti u aprilu 2009. kategorija VI gotovo iščezava već od juna 2009. godine javljajući se sa svega 2% u avgustu 2009. i 2010. godine. Promene ostalih kategorija su sa

trendom postepenog povećanja kategorija nižih vitalnosti. I kategorija potpuno nevitarnih cista se od početne relativne brojnosti od 14% na kraju oglada iznosi svega 30%.

Tabela 14. Procentualno učešće cista i neispiljenih invazivnih larvi (L2) *Globodera pallida* po kategorijama vitalnosti cista u oglednoj simulaciji ugara.

	Kategorije vitalnosti	15.04. 2009.	01.08. 2009.	03.10. 2009.	08.05. 2010.	14.08. 2010.	23.10. 2010.
L2 po kategoriji vitalnosti (%)	I	0	0	0	0	0	0
	II	0	2	2	2	2	3
	III	2	29	13	13	8	18
	IV	10	50	39	32	33	44
	V	27	19	45	53	53	36
	VI	61	0	1	0	4	0
Ciste po kategoriji vitalnosti (%)	I	14	16	30	36	16	30
	II	6	14	18	12	22	24
	III	8	40	14	16	16	18
	IV	12	24	20	18	24	16
	V	22	6	16	18	20	12
	VI	38	0	2	0	2	0

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja.

4.4 Ispitivanje interakcije KCN i odabranih vrsta biljaka

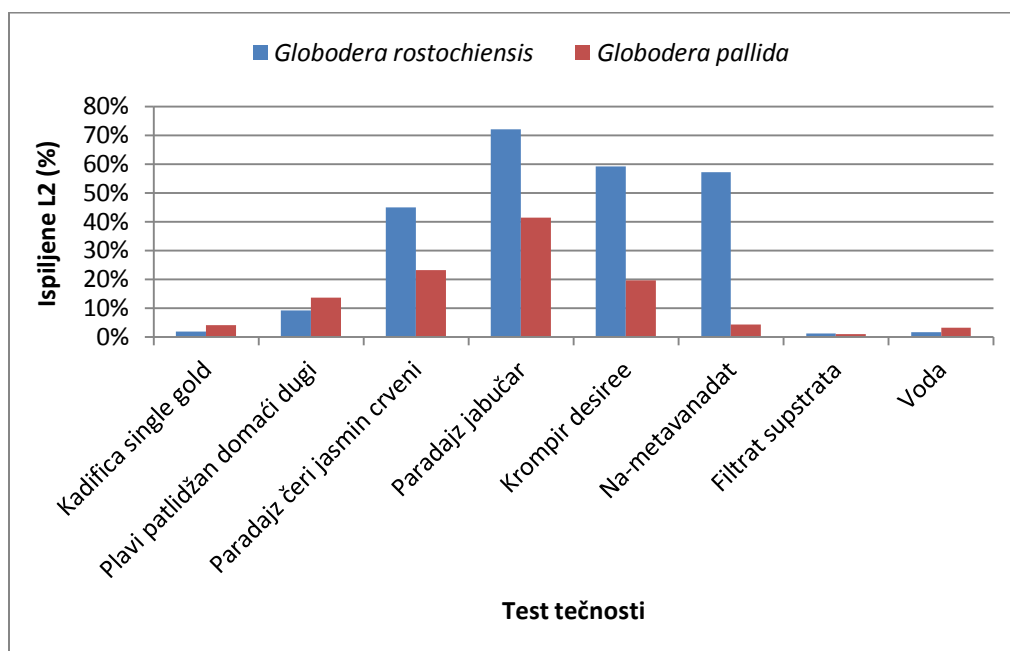
Rezultati oglada čija je metodologija rada prikazana u poglavlju 3.5 prikazuju uticaj odabranih biljnih vrsta na piljenje L2 KCN i njihovu otpornost prema KCN. Utvrđivan je potencijal korenskih lučevina ispitivanih gajenih i divljih biljaka za stimulaciju piljenja L2 kao i njihova otpornost prema KCN, što su dve osnovne osobine ispitivanih biljaka za njihovo potencijalno korišćenje kao biljaka klopki za KCN.

4.4.1 *In vitro* testovi provokacije piljenja larvi KCN

U laboratorijskim testovima provokacije piljenja L2 KCN, efekat korenskih lučevina ispitivanih biljaka na KCN upoređen je sa efektom standardnih pozitivnih kontrola, osetljive sorte krompira *désirée* i veštačkog stimulatora piljenja Na-metavanadata, i spontanog piljenja u vodi kao negativne kontrole.

Test 1 - paradajz, plavi patlidžan i kadifica

Uticaj korenskih eksudata domaćeg sortimenta gajenih biljaka paradajza i plavog patlidžana, domaćina KCN i kadifice, *Tagetes patula* na piljenje L2 žute i bele KCN prikazan je na slici 39. Svi korenski eksudati ispitivanih biljaka pokazali su intenzivnije stimulatívno dejstvo na piljenje L2 *G. rostochiensis* osim *T. patulla* gde je neznatno više ispiljenih L2 *G. pallida*. Najveća stimulacija piljenja L2 obe vrste KCN registrovana je u test tečnosti paradajza sorte NS jabučar.

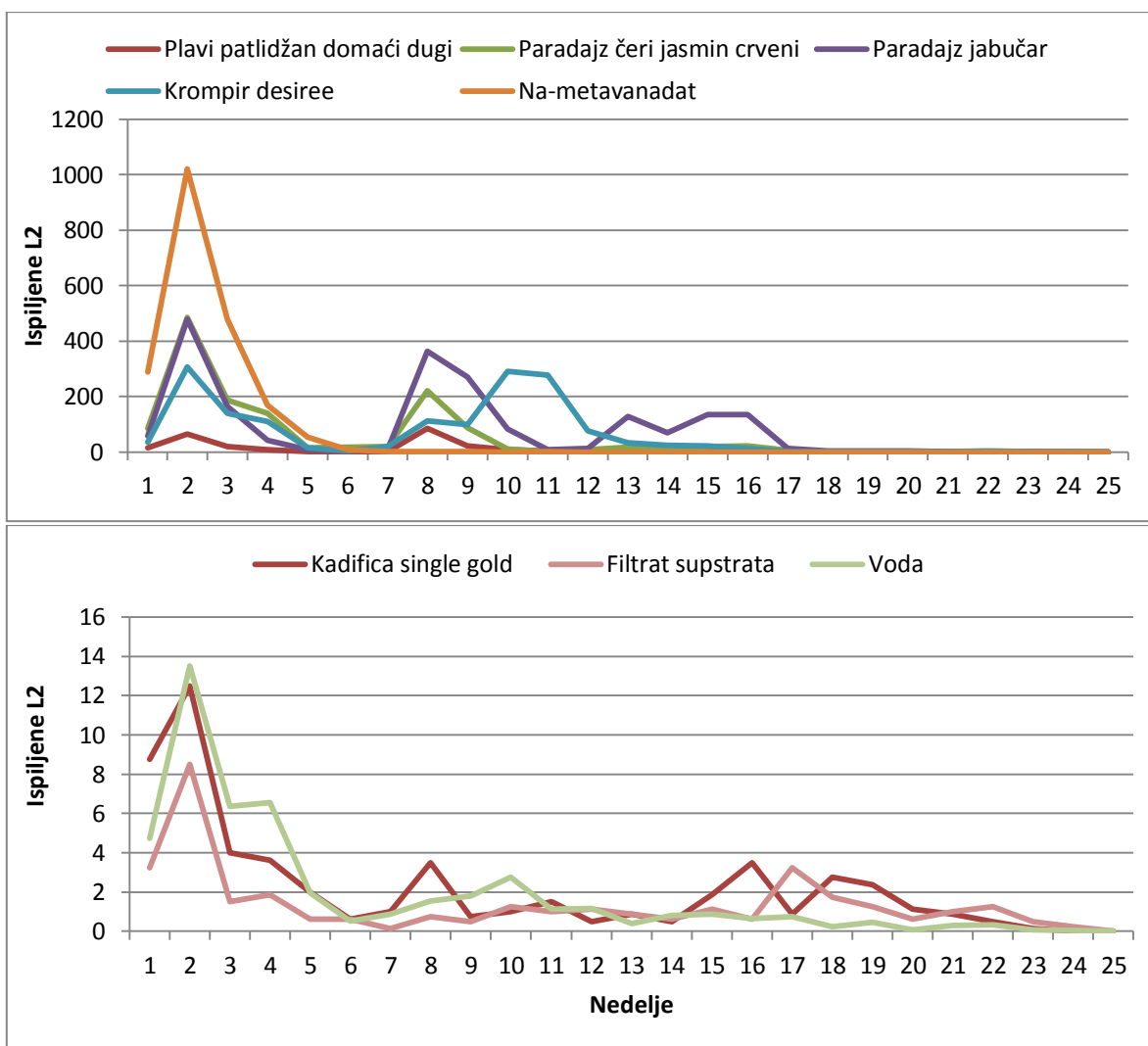


Slika 39. Procenat larvi ispiljenih iz cista *Globodera rostochiensis* i *G. pallida* u *in vitro* testu piljenja u korenskim eksudatima ispitivanih biljaka. Eksudat korena krompira sorte *désirée* i rastvor Na-metavanadata su pozitivna, a filtrat supstrata u kome su gajene biljke i voda negativna kontrola.

Kod obe vrste KCN najmalobrojnije piljenje L2 izazvali su korenski eksudati *T. patulla* i ukupan broj ispiljenih L2 se nije statistički značajno razlikovao od broja spontano ispiljenih L2 u kontrolnim negativnim tretmanima, vodi i filtratu supstrata u kome su gajene biljke, gde se ukupan ispiljeni sadržaj cista kretao između 1 i 3%. Neočekivano loše piljenje L2 *G. pallida* u svim tretmanima, najupadljivije je u veštačkom stimulatoru piljenja Na-

metavanadatu gde je za razliku od *G. rostochiensis* gde je ispiljeno oko 60% L2 prisutnih u inokulumu kod bele KCN ispiljeno svega oko 4%.

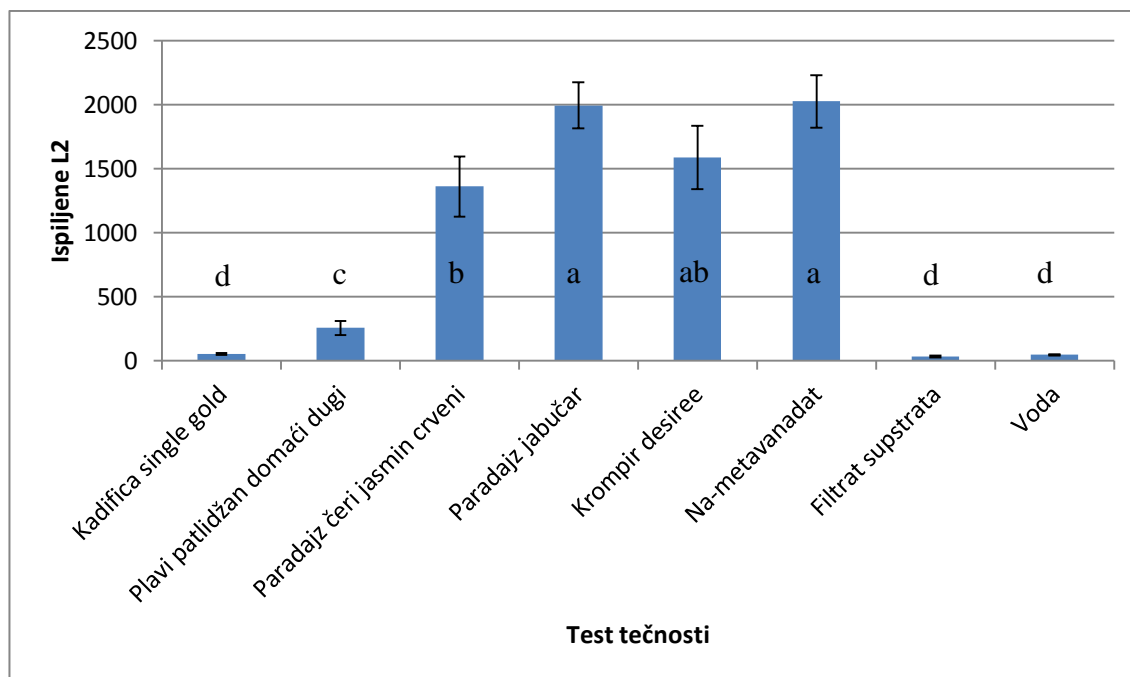
Piljenje L2 *G. rostochiensis* počinje prve nedelje od postavljanja ogleda u svim test tečnostima (Slika 40). Prvi talas piljenja traje do pete nedelje sa vrhuncem piljenja zabeleženim u svim varijantama u drugoj nedelji. Kod kadifice, filtrata supstrata i vodi tokom nastavka ogleda nema značajnijeg piljenja.



Slika 40. Dinamika piljenja larvi drugog stupnja (L2) *Globodera rostochiensis* u ispitivanim test tečnostima izražena kroz prosečan broj nedeljno ispiljenih L2 za 8 ponavljanja u svakoj od test tečnosti.

Međutim, u test tečnostima domaćina KCN posle sedme nedelje počinje drugi talas piljenja koji u eksudatima sorti paradajza i plavog patlidžana doživljava vrhunac u osmoj nedelji. Vrhunac piljenja u test tečnosti *désirée* je nešto kasnije u 10. nedelji. Kod paradajza NS Jabučar javlja se i treći talas piljenja koji traje od 13. do 16. nedelje.

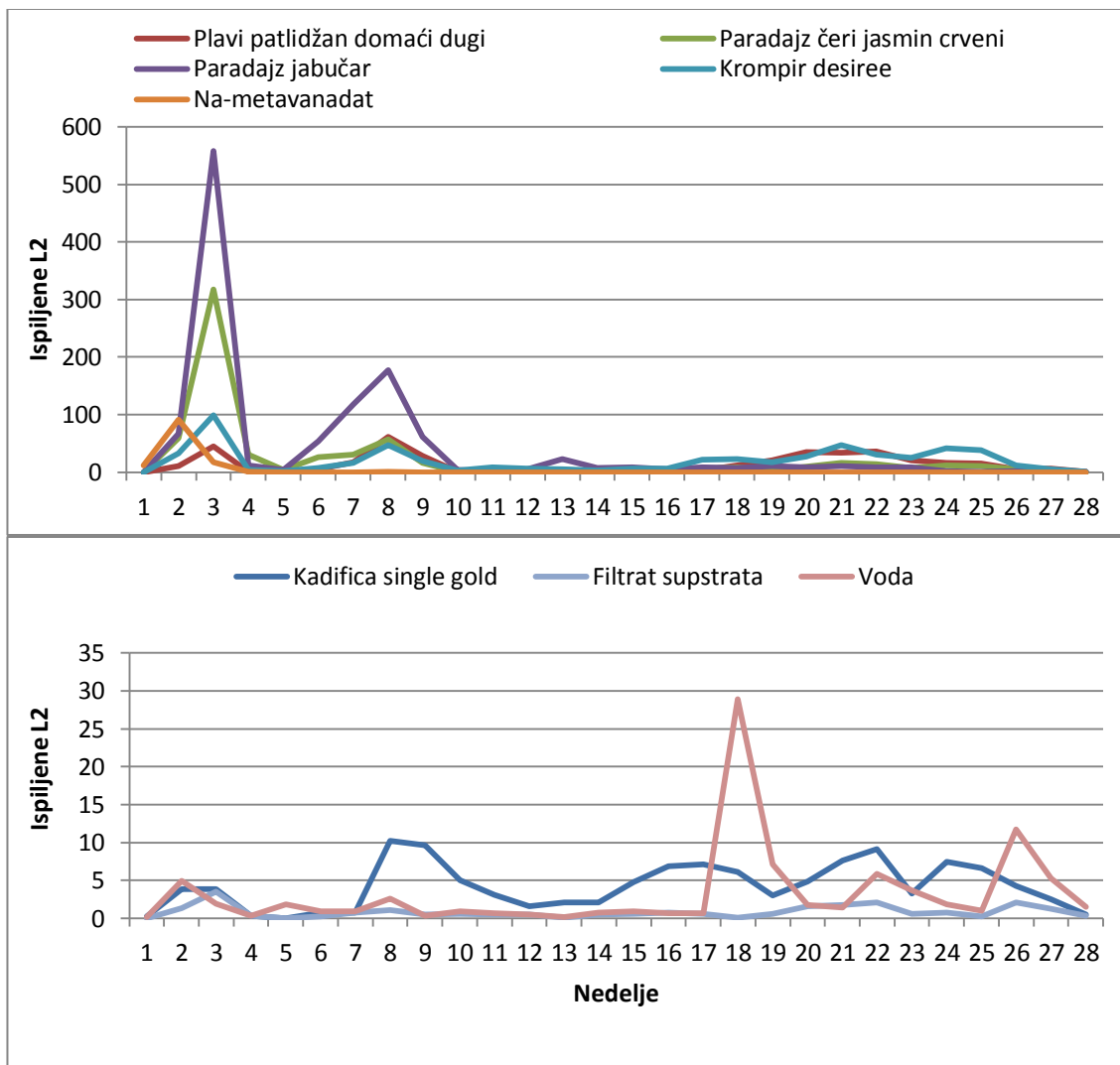
Ukupan broj ispiljenih L2 pokazuje najbolje piljenje *G. rostochiensis* u Na-metavanadatu i test tečnosti paradajza sorte jabučar i *désirée*. Nešto slabije je piljenje L2 izazvano korenskim eksudatima paradajza čeri a primentno najslabije, među domaćinima KCN, je u test tečnosti plavog patlidžana. Korenske lučevine *Tagetes patula* nisu izazvale piljenje L2 ove vrste statistički značajno veće u odnosu na negativnu kontrolu, vodu i filtrat supstrata (Slika 41).



Slika 41. Prosečan broj ukupno ispiljenih larvi drugog stupnja (L2) *Globodera rostochiensis* za 8 ponavljanja u svakoj od test tečnosti tokom 25 nedelja (različita slova predstavljaju postojanje statistički značajne razlike, $p < 0,01$).

Piljenje L2 *G. pallida* počinje prve nedelje samo u Na-metavanadatu a u svim ostalim test tečnostima od druge nedelje (Slika 42). Prvi talas piljenja traje do pete nedelje sa vrhuncem piljenja u Na-metavanadatu u drugoj i sa nedelju dana kasnijim zabeleženim

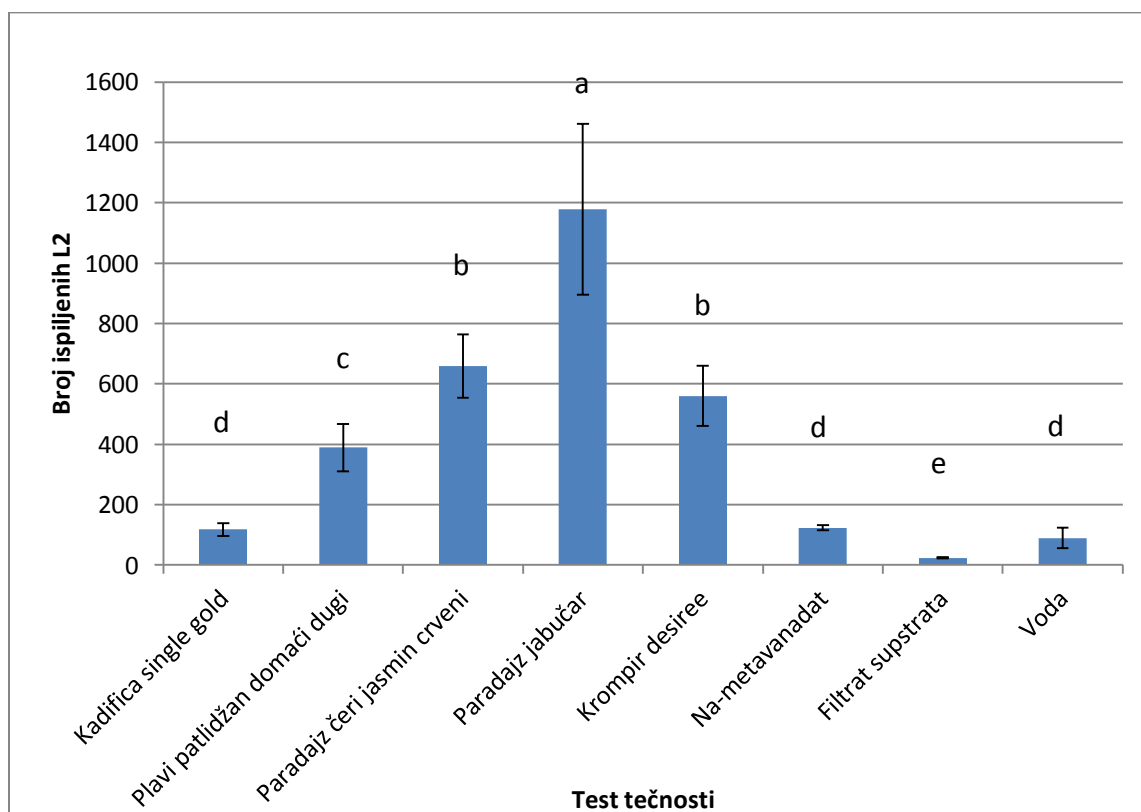
vrhuncima nego kod žute KCN u svim ostalim varijantama. Kod kadifice, filtrata supstrata i vodi tokom nastavka ogleda broj ispiljenih L2 je manje više konstantan osim u jednom ponavljanju u vodi koje uzrokuje vrhunac u 17. nedelji. Kao i kod *G. rostochiensis* i kod *G. pallida*, u test tečnostima domaćih sorti, javlja se drugi talas piljenja, koji u svim test tečnostima doživljava vrhunac u osmoj nedelji. Kod plavog patlidžana i krompira sorte *désirée* u svim ponavljanjima se javlja i treći talas piljenja koji traje od 17. do 26. nedelje.



Slika 42. Dinamika piljenja larvi (L2) iz cista *Globodera pallida* u ispitivanim test tečnostima u *in vitro* testu piljenja.

Za razliku od žute KCN ukupan broj ispiljenih L2 bele KCN je najveći u test tečnosti paradajza sorte jabučar (Slika 43). Gotovo upola slabije je piljenje L2 u test

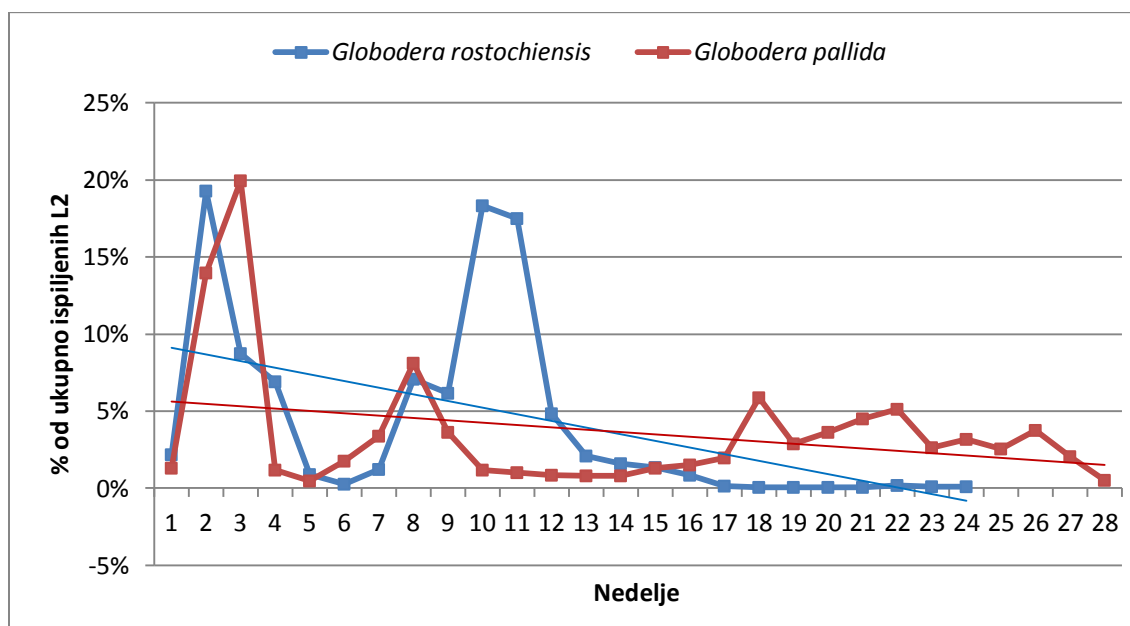
tečnostima sorte paradajza čeri i sorte krompira *désirée*. Među domaćinima KCN, korenski eksudati domaće sorte plavog patlidžana ispoljavaju najslabije stimulatívno dejstvo na piljenje L2 *G. pallida*, slično prethodno ispitivanoj vrsti KCN. Neočekivano je slabo piljenje L2 u veštačkom stimulatoru piljenja Na-metavanadatu koje se ne razlikuje značajno od onog u vodi. Korenske lučevine *Tagetes patula* kao ni u slučaju žute nisu izazvale piljenje L2 ni bele KCN. Filtrat supstrata ispoljio je slabo inhibitorno delovanje na L2 KCN (Slika 43).



Slika 43. Broj ukupno ispiljenih larvi drugog stupnja (L2) *Globodera pallida* u *in vitro* testu piljenja L2 u korenskim eksudatima ispitivanih biljaka (eksudat korena krompira sorte *désirée* i rastvor Na-metavanadata su pozitivne a voda negativna kontrola; različita slova predstavljaju postojanje statistički značajne razlike između test tečnosti, $p < 0,01$)

Na slici 44 prikazana je dinamika piljenja obe vrste KCN u test tečnosti krompira sorte *désirée*, izražena preko procentualnog učešća ispiljenih L2 u svakoj nedelji očitavanja rezultata od ukupno ispiljenih L2 tokom 28 nedelja. U prvom talasu piljenja od 1 do 4

nedelje, kod obe vrste KCN, ispiljeno je 36% L2 *G. rostochiensis* odnosno 37% od ukupno ispiljenih L2 *G. pallida*. U drugom talasu između 7. i 12. nedelje, primetna je velika razlika između vrsta KCN, gde je kod *G. rostochiensis* ispiljeno čak 52% L2 za razliku od bele KCN sa svega 17% izbrojanih L2 u ovom periodu. Od 17. nedelje kada gotovo prestaje piljenje L2 žute KCN, kod *G. pallida* tek otpočinje treći talas piljenja sa neočekivanih 43% registrovanih L2.

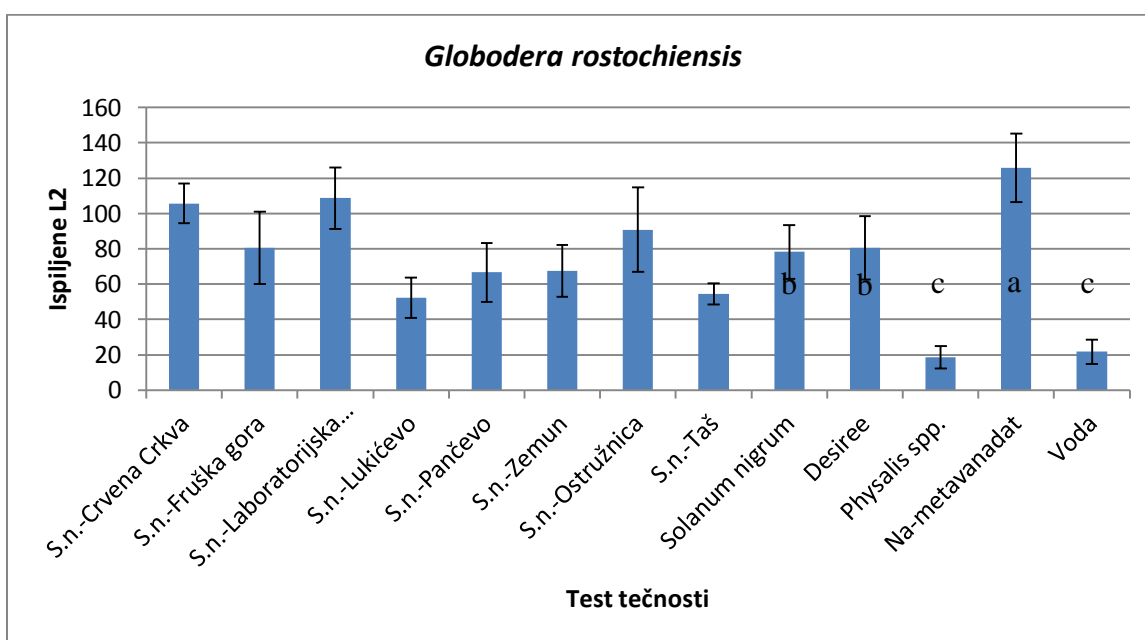


Slika 44. Dinamika piljenja larvi drugog stupnja (L2) *Globodera rostochiensis* i *G. pallida* u *in vitro* testu piljenja L2 u korenskom eksudatu krompira osetljive sorte *désirée*.

Test 2 - *Solanum nigrum* i *Physalis alkekengi*

U ogledu ispitivanja uticaja populacija divljih biljaka iz porodice Solanaceae, *Solanum nigrum* i *Physalis alkekengi*, na piljenje L2 KCN, koje mogu biti potencijalni korovi i mogući agensi kontrole KCN kao biljke klopke, tokom 12 nedelja trajanja ogleda se ispililo relativno mali broj L2 obe vrste KCN. Međutim, neočekivano, i u pozitivnoj kontrolnoj test tečnosti *désirée* ispililo se ispod 10% L2 *G. rostochiensis* i oko 30% L2 *G. pallida*.

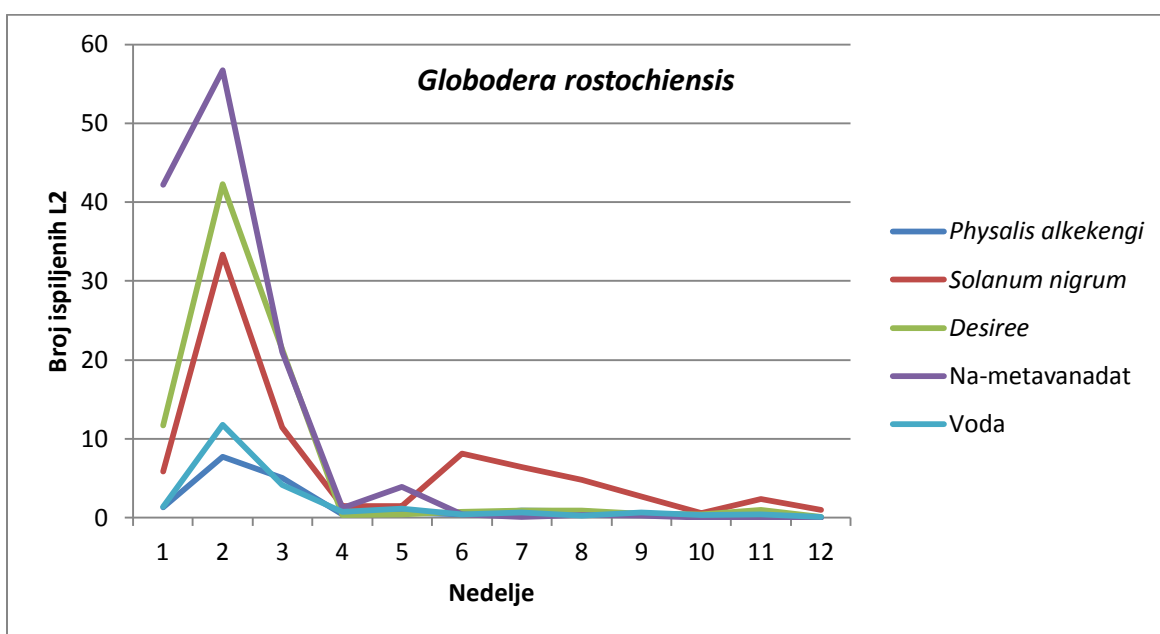
Na slici 45 je prikazan prosečan broj ukupno ispiljenih larvi drugog stupnja *Globodera rostochiensis* u ispitivanim test tečnostima. I pored neuobičajeno skromnog broja ispiljenih L2 ove vrste KCN dobijene su statistički značajne razlike između pozitivnih, *désirée* i Na-metavanadat, i negativne kontrole odnosno vode. Između prosečne vrednosti ukupnog piljenja u svim ponavljanjima za sve populacije *S. nigrum* i piljenja L2 u test tečnosti *désirée*, nije bilo statistički značajne razlike ($P=0,09$). Takođe korenski eksudati *Ph. alkekengi* nisu izazvali statistički brojnije piljenje od onog u vodi koje je u oba slučaja bilo ispod 1,5%. Polovina populacija *S. nigrum* izazvala je veće piljenje L2 nego sorta krompira *désirée*.



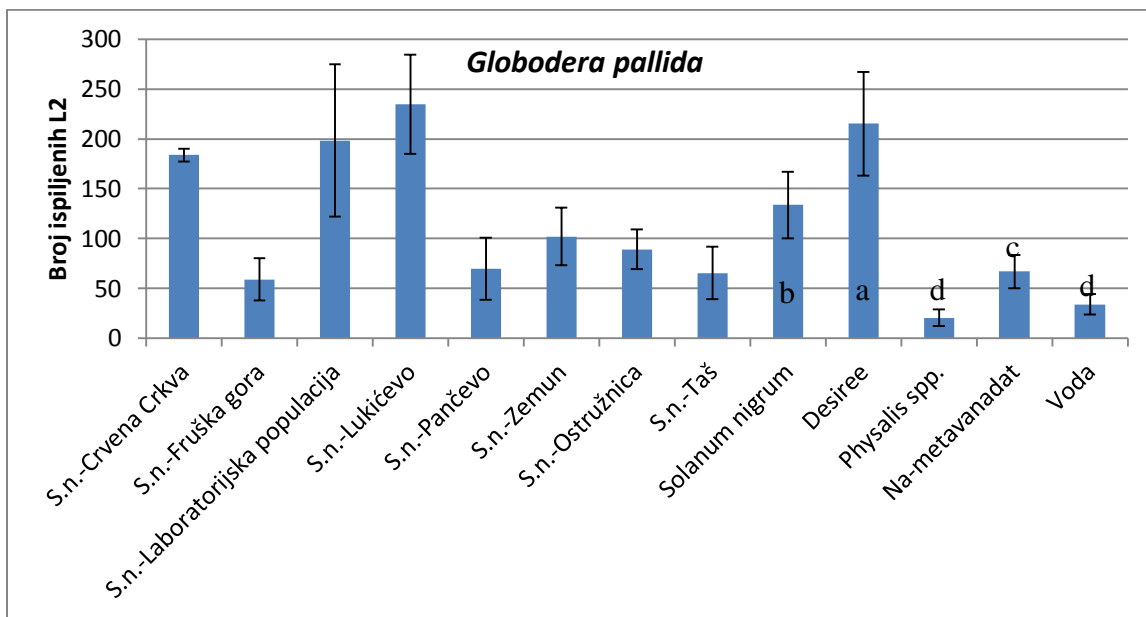
Slika 45. Broj ukupno ispiljenih larvi drugog stupnja (L2) *Globodera rostochiensis* u *in vitro* testu piljenja L2 u korenskim eksudatima ispitivanih biljaka (eksudat korena krompira sorte *désirée* i rastvor Na-metavanadata su pozitivne a voda negativna kontrola; različita slova predstavljaju postojanje statistički značajne razlike između tretmana, $p<0,01$).

Na slici 46 prikazana je vremenska dinamika piljenja L2 žute KCN. U svim varijantama se javlja prvi vrhunac piljenja u drugoj nedelji od početka eksperimenta sa blagim drugim talasom piljenja samo u slučaju test tečnosti *S. nigrum* koji beleži vrhunac u šestoj nedelji.

Kao i u slučaju sa žutom KCN u svim tretmanima piljenje L2 bele KCN je bilo statistički značajno intenzivnije nego u vodi. Takođe, L2 i *G. pallida* nisu stimulisane lučevinama korena *Ph. alkekengi* i broj ispiljenih se nije razlikovao od broja spontano ispiljenih u vodi (Slika 47). Piljenje L2 u Na-metavanadatu je bilo slabije nego kod *G. rostochiensis*. Lučevine korena populacija *S. nigrum* su za razliku od prethodno ispitivane vrste KCN izazvale mnogo varijabilnije piljenje L2 bele KCN. Tri populacije koje su i kod žute KCN izazvale piljenje L2 slično onom u *désirée* i kod *G. pallida* populacije *S. nigrum* iz Crvene Crkve, Lukićeva i laboratorijska populacija su bile na istom nivou, izazivajući u proseku duplo intenzivnije piljenje L2 nego ostale *S. nigrum* populacije.



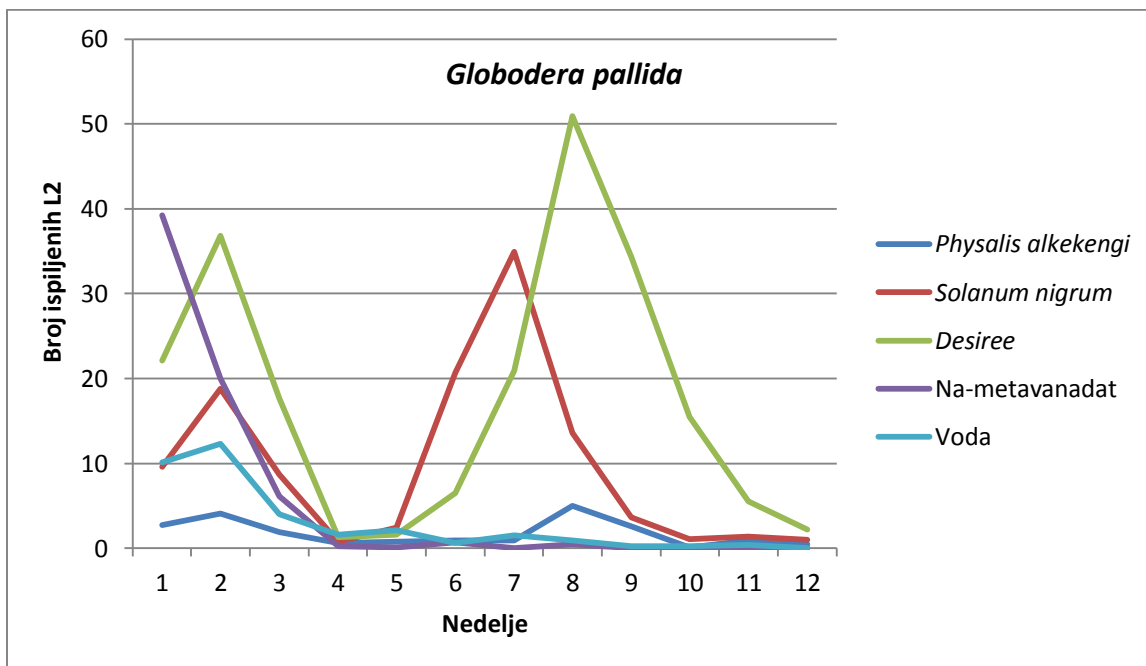
Slika 46. Dinamika piljenja larvi drugog stupnja (L2) *Globodera rostochiensis* u *in vitro* testu piljenja L2 u korenskim eksudatima ispitivanih biljaka (eksudat korena krompira sorte *désirée* i rastvor Na-metavanadata su pozitivne a voda negativna kontrola).



Slika 47. Broj ukupno ispiljenih larvi drugog stupnja (L2) *Globodera pallida* u *in vitro* testu piljenja L2 u korenskim eksudatima ispitivanih biljaka (eksudat korena krompira sorte *désirée* i rastvor Na-metavanadata su pozitivne a voda negativna kontrola; različita slova predstavljaju postojanje statistički značajne razlike, $p < 0,01$)

Vremenska dinamika piljenja L2 *G. pallida* se razlikovala od onog kod *G. rostochiensis*. Naime, piljenje L2 bele KCN u Na-metavanadatu ima vrhunac već u prvoj nedelji. Larve ove vrste se pile i u drugom talasu koji počinje u šestoj nedelji a završava se u 10. kod *S. nigrum* odnosno 12. nedelji kod sorte krompira *désirée* (Slika 48). Primetno je i blago intenziviranje piljenja L2 kod *Ph. alkekengi* u 8. i 9. nedelji, međutim, javlja se samo u jednom ponavljanju koje utiče na prosečnu vrednost, dok je kod svih ostalih blisko nuli.

Pošto je primećena neočekivano velika varijabilnost među preostalim cistama iz populacije cista KCN koje su korišćene kao inokulum, primećeno je da je primetan broj pravilno okruglih i naizgled punih i vitalnih cista, potpuno prazan, bez sadržaja i sa jasnim pokazateljima ishrane nekih zemljišnih artropoda i vidljivim okruglastim izgrizlinama kutikule.

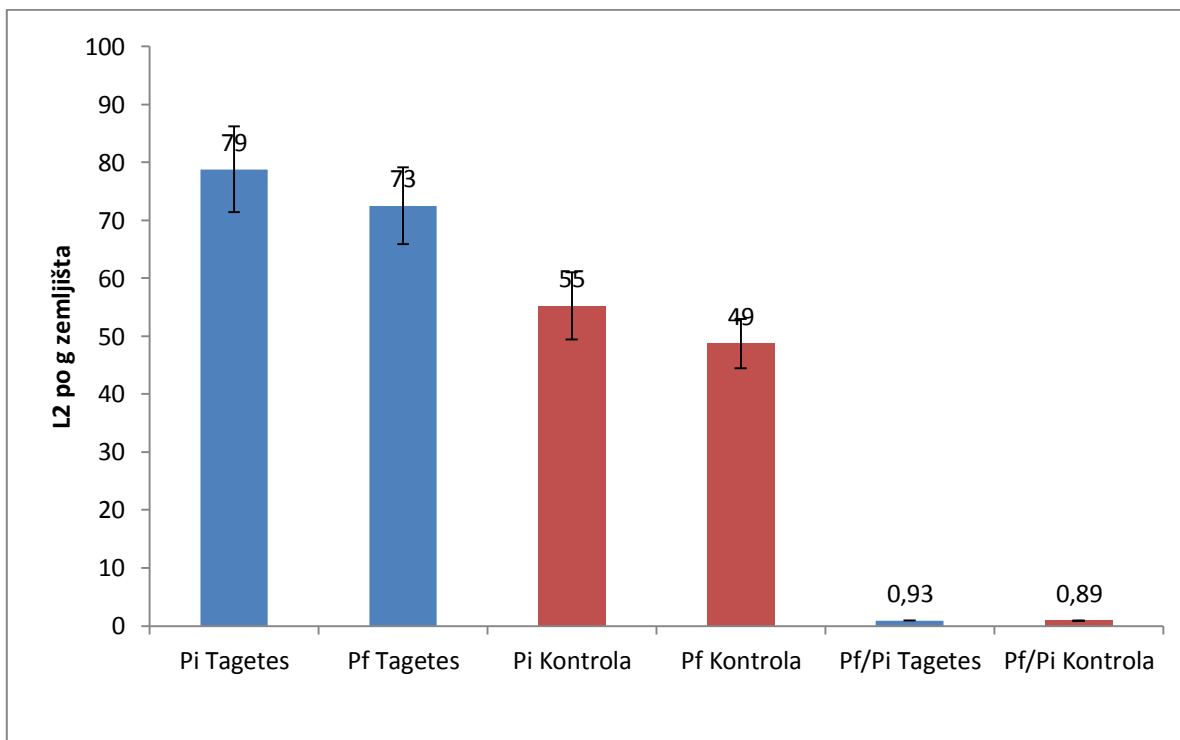


Slika 48. Dinamika piljenja larvi drugog stupnja (L2) *Globodera pallida* u *in vitro* testu piljenja L2 u korenskim eksudatima ispitivanih biljaka (eksudat korena krompira sorte *désirée* i rastvor Na-metavanadata su pozitivne a voda negativna kontrola).

4.4.2 Ispitivanje uticaja *Tagetes patula* na populaciju *G. rostochiensis* u mikroplot ogledu

U ovom ogledu ispitane su kontradiktorne informacije iz literature o uticaju kadifice na KCN, koja je pokazala nematocidno i nematostatičko delovanje prema nekim vrstama nematoda.

Ispitivanje uticaja *Tagetes patula* na populaciju žute KCN pokazalo je da korenski eksudati ove biljke nisu stimulatивно uticali na piljenje L2 *G. rostochiensis*. Zabeleženo je smanjenje gustine populacije od oko 7%, koje se nije statistički značajno razlikovalo ($p=0,47$) od onog u kontrolnom tretmanu u parlogu koje je iznosilo 11%.



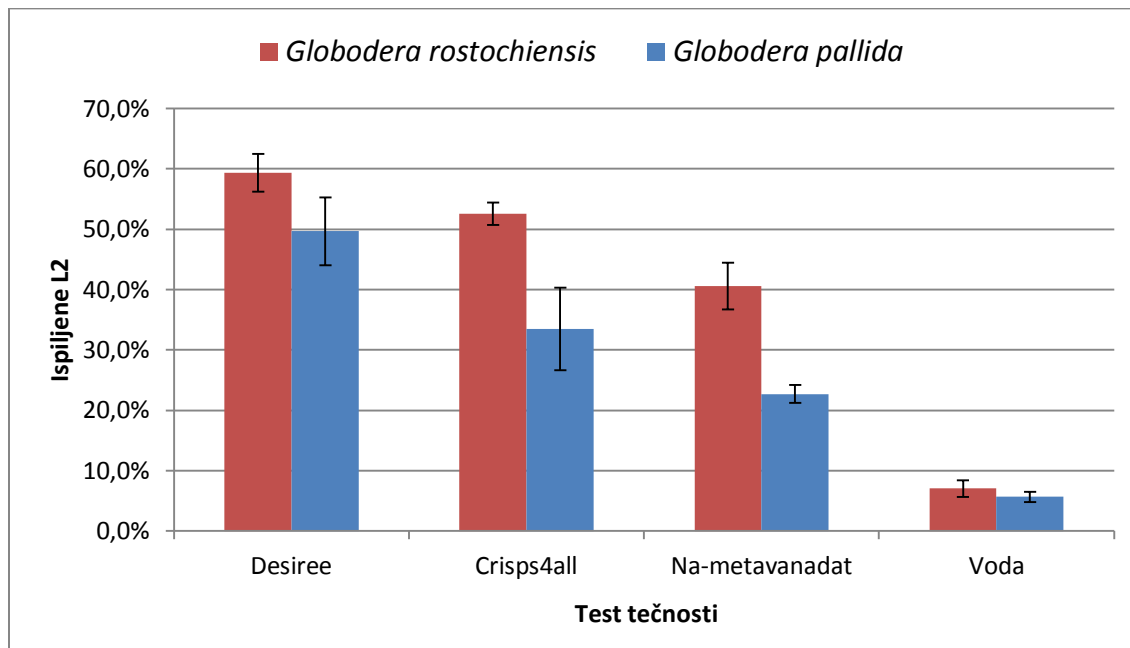
Slika 49. Početne (Pi) i krajnje (Pf) vrednosti gustine populacije *Globodera rostochiensis* i Pf/Pi vrednosti neispiljenih L2/g zemljišta u mikroplot eksperimentu ispitivanja uticaja gajenja *Tagetes patula* (9 biljaka/m²) i kontrolnom tretmanu bez biljaka.

Test 3 - krompir, sorta *crisps4all*

U *in vitro* testu piljenja L2 KCN ispitan je uticaj korenskih eksudata otporne sorte krompira *crisps4all*, koja za uspešno korišćenje u aktivnom suzbijanju KCN kao biljka klopki, treba da utiče na visok stepen piljenja L2 KCN.

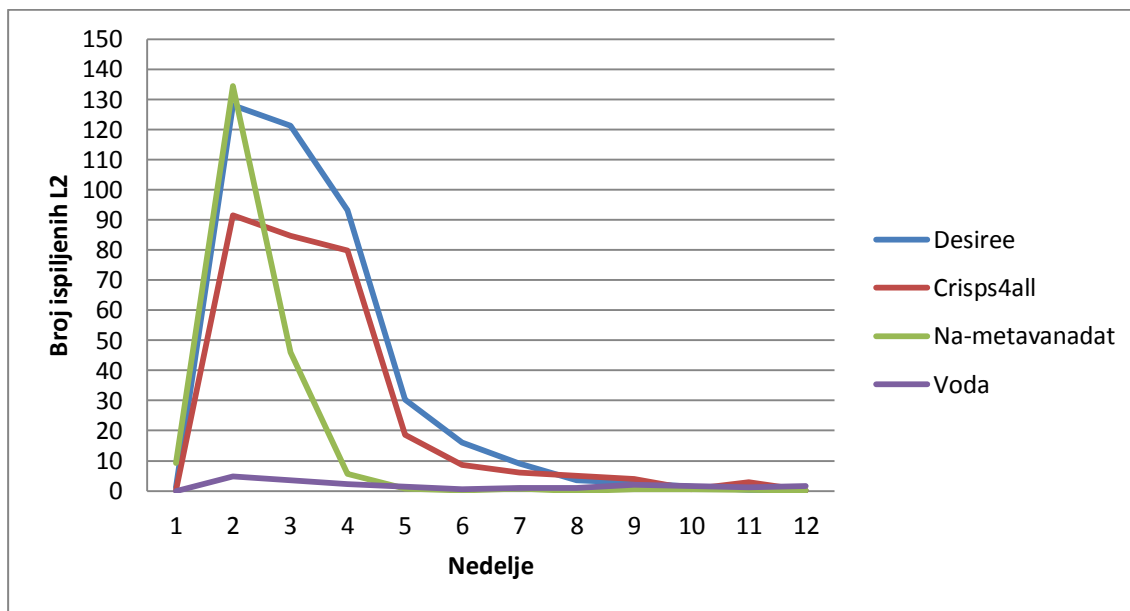
Utvrđeno je da u svim test tečnostima osim u vodi, piljenje L2 žute KCN je većeg intenziteta od onog kod *G. pallida* (Slika 50). Kod obe vrste KCN najintenzivnije je piljenje L2 u test tečnosti krompira sorte *désirée*, potom u test tečnosti *crisps4all* i najmanje u Na-metavanadatu. Sva tri tretmana se statistički vrlo značajno razlikuju od piljenja L2 u vodi ($p < 0,01$). Najupadljivija razlika između vrsta KCN je u Na-metavanadatu. Broj ispiljenih L2 *G. rostochiensis* se ne razlikuje mnogo u eksudatima korena osetljivog i

otpornog krompira. Kod *G. pallida* broj ispiljenih L2 u test tečnosti *crisps4all* je za oko trećine manja od onog izazvanog lučevinama korena krompira sorte *désirée*.

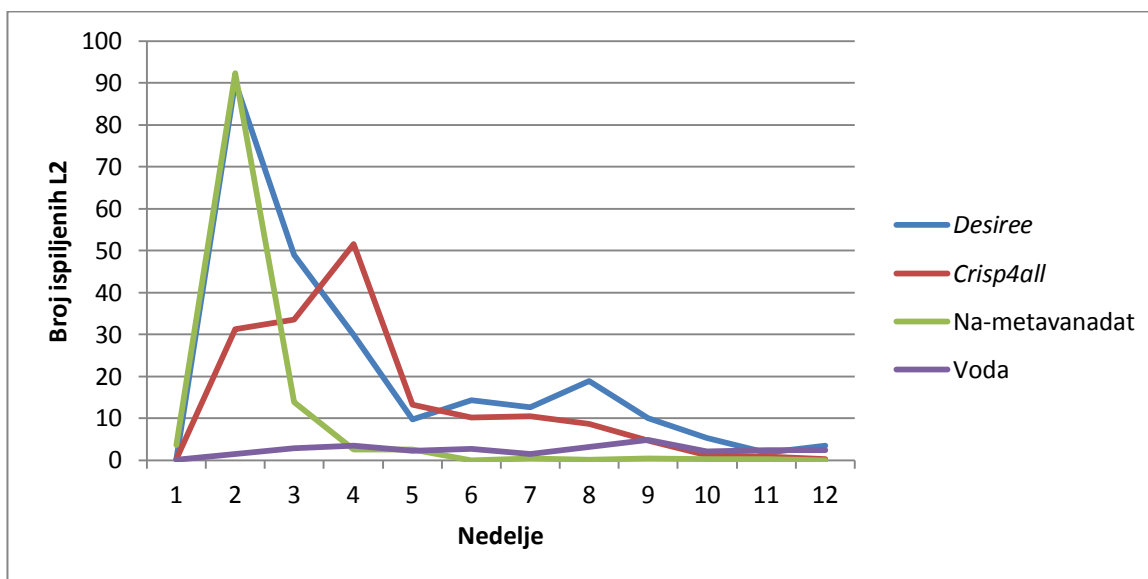


Slika 50. Procenat larvi drugog stupnja (L2) ispiljenih iz cista *Globodera rostochiensis* i *G. pallida* u *in vitro* testu piljenja L2 u korenskom eksudatu krompira otporne sorte *crisps4all* (eksudat korena krompira sorte *désirée* i rastvor Na-metavanadata su pozitivne a voda negativna kontrola).

U svim varijantama kod obe vrste KCN piljenje L2 počinje u prvoj nedelji (slike 51 i 52). Samo jedan talas piljenja se javlja u svim tretmanima i traje dve nedelje duže kod *G. pallida* završavajući se sa 10. nedeljom od početka oglada. Kod obe vrste u svim tretmanima se vrhunac piljenja javlja u drugoj nedelji osim kod *G. pallida* i *crisps4all* u četvrtoj nedelji po početku eksperimenta. Kod bele KCN u test tečnosti *désirée* javlja se i drugi vrhunac piljenja L2 u osmoj nedelji. Piljenje L2 ove vrste u test tečnosti krompira otporne sorte *crisps4all* je intenzivnije nego kod *G. rostochiensis* u periodu između 5. i 9. nedelje, međutim, bez uočljivog vrhunca kao u test tečnosti krompira osetljive sorte *désirée* (Slika 52).



Slika 51. Dinamika piljenja larvi drugog stupnja (L2) *Globodera rostochiensis* u *in vitro* testu piljenja u korenskim eksudatima krompira otporne sorte *crisps4all*, osetljive sorte *désirée*, rastvoru Na-metavanadata i vodi.



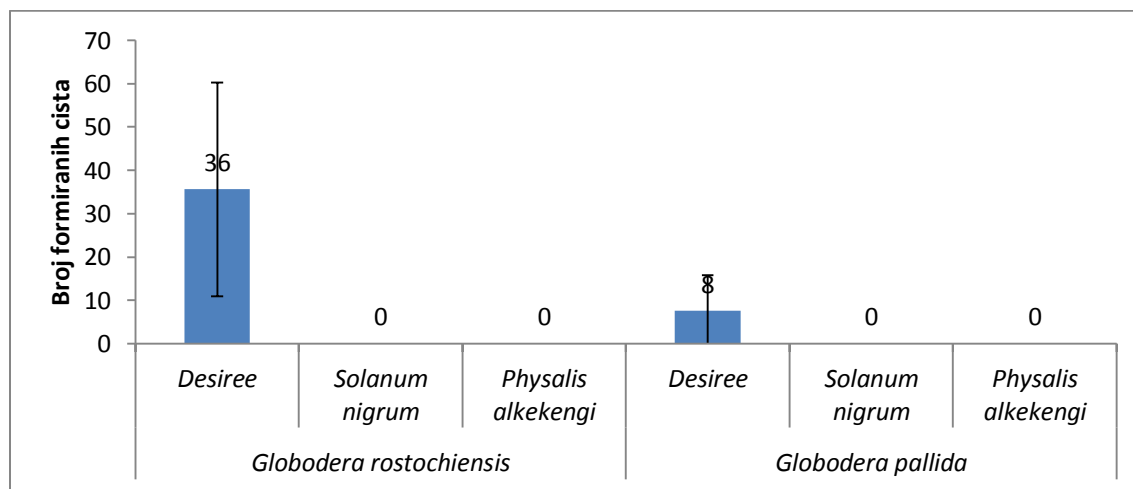
Slika 52. Dinamika piljenja larvi drugog stupnja (L2) *Globodera pallida* u *in vitro* testu piljenja u korenskim eksudatima krompira otporne sorte *crisps4all*, osetljive sorte *désirée*, rastvoru Na-metavanadata i vodi.

4.4.3 Biotestovi ispitivanja otpornosti nekih biljaka prema KCN

Ispitivanje otpornosti *Solanum nigrum* i *Physalis alkekengi*

Da bi se ispitaio rizik za uvećanje populacija KCN na osetljivoj korovskoj flori, u biotestovima otpornosti saksijskog tipa metodološki opisanih u poglavlju 3.5.3, za domaće populacije korovske vrste *Solanum nigrum* utvrđen je status ove vrste kao domaćina KCN, za koju postoje literaturni navodi o malobrojnim populacijama koje su domaćini KCN. Sa istim ciljem utvrđena je i otpornost *Ph. alkekengi*.

Sve domaće populacije korovske vrste *Solanum nigrum* i populacija *Physalis alkekengi* su pokazale potpunu otpornost prema obe vrste KCN. Ni u jednom ponavljanju nije registrovana ni jedna novoformirana cista KCN (Slika 53). Uz velike varijacije između ponavljanja, zabeleženo je skromno uvećanje cista *G. rostochiesis* od oko 3,5 puta i minimalno umnožavanje, od svega 0,8 puta, cista *G. pallida*.

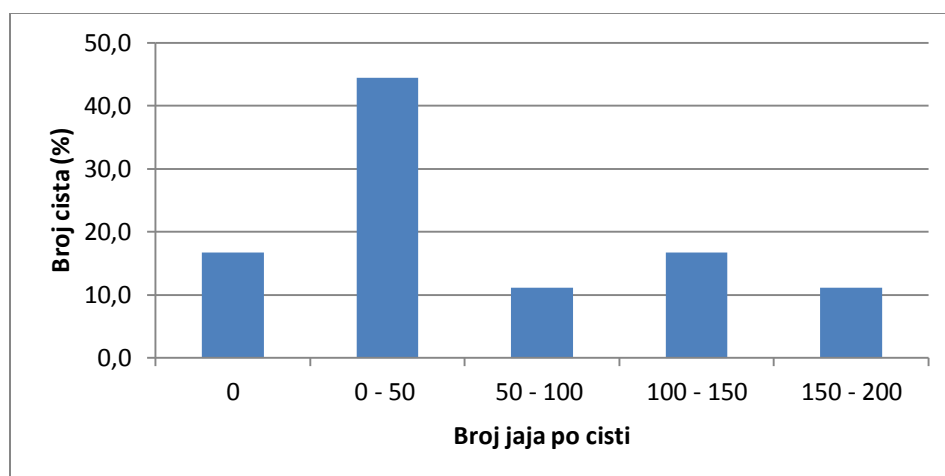


Slika 53. Prosečan broj formiranih cista KCN nove generacije u biotestu ispitivanja otpornosti *Solanum nigrum* i *Physalis alkekengi* u 10 ponavljanja na svakoj od ispitivanih biljaka (inokulum činilo 10 cista po ponavljanju).

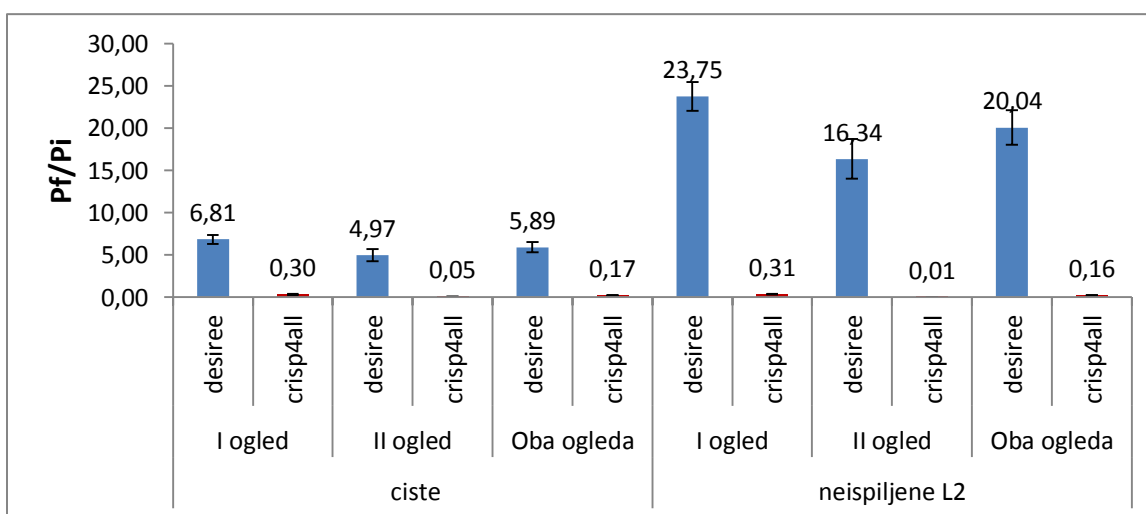
Ispitivanje otpornosti sorte krompira *crisps4all* prema *Globodera pallida*

Disekcijom i prebrojavanjem sadržaja novoformiranih cista, kod sorte *crisps4all* utvrđeno je da su ciste sadržale manji broj jaja od onih formiranih na sorti *désirée*. Vitalan

sadržaj prosečne ciste formirane na sorti *crisps4all* iznosio je 64,11 L2/cisti za razliku od 246 L2/cisti kod sorte *désirée*. Distribucija frekvencija arbitrarnih kategorija cista formiranih na *crisps4all*, podeljenih na osnovu broju jaja po cisti, prikazana je na slici 54. Preko 60% cista sadrži manje od 50 jaja a oko 15% ne sadrži vitalna jaja uopšte. Među takvim cistama bilo je onih u kojima su nalažene prazne jajne ljuske, iako su ciste izdvojene posle 15 nedelja, ali ih je većina bila bez ikakvog sadržaja.

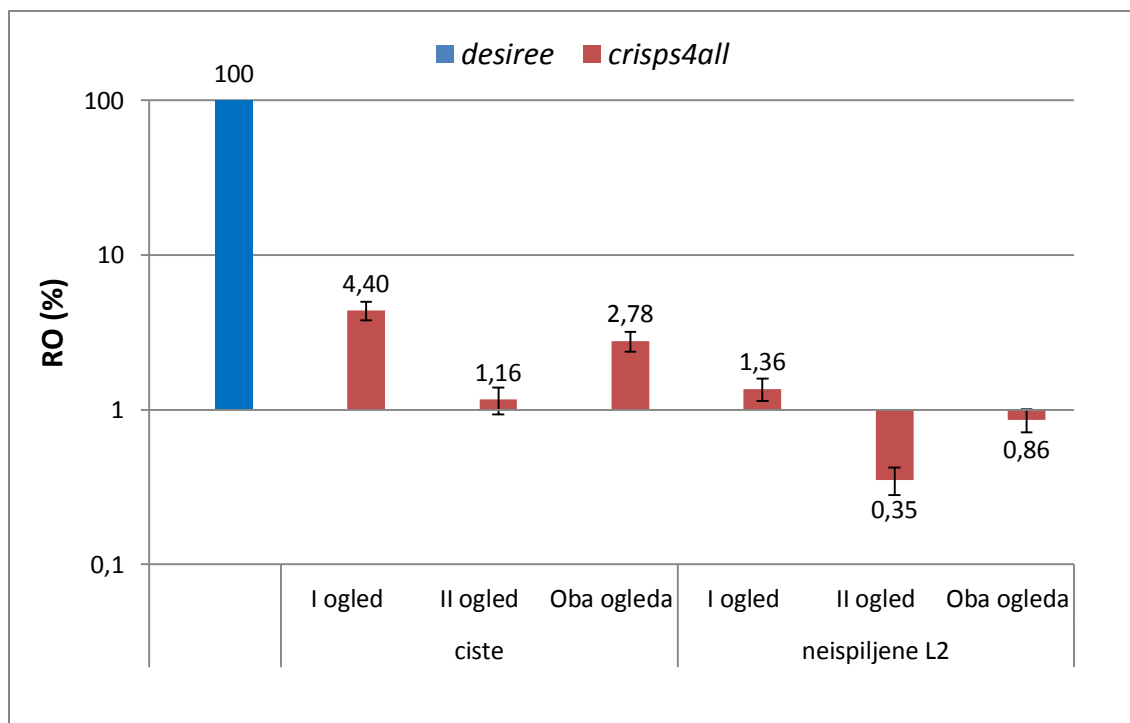


Slika 54. Relativna brojnost 5 arbitrarnih kategorija cista *Globodera pallida* različitog sadržaja formiranih na korenu otporne sorte *crisps4all*.



Slika 55. Stopa reprodukcije (Pf/Pi) *Globodera pallida* izražena preko broja cista i neispiljenih larvi (L2) na biljkama krompira osetljive sorte *désirée* i otporne sorte *crisps4all* u dva ogleda i kumulativno.

Rezultati prvog ogleda ispitivanja otpornosti sorte *crisps4all* prikazani su u okviru poglavlja 4.1.2. U drugom ogledu dobijena je nešto manja multiplikacija cista na obe sorte. Računanje stope reprodukcije (Slika 55) i relativne osetljivosti (Slika 56) na osnovu brojnosti L2 uticalo je na povećanje razlika između Pf vrednosti dobijenih na osetljivoj sorti krompira *désirée* i otpornoj sorti *crisps4all* odnosno na povećanje relativne osetljivosti *crisps4all*. Najupadljivija je razlika između relativne osetljivosti *crisps4all* izražena preko cista i L2 za oba ogleda. Kumulativno za oba ogleda relativna osetljivosti *crisps4all* izražena preko L2 iznosi 0,86, što po EPPO klasifikaciji (Anon., 2006) ovoj sorti daje najviši skor RO, 9.



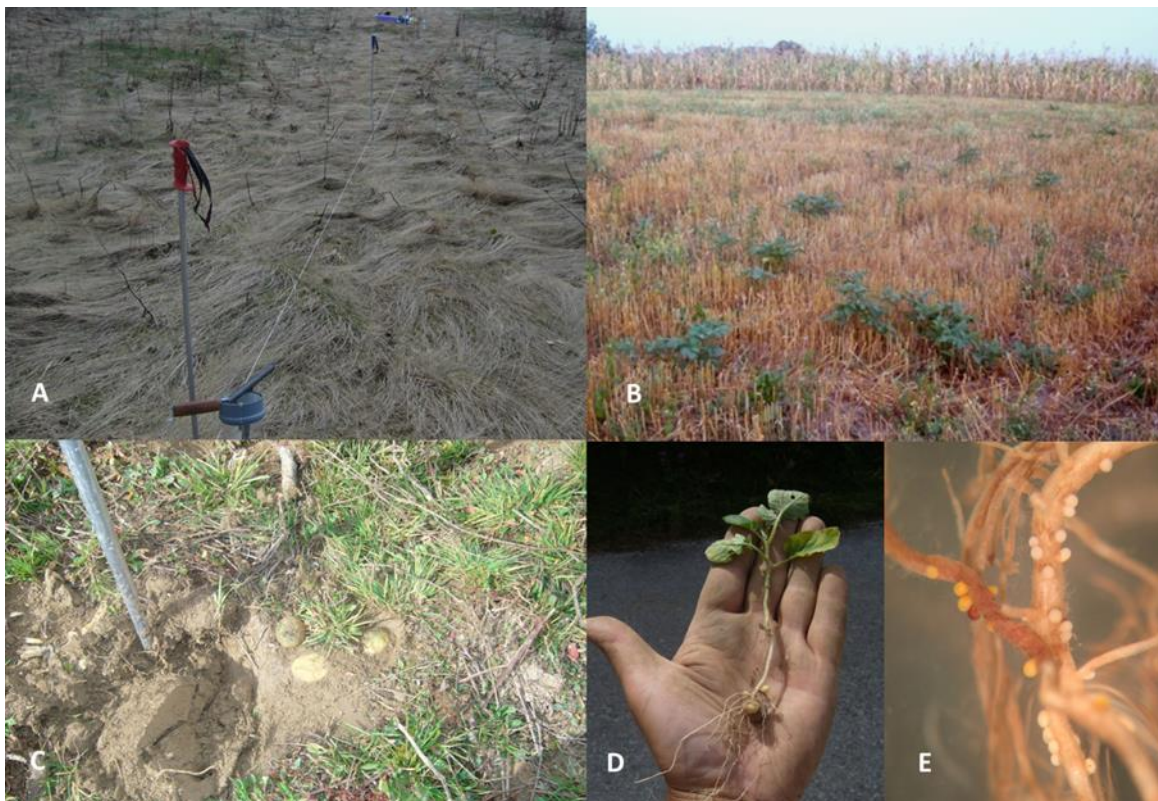
Slika 56. Relativna osetljivost (RO) sorte krompira *crisps4all* u odnosu na sortu *désirée*, izražena preko broja cista i neispiljenih larvi drugog stupnja (L2) *Globodera pallida* u dva ogleda i kumulativno.

4.5 Održivi modaliteti suzbijanja KCN u zapadnoj Srbiji

U narednim potpoglavljima opisani su rezultati optimizacije aktivnog suzbijanja KCN uzgajanjem otpornih sorti krompira, pasivnog suzbijanja, parloženjem, i njihovog kombinovanja, na tri parcele u različitim režimima i poznatom istorijom ratarenja i gajenja osetljivih sorti krompira prema KCN.

4.5.1 Višegodišnje praćenje efekata pasivnog i aktivnog suzbijanja KCN na zaraženim parcelama

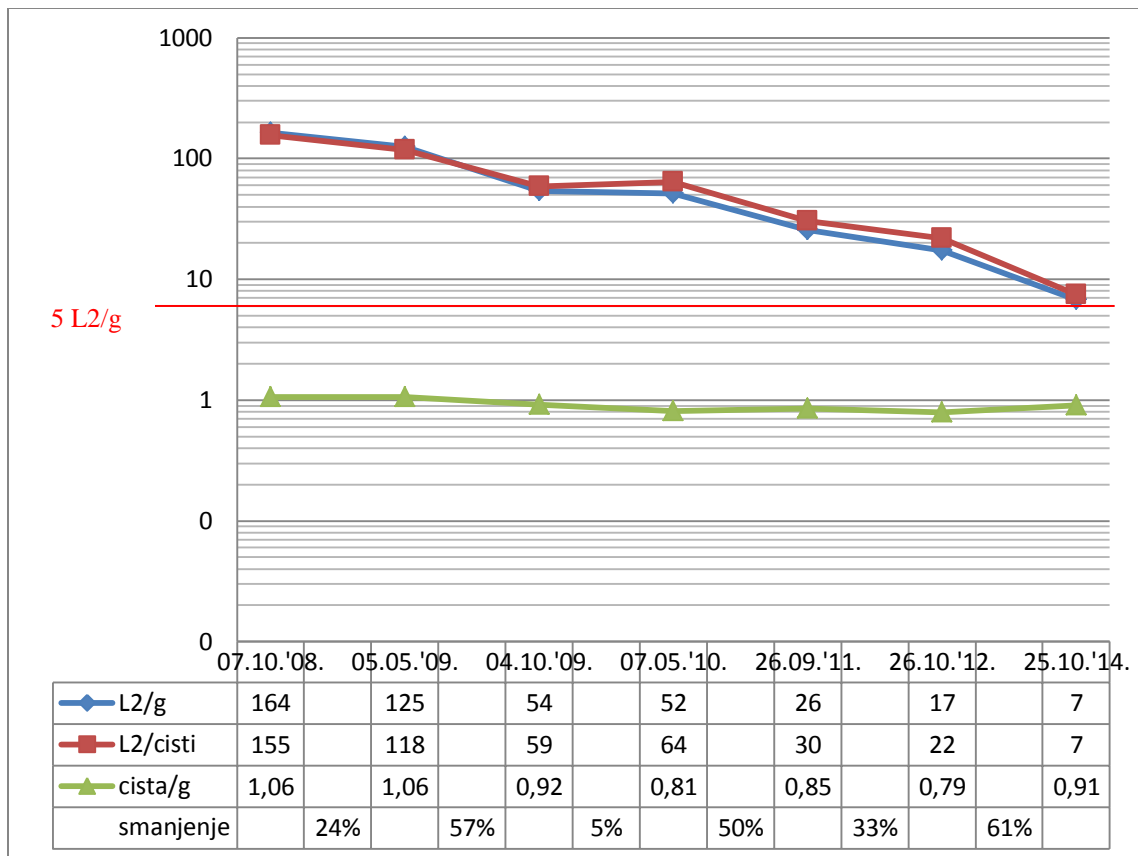
Kroz praćenje populacija KCN metodom linijskog transekta (poglavlje 3.6, slika 57 A) na odabranim lokalitetima, Ponikve sa žutom i Ograđenik sa belom KCN, utvrđene su promene vitalnosti i gustina populacija na infestiranim parcelama koje su podvrgnute nekom od osnovnih metoda suzbijanja KCN ili njihovom kombinacijom tokom višegodišnjeg perioda. Parcela KP 6 na Javoru je posle osetljive sorte krompira 2005. godine bila svo vreme uparložena u službenom režimu eradikacije a na parceli Lubenac su se smenjivale otporne i osetljive sorte krompira i druge ratarske kulture. Na obe parcele utvrđeno je prisustvo samoniklih biljaka osetljivih sorti krompira (Slika 57).



Slika 57. A- metod linijskog transekta, B- samonikle biljke krompira u strnjištu na Ponikvama, C- krtole samoniklog krompira osjetljive sorte *kennebek* na Ograđeniku, D-samonikla biljka krompira sorte *kennebek* izrasla iz minijaturne krtole i E- bele i žute ženke i jedna braon cista *Globodera rostochiensis* na korenu samoniklog krompira.

4.5.1.1 *Globodera rostochiensis*, patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve

Registrovane vrednosti populacionih parametara u posmatranim terminima tokom šest godina monitoringa *G. rostochiensis* metodom linijskog transekta prikazani su na slici 58. Piljenje L2 iz cista je primetno i tokom jeseni 2008. i proleća 2009. gde se u pomenutom periodu beleži smanjenje vitalnosti od 24%. Smanjenje gustine populacije bilo je najveće tokom prve godine posle gajenja osjetljive sorte *désirée* u 2008., i iznosilo 67% u periodu oktobar 2008.-oktobar 2009. Tokom naredne dve godine populacija žute KCN se smanjuje za oko 30% godišnje a u poslednje tri godine posmatranja se beleži pad gustine populacije od oko 33% na godišnjem nivou.



Slika 58. Populaciona dinamika *Globodera rostochiensis* tokom 6 godina na lokalitetu Ponikve, izražena preko L2/cisti, cista i L2/g zemljišta i smanjenja gustine populacije (L2/g) između termina posmatranja (crvena linija predstavlja ekonomski prag štetnosti od 5 L2/g po Whitehead, 1995).

Smanjenje gustine cista bilo je manje od 3% godišnje sa ukupnim smanjenjem od 16% nakon šest godina i nije značajno uticalo na pad vitalnosti izračunate po masi zemljišta. Vitalnost cista se smanjuje sa početnih 155 L2 po cisti relativne vitalnosti oko 70% u jesen 2008, na oko 7 L2 po prosečnoj cisti relativne vitalnosti oko 3%. Prosečno godišnje smanjenje gustine populacije tokom šest godina praćenja, pod delimičnim uticajem otporne sorte krompira tokom dve godine, jedne godine gajenja osetljive sorte krompira i tri godine bez domaćina iznosilo je 40%. Pad populacije u uparloženom zemljištu bio je 33% na godišnjem nivou.

Tabela 15. Relativna brojnost cista i neispiljenih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* po kategorijama vitalnosti tokom šest godina monitoringa populacione dinamike na lokalitetu Ponikve.

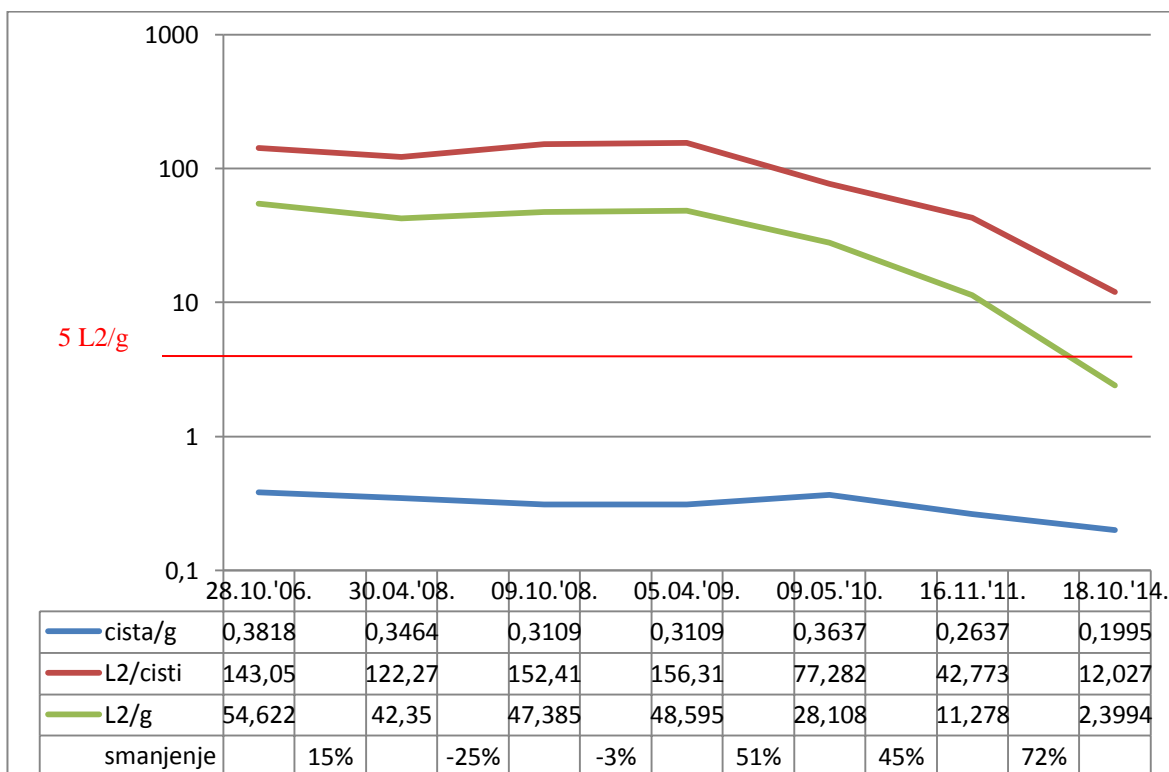
Kategorije vitalnosti	07.10. '08.	05.05. '09.	04.10. '09.	07. 05. '10	26.09. '11.	26.10. '12.	25.10. '14.
L2 po kategoriji vitalnosti (%)	I	0	0	0	0	0	0
	II	1	0	2	1	4	3
	III	1	0	6	10	28	30
	IV	3	2	60	52	45	67
	V	51	58	32	37	23	0
	VI	44	40	0	0	0	0
Ciste po kategoriji vitalnosti (%)	I	18	34	38	30	50	90
	II	2	2	12	8	12	2
	III	8	0	14	12	20	6
	IV	4	4	30	34	10	2
	V	40	38	6	16	8	0
	VI	28	22	0	0	0	0

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja.

Slični trendovi smanjenja vitalnosti populacije *G. rostochiensis* javljaju se i pri posmatranju promena kategorija vitalnosti cista po posmatranim terminima (Tabela 15). Sa vremenom dolazi do postepenog smanjivanja učešća visoko vitalnih cista i povećanja učešća cista iz nižih kategorija. U oktobru 2008. oko 70% cista u uzorku čine ciste iz kategorija V i VI koje sadrže 95% vitalne populacije uzorka sa nakon 6 godina, kategorija V i VI nema a 90% cista u uzorku su potpuno nevitalne. U oktobru 2012. posle useva osetljivog krompira sorte *désirée*, registruje se neočekivano mala vitalnost cista sa svega 2% potpuno vitalnih cista.

4.5.1.2 *Globodera pallida*, patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik

Promene vrednosti populacionih parametara u posmatranim terminima tokom osam godina monitoringa populacije *G. pallida* u linijskom transektu na parceli na lokalitetu Ograđenik prikazani su na slici 59.



Slika 59. Brojnost populacije *Globodera pallida*, izražena kroz L2/cisti, cista i L2/g zemljišta, i procentualno smanjenje gustine populacije (L2/g) između termina posmatranja na lokalitetu Ograđenik tokom osam godina parloga (crvena linija predstavlja ekonomski prag štetnosti od 5 L2/g po Whitehead, 1995).

U prve dve godine posmatranja zaključno sa prolećem 2009. dolazi do minimalnog pada gustine populacije od svega 7%. Do narednog proleća 2010. gustina populacije se smanjuje za 51% a tokom dve naredne vegetacione sezone za 45%. Ukupno smanjenje gustine populacije u poslednje tri godine iznosi 72%. Smanjenje gustine cista *G. pallida* posle osam godina bilo je 53% i značajnije je uticalo na pad vitalnosti izračunate po masi zemljišta, nego kod *G. rostochiensis*. Prosečno godišnje smanjenje gustine populacije posle 8 godina parloga iznosi 27% L2/cisti odnosno 32% L2/g zemljišta, a ukupno 92% L2/cisti odnosno 96% izraženo preko L2/g zemljišta.

Tabela 16. Relativan broj cista i neispiljenih larvi (L2) *Globodera pallida* po kategorijama vitalnosti tokom osam godina monitoringa populacione dinamike na lokalitetu Ograđenik.

	Kategorije vitalnosti c	28.10. '06.	30.04. '08.	09.10. '08.	05.04. '09.	09.05. '10.	16.11. '11.	18.10. '14.
Ciste po kategoriji vitalnosti (%)	I	18	24	4	2	26	52	90
	II	0	10	6	6	18	14	2
	III	8	2	8	8	22	8	0
	IV	14	10	10	14	18	12	4
	V	24	26	54	28	16	14	4
	VI	36	28	18	42	0	0	0
L2 po kategoriji vitalnosti (%)	I	0	0	0	0	0	3	0
	II	0	0	0	0	13	3	1
	III	1	1	2	2	9	6	0
	IV	9	8	6	9	26	27	50
	V	41	50	64	32	53	61	48
	VI	49	41	28	56	0	0	0

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja.

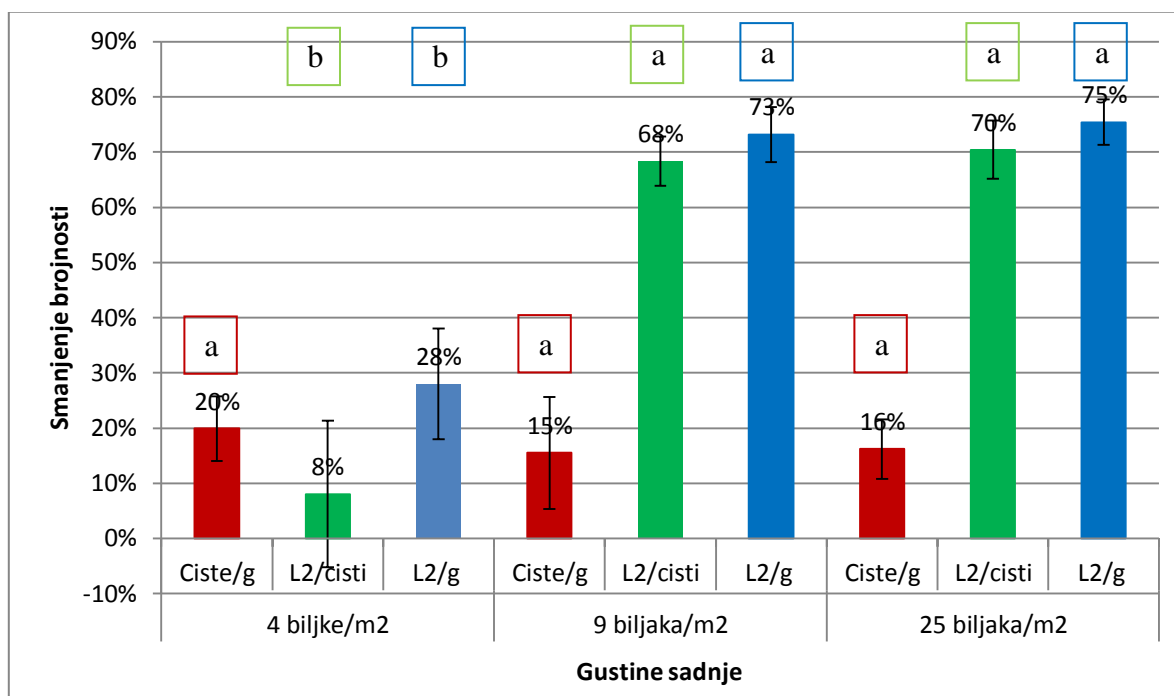
Relativna brojnost cista i L2 *G. pallida* po kategorijama vitalnosti u posmatranim terminima (Tabela 16) pokazuje da nije bilo značajnih promena u vitalnosti populacije tokom prve dve godine osim blagog smanjenja broja cista i L2 u okviru najvitalnije kategorije cista i proporcionalnog povećanja ovih vrednosti u okviru kategorije V. Kategorija VI isčezava tek sa početkom četvrte godine posmatranja kada počinje intenzivnije pražnjenje cista i iz ostalih kategorija vitalnosti. Sa pražnjenjem cista, kategorija potpuno nevitalnih cista se udvostručava na oko 50% s krajem pete godine posmatranja i dostiže 90% na kraju osme godine u oktobru 2014. Treba primetiti da se u poslednjih pet godina posmatranja, pet i više godina od poslednjeg osetljivog useva, učešće neispiljenih L2 u kategoriji V čini polovinu ukupne vitalnosti u uzorku.

4.5.2 Optimizacija gustine sadnje biljaka klopki za suzbijanje žute KCN

U preliminarnom ogledu eksperimentima aktivnog suzbijanja u proizvodnim uslovima, u mikroplot eksperimentu utvrđena je optimalna gustina sadnje biljaka otporne

sorte krompira *agria* kojom se postiže maksimalan efekat aktivnog suzbijanja *G. rostochiensis* na infestiranoj parceli.

Smanjenje broja cista *G. rostochiensis* u mikroplot ogledu ispitivanja optimalne gustine sadnje otporne sorte *agria* je bilo između 15 i 20% godišnje i nije se statistički značajno razlikovalo između varijanti gustine sadnje biljaka krompira (Slika 60).



Slika 60. Smanjenje brojnosti cista po g zemljišta, L2 po cisti i L2 po g zemljišta populacije *Globodera rostochiensis* u mikroplot ogledu sa različitim gustinama sadnje biljaka krompira otporne sorte *agria*. Različita slova ukazuju na postojanje statistički značajne razlike između tretmana ($p < 0,01$).

Pad vitalnosti populacije izražen preko L2/cisti i L2/g zemljišta u mikroplotovima gde je krompir sorte *agria* gajen na rastojanju od 1 m iznosio je oko 10% L2/ cisti odnosno oko 30% L2/g zemljišta i statistički se značajno razlikovao od pada gustine populacije u ostala dva tretmana gde je iznosio oko 70%. Između gustina sadnje od 9 i 25 biljaka/m² nije bilo statistički značajne razlike ni po jednom od parametara vitalnosti populacije.

Pošto su rezultati pokazali da nema statistički značajne razlike u efektu gustina sadnji od 9 i 25 biljaka/m² ni po jednom od parametara, promene vitalnosti sadržaja u okviru kategorija vitalnosti između Pi i Pf vrednosti prikazane su zajedno za obe gustine u tabeli

17 a ista analiza zasebno za ponavljanja sa gajenjem sorte *agria* na rastojanju od 1 m (Tabela 18).

Tabela 17. Procentualno učešće cista i invazivnih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* po kategorijama vitalnosti na početku (Pi) i kraju (Pf) mikroplot ogleda ispitivanja uticaja gustina sadnje od 9 i 25 biljaka po m² otporne sorte krompira *agria*.

Kategorije vitalnosti	Relativna vitalnost (v) kategorije	Cista po kategoriji			L2 po kategoriji		
		Pi	Pf	Pf/Pi	Pi	Pf	Pf/Pi
I	v = 0%	38,7±3,3% ^a	53,5±2,4% ^b	1.38	-	-	-
II	v ∈ (0, 10%]	10,7±1,8% ^a	26,5±1,9% ^b	2.48	2,5±0,7% ^a	17,3±3,3% ^b	6,81
III	v ∈ (10, 35%]	15,8±1,4% ^a	12,2±1,6% ^a	0.77	14,3±2,7% ^a	29,9±4,6% ^b	2,09
IV	v ∈ (35, 70%]	20,3 ±2,8% ^a	5,7±1,5% ^b	0.28	34,6±4,2% ^a	25,5±6,03% ^b	0,74
V	v ∈ (70, 95%]	13,3±1,8% ^a	1,5±0,6% ^b	0.11	39,5±3,8% ^a	14,5±5,8% ^b	0,37
VI	v ∈ (95, 100%]	1,2±0,5% ^a	0,7±0,4% ^a	0.57	9,0±3,6% ^a	12,7±7,0% ^a	1,41

Različita slova predstavljaju postojanje statistički značajne razlike između Pi i Pf vrednosti u okviru svake od kategorija vitalnosti ($p < 0,01$).

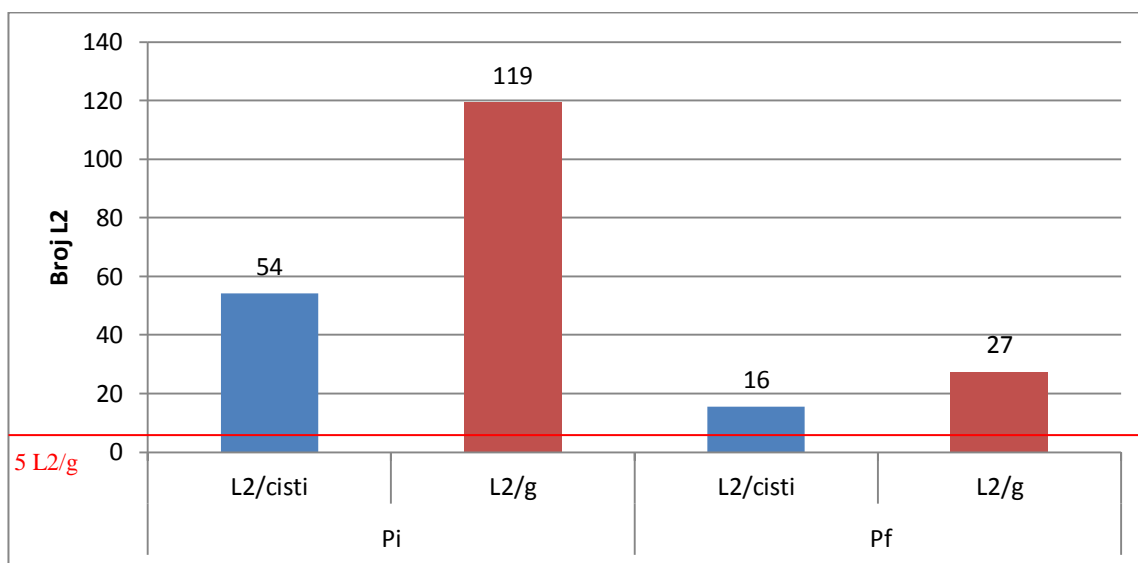
U varijantama gustine sadnje od 9 i 25 biljaka po m² najveći broj L2 se pilio iz kategorija V (70-95% vitalne ciste) i IV (30-70% vitalne ciste) sa Pf/Pi odnosima od 0,11 u kategoriji V i 0,28 u kategoriji IV. Najmanje smanjenje broja L2 zabeleženo na kraju vegetacije bilo je u kategoriji III (10-35% vitalne ciste) sa Pf/Pi odnosom od 0,77. Broj cista iz kategorija I i II se gotovo udvostručio. Pf vrednosti pokazuju prisustvo 2,2% cista iz kategorije V i VI (>70% vitalnog sadržaja) koje u sebi sadrže 25% ukupno prisutnih L2 (Tabela 17). Utvrđena je statistički značajna razlika između apsolutnih Pi i Pf vrednosti, i cista i L2, u kategorijama I, II, IV i V. Statistički se nisu značajno razlikovale Pi i Pf vrednosti u kategorijama III i VI. Kada je ANOVA primenjena na relativne Pi i Pf vrednosti, registrovana je razlika u kategoriji III sa L2/cisti ($P < 0.01$) ali ne i u relativnom broju cista po kategoriji ($P = 0.09$).

Tabela 18. Procentualno učešće cista i invazionih larvi (L2) *Globodera rostochiensis* po kategorijama vitalnosti cista u mikroplot ogledu sa gustom sadnje biljaka otporne sorte *agria* od 4 biljke po m² na početku (Pi) i kraju ogleda (Pf).

Kategorije vitalnosti	Relativna vitalnost (v) kategorije	Cista po kategoriji			L2 po kategoriji		
		Pi	Pf	Pf/Pi	Pi	Pf	Pf/Pi
I	v = 0%	27,67	30,67	1,11	-	-	-
II	v ∈ (0, 10%]	16,00	17,67	1,10	3,37	3,62	1,07
III	v ∈ (10, 35%]	21,00	18,33	0,87	15,64	18,24	1,17
IV	v ∈ (35, 70%]	26,00	26,33	1,01	51,26	65,85	1,28
V	v ∈ (70, 95%]	8,67	7,00	0,81	26,24	12,28	0,47
VI	v ∈ (95, 100%]	0,67	0,00	0,00	3,48	0,00	0,00

Kategorije vitalnosti: kategorija I- 0% vitalnog sadržaja, II-0-10% vitalnog sadržaja, III-10-35% vitalnog sadržaja, IV-35-70% vitalnog sadržaja, V-70-95% vitalnog sadržaja i VI -95-100% vitalnog sadržaja)

Jednogodišnje gajenje krompira otporne sorte *agria* u gustinama sadnje od 9 i 25 biljaka/m² (Slika 61) najintenzivnije je umanjilo brojnost populacije *G. rostochiensis* sa smanjenjem od početnih 54 L2/cisti i 119L2/g zemljišta na 16 L2/cisti odnosno 27 L2/g zemljišta.



Slika 61. Brojnost neispiljenih invazionih larvi (L2) po prosečnoj cisti i po g zemljišta pre (Pi) i posle (Pf) završetka ogleda u objedinjenim ponavljanjima sa gustinama sadnje od 9 i 25 biljaka krompira otporne sorte *agria* (crvena linija predstavlja ekonomski prag štetnosti od 5 L2/g po Whitehead, 1995)

4.5.3 Poljski ogled aktivnog suzbijanja *Globodera rostochiensis*, patotip Ro1 gajenjem otpornog krompira

U aprilu 2006. godine utvrđena gustina populacije na parceli Ispod Siminog spomenika iznosila je 1,7 cista/g zemljišta, 117,2 L2/cisti i 199,2 L2/g zemljišta. Kasnija uzorkovanja kada su postavljani ogledi sa otpornom sortom krompira *agria* na proleće 2010/2011 pokazala su da su ciste *G. rostochiensis* homogeno raspoređene po polju. Gustina populacije na početku eksperimenata (Pi) u 2010. na S2 iznosila je $3,7 \pm 0,54$ cista/g zemljišta, 42,8 L2/cisti i 159 ± 25 L2/g zemljišta. Slično je bilo stanje vitalnosti u proleće 2011. godine i na S1 sa $3,6 \pm 0,54$ cista/g zemljišta, 31,8 L2/cisti i 115 ± 17 L2/g zemljišta, a i S3 sa $3,1 \pm 0,81$ cista/g zemljišta, 31,8 L2/cisti i 98 ± 16 L2/g zemljišta (Tabela 19). Četiri odnosno pet godina nakon poslednjeg gajenja osetljivog domaćina 2005. godine, ciste su u proseku bile prililično ispražnjene sa prosečnom vitalnošću oko 25%. Međutim, zbog velike gustine cista parcela je u pogledu gustine L2 po g zemljišta i dalje bila vrlo visoko infestirana KCN.

Na delu parcele S2 tokom konvencionalnog gajenja sorte *agria* 2010. godine pad populacije *G. rostochiensis* izražen preko L2 po g zemljišta iznosio je 84% (Tabela 19). Tokom naredne godine prilikom nekonvencionalnog gajenja iste sorte populacija se smanjila, neočekivano, za samo 25%. Ukupan pad vitalnosti zaključno sa jeseni 2011. iznosio je 88%. Nakon treće vegetacione sezone, sa uzorkovanjem novembra 2012, koju je parcela provela u parlogu, populacioni pad iznosio je 90%, opet neočekivano, čineći krajnje smanjenje populacije KCN od aprila 2010 od 99%. Sledi neznatan pad populacije od manje od 20% tokom naredne dve godine, sa krajnjom vitalnošću u oktobru 2014. od gotovo 0,5% inicijalne, iznoseći svega 1,4 L2 po g zemljišta.

Na drugom delu parcele gde je ispitivan uticaj sorte krompira *agria* na smanjenje populacije, S1, posle konvencionalnog gajenja tokom 2011., populacioni pad KCN iznosi 79%, zaključno sa oktobrom 2011. Nakon naredne sezone u parlogu gustina populacije se smanjuje za dodatnih 26% a u naredne dve u istom režimu za još 66%. Ukupno smanjenje

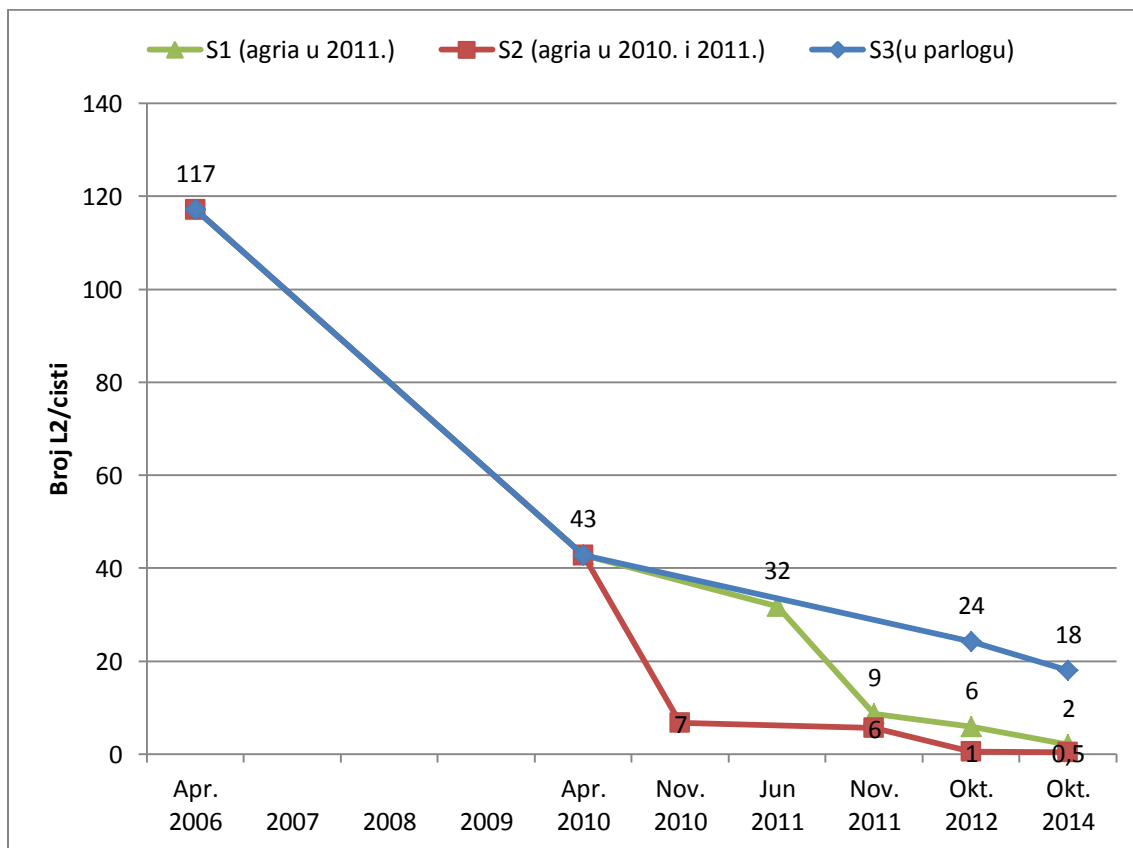
populacije *G. rostochiensis* na S1 u odnosu na proleće 2011 iznosi oko 95% sa registrovanih oko 5 L2 po zg zemljišta 2014. godine.

Tabela 19. Smanjenje populacije *Globodera rostochiensis* izraženo preko cista i L2 po g zemljišta na tri dela parcele Ispod Siminog spomenika, S1, S2 i S3 površine od po 0,5 ha

		S 1				S 2				S 3				
Termini uzimanja uzoraka	Gustina populacije	Aritm. sred.± stand. gr.	Procentualno smanjenje gustine populacije (L2/g)				Aritm. sred.± stand. gr	Procentualno smanjenje gustine populacije (L2/g)						
Proleće 2010. (Pi)	Cista/g	-----					3,7±0,54	84	88	99	99	-----		
	L2/g	-----					158,9±25					-----		
Jesen 2010. (Pf)	Cista/g	-----					3,4±0,44	88	99	99	99	-----		
	L2/g	-----					24,4±2,9					-----		
Proleće 2011. (Pi)	Cista/g	3,6±0,54	79	89	95	-----	25	88	99	99	99	3,1±0,81	22	41
	L2/g	114,8±17				-----						97,7±16		
Jesen 2011. (Pf2)	Cista/g	2,8±0,23	35	78	95	3,2±0,46	90	92	99	99	99	-----	24	
	L2/g	23,9±2				18,4±2,66						-----		
Jesen 2012. (Pf3)	Cista/g	2,6±0,35	66	78	95	3,1±0,44	16	92	99	99	99	3,2±0,15	24	
	L2/g	15,5±2,09				1,65±0,22						76,7±5,43		
Jesen 2014. (Pf3)	Cista/g	2,5±0,51	66	78	95	3,0±0,15	16	92	99	99	99	3,3±0,45	24	
	L2/g	5,23±1,05				1,40±0,07						58,6±8,07		

Zatamnjeno – period konvencionalnog gajenja sorte *agria*; srednje zatamnjeno – period nekonvencionalnog gajenja sorte *agria*; blago zatamnjeno – period u parlogu; nezatamnjeno – kumulativno smanjenje za dati period.

Kada je reč o vremenu kada je parcela ili delovi parcele bili u kontinuitetu uparloženi počev od 2006. godine u parlogu, situacija je drugačija. Prosečan godišnji pad vitalnosti za period 2006-2010/2011 iznosio je oko 22% sa 64% smanjenja tokom četvorogodišnjeg perioda na S2 odnosno oko 73% tokom petogodišnjeg na S1 i S3. Na S3 tokom godina 2011. i 2012. registruje se smanjenje od 22% i slično tome još 24% tokom naredne dve vegetacione sezone. Godišnje smanjenje gustine populacije na S3 u parlogu tokom 9 godina zaključno sa oktobrom 2014. iznosi 19,4%, sa krajnjom gustinom populacije od čak 58 L2 po g zemljišta u jesen 2014.



Slika 62. Smanjenje vitalnosti populacije izraženo preko vitalnih neispiljenih larvi (L2) po cisti (uprosečene na 200 vitalnih i nevitalnih jaja/L2) na parceli Ispod Siminog spomenika tokom 9 godina, posle poslednjeg gajenja osetljive sorte krompira 2005. godine. Delovi parcele S1 i S2 u parlogu pre i posle gajenja sorte *agria*. S3 u parlogu od 2005. godine.

U odnosu na proleće 2006. godine od kada postoje prvi podaci o vitalnosti populacije *G. rostochiensis* prisutne na ovoj parceli, i od kada se administrativno zabranjuje proizvodnja krompira, kranje smanjenje gustine populacije ove vrste iznosi prosečno 99% na oba dela parcele (S1 i S2) gde je sorta *agria* gajena. Međutim, na delu parcele S3, posle 9 godina parloga krajnji pad vitalnosti populacije je svega 85%, značajno manje nego na prethodnim potparcelama gde je parlog kombinovan sa gajenjem krompira rezistentne sorte *agria*.

Kao što je i očekivano utvrđena je statistički značajna razlika ($P < 0,01$) u Pf/Pi vrednostima između delova parcele posle jedne godine gajenja krompira sorte *agria* (S1 i S2) i dve godine parloga na S3. Takođe razlika je ustanovljena i u krajnjim Pf_{2014}/Pi vrednostima na S1 i S2 u poređenju sa S3 (Tabela 19). Nije bilo statistički značajne razlike

između S1 (jedna godina krompira *agria* i parlog u sledećoj) i S2 (jedno konvencionalno i potom nekonvencionalno gajenje sorte *agria*). Međutim, registrovana je statistički značajna razlika između S2 i S1 u krajnjem padu populacije ($Pf_{2014}/Pi_{(2010 \text{ ili } 2011)}$). Registrovana je statistički značajna razlika u Pf/Pi vrednostima u godinama kada je konvencionalno gajen krompir sorte *agria* na S1 (2011.) i S2 (2010.).

Četiri odnosno pet godina od poslednjeg gajenja osetljive sorte krompira u 2005. godini, većina cista je bila potpuno prazna. 64% praznih cista utvrđeno je na S2 u aprilu 2010. i 74% na S1 u maju 2011. godine (Tabela 20).

Početna (P_i) vrednost prosečne vitalnosti cista na S2 u 2010. iznosi 43 L2/cisti (slika 62) gde je 88% L2 klasifikovano u kategorijama V i VI, koje su činile čak 16% ukupnog broja cista u uzorku (Tabela 20). U jesen 2010., 2011. i 2012. godine vitalnost cista iznosila je 7, 6 i 0,5 L2/cisti i nije se značajnije menjala do oktobra 2014 (slika 62). Od 2012. sve L2 nalažene su u cistama kategorije II (Tabela 20).

P_i vrednost na S1 (2011.) iznosila je 32 L2/cisti (Slika 62), sa 37% vitalnih L2 nađenih u V i VI kategoriji, koje čine 6% svih cista u uzorku (Tabela 20). Vitalnost populacije pada na 9 L2/cisti posle gajenja otporne sorte. Posle sledeće sezone u parlogu, vitalnost populacije se smanjuje na 6 L2/cisti u jesen 2012. Krajnja vitalnost populacije u oktobru 2014. godine iznosi 2 L2/cisti, kada sve vitalne L2 bivaju registrovane u kategorijama vitalnosti cista II i III.

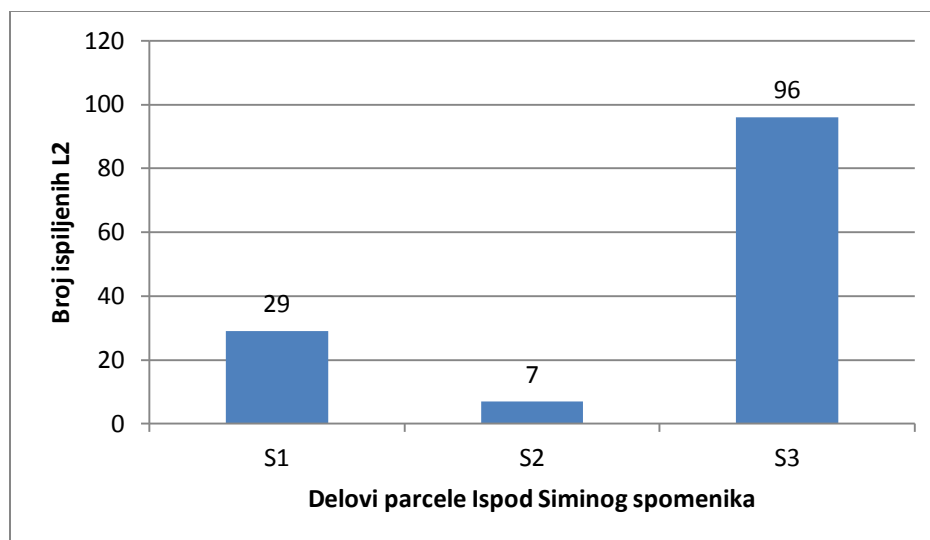
P_f vrednosti posle gajenja krompira otporne sorte *agria* na oba dela eksperimentalne parcele, S2 i S1, pokazuju da među cistama u uzorcima nema cista iz kategorija V i VI (Tabela 20). U narednim godinama velika većina cista je nižih kategorija vitalnosti, uglavnom kategorija II i III, na obe potparcele. Sa druge strane u oktobru 2012. na potparceli S3 koja je svo vreme u parlogu, 76% vitalnog sadržaja je registrovano u kategoriji IV sa čak nekoliko cista iz kategorije V koje nose 15% ukupne vitalnosti. Ciste IV i V kategorije vitalnosti na S3 čine čak 18% svih cista.

Tabela 20. Promena vitalnosti populacije *Globodera rostochiensis* izražena preko relativnog broj cista i invazivnih larvi (L2) u okviru kategorija vitalnosti na tri dela parcele Ispod Siminog spomenika, S1 (*agria* u 2011. sa parlogom pre i posle), S2 (*agria* u 2010. i 2011. sa parlogom pre i posle) i S3 (svo vreme u parlogu) tokom devet godina.

Termini uzorkovanja	Kategorije vitalnosti	S2						S1						S3					
		I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
Proleće 2006	Ciste (%)	0	13	40	27	7	13	0	13	40	27	7	13	0	13	40	27	7	13
	L2 (%)	0	13	17	15	18	37	0	13	17	15	18	37	0	13	17	15	18	37
Proleće 2010	Ciste (%)	64	8	6	6	10	6												
	L2 (%)	0	1	7	4	71	17												
Jesen 2010	Ciste (%)	80	12	4	4	0	0												
	L2 (%)	0	11	64	25	0	0												
Proleće 2011	Ciste (%)							74	4	4	12	4	2	74	4	4	12	4	2
	L2 (%)							0	1	4	58	22	15	0	1	4	58	22	15
Jesen 2011	Ciste (%)	96	0	0	2	2	0	88	4	2	6	0	0						
	L2 (%)	0	0	0	67	52	0	0	3	6	91	0	0						
Jesen 2012	Ciste (%)	96	4	0	0	0	0	84	8	6	2	0	0	70	6	6	16	2	0
	L2 (%)	0	100	0	0	0	0	0	10	39	51	0	0	0	1	8	76	15	0
Jesen 2014	Ciste (%)	94	6	0	0	0	0	94	2	4	0	0	0	78	8	4	10	0	0
	L2 (%)	0	100	0	0	0	0	0	6	94	0	0	0	0	6	17	77	0	0

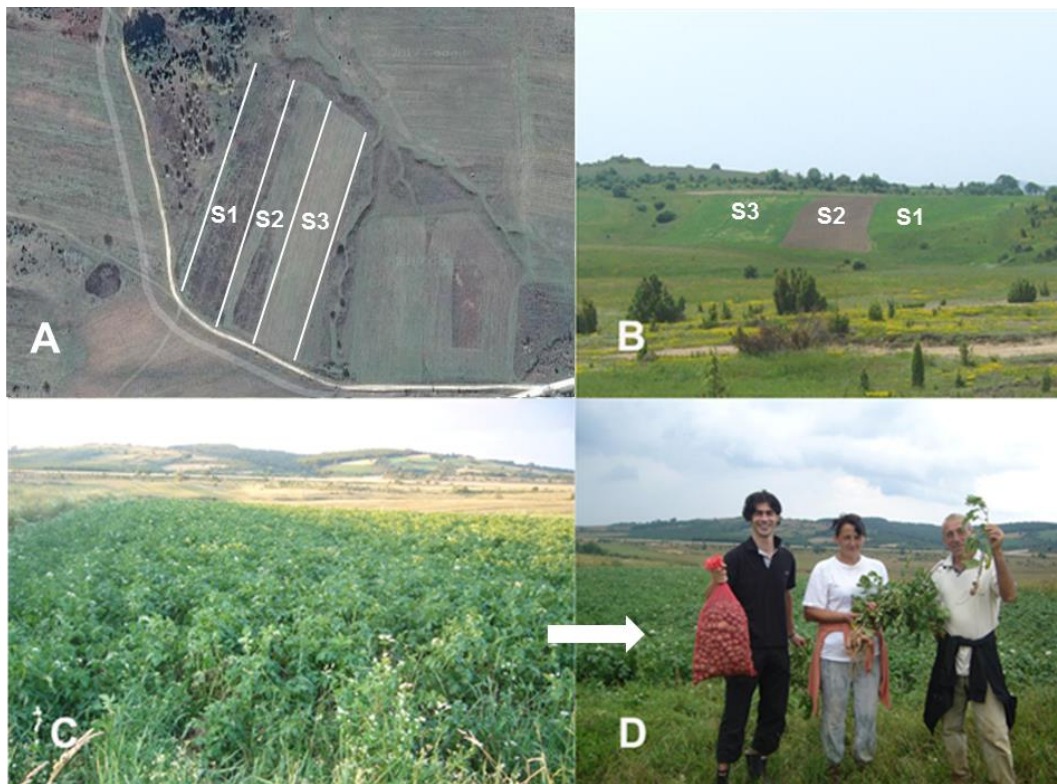
Kategorije vitalnosti : kategorija I - nevitalne ciste sa 0% vitalnog sadržaja, II - Vrlo slabo vitalne ciste sa 0-10% vitalnog sadržaja, III- slabo vitalne ciste sa 10-35% vitalnog sadržaja, IV- srednje vitalne ciste sa 35-70% vitalnog sadržaja, V- visoko vitalne ciste sa 70-95% vitalnog sadržaja i VI - Potpuno vitalne ciste sa 95-100% vitalnog sadržaja)

Testovi piljenja sprovedeni u jesen 2014. godine potvrdili su razlike u vitalnosti dobijene disekcijom cista između S1, S2 i S3 (Slika 63). Broj ispiljenih L2 u delu parcele S3 koji je neprestano bio u parlogu, bio je oko 13 puta veći nego u S2 odnosno tri puta veći nego u S1, delovima parcele gde je parlog kombinovan sa gajenjem otporne sorte krompira. Takođe, četiri puta je intenzivnije piljenje L2 u S1 gde je *agria* gajena jednom u odnosu na S2 sa dve godine gajenja krompira sorte *agria*.



Slika 63. Broj ispiljenih larvi (L2) za četiri nedelje iz 50 slučajno odabranih cista sa delova parcele Ispod Siminog spomenika, S1 (*agria* 2011. god.), S2 (*agria* 2010. i 2011. god.) i S3 (svo vreme u parlogu) izvojenih oktobra 2014. godine.

Tokom cvetanja krompira, 7 avgusta 2010, lako primetne samonikle biljke krompira sorte *désirée* sa plavičastim cvetovima su ručno vađene i uklanjane sa dela parcele S2. Četiri godine nakon poslednjeg gajenja osetljive sorte *désirée* na ovoj parceli nađeno je 998 malih do srednjih krtola samoniklog krompira sa gustom u polju od oko 0,2 krtola/m² i ukupnom težinom oko 15 kg (Slika 64). 6. jula naredne godine u drugom delu parcele označenom sa S1 prikupljeno je oko 286 krtola ukupne mase 3750g odnosno oko jedna krtola na svakih 25 m².



Slika 64. Parcela Ispod Siminog spomenika na Ponikvama (A-satelitski snimak sa označenim delovima parcele S, B-fotografija parcele S sa uzoranim delom parcele S2 u proleće 2010. godine, C-potparcela S2 početkom avgusta 2010. pod otpornom sortom krompira *agria* u vreme cvetanja krompira, D-uklonjene biljke i krtole (998 krtola/0,5 ha) osetljivog samoniklog krompira sorte *désirée* na S2 u petoj godini od poslednjeg gajenja osetljivog useva krompira).

5 DISKUSIJA

5.1 Određivanje vrsta i patotipova

Kao što je morfološka i molekularna analiza populacije *Globodera palida* i populacije *G. rostochiensis* sa parcele L analizom desetina cista u više navrata (Radivojević *et al.*, 2006a; Radivojević *et al.*, 2006b; Grujić, 2010) potvrdila postojanje samo jedne vrste KCN po parceli, tako je i molekularno potvrđen specijski identitet populacije *G. rostochiensis* sa parcele S i ustanovljeno prisustvo samo ove vrste. Može se tvrditi da su svi eksperimenti u ovom radu izvedeni sa specijski „čistim“ populacijama KCN. Ovo saznanje je bitno jer i mali procenat cista druge vrste KCN može značajno uticati na rezultate različitih istraživanja a pogotovo na ona u kojima virulentnost ispitivane populacije igra značajnu ulogu.

Vrednosti relativne osetljivosti ispitivanih sorti prema patotipu Ro1 objavljene u literaturi konzistentne su sa vrednostima dobijenim u našim eksperimentima sa populacijom žute KCN sa Ponikava. Sorta krompira *crisps4all* je vrlo visoko otporna na prvi patotip Ro1 (skor 9) i visoko do vrlo visoko na patotip Ro2/3 (skor 8) a sorta *agria*, vrlo visoko otporna samo na patotip Ro1 (Tabela 2). S obzirom da nije bilo umnožavanja KCN na *crisps4all* i *agria* postojanje patotipa Ro2/3 i Ro5 se može isključiti. Vrlo visoka otpornost prema prvom patotipu žute KCN koje poseduju obe sorte krompira i odsustvo razmnožavanja KCN u našim ogledima nedvosmisleno pokazuje da se populacija *G. rostochiensis* sa Ponikava po virulentnosti može uvrstiti u patotip Ro1.

Za razliku od *G. rostochiensis* u slučaju određivanja patotipa populacije bele KCN situacija je komplikovanija. Jedan od problema je prisustvo različitih podataka u literaturi o otpornosti diferencijalnih sorti krompira za razdvajanje patotipova Pa2 i Pa3. Naime, postoje kontradiktorni podaci o otpornosti ovih sorti koje daju različite laboratorije/selekcione kuće (Tabela 2). Tako, prema patotipu Pa2 *G. pallida* relativna osetljivost sorte *sante* se kreće od skora 4 (niska do srednja otpornost) do 9 (vrlo visoka otpornost), a prema patotipu Pa3 od 3 (niska otpornost) do 4 (niska do srednja otpornost). Različite vrednosti RO verovatno su posledica korišćenja različitih populacija KCN sa

specifičnostima u virulentnosti u različitim laboratorijama (Mugniéry *et al.*, 1989). Slično krompiru sorte *sante* i za sortu *innovator* u literaturi se daju se različiti stepeni otpornosti sa ipak manjim razlikama. Tako se sorti *innovator* dodeljuju vrednosti skorova RO od 7 (visoka otpornost) do 8 (visoka do vrlo visoka otpornost) prema patotipu Pa2, a od 7 do 9 prema patotipu Pa3. Naše dobijene vrednosti pokazuju RO *sante* od 25,7% (granična vrednost skora 3 i 4) što bi našu populaciju bele KCN moglo da svrsta i u patotip Pa2 i u Pa3. Stoga, *sante* ne može biti validna diferencijalna sorta krompira za pomenute patotipove. U našim eksperimentima RO sorte *innovator* iznosila je 2,9% (granična vrednost skorova 7 i 8), što na osnovu literaturnih podataka ne isključuje ni jedan od patotipova. Sorta krompira *crisps4all* poseduje vrlo visoku otpornost (skor 9) samo prema patotipu Pa2 i za nju nema kontradiktornosti u ocenama rezistentnosti u različitim laboratorijama. Međutim, naši rezultati pokazuju RO *crisps4all* u prvom ogledu od 4,4% (skor 7). I pored velikog skora dobijenog na *crisps4all* u ovom ogledu, odsustvo otpornosti ove sorte prema Pa3 dobijeni rezultati našu populaciju bele KCN svrstavaju u patotip Pa2. Velika vrednost RO *crisps4all* se svakako može objasniti malim uvećavanjem populacije KCN na sorti *désirée*. Međutim, u ponovljenom ogledu sa *crisp4all*, kada su za određivanje RO korišćene L2 dobijena je RO ispod 1 (skor 9), uključujući i sjedinjene rezultate oba eksperimenta (slika 56, poglavlje 4.4.3), što je u skladu sa literaturnim podacima (Tabela 2).

Jedno od objašnjenja za pomenute nelogičnosti može se naći i u različitoj metodologiji korišćenoj za procenu virulentnosti populacija odnosno otpornosti sortimenta u različitim laboratorijama (Mugniéry *et al.*, 1989). EPPO preporučuje gajenje krompira u saksijama najmanje zapremine 1 litar sa inokulumom od 5 L2/g zemljišta/supstrata i gde uvećanje populacije na standardnoj osetljivoj kontrolnoj sorti *désirée* treba da bude bar 20 puta. U našim eksperimentima krompir je gajen u zatvorenim kontejnerima sa 200 g supstrata i većim inokulumom koji se kretao od oko 15 do 25 L2 po g zemljišta, gde uvećanje populacije na krompiru sorte *désirée* uglavnom nije prelazilo 10 puta. Pri prenaseljenosti korena odnos polova se može značajno pomeriti u korist mužjaka (Trudgill, 1967; Bridgeman i Kerry, 1980). Značajno manja brojnost novoformirane generacije cista na sorti *désirée* u našim ogledima svakako je uticala na veću vrednost RO diferencijalnih

sorti prema ispitivanim populacijama KCN. Manje vrednosti RO dobijene na *crisps4all* bi našu populaciju nedvosmisleno svrstale u patotip Pa2 obzirom na nepostojanje otpornosti ove sorte prema patotipu Pa3. Rouppe van der Voort *et al.* (1998) virulentnosti populacija KCN prema hibridu AM78-3778 koji je jedan od roditelja sorte *innovator* u ogledu izvedenom u zatvorenim kontejnerima u uslovima vrlo sličnim onim kakvi su bili u našim eksperimentima. Ovi autori ustanovljavaju potpunu otpornost pomenutog hibrida prema nekim populacijama patotipa Pa2 ali i vrlo visoku prema nekim populacijama Pa3. Jedna od tih populacija je i populacija Pa3-74.768.20. Grujić (2010) poređenjem sekvenci mitohondrijalnog gena CytB evropskih, severno- i južno-američkih populacija bele KCN, navodi najveću bliskost, u ovom radu ispitivane populacije KCN sa Kladnice, i upravo pomenute Pa3-74.768.20. Iako još nije bilo radova koji su povezali sličnost populacija na molekularnom nivou i njihovu sličnost u virulentnosti, uz prethodno navedene rezultate od kojih neki ne isključuju mogućnost pripadanja patotipu Pa3 i ovo može da bude jedan od potencijalnih priloga toj tvrdnji. Na osnovu dobijenih rezultata u našim istraživanjima ispitivana populacija ne može se sa stopostotnom sigurnošću svrstati ni u Pa2 ni Pa3 patotip *G. pallida*. Virulentnost naše populacije bele KCN najviše odgovara intermedijarnom patotipu Pa2/3.

S praktičnog aspekta, u cilju odabira diferencijalnog sortimenta za testiranje patotipova u fitosanitarne svrhe u Srbiji, ovi rezultati pokazuju da se kao diferencijalne trebaju koristiti samo sorte koje prema određenom patotipu imaju indekse RO ne manje od skora 8. Svaka vrednost manja od ove, odnosno svaka sorta na kojoj je multiplikacija cista veća od tri posto nego na osetljivoj kontrolnoj, može da uslovi velike varijacije u zavisnosti od načina sprovođenja testova, a pre svega od multiplikacije na osetljivoj sorti. To je pogotovo izraženo u uslovima testiranja u zatvorenim kontejnerima kao u našem ogledu, gde uvećanje cista KCN na osetljivoj sorti krompira *désirée* ne prelazi 10 puta. Sa malim uvećanjem na krompiru osetljive sorte raste RO testirane otporne i ne podudara se sa vrednostima datim u tabeli 2, što može da dovede do pogrešnih zaključaka. Radivojević *et al.* (2007) dobijaju na sorti *cleopatra* najveće uvećanje cista KCN, duplo veće nego na sorti *désirée*. Dale i de Scurrah (1998) navode da vrednosti rezistentnosti dobijene u saksijskim

uslovima i u zatvorenim kontejnerima mogu da se razlikuju ali da su otporne sorte rangirane u sličnom poretku korišćenjem oba pristupa, što je slučaj i u ovim ogledima.

Ogledi sprovedeni u zatvorenim kontejnerima pokazali su da uz minimalno održavanje oglada i uz lako kontrolisane uslove sa velikim brojem ponavljanja na malom prostoru, moguće uspešno određivanje patotipova KCN. U budućem radu treba optimizirati oglede testiranja patotipova u smislu odabira tolerantnijih osetljivih kontrolnih sorti krompira na kojima je razmnožavanje KCN veće od 20 puta i optimizaciju gustine inokuluma.

Sorta krompira *crisps4all*, pokazala se kao odlična diferencijalna sorta. Uz prethodnu morfološku identifikaciju vrste, što je u praksi pravilo, sama omogućava diferencijaciju svih patotipova *G. rostochiensis* (Ro1, Ro2/3, Ro5). Takođe, omogućava i diferencijaciju patotipa Pa2 od P3 *G. pallida*, prevalentnih u Evropi. Patotip Pa1 je retko prisutan u Evropi sa lokalizovnim prisustvom u nekoliko evropskih zemalja. Stoga, ova sorta se može preporučiti za korišćenje u fitosanitarne svrhe određivanja patotipova u Srbiji jer razdvaja u Evropi najzastupljenije patotipove obe vrste KCN, koji predstavljaju i najveći rizik da u Srbiju sa uvezenim semenskim krompirom budu introdukovane. U budućem radu potrebna je optimizacija metodologije utvrđivanja patotipova u smislu veličine inokuluma i/ili uključivanja optimalnije osetljive sorte krompira kao pozitivne kontrolne sorte. Upotreba veće količine peska i povremeno zalivanje rastvorom mineralnog đubriva kako navodi Foot (1977) mogu da dovedu do većeg umnožavanja cista KCN, i budu jedno od metodoloških unapređenja budućih eksperimenata.

5.2 Poboljšana metoda procene vitalnosti cista disekcijom

Na osnovu naših saznanja nekolicina autora se bavila utvrđivanjem vitalnosti cista individualnom disekcijom. Većina takvih radova obavljena je u cilju rasvetljavanja varijabilnosti sadržaja cista i bazirana na malom broju disekovanih cista. Ellenby (1956) individualno disekuje i određuje broj jaja po cisti u eksperimentima sa piljenjem L2 iz pojedinačnih i prepolovljenih cista. Hesling (1959) da bi smanjio varijabilitet u testovima piljenja L2 deli ciste po veličini u četiri grupe od 50 cista koje individualno disekuje

utvrđivajući varijabilitet u okviru i između kategorija. Twomey *et al.* (1995) takođe uspeva da smanji varijabilitet u svom eksperimentu piljenja L2 koristeći ciste slične veličine. Smanjenjem varijabiliteta korišćenjem cista iste kategorije u bave se i Lamondia, *et al.* (1986) definišući vitalan i nevitalan sadržaj cista disekcijom. Na osnovu nama dostupne literature Carden (1965) prvi deli ciste brojnih poljskih populacija KCN u kategorije vitalnosti na pune, polupune i prazne ciste. Po Carden (1965) pune su one koje sadrže oko 200 jaja po cisti a polupune one koje sadrže manje od 50 vitalnih jaja, međutim, ove vrednosti autor procenjuje otprilike bez preciznog brojanja. U ovom radu, brojanjem i vitalnog i nevitalnog sadržaja, po prvi put je precizno utvrđeno procentualno učešće vitalnog sadržaja za svaku cistu tj. relativna vitalnost svake ciste i vršeno poređenje pada vitalnosti tokom vremena u različitim laboratorijskim i poljskim uslovima.

Bez obzira na način utvrđivanja vitalnosti, broj cista koje se koriste za procenu vitalnosti populacije se meri najčešće u desetinama. Imajući u vidu da populacije sadrže hiljade ili milione cista, prilikom procene vitalnosti nemoguće je izbeći greške zbog malih uzoraka. Navodi u literaturi govore da je broj jaja varijabilan i po prosečnoj cisti iznosi oko 200 sa maksimalnom vrednošću od 765 (Hesling, 1959 citirano u Whitehead, 1995). U ovim istraživanjima najveća cista imala je 918 jaja. Zbog velike varijabilnosti u broju jaja po cisti, javlja se nepoželjan varijabilitet između uzoraka čak iako su uzeti sa gotovo istog mesta.

Brojanjem i vitalnog i nevitalnog sadržaja cista omogućeno je utvrđivanje apsolutne vrednosti svih kategorija jaja za svaku cistu a potom i za svaki uzorak. Ova činjenica je omogućila da se primete razlike u ukupnom broju jaja između uzoraka i da se izvrši korekcija vitalnog sadržaja podrazumevajući isti ukupan broj jaja za uzorke koje je bilo potrebno porediti. U tabeli 5 prikazane su nekorigovane i korigovane vrednosti vitalnosti populacije u ogledu za ispitivanje uticaja gustine sadnje krompira na KCN. Detektovana varijabilnost u ukupnom broju jaja po prosečnoj cisti u uzorcima koji su se poredili, uticala je da se potceni uticaj rezistentne sorte na smanjenje populacije KCN za u proseku oko 5%. U četvrtini ponavljanja greška je prelazila 19% sa maksimalnom utvrđenom razlikom korigovanih i nekorigovanih vrednosti od čak 25%.

Kao i u prethodnom primeru gde postoji potreba poređenja početnih (Pi) i krajnjih (Pf) vrednosti, vitalnost populacije je moguće utvrditi sa više metoda. Međutim, sve metode navedene u pregledu literature, uz svoje prednosti i nedostatke, se bave utvrđivanjem samo vitalnog sadržaja i ne daju mogućnost utvrđivanja ukupnog broja jaja. Kao što je pokazano, razlike u ukupnom broju jaja u Pi i Pf mogu značajno da utiču na procenu efikasnosti neke metode za suzbijanje KCN.

Prebrojavanjem sadržaja i utvrđivanjem relativne vitalnosti svake ciste omogućena je detekcija potpuno vitalnih cista i proporcijalnog učešća vitalnog sadržaja ovih cista u uzorku. To je posebno bilo od značaja prilikom utvrđivanja uticaja samoniklih biljaka krompira na populacije KCN (videti poglavlje 4.5.1.)

Individualna disekcija i utvrđivanje relativne vitalnosti cista omogućilo je klasifikaciju cista i vitalnog sadržaja u kategorije vitalnosti. Promene vitalnosti populacija KCN izražene preko kategorija vitalnosti na nivou mikroplot i poljskih ogleda tokom višegodišnjih posmatranja predstavljaju jedinstvena istraživanja u svetu do danas.

Iako se individualnom disekcijom cista i prebrojavanjem vitalnog i nevitarnog sadržaja cista može doći do preciznih informacija, ovu metodu utvrđivanja vitalnosti, zbog većeg utroška rada i vremena, nemoguće je primeniti u laboratorijama koje obrađuju hiljade uzoraka godišnje kao npr. u Škotskoj gde u SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture) obrade oko 17 hiljada uzoraka svake godine (Reid *et al.*, 2015). Ipak u zemljama gde su KCN relativno skoro introdukovane, kakva je i Srbija, gde se istraživači sreću sa desetinama uzoraka pozitivnih na KCN na višegodišnjem nivou, veći utrošak rada zarad dobijanja preciznije informacije ima opravdanost i izvodljiv je.

5.3 Populaciona dinamika

Godišnje smanjenje gustine populacije *G. rostochiensis* u približno prirodnim poljskim uslovima pod uticajem biljaka klopki krompira sorte *agria* iznosilo je 80-84% a populacije *G. pallida* pod uticajem sorte *innovator* 90-92%. Kumulativan pad gustine populacije obe vrste KCN posle dve godine uzastopnog gajenja otpornih sorti u približno poljskim uslovima iznosio je 97%. Naizgled intenzivnija godišnja smanjenja gustine

populacije *G. pallida* su verovatno proizvod većih eksperimentalnih grešaka pri utvrđivanju vitalnosti, populacije slabo vitalnih cista, *G. pallida*.

Smanjenje vitalnosti populacije KCN u simulaciji parloga bilo je slično kod obe vrste, intenzivnije u prvoj godini posle osetljivog useva kada je iznosilo 46-64% kod *G. rostochiensis* (slike 18 i 24) i 60% kod *G. pallida* (Slika 35) koliko navode i Andersson (1987), Cole i Howard (1962) i Devine *et al.* (1999). U drugoj godini zabeleženo je smanjenje vitalnosti populacije *G. rostochiensis* od 30% i *G. pallida* od 25%, sa kumulativnim padom tokom dve godine kod obe vrste KCN od oko 70%. Gotovo dva puta intenzivnije smanjenje populacije u prvoj godini najverovatnije je uslovljeno dominacijom kategorije cista najviše vitalnosti u uzorku u 2009. u odnosu na 2010. godinu kada te kategorije nema, odnosno značajnijim piljenjem iz visoko vitalnih cista u kojima je procentualni udeo L2 u dijapauzi (L2 koje se neće piliti) manji nego kod manje vitalnih cista (videti poglavlja 4.5.2 i 5.5.2). Ovakve zaključke nemoguće je izvesti bez poznavanja zastupljenosti cista različite vitalnosti u uzorku. To je verovatno jedan od razloga zašto su objašnjenja za intenzivnije smanjenje vitalnosti KCN u prvoj godini posle gajenja osetljivog useva nego kasnije, objavljivanih u literaturi, ostala na nivou pretpostavki.

Ova istraživanja predstavljaju jedinstvena istraživanja u kojima su praćene promene vitalnosti populacije pod uticajem otporne i osetljive sorte krompira, kao i u uslovima bez domaćina, kroz promene vitalnosti cista izražene preko kategorija vitalnosti.

5.3.1 *Globodera rostochiensis*, patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve

Temperatura je značajan abiotski faktor koji utiče na aktivaciju dormantnih larvi druge generacije KCN (Franco, 1979). U literaturi se sreću različiti podaci o minimalnim temperaturama za aktivaciju piljenja L2 KCN. U različitim zemljama autori navode da se minimalne temperature kreću između 5,9 do preko 10 °C. Na osnovu naših saznanja, najniža temperatura potrebna za piljenje L2 *G. rostochiensis* koja se navode u literaturi je 5,9 °C (Langeslag *et al.*, 1982). Postavljanje ogleda za ispitivanje populacione dinamike KCN na odabranim lokalitetima je uvek bilo u aprilu mesecu pre početka uobičajene komercijalne sadnje krompira, koja je na ovim nadmorskim visinama obično u maju ili čak

junu mesecu. Minimalne temperature izmerene na počecima oglada sa žutom KCN bile su 7,8 °C aprila 2010. i preko 10 °C 2009. i 2014. godine. U ogledu 1, 2009. i 2010. u aprilu mesecu je u svim varijantama bilo registrovano značajno piljenje L2 *G. rostochiensis* i kretalo se oko 20 L2/100 g zemljišta što govori da su registrovane temperature bile iznad minimuma potrebnog za aktivaciju L2 ove populacije žute KCN. U ogledu 2014. godine nije bilo piljenja u prvom terminu, kada je i postavljen ogled, s obzirom da je za razliku od prethodnog oglada u ovom korišćena laboratorijska populacija cista. Međutim, u ogledu 2, 26. oktobra 2014. godine pri temperaturi od 5,5 °C registruju se ispiljene L2 u zemljištu u simulaciji prisustva osetljivog krompira, što sugerise da su minimalne temperature potrebne za aktivaciju L2 naše populacije još niže od temperatura zabeleženih od (Langeslag *et al.*, 1982). Ipak, u ponavljanjima sa biljkama krompira sorte *désirée*, 26. oktobra 2014. godine nađene L2 mogle su biti ispiljene i ranije. L2 u zemljištu bez domaćina mogu da prežive 6-11 dana (Robinson *et al.*, 1987a) tako da je verovatnije da se temperaturni minimum piljenja L2 naše populacije žute KCN nalazi između temperatura 5.5 i 8 °C, koliko je zabeleženo dve nedelje ranije.

Takođe presudan abiotski faktor koji utiče na piljenje L2 KCN, je vlažnost zemljišta (Van Riel i Mulder, 1998). Pokazalo se da je najintenzivnije piljenje u svim varijantama sa obe vrste KCN uvek bilo posle perioda najintenzivnijih padavina i tokom leta i jeseni. Tako se kod *G. rostochiensis* u oglednoj simulaciji prisustva *désirée*, posle najobilnijih junskih padavina u 2009. posle uzorkovanja 10 juna javlja vrhunac piljenja L2, 3. jula 2009., kada se beleži i najveća relativna vlažnost zemljišta od skoro 30% za razliku od oko 20% 10. juna. Slično je i u 2010. godini kada posle intenzivnih kiša u prvoj nedelji juna, u terminu uzorkovanja 7. juna registruje i najveća relativna vlažnost zemljišta od blizu 30% i prvi vrhunac piljenja. Suma ukupnih padavina u junu obe godine bila je oko 180 mm. Dinamika piljenja u drugom delu vegetacije u obe posmatrane godine je u sličnoj vezi sa padavinama i posledičnom relativnom vlažnošću zemljišta. Tako se posle padavina krajem avgusta (65 mm), 3. septembra 2009. povećava vlažnost oglednog zemljišta na 25% i javlja drugi vrhunac drugog talasa piljenja L2. U narednoj godini je slično gde letnji julski pljuskovi krajem ovog meseca podižu vlažnost zemljišta na 22% i izazivaju drugi vrhunac drugog talasa piljenja 2. avgusta 2010. godine. Dva vrhunca piljenja su posebno očigledni tokom

2010. godine zbog značajnog povećanja ukupne vitalnosti populacije tokom 2009. godine (Slika 19). Manje ili više izraženi periodi letnje suše tokom obe godine dovode do smanjenja vlažnosti zemljišta i potpuno odsustvo ili minimalno piljenje L2 žute KCN. Populaciona dinamika piljenja i migracije L2 je slična i u ogleđnoj simulaciji prisustva krompira sorte *agria* ali manjeg intenziteta i bez dva vrhunca piljenja L2 u obe godine. Razlog za to može biti značajno smanjena vitalnost populacije u 2010. godini i vrednosti ispiljenih L2 u zemljištu, na nivou pragova detekcije korišćene metodologije izdvajanja L2 iz zemljišta. 2014. godina se razlikovala značajno od znatno sušnijih 2009. (ukupne godišnje padavine 915 mm) i 2010. (ukupne godišnje padavine 843 mm) sa gotovo trećinom padavina više i registrovanih 1217 mm ukupnih godišnjih padavina. Od aprila do oktobra meseca 2014. mesečne sume padavina ni u jednom mesecu ne padaju ispod 120 mm sa majskim vrhuncem od rekordnih 220 mm tog meseca i relativnom vlažnošću zemljišta 10. juna od 66%. Obilne padavine 2014. utiču na intenzivno i dugo piljenje L2 u dva jasna talasa (13. 5.- 24. 6.) i (5. 8.-1. 10.) kada prosečan broj registrovanih L2 u zemljištu za sve termine uzorkovanja iznosi oko 0,5 L2/g zemljišta (Slika 26) što odgovara vrhuncu ispiljenih L2 u *désirée* tokom 2009. godine (Slika 19). Inicijalna gustina populacije žute KCN 2009. bila je za oko trećine veća od one u 2014. godini, pa ipak u 2014. godini registruje se neuporedivo intenzivnije piljenje L2 ove vrste. Ove razlike se apsolutno mogu pripisati konstantno većoj relativnoj vlažnosti zemljišta tokom 2014. Iznenaduje gotovo prestanak piljenja L2 tokom jula meseca 2014 (od 57 DPI do 99 DPI) (Slika 26), iako je relativna vlažnost zemljišta oko 30% (Slika 22). U svim mesečnim pregledima tokom 2009. i 2010. godine relativna vlažnost zemljišta je bila ispod 30% (Slika 15). Zabeleženi rezultati svedoče o dijapauzi prisutnih L2 u cistama iz inokuluma u ogledu 2 (prve novoformirane ciste javljaju se 57 DPI) koje i pored optimalnih abiotskih uslova i prisustva korenskih eksudata krompira ostaju neaktivirane, koji su najverovatnije posledica korišćenja laboratorijske populacije u ovom ogledu koja je bila izloženija visokim temperaturama i češćem isušivanju zemljišta (gajenje u kofama) tokom leta u odnosu na populacije nastale u poljskim uslovima (ogled 1). Prestanak piljenja L2 između dva talasa piljenja javlja se i u in vitro ogledima piljenja L2 (slike 40 i 44) u kojima su korišćene laboratorijske populacije KCN.

Drugi talas piljenja L2 *G. rostochiensis* javio se u oba eksperimenta u simulaciji prisustva sorte *désirée* tokom tri godine. Tokom 2009. i 2010. nije bilo prestanka piljenja između dva vrhunca ali je ono značajno smanjeno (Slika 19). Neregistrovanje prestanka piljenja može biti posledica jednomesečnog uzorkovanja. Međutim, postojanje dva talasa piljenja je očigledno kada se analiziraju promene kategorija vitalnosti po terminima (Tabela 7). Očigledno je smanjenje relativne brojnosti potpuno vitalnih cista od 50% (koje sadrže 83% vitalnog sadržaja u uzorku) 1. avgusta 2009. (kada dolazi do formiranja nove generacije) na 12% potpuno vitalnih cista (sa 23% od ukupnog vitalnog sadržaja u uzorku) 4. oktobra 2009. godine, koji potvrđuje intenzivno piljenje tokom avgusta i septembra iz novoformiranih cista, što govori o odsustvu dijapauze dela populacije L2 u novoformiranim cistama. Slične promene kategorija vitalnosti, koje ukazuju na piljenje u drugom delu sezone, ali manjeg intenziteta javile su se i 2010. godine. Tokom 2014. godine na temperaturi zemljišta od 17 °C, 99 DPI javlja se ponovno piljenje L2. Broj cista se povećava 7,8 puta sa 0,4/g u aprilu na oko 3 ciste/g zemljišta u oktobru 2014. (Slika 24) kada broj potpuno vitalnih cista iz kategorije VI čini svega 18% ukupnog broja cista u uzorku (Tabela 10). Mala zastupljenost potpuno vitalnih cista nedvosmisleno potvrđuje da je veći deo novoformiranih cista ispražnjen odnosno da deo L2 *G. rostochiensis* ne ulazi u dijapauzu. Početak drugog talasa piljenja L2, 99 DPI, poklapa se sa završetkom ciklusa razvića L2 *G. rostochiensis* iz prvog talasa piljenja, gde već 71 DPI mlade ciste čine oko polovinu prisutnih adultnih stadijuma na korenu krompira. Uz smanjenje najvitalnije kategorija cista u septembru i u oktobru 2009. (Tabela 7) javlja se povećanje broja cista u zemljištu (Slika 16). 22. aprila 2010. godine procenat potpuno vitalnih cista povećan je u odnosu na početak oktobra 2009. i iznosi 22% (Tabela 7) iako se u zemljištu ne detektuje povećanje broja cista. (Slika 16), što sugerise malo povećanje broja cista i posle uzorkovanja 4. oktobra 2009. Neregistrovanje uvećanja broja cista u zemljištu moguće je da je posledica eksperimentalne greške tokom izdvajanja cista iz zemljišta, a povećanje kategorija najveće vitalnosti u aprilu 2010. ne isključuje ni formiranje malobrojne generacije novih cista iz L2 koje su se ispilile neposredno pre uzorkovanja 1. avgusta 2009. U Belgiji, na nešto nižim temperaturama nego u ovim ogledima, prve ciste *G. rostochiensis* u korenu Ebrahimi *et al.* (2014) konstatuju 12. juna odnosno 68. dana posle sadnje 8. aprila.

U Slovačkoj, Renčo (2007) tokom dve godine na šest sorti krompira registruje prve ciste *G. rostochiensis* 60 i 68 dana posle sadnje koja je bila 28. aprila. Drugi talas piljenja počinje 25 dana posle pojave prvih cista (Renčo, 2007), slično kao i u ogledu 2, 2014. godine na bliskim temperaturama zemljišta. L2 *G. rostochiensis* se u korenu razvijaju do L3 do kraja avgusta kada razviće prestaje (Renčo, 2007), međutim, izmerene temperature zemljišta u septembru u Slovačkoj ne prelaze 11 °C i manje su nego one zabeležene u sve tri godine posmatranja u ovim istraživanjima, koje se kreću u intervalima od 13-17 °C. Moguće je da su više temperature omogućile dalje razviće L2 ispiljenih početkom drugog talasa piljenja i formiranje malobrojne druge generacije cista. Povećanje broja cista u zemljištu formiranih na sorti *désirée* je primetno u periodu septembar-oktobar u obe godine u ogledu 1 (Slika 16). Nastavak razvića malobrojnih L2 ispiljenih u drugom talasu u mužjake je evidentan u ogledu 2. U 2014. godini prvi talas piljenja L2 prestaje 57 DPI a drugi počinje 99 DPI, a malobrojni mužjaci bivaju registrovani 17. septembra 2014. godine, 142 DPI, tačno 43 dana po početku piljenja u drugom talasu kolika je bila dužina razvića mužjaka zabeležena i u ovom ogledu (Slika 28). Slične dužine razvića mužjaka registruju i (Renčo, 2007), Ebrahimi *et al.* (2014) i Mimee *et al.* (2015).

Dva talasa piljenja *G. rostochiensis* navode i Kaczmarek (2014) u Škotskoj, Jiménez-Pérez *et al.* (2009) u Veneculi, Stanton i Sartori (1990) u Australiji i Inagaki (1977) u Japanu. U prethodno pominjanim radovima nema dokaza o pojavi druge generacije KCN. Međutim, Mimee *et al.* (2015) registruju parcijalnu generaciju iz drugog talasa piljenja u Kanadi, a u Italiji je registrovana i druga generacije u AVECANU pri temperaturama zemljišta od 18–22 °C na kasnoj sorti krompira (Greco *et al.*, 1988). Isti autori navode da druga generacija *G. rostochiensis* nije završila ciklus razvića u hladnijem klimatu Katanije na ranoj sorti krompira. U saksijским uslovima u Beogradu takođe se beleži pojava dva talasa piljenja žute KCN, krajem maja i početkom avgusta (Bačić *et al.*, 2011). Autori u korenu registruju pojavu ženki sredinom juna i ponovo sredinom avgusta, međutim, registruju ciste samo u avgustu kada se eksperiment i završava.

Prisustvo mužjaka *G. rostochiensis* u zemljištu u ogledu sa sortom *désirée* 2009. i 2010. godine registruje se u istim terminima kad i vrhunac piljenja L2, 43 DPI, što ukazuje da je usled mesečnog uzorkovanja period najmasovnijeg formiranja mužjaka najverovatnije

preskočen. Piljenje L2 u ogledu 2014. godine je u vrhuncu 10. juna, dve nedelje pre najintenzivnije pojave mužjaka što svedoči u prilog prethodnom. Slične rezultate sa dvonedeljnom razlikom u pojavljivanju maksimuma L2 i mužjaka u zemljištu u Beogradu i Slovačkoj navode i Bačić *et al.* (2011) i Renčo (2007). Višestruko manje brojnosti registrovanih mužjaka tokom 2009. i 2010. (maksimum od 0,2 mužjaka/g zemljišta) u odnosu na 2014. godinu (prosečno 0,7 mužjaka/g zemljišta) dodatna su potvrda navedenog.

Sa prvim mužjacima u ogledu 2, 2014. godine, javljaju se i prve malobrojne bele ženke na korenu krompira. Već narednog temina 24.6.2014. (57 DPI), kada se javlja i vrhunac pojave mužjaka, registruje se i prva pojava novoformiranih cista žute KCN. Zbog mesečnog uzorkovanja 2009. i 2010. godine, nije bilo moguće precizno odrediti tačno trajanje razvića ali najveći broj L2 završava razviće posle manje od 3 meseca, 1. avgusta 2009. kada se registruje prvo uvećanje broja cista (Slika 19) i populaciju čini 50% potpuno vitalnih cista (Tabela 7). U 2010. prvo blago uvećanje populacije cista javlja se već 7. juna (Slika 19), kada i prvi mužjaci (Slika 17), otprilike 2 meseca od uspostavljanja uslova za piljenje u aprilu (Slika 19). U saksijskim uslovima u Beogradu prve L2 u korenu nalažene su posle 7 dana od sadnje krompira a prve ciste se pojavljuju 36. dana u 2002. i posle oko 90 dana od sadnje u jako toploj 2003. godini (Bačić *et al.*, 2011). U Kanadi Mimeo *et al.* (2015) konstatuju prve ciste 42-63 dana posle sadnje. U Slovačkoj, Renčo (2007) registruje prve L2 u korenu krompira u polju 18 i 27 dana posle sadnje krompira i prve ciste 60 i 68 dana posle sadnje. U Belgiji, prve L2 *G. rostochiensis* u korenu Ebrahimi *et al.* (2014) konstatuju 24. dana a prve ciste 68. dana posle sadnje u mikroplot ogledu, a u poljskom eksperimentu 84 dana posle sadnje. U Hrvatskoj u poljskim uslovima prve ubušene L2 u korenu detektovane su 20 i 23 dana posle sadnje i dužina trajanja životnog ciklusa žute KCN iznosila je 59 i 66 dana, odnosno 82 i 86 dana posle sadnje (Grubišić *et al.*, 2008). 2014. godina predstavlja najkišovitiju i drugu najtopliju godinu u periodu 1951-2014. u Srbiji (Anon., 2015a), što je najverovatnije i uslovilo najkraći ciklus razvića žute KCN zabeležen u ovim ogledima.

Globodera rostochiensis ima jednu generaciju godišnje u uslovima zapadne Srbije. Najveći broj ispiljenih L2 u drugom ne završava ciklus razvića i dovodi do značajnog smanjenja vitalnosti populacije. Uz klimatske promene i otopljanje, što je primetno u

razlikama temperatura u periodu 2009-2014. u odnosu na normale (Slika 1), i na kasnim sortama krompira moguće je da će u budućnosti doći i do potpunijeg završetka ciklusa razvića L2 ispiljenih u drugom talasu krajem leta.

5.3.2 *Globodera pallida*, patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik

Na lokalitetu Ograđenik sa *G. pallida* izmerene su minimalne aprila temperature zemljišta od 5,2 °C 2009. i 7,4 °C naredne godine. L2 *G. pallida* su već bile ispiljene u prirodno infestiranom zemljištu na 5,2 °C i nađene u kofi gde je simuliran parlog 2009. godine u vreme postavljanja ogleda. Mali broj nađenih L2 u zemljištu, od 3 L2/100 g zemljišta u oglednoj simulaciji parloga, i odsustvo u druge dve varijante, svedoči u prilog tome da temperaturni minimum nije daleko od ove vrednosti i najverovatnije veći od najniže zabeležene temperature potrebne za piljenje L2 *G. pallida* 3,9 °C (Mugniery, 1978).

Na sorti krompira *désirée* ne dolazi do značajnog uvećanja populacije bele KCN. Razlog za to leži u prevelikoj gustini populacije odnosno nedovoljno razvijenim biljkama krompira, kada usled intenzivnog naseljavanja slabo razvijenog korena, i velike kompeticije, ubušene L2 ne završavaju ciklus razvića do cista (Trudgill, 1967). Verovatno najveći broj L2 postaju mužjaci što se i registruje, sa oko 3 puta više u zemljištu nađenih mužjaka *G. pallida* (Slika 34) u odnosu na *G. rostochiensis* (Slika 17).

Izostanak formiranja nove generacije cista *G. pallida* na sorti krompira *désirée* 2009. godine uslovio je smanjenje gustine populacije, što je kao posledicu imalo minimalne vrednosti registrovanog piljenja L2 u zemljištu. Mala vitalnost populacije je najverovatniji razlog odsustva i dva jasna talasa piljenja L2 *G. pallida* koja koja registruje Kaczmarek (2014) kod ove vrste, a koji su registrovani i u *in vitro* testovima piljenja L2 *G. pallida* (slike 42, 44 i 48). Za razliku od *G. rostochiensis* mnogo je manje radova koji su se bavili detaljnijim ispitivanjem populacione dinamike *G. pallida*.

5.4 Ispitivanje interakcije KCN i odabranih vrsta biljaka

I pored velikog fekunditeta ženki KCN i skromnih uslova potrebnih za njihovo razmnožavanje, naša iskustva govore da je prilično teško dobiti mnoštvo cista ujednačene vitalnosti kao kvalitetan inokulum za različite oglede. Po početku prvog oglada piljenja tokom 2012. godine, utvrđeno je da je među cistama koje su korišćene kao inokulum bilo potpuno praznih cista za koje se pretpostavljalo da su ispražnjene ciste od kojih je dobijen inokulum. Populacije dobijene u sezoni 2012. i 2013. za oglede u 2013. i 2014. godini gajene su tako što je infestirano zemljište sa cistama kao izvorom L2 od kojih će se dobiti ciste nove generacije bilo je prostorno odvojeno od supstrata za gajenje biljaka. Naime, na dnu kofe bi se posula cistama KCN infestirana zemlja preko koje bi se posuo sloj keramičkih granula koji odvaja sloj zemlje sa starim inokulumom od peska koji bi se nasuo do vrha kofe. Ciste korišćene kao inokulum za oglede 2013. i 2014. godine su izdvajane samo iz peska u kome nije bilo cista koje su činile inokulum. Međutim, i tako dobijene populacije nisu sadržale sve potpuno vitalne ciste. Među takvim cistama nalažene su i potpuno prazne ciste a kod većine je registrovan neki stepen piljenja L2. Ovo govori o piljenju L2 u periodu od završetka vegetacije krompira do narednog proleća, koje su preskočile dijapauzu što je i dokazano u oglecima ispitivanja populacione dinamike (poglavlja). Iako su kofe u kojima je gajen krompir za umnožavanje laboratorijskih populacija KCN bile nadkrivene krovom vivarijuma moguće je da su jake kiše povremeno kvasile zemljište u kofama, stvarajući uslove za piljenje L2. Da bi se sprečilo nepoželjno piljenje L2 u potencijalnom inokulumu za ogled sproveden 2013. godine, ciste su izdvojene u oktobru 2012. i držane u frižideru do proleća. Prevazilaženje obligatne dijapauze L2 dešava se posle 16 nedelja na temperaturi od 4 °C (Perry, 2002). Ipak u ovom slučaju temperatura u frižideru je bila iznad 4 °C ili ciste nisu držane dovoljno dugo, i najveći broj L2 najverovatnije još uvek nije prebrodilo obligatnu dijapauzu, što je i osnovni razlog slabog piljenja L2 KCN i velikih varijacija u oglecima ispitivanja uticaja *S. nigrum* i *P. alkekengi*. Takođe, u inokulumu *G. pallida* korišćenom iste godine, primećena je ishrana nekih beskičmenjaka cistama i njihovim sadržajem. Inokulum za pomenuti ogled 2013. dobijen je iz iste kofe gde su umnožavane ciste za prethodno sproveden ogled sa ispitivanje

uticaja domaćeg sortimenta gajenih biljka i *Tagetes patula* (test 1). Stoga, iako nije primećeno, nije isključeno da su predatori cista i izgrizene ciste postojale i u inokulumu *G. pallida* iz pomenutog eksperimenta, što može da bude jedno od objašnjenja za slabije piljenje L2 *G. pallida* u odnosu na *G. rostochiensis* u testu 1.

5.4.1 *In vitro* testovi provokacije piljenja larvi KCN

Test 1 – Paradajz, plavi patlidžan i kadifca

Korenski eksudati sorti paradajza i krompira značajnije su stimulisali piljenje L2 KCN nego test tečnost sa korenskim lučevinama plavog patlidžana što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (npr. Omidvar, 1961). Rezultati dobijeni u ovom radu pokazuju da korenski eksudati *Tagetes patula* nisu stimulisali piljenje L2 KCN i saglasni su sa rezultatima Omidvar (1961). Takođe, nije detektovan ni inhibitoran efekat ove biljke na piljenje L2 KCN koje navode Di Vito i Sasanelli (1991). U našem radu detektovan je blag inhibitoran efekat filtrata substrata na piljenje L2 KCN koji se razlikovao od spontanog piljenja u vodi. Ovo sugeriše moguć blag stimulatívni uticaj zemljišnih mikroorganizama na piljenje L2, koji su eliminisani filtriranjem kroz bakteriološke filtere (Ellenby, 1963).

Test 2 - *Solanum nigrum* L. i *Physalis alkekengi* L.

Na osnovu dosadašnjih saznanja, ovo su prva istraživanja uticaja *P. alkekengi* na piljenje L2 KCN. Korenski eksudati ove biljke nemaju uticaj na piljenje L2 ni jedne od vrsta KCN. Osam populacija *Solanum nigrum* poreklom iz Srbije izazvale su piljenje L2 KCN slično onom u test tečnosti sorte *désirée*, što je u saglasnosti sa rezultatima Scholte (2000b) i Yamada *et al.* (2007).

Test 3 - sorta krompira *crisps4all*

Korenski eksudati sorte krompira *crisps4all* stimulisale su značajno piljenje L2 obe vrste KCN koje je bilo nešto slabije u odnosu na sortu *désirée*. Ovi rezultati konzistentni su

sa rezultatima Evans (1983) i Turner i Stone (1981) koji registruju intenzivnije piljenje L2 u korenskim eksudatima osetljivih sorti krompira. Više sobne temperature preko 20° C tokom leta su moguć razlog za slabije piljenje L2 *G. pallida* u odnosu na *G. rostochiensis* (Franco, 1979; Turner i Evans, 1998). U ovom ogledu korišćeni su test tečnosti prikupljenji od 6 nedelja starih biljaka. Poznato je da se koncentracija specijski selektivnih komponenti faktora piljenja prema *G. rostochiensis* povećava kod biljaka krompira starijih od 38 dana (Byrne *et al.*, 2001), što može biti dodatni razlog slabijeg piljenja L2 *G. pallida*.

5.4.2 Uticaj *Tagetes patula* na populaciju *Globodera rostochiensis* u mikroplot ogledu

Rezultati mikroplot ogleda sa *T. patulla* pokazuju smanjenje gustine populacije *G. rostochiensis* od svega 7% u 1 x 1 m parcelicama sa posađenim biljkama kadifice i oko 11% u kontrolnom tretmanu bez biljaka, 1 m udaljenih od onih sa kadificom. Smanjenje populacije od 11% je značajno manje od godišnjeg pada gustine populacije na istoj parceli u istoj godini tokom višegodišnjeg praćenja metodom transekta gde godišnje smanjenje populacije iznosi oko 33% (Slika 60). U poljskom eksperimentu Omidvar (1962) sugerise se moguće blago nematocidno delovanje *Tagetes* sp. a Di Vito i Sasanelli (1991) konstatuju inhibitoran efekat ekstrakata korena i lišća (25g lišća i korena u blenderu iseckanog i razređenog u 150 ml vode) kadifice na piljenje L2 KCN. Jedina objašnjenja za ovako mala smanjenja gustine populacije su eksperimentalna greška i moguće inhibitorno delovanje eksudata korena i kišom spranih lučevine lišća kadifice koje su se proširile po celoj površini na kojoj je postavljen mikroplot ogled.

5.4.3 Biotestovi ispitivanja otpornosti nekih biljaka prema KCN

Otpornost *Physalis alkekengi* i *Solanum nigrum* prema KCN

Iako rezultati biotesta sa ispitivanjem otpornosti pokazuju potpunu otpornost populacija *Solanum nigrum* i *Physalis alkekengi* treba ih uzeti sa izvesnom dozom rezerve. Razlog za to su relativno male vrednosti dobijene nove generacije cista na osetljivom krompiru sorte *désirée*. Kao što je diskutovano prethodno (poglavlje 5.4.1), jedan razlog za skromnu reprodukciju KCN leži svakako u malom procentu piljenja. U *in vitro* testovima

piljenja *G. rostochiensis* korišćen je isti inokulum kao i u biotestovima ispitivanja otpornosti, i ispiljeno je prosečno oko 80 L2 u test tečnosti *désirée* (Slika 45). Formiran broj nove generacije od 35 cista je u tom pogledu mogao biti i očekivan s obzirom na to da se verovatno polovina ispiljeniljenih L2 razvila u mužjake. Sa druge strane kod *G. pallida* je u testovima piljenja registrovano preko 200 L2 (Slika 47) u test tečnosti *désirée* i dobijena nova generacija cista od prosečno 8 po ponavljanju je svakako neočekivana. Optimalne temperature za piljenje i razvoj *G. pallida* su ispod 20 °C (Franco, 1979) i za razliku od žute KCN, piljenje L2 bele KCN na temperaturama višim od 24 °C je minimalno a da na 27 °C prestaje (Mulder, 1988 citirano u Van Riel i Mulder, 1998). Pošto je u fitotronu u kojem je sproveden ogled bilo nemoguće spustiti temperaturu ispod 26 °C, visoka temperatura je najverovatniji razlog za gotovo odsustvo piljenja i dobijene ovako male vrednosti broja cista nove generacije bele KCN. Takođe, biljke su gajene u plastičnim čašama od 200 ml i temperatura zemljišta sigurno nije odstupala značajno od temperature vazduha u fitotronu. I pored delimično uspešnih eksperimenata i čak zanemarivanja rezultata biotesta, *Physalis alkekengi* se ne može smatrati domaćinom KCN jer korenski eksudati ove biljke nisu izazvali statistički značajno piljenje u odnosu na spontano u vodi. Na osnovu dosadašnjih saznanja, u literaturi nema podataka o domaćinima KCN čiji eksudati korena ne stimulišu piljenje L2 KCN. Rezultati ispitivanja statusa populacija *S. nigrum* kao domaćina KCN, konzistentni su sa rezultatima ispitivanja otpornosti ove vrste iz literature (Doncaster, 1953; Scholte, 2000b; Rott *et al.*, 2011; Boydston, 2010) i može se smatrati da domaće populacije *S. nigrum* nisu domaćini KCN.

Otpornosti sorte krompira *crisps4all* prema *Globodera pallida*

Formirane ciste *G. pallida* na sorti *crisps4all* bile su manje i smanjenog fekunditeta sa gotovo ¼ broja jaja po cisti u odnosu na ciste formirane na osetljivoj sorti *désirée*. Ovi rezultati saglasni su sa rezultatima drugih autora (Kaczmarek, 2014; Mullin i Brodie, 1988).

Crisps4all pokazala je najviši stepen otpornosti i prema patotipu Ro1 žute i patotipu Pa2/3 bele KCN, jedinih patotipova prisutnih u Srbiji. Gajenjem *crisps4all* i sličnih sorti krompira na lokalitetima gde su prisutne obe vrste, kao što su lokaliteti na planini Javor, bi

se smanjio rizik od uvećanja populacija bele KCN na potencijalno infestiranim parcelama sa obe vrste, i time smanjio rizik za ponavljanje situacije u kojoj su danas neke evropske zemlje sa dominacijom bele KCN u krompirištima, usled selekcije *G. pallida* gajenjem sorti otpornih samo prema *G. rostochiensis* (Minnis *et al.*, 2002). Ova sorta je zbog visokog sadržaja skroba pogodna za proizvodnju čipsa (HZPC, 2016). Kao takva predstavlja idealnu sortu za administrativno regulisanu proizvodnju merkantilnog krompira (Anon.,2013a) i može se preporučiti za gajenje na parcelama infestiranim sa oba pomenuta patotipa KCN prisutna u Srbiji (Grujić *et al.*, 2014), gde bi se prodajom fabrikama za proizvodnju čipsa značajno smanjio rizik od lokalnog širenja KCN sa infestiranih parcela.

5.5 Održivi modaliteti suzbijanja KCN u zapadnoj Srbiji

5.5.1 Višegodišnje praćenje efekata pasivnog i aktivnog suzbijanja KCN na zaraženim parcelama

Zbog velike heterogenosti u horizontalnom prostornom rasporedu i vitalnosti populacija KCN u polju, praćenje promena gustina populacija KCN tokom vremena predstavlja izazov. Zarad ekonomičnosti i izvodljivosti, gotovo uvek se moraju praviti kompromisi na uštrb reprezentativnosti uzorka i u svetu nema jedinstvenog i metodski precizno definisanog načina za monitoring KCN. Metod praćenja populacionih nivoa KCN tokom vremena metodom transekta na delu parcele naseljenom najgušćom i najvitalnijom populacijom KCN, pokazao se dobrim u praksi, u smislu količine rada i reprezentativnosti rezultata (Radivojević *et al.*, 2009). Metoda transekta omogućila je prikupljanje poduzoraka sa gotovo identičnih tački na parceli tokom više godina čime je smanjena varijabilnost. Zbog na sreću relativno malog broja infestiranih parcela sa KCN u Srbiji, i tokom posebnog nadzora definisanja najinfestiranijih delova parcela (Radivojević, neobjavljeni podaci), ovaj metod praćenja gustina populacija KCN može se preporučiti za korišćenje u fitosanitarne svrhe.

Ustanovljenje godišnjeg pada vitalnosti u specifičnim agroekološkim uslovima neke zemlje/regiona je bitno da bi se došlo do saznanja posle koliko godina određene proizvodne

prakse na infestiranoj parceli sa KCN će gustina populacije pasti ispod nivoa ekonomske štetnosti. Time bi se omogućila optimizacija fitosanitarnih regulativa i savetodavne podrške proizvođačima krompira.

5.5.1.1 *Globodera rostochiensis*, patotip Ro1 na lokalitetu Ponikve

Linijski transekt po kome se uzorkovalo na parceli Lubenac delimično je presecao oglednu površinu na kojoj je gajen krompir otporne sorte *agria* tokom dve godine, jedne godine je na parceli gajena osetljiva sorta *désirée* a ostale tri godine su bile pod parlogom ili usevima ne-domaćina. Pod ovakvim uslovima posle 6 godina populacija *G. rostochiensis* se smanjuje na granične nivoe štetnosti od oko 7 L2/g zemljišta. U četvrtoj godini praćenja, 2012., na parceli je posađen *désirée* kada neočekivano, ne dolazi do povećanja populacije, već do njenog smanjenja. 2012. godina bila je peta najtoplija godina u poslednjih 63 godine (Anon., 2015a). Na samom lokalitetu mesečne temperature tokom proleća i leta dostizale su vrednosti i do 5 °C veće od normala a sume mesečnih padavina u junu i julu bile ispod 25 mm sa avgustom potpuno bez kišnih dana, što je uslovalo veliku sušu, propadanje useva i posledično onemogućilo i razvoj KCN. U prosečnoj godini, da je uvećanje populacije bilo oko 8 puta koliko je zabeleženo u drugim ogledima, populacija bi se vratila na početne nivoe iz 2008.

Smanjenje populacije KCN u godinama parloga ili ne-domaćina iznosila je oko 33% što je u saglasnosti sa mnogim navodima iz literature (npr. Huijsman, 1961; Evans, 1993).

5.5.1.2 *Globodera pallida*, patotip Pa2/3 na lokalitetu Ograđenik

Tokom perioda od jeseni 2006. do proleća 2009. smanjenje populacije je minimalno, ispod 7% na godišnjem nivou, i registrovana povećanja populacije u periodu proleće 2008.-proleće 2009. su najverovatnije proizvod eksperimentalne greške. Kada se pogleda učešće kategorija vitalnosti (Tabela 16), vidi se da u pomenutom periodu 2006-2009. u uzorcima dominiraju visoko vitalne kategorije cista (V i VI) i da njihov odnos se ne menja značajno s vremenom. Whitehead (1995) navodi rezultate Cooper (1953) koji registruje isti broj punih cista godinu dana posle osetljivog useva kao i neposredno po vađenju krompira. Ova

situacija je verovatno posledica visoke brojnosti zaostalih samoniklih krompira koja je omogućila značajno uvećanje populacije KCN, što je najverovatnije slučaj i u ovom ogledu, gde nije ni bilo žetve krompira u 2005. godini. Prisustvo samoniklih krtola krompira primećeno je i prilikom uzorkovanja u jesen 2014. Godišnje smanjenje gustine populacije *G. pallida* tokom osam godina parloga iznosi 27%, što je u saglasnosti sa rezultatima Trudgill *et al.* (2014) od 26%. Značajnije godišnje smanjenje u poslednje tri godine (jesen 2011. - jesen 2014.) od preko 38% na godišnjem nivou, je verovatno precenjeno i proizvod je eksperimentalne greške u određivanju gustine cista u zemljištu i vitalnosti populacije u oktobru 2014., zbog male vitalnosti populacije gde u oktobru 2014. populaciju čini 90% nevitalnih cista (Tabela 16), a smanjenje gustine cista za period jesen 2011. - jesen 2014 iznosi oko 25%.

5.5.2 Optimizacija gustine sadnje biljaka klopki za suzbijanje žute KCN

Lamondia (1986) u dva ogleda ispituje uticaj opornih sorti gajenih na rastojanju 23 cm u redu i 92 cm između redova (oko 9 biljaka po 1 m²), na prvi patotip žute KCN. U prvom, uzima uzorke sa rastojanja od 11,5, 23 i 46 cm udaljenosti od biljaka i utvrđuje smanjenje gustine populacije za 82, 47 i 28%. U drugom ogledu dobija slične rezultate sa 83,5, 76,9, i 60,4% smanjenja populacije pregledom postavljenih kesica sa cistama na udaljenost od od 11,5, 23, i 46 cm između redova. Može se reći da su rezultati pada vitalnosti dobijeni u ovom ogledu, u variantama sa 9 i 25 biljaka po m², od oko 70%, u uklapaju u prosečne vrednosti smanjenja populacije saopštene od Lamondia (1986). Smanjenje populacije sa ređim sklopom biljaka gajenim na rastojanju od 1 m od oko 30% nešto je manje od prosečne vrednosti za distance 23 i 46 cm u prvom ogledu i gotovo polovina onog u drugom ogledu citiranog rada. Manje smanjenje populacije u našem ogledu sa varijantom sadnje od 1 m između biljaka moguće je uticalo i nadprosečno sušno i toplo leto 2010. godine (slike 1 i 2). Tokom jula registrovano je svega 29 mm padavina a srednje mesečne temperature vazduha tokom celog leta bile su 3-4 °C više u odnosu na normale prethodnih decenija. Dodatno isušivanje i zagrevanje zemljišta uslovljeno je i

retkim sklopom biljaka koje su bile primetno manjeg habitusa u odnosu na biljke u druga dva tretmana, što je zasigurno uslovalo smanjeno piljenje L2 *G. rostochiensis*.

Gustina sadnje od 9 biljaka/m² odgovara gustini sadnje u konvencionalno gajenom usevu krompira u Srbiji i može se preporučiti kao dovoljna za optimalno suzbijanje KCN. Minimalne razlike u smanjenju gustine populacije dobijene sa gustinama biljaka od 9 i 25 biljaka po m² nisu dovoljno velike da bi opravdale gušću sadnju krompira.

Smanjenje gustine populacije *G. rostochiensis* u gustini sadnje od 9 i 25 biljaka po m² od 70%. bilo je manje za oko 5% u S1 odnosno 10% u S2 u poljskom ogledu tokom 2010. i 2011. (poglavlje 4.5.3) pod uticajem iste otporne sorte. Biljke gajene u ovom ogledu nisu zagrtane, zalivane bez zaštite protiv bolesti i štetočina, što je uslovalo njihov značajno slabiji porast i razvijenost, u odnosu na konvencionalno gajen usev na parceli Ispod Siminog spomenika (S1 i S2). Takođe, ono što se značajno razlikovalo u ova dva ogleda je inicijalno mnogo veća gustina populacije samoniklih krompira u mikroplot ogledu (2,8 biljke/m²). Iako je uklanjanje samoniklih biljaka vršeno, vrlo je moguće da nisu svi uklonjeni na vreme pre formiranja nove generacije. Takođe zbog gustog sklopa biljaka u ponavljanjima sa 25 biljaka/m², samonikle biljke verovatno nisu primećene. U ovim tretmanima na kraju ogleda je i nađen najveći broj potpuno vitalnih cista, koje su se mogle formirati na ovim biljkama. Potpuno vitalne ciste sadržale su čak 13% ukupne Pf vitalnosti. Povećanje Pf vrednosti uticalo je i na manji pad gustine populacije KCN u ovom ogledu. Den Ouden (1967) je ispitivao uticaj samoniklih biljaka na KCN u usevu ovsa i zaključio sa gustina populacije od 4 i 16 samoniklih biljaka po m² ne utiče značajno na uvećanje populacije KCN ali omogućava da se vitalnost populacije održi duže u polju. Međutim, verovatnije je da će uvećanje populacije biti veće u usevu koji stimuliše višestruko značajnije piljenje L2 kakav je otporna sorta krompira *agria*, nego u usevu ovsa sa samo spontanom piljenjem L2 KCN kao u radu Den Ouden (1967). U eksperimentima u zatvorenim kontejnerima gde krompir ni ne razvija nadzemne organe, uvećanje broja cista može biti i do 20 puta (Foot, 1977; Phillips *et al.*, 1980; Radivojević *et al.*, 2007). Seinhorst (1993) zaključuje da broj jaja po cisti ne zavisi od razvijenosti nadzemne mase biljaka krompira. Stoga može se pretpostaviti da prisustvo samoniklih krompira koji su potpuno pod zemljom sa malo ili ni malo nadzemnih organa, a uz obilno prisustvo ispiljenih L2 u

zemljištu (u ovom slučaju P_i je 122 L2/g zemljišta) mogu omogućiti razvoj novih cista i usloviti uvećanje populacije. Dewar *et al.* (2000) sprovodi ogled u usevu transgene šećerne repe rezistentne na glifosat u kojim sadi “samonikle” biljke krompira u gustini 1 biljke/m², radi ispitivanja efikasnosti glifosata u suzbijanju samoniklog krompira i KCN. Dewar *et al.* (2000) navode uvećanje populacije cista KCN do 148% i L2 do 240% u kontrolnim parcelicama bez tretmana glifosatom i smanjenje populacije KCN, u većini parcelica gde je korišćen glifosat za suzbijanje samoniklih biljaka krompira.

Prethodna istraživanja navode mogućnost formiranja cista i na otpornim sortama krompira. Međutim, takve ciste su uglavnom male i sadrže u proseku 70 L2 po cisti, a mnoge ni ne sadrže jaja odnosno L2 (Mullin i Brodie, 1988). Takođe, ciste formirane na otpornoj sorti *crisps4all* (poglavlje 4.4.3), sadržale su još manji broj jaja po prosečnoj cisti od 64 L2/ cisti. Većina u ovom ogledu formiranih cista sadržalo je više od 400 L2 (nijedna manje od 200), sugerišući da nisu nastale na korenu krompira sorte *agria* i da eradikacija samoniklih nije bila kompletna. Ovo potvrđuje i rad u istom delu polja naredne godine kada je prilikom postavljanja mikroplot ogleda sa *Tagetes* sp. nailaženo na krtole krompira sorte *désirée* u zemljištu. U tabeli 15 prikazano je da posle otporne sorte krompira *agria* među prikupljenim cistama u uzorcima bilo oko 1% cista iz kategorije VI u kojima je bilo 13% ukupne populacije L2. Sa manjom inicijalnom populacijom L2 u polju procentualno učešće L2 iz novoformiranih cista bi značajnije uticalo na Pf vrednosti a posledično i Pf/Pi odnos, tj smanjenje populacije. Stoga, možda je to razlog za više nego dvostruko povećanje broja L2 u nekim ponavljanjima u ogledu Dewar *et al.* (2000) gde je početna gustina populacije, P_i , iznosila oko 20 L2/g zemljišta, 6 puta manje nego u ovom eksperimentu.

Poređenjem promena vitalnog sadržaja u okviru kategorija vitalnosti ustanovljene su statistički značajne razlike između P_i i Pf vrednosti u kategorijama I, II, III, IV i V. Odsustvo statističke značajnosti u kategoriji VI verovatno je posledica malog broja punih cista na početku (P_i) (usled spontanog piljenja L2 posle dve godine odsustva domaćina) i formiranja novih cista konstatovanih na kraju ogleda (Pf). Smanjenje ili povećanje broja cista između P_i i Pf vrednosti u okviru kategorija vitalnosti, praćeno je smanjenjem ili povećanjem broja L2/cisti u svim kategorijama osim u kategoriji III (Tabela 15). Smanjenje

broja cista ali povećanje broja L2/cisti u ovoj kategoriji vitalnosti, sugeriraju da se najveći broj L2 koje su u dijapauzi nalazi upravo u cistama sa vitalnošću od 10 do 35%.

5.5.3 Poljski ogled aktivnog suzbijanja *Globodera rostochiensis*, patotip Ro1 gajenjem otpornog krompira

U aprilu 2006. godine parcela je uzorkovana iz fitosanitarnih razloga u okviru projekta identifikacije zaraženih parcela u okolini prvobitnog nalaza KCN na Ponikvama. Uzorci su prikupljeni cik-cak prohodom preko parcele sa oko 100 uboda sondom i objedinjenim uzorkom mase oko 1,5 kg. Vitalnost populacije je utvrđivana za 15 slučajno odabranih cista. S obzirom da su sve ciste bile vitalne, u datom momentu nije postojala potreba za detaljnijim utvrđivanjem vitalnosti imajući u vidu da je po tada važećoj fitosanitarnoj regulativi 1 vitalna cista bila dovoljna za isključivanje parcele iz proizvodnje (Anon., 2005). Tada utvrđena gustina populacije od 1,7 cista/g zemljišta je verovatno potcenjena iako je uvećanje broja cista dokazano na samoniklim biljkama. Dewar *et al.* (2000) registruju do 148% uvećanja populacije KCN tokom jedne godine pri gustini od 1 biljke osetljivog samoniklog krompira po m² površine. Gustina populacije samoniklih biljaka krompira u 2010. godini, tj. četiri godine od poslednjeg gajenja krompira na parceli, je bila značajno manja nego kod Dewar *et al.* (2000), oko 0,2 biljke/m². Ipak, u godinama pre eradikacije u leto 2010., samonikli krompiri su svakako bili brojniji i uticali na uvećanje populacije KCN ali je malo verovatno da se pod njihovim uticajem uduplala. Stoga je smanjenje populacije za period 2006-2010. računato samo preko L2/cisti jer bi gustina populacije izražena preko L2/g zemljišta za 2006. bila verovatno potcenjena.

Reprodukcija KCN je moguća na nekim divljim pomoćnicama (Sullivan *et al.*, 2007). Međutim, takve biljke nisu primećene na ovoj parceli i neočekivano velika gustina populacije utvrđena u proleće 2010. (S2) odnosno 2011. (S3) je najverovatnije posledica prisustva samoniklih osetljivih biljaka krompira u godinama pre eradikacije izvršene tokom ovog poljskog ogleda. Prisustvo novih potpuno punih cista bi bilo zamaskirano u slučaju utvrđivanja vitalnosti na bilo koji drugi način osim individualnom disekcijom. Kao i u prethodnom ogledu ispitivanja uticaja gustine sadnje sorte *agria*, i u ovom ogledu dokazano

je da čak i posle četiri odnosno pet godina posle poslednjeg osetljivog useva, u polju su i dalje prisutne vrlo visoko vitalne ciste. U ovom ogledu takve ciste sadržale su čak 15% od ukupno vitalnih L2 u uzorku. Ove vitalne L2 mogu biti glavnina vitalne populacije koja bi uticala na rapidno uvećanje populacije pri gajenju osetljivog useva u narednoj sezoni. Takođe ovako vitalne ciste predstavljaju izvor dormantnih L2 što produžava vreme potrebno da gustina populacije padne ispod nivoa ekonomske štetnosti. U ovom smislu uticaj osetljivih samoniklih biljaka ne bi trebao biti potcenjivan.

Smanjenje populacije KCN pod uticajem otporne sorte *agria* se statistički značajno razlikovalo između S2 (2010) i S1 (2011). Mogući razlog može biti u različitim Pi vrednostima, 159 L2/g u S2 naspram 115 L2/g zemljišta u S1. (Tabela 1). Takođe još jedan od mogućih faktora su razlike u distribuciji frekvencija cista po kategorijama vitalnosti. Pi vrednosti u S2 pokazuju da je čak 88% od svih L2 prisutno u okviru kategorija V i VI, u poređenju sa S1 gde je 37% od ukupnog vitalnog sadržaja u pomenutim kategorijama vitalnosti (Tabela 20). U tabeli 15 dokazano je intenzivnije piljenje L2 iz kategorija visoke vitalnosti.

Godišnje vrednosti smanjenja gustine populacija KCN u odsustvu domaćina variraju i kreću se od 49% (Den Ouden, 1974), 33% (Huijsman, 1961), 20% (Cole i Howard, 1962; Den Ouden, 1970; Whitehead, 1995), do manje od 10% (Turner, 1996). Naši rezultati na potparceli S3 govore da je smanjenje L2/cisti žute KCN tokom 9 godina iznosi 19.4% na godišnjem nivou i najbliži su rezultatima Whitehead (1995). Veći pad populacije KCN od 22% registrovan je tokom prve četiri godine posle gajenja osetljive sorte *désirée*. Veće smanjenje u ovom periodu verovatno je posledica značajnijeg smanjenja u prvoj godini posle osetljivog krompira kao što je pokazano od Cole i Howard (1962) i Devine *et al.* (1999). Posle četvrte godine u našem ogledu godišnji pad populacije KCN je manji od 22%, registrovanom tokom prve četiri. Pad populacije KCN izražen i kao L2/cisti i L2/g zemljišta od oko 12% godišnje je utvrđen u periodu 2011.-2012. i 2013-2014. Ryan i Devine (2005) precizno definišu godišnje piljenje od 37% cista držanih u zemljištu u poljskim uslovima. Stelter (1970) takođe registruje smanjenje populacije od 40-45% u prvoj godini posle krompira u usevu nedomaćina. Sa padom populacije od oko 40% u

sezoni 2006. i potonjim godišnjim smanjenjem od 12%, gustina populacije bi pala na Pf vrednosti koje su i registrovane u ovom eksperimentu u jesen 2014. godine.

Godišnji pad gustine populacije KCN u parlogu razlikovao se između potparcela. Godišnje smanjenje populacije KCN u godinama u parlogu bilo je veće na potparcelama na kojima je prethodno gajena *agria*, nego u S3 koja je od 2005. godine konstantno uparložena. Na S1 godišnje smanjenje gustine populacije tokom tri godine iznosilo je 35% a na S2 čak oko 50%. Jedan od razloga za veće smanjenje populacije može biti izlaganje cista KCN korenskim eksudatima u prethodnim godinama gajenja otpornog krompira. Jaja koja bivaju izložena korenskim eksudatima krompira su kasnije osetljivija na desikaciju (Perry, 1989). Drugi razlog mogu biti veće greške nastale u proceni vitalnosti populacije iz uzorka od 50 cista, zbog mnogo manje vitalnosti populacije sa oko 90% potpuno praznih cista u S1 u poređenju sa oko 75% u S3 (Tabela 20). Razlog za godišnje smanjenje populacije od 50% na S2 leži u najverovatnije precenjenom padu populacije od 90% u prvoj godini parloga posle gajenja sorte krompira *agria*. Greška u proceni vitalnosti populacije je najverovatnije napravljena u jesen 2011. gde je samo jedna cista (u slučajnom uzorku od 50) iz kategorije V, sadržala 43% vitalnosti celokupnog uzorka (Tabela 20). Precenjena vitalnost u oktobru 2011. je razlog za potcenjeno smanjenje populacije od svega 25% u sezoni nekonvencionalnog gajenja sorte *agria* 2011. godine. Ovo takođe objašnjava nepostojanje statistički značajne razlike kada su se poredile godine (2011. i 2012.) na S1 i S2. Ovi rezultati sugerišu da u situacijama sa velikom gustinom cista u zemljištu i/ili dugom prisutnošću KCN na parceli kada se pretpostavlja da populaciju može da čini veliki broj praznih cista, veći broj cista treba uzimati za procenu vitalnosti populacije.

Razlike u smanjenjima populacije u literaturnim podacima mogu biti posledica različitih faktora kao što je već diskutovano. Međutim, vitalnost cista a posebno dominacija punih cista u uzorku mogu biti razlog ovih varijacija. Prethodna istraživanja pokazuju veće smanjenje populacija KCN u prvoj godini posle osetljivog useva nego u kasnijim godinama u različitim zemljištima i različitim zemljama. (Reinmuth i Schmidt, 1959 citirano u Cole i Howard, 1962; Cole i Howard, 1962; Stelter, 1970; Devine *et al.*, 1999). Slični ovim, su rezultati istraživanja autora Scholte i Vos (2000), koji koriste ponavljanja od po 50 *G. rostochiensis* Ro1 cista starih jednu godinu, koje drže u kesicama zakopanim u zemljištu

tokom dve godine parloga. Scholte i Vos (2000) konstatuju značajnije piljenje L2 u prvoj godini istraživanja. Razlog za značajnije smanjenje populacije KCN u prvoj godini posle osetljivog useva može biti brojnije piljenje L2 iz punijih cista koje dominiraju u takvim uzorcima. Samo individualnom disekcijom cista se može utvrditi zastupljenost takvih kategorija “punijih” cista.

Rezultati dobijeni u ovim istraživanjima u pogledu smanjenja populacija KCN usled gajenja otporne sorte krompira su u skladu sa rezultatima dobijenim u prethodnim zemljama, uz sve razlike u početnim gustinama populacija, korišćenim sortama, različitim klimatima, zemljištima i drugim (McKenna i Winslow, 1973; Inagaki, 1978; Lamondia i Brodie, 1986; Andersson, 1987; Halford et al., 1999; Woods i Haydock, 2000; Scholte, 2000a). Rezultati smanjenja gustine populacije od 55% datih od Cole i Howard (1959) i Efremenko i Klimakova (1973), verovatno su posledica prisustva mešenih populacija obe vrste KCN na eksperimentalnim površinama, za koje se nije znalo pre 1973. godine kada Stone (1973) opisuje vrstu *G. pallida*.

Naučna vrednost ovih istraživanja leži u načinu utvrđivanja vitalnosti cista, što je omogućilo da se procene promene u broju neispiljenih L2 u cistama i da se ciste svrstaju u kategorije vitalnosti. Smanjenja gustina populacija KCN u poljskim eksperimentima u trajanju od 9 godina, koja su izražena kroz promene vitalnosti cista svrstanih u kategorije vitalnosti, po našim saznanjima, nije prethodno prezentovana u nematološkoj literaturi.

Različito učešće kategorija vitalnosti cista u uzorku, može biti jedan od značajnih faktora koji utiče na varijabilnost u smanjenjima gustina populacija KCN prezentovanim od strane različitih autora i različitim režimima suzbijanja KCN (Grujić i Radivojević, 2017).

Ova istraživanja daju dokaze o uticaju osetljivih samoniklih biljaka na održavanje i podmlađivanje populacija KCN u uparloženim parcelama. Takođe, u ogledu ispitivanja optimalne gustine sadnje otpornih biljaka krompira, demonstriran je uticaj osetljivih samoniklih biljaka krompira na populaciju KCN u uslovima gajenja otporne sorte krompira. U pomenutom ogledu pokušana eradikacija samoniklih biljaka je bila delimično uspešna. Uticaj samoniklih krompira na KCN bi bio značajniji u proizvodnoj praksi gde

nema eradikacije samoniklih osetljivih biljaka, što je čest slučaj u proizvodnji krompira u zapadnoj Srbiji.

U poglavlju 4.5 istraživanja, opisana su pasivna i aktivna kontrola brojnosti KCN, kao dva osnovna mehanizma njihovog suzbijanja, na tri parcele sa različitom istorijom polja (Tabela 1). Na jako infestiranoj parceli S na Ponikvama, (oko 3 ciste i 300 L2 po g zemljišta) posle devet godina parloga populacija *G. rostochiensis* se smanjuje 85% na 58 L2/g zemljišta, ni blizu ekonomskog praga štetnosti. Značajno manje inicijalne gustine populacije *G. pallida* (oko 54 L2 po g zemljišta, na nivou krajnjih na parceli S) se smanjuju za 96% posle osam godina parloga i padaju na nivoe ispod praga ekonomske štetnosti ove vrste. Godišnje smanjenje gustine populacije u uslovima parloga je bilo nešto manje kod *G. rostochiensis* od 20% nego *G. pallida* od 27% a razlog za to je značajno manje smanjenje *G. rostochiensis* u poslednje četiri godine praćenja od svega 12% na godišnjem nivou (Tabela 19). Uz prosečno smanjenje populacije *G. rostochiensis* sa parcele S od 20% trebalo bi bar još 10 godina parloženja da gustina populacije padne ispod pragova štetnosti od 5 L2/g zemljišta, a uz nastavak populacionog pada od 12% koliko je zabeleženo poslednjih godina, ukupno čak 29 godina.

Stoga, sa aplikativnog aspekta, pasivno suzbijanje nema opravdanje kao jedini način kontrole KCN na jako infestiranim parcelama i u lokalitetima u kojima su KCN već prilično raširene, kakve su Ponikve u zapadnoj Srbiji. Međutim, pasivni pristup suzbijanja je bio uspešan na slabije infestiranoj parceli sa *G. pallida* na Javoru. On ima svoje prednosti u situacijama kada se želi minimizirati rizik od širenja u slučajevim pojave KCN a posebno, *G. pallida* na nekom području, ili u situacijama kada je ekonomski prihvatljivo napuštanje ratarske proizvodnje na infestiranoj parceli i premeštanje proizvodnje na druge, neinfestirane parcele.

Na parceli L (poglavljje 4.5.2) posle jednog ciklusa gajenja otpornih biljaka klopki, dobijeno je smanjenje gustine populacije *G. rostochiensis* od 70%, sa inicijalnih 119 L2/g na 27 L2/g zemljišta, sa vitalnošću populacije i dalje daleko iznad štetnih nivoa. Jednogodišnje gajenje iste otporne sorte krompira na infestiranijoj parceli S, uzrokovalo je veće smanjenje gustine populacije *G. rostochiensis* od 79-84%, zadržavajući je na oko 24

L2/g zemljišta opet iznad praga ekonomske štetnosti. Utvrđeno je da se populacije KCN mogu održavati i podmlađivati na osjetljivim samoniklim biljkama krompira koje zaostaju na parceli više godina posle osjetljivog useva. Gustina populacije osjetljivih samonikavaca u 2010. godini je bila značajno veća na parceli L (2,8 biljaka/m²) u drugoj godini posle osjetljivog useva, u odnosu na parcelu S posle 4 (1 biljka/5m²) odnosno 5 godina parloga (1 biljka/25m²), što može biti jedan od razloga za slabiji suzbijajući efekat otporne sorte *agria* na parceli L.

Na parceli S je tek devet godina parloga kombinovanog sa gajenjem otporne sorte krompira tokom jedne ili dve godine, dovelo vitalnost populacije *G. rostochiensis* na manje od 1% inicijalne vitalnosti u 2006. godini, i ispod pragova ekonomske štetnosti ove vrste. Stoga, optimalna, održiva i kao što se pokazalo u ovom radu, uspešna strategija suzbijanja KCN, je omogućavanje smanjenja populacije KCN, kroz spontano piljenje L2 iz cista u uslovima parloga, tokom nekoliko godina, i potom gajenje otpornih sorti krompira prema KCN, uz paralelno obavezno suzbijanje samoniklim biljaka osjetljivih sorti krompira. Ova predložena strategija mogla bi biti jedna od uspešnih i održivih metoda kontrole KCN na jako infestiranim površinama čime bi se izbeglo korišćenje ekotoksikološki neprihvatljivih nematocida.

Među poljoprivrednim proizvođačima krompira, na ispitivanim lokalitetima je česta praksa da se sitna frakcija krtola, koja ima malu tržišnu vrednost koristi kao semenski krompir u narednoj godini. Administrativno regulisanom merkantilnom proizvodnjom otpornih sorti krompira na infestiranim površinama, koju dozvoljava trenutno važeća fitosanitarna regulativa, i potonjim korišćenjem sitne frakcije krtola kao semenskog krompira na delu ili susednim infestiranim parcelama, bi se smanjio rizik od širenja na infestiranim lokalitetima a istovremeno ubrzao proces suzbijanja KCN.

6 ZAKLJUČCI

Minimalne temperature potrebne za aktivaciju i piljenje L2 srpskih populacija KCN su 5,2 °C za *G. pallida* i između 5,5 °C i 8 °C za *G. rostochiensis*, i javljaju se već u aprilu, značajno pre uobičajenog vremena konvencionalne sadnje krompira na oba ispitivana lokaliteta.

KCN u zapadnoj Srbiji imaju dva talasa piljenja L2 koji se poklapaju sa kišnim periodima sa krajem proleća i leta, sa vrhuncima piljenja L2 u junu i početkom jula, i avgusta-septembra meseca.

Vreme potrebno za završetak ciklusa razvića jedne generacije *G. rostochiensis* i pojave nove generacije cista u uslovima zapadne Srbije tokom 2014. godine iznosilo je 57 dana od sadnje krompira u 2014., oko 2 meseca u 2010. i manje od 3 meseca u 2009. godini.

Globodera pallida u uslovima zapadne Srbije završava ciklus razvića u periodu od dva do tri meseca

Populacije KCN se uvećavaju do deset puta na osetljivoj sorti krompira *désirée*.

Godišnje smanjenje gustine populacije *G. rostochiensis* u približno poljskim uslovima pod uticajem biljaka klopki sorte *agria* iznosilo je 80-84% a populacije *G. pallida* pod sortom *innovator* 90-92%. Kumulativan pad gustine populacije obe vrste KCN posle dve godine uzastopnog gajenja otpornih sorti u približno poljskim uslovima iznosio je 97%.

Smanjenje vitalnosti populacije KCN u simulaciji parloga bilo je slično kod obe vrste, intenzivnije u prvoj godini posle osetljivog useva kada je iznosilo 45-64% kod *G. rostochiensis* i 60% kod *G. pallida*. U drugoj godini zabeleženo je smanjenje vitalnosti populacije *G. rostochiensis* od 30% i *G. pallida* od 25%, sa kumulativnim padom tokom dve godine kod obe vrste KCN od oko 70%.

Promene vitalnosti populacije KCN pod uticajem otporne i osetljive sorte krompira, kao i u uslovima bez domaćina, analizirane su po prvi put kroz promene vitalnosti cista izražene preko kategorija vitalnosti.

Domaće sorte paradajza pokazale su isti ili veći potencijal izazivanja piljenja invazivnih larvi KCN od sorte krompira *désirée*, a sorta plavog patlidžana značajno manji.

Solanum nigrum je pokazala visok potencijal stimulacije piljenja invazivnih larvi KCN u nivou sorte krompira *désirée* i nijedna od osam populacija ove korovske vrste iz Srbije se nije pokazala kao domaćin ni jednoj od srpskih populacija KCN. Ovi rezultati *S. nigrum* svrstavaju u potencijalne agense kontrole KCN.

Tagetes patula i *Physalis alkekengi* nisu izazvale piljenje invazivnih larvi KCN i nisu domaćini srpskih populacija KCN.

Sorta krompira *agria* je potpuno otporna na patotip Ro1 *G. rostochiensis*, a sorta inovator je pokazala visoku otpornost prema patotipu Pa2/3 *G. pallida*. Obe sorte mogu se preporučiti za suzbijanje pomenutih vrsta KCN.

Sorta krompira *crisps4all* pokazala je najviši stepen otpornosti prema oba u Srbiji prisutna patotipa KCN i može se preporučiti za regulisano gajenje merkantilnog krompira na, sa KCN, infestiranim površinama. Uz prethodnu determinaciju vrste KCN, ova sorta krompira, sama, može biti i diskriminatorna za prevalentne patotipove KCN u Evropi i koristiti se za preliminarno određivanje patotipova u fitosanitarne svrhe u Srbiji.

Gustina sadnje otpornih biljaka klopki krompira od 9 biljaka po m² je optimalna gustina sadnje za dobijanje maksimalnog efekta smanjenja populacije KCN što odgovara gustini sadnje u konvencionalno gajenim usevima krompira.

Jednogodišnje gajenje otporne sorte *agria* na jako infestiranom zemljištu u mikroplot ogledu sa inicijalnom gustinom populacije *G. rostochiensis* 119 L2/g zemljišta smanjilo je gustinu populacije ove vrste KCN za 70%.

U poljskim proizvodnim uslovima gajenja krompira na površini 0,5 ha, otporan usev krompira sorte *agria* smanjio je vitalnost populacije za 79 i 84% u dve godine na dva dela jako infestirane parcele sa inicijalnom vitalnošću populacije od od 159 i 115 L2/g zemljišta.

Gajenje otporne sorte krompira *agria* tokom jednog vegetacionog ciklusa na parcelama sa jakom infestacijom *G. rostochiensis* nije dovoljno da gustina populacije padne ispod pragova ekonomske štetnosti.

Godišnje smanjenje gustine poljske populacije *G. rostochiensis* posle devet godina parloga iznosilo je 19,4% i bilo intenzivnije tokom prvih pet godina posle osetljivog useva (22%) nego u narednih četiri (12%).

Posle 9 godina parloženja zabeleženo je 15% inicijalne vitalnosti populacije *G. rostochiensis*, ili 59 L2/g zemljišta, što je gustinu populacije činilo mnogostruko većom od pragova štetnosti ove vrste KCN. Dobijeni rezultati ukazuju da na jako infestiranim površinama i lokalitetima gde su KCN u širenju, kakav je u Srbiji lokalitet Ponikve, parloženje kao metod pasivne kontrole KCN nema ekonomsku i fitosanitarnu opravdanost.

U zemljištu koje je povremeno obrađivano a na kom nisu gajeni domaćini *G. rostochiensis* godišnje smanjenje gustine populacije je bilo veće nego u uparloženom, i iznosilo preko 30%.

Godišnje smanjenje gustine poljske populacije *G. pallida* tokom osam godina praćenja u zaparloženom neobrađivanom zemljištu iznosilo je 27%.

Inicijalna vitalnost populacije *G. pallida* od 54 L2/g zemljišta u uslovima parloga smanjuje se na nivoe ispod praga ekonomske štetnosti posle osam godina. Ovi rezultati potvrđuju da parloženje, kao metod pasivnog suzbijanja, može biti uspešno. Može se preporučiti kao jedan od održivih modaliteta suzbijanja KCN:

- na sa KCN manje infestiranim parcelama i lokalitetima
- situacijama kada se želi minimizirati rizik od širenja KCN, kao što je slučaj pojave IA karantinske *G. pallida* na lokalitetu Ograđenik
- situacijama kada je ekonomski prihvatljivo napuštanje ratarske proizvodnje na infestiranoj parceli, što može biti primenjivo i održivo u domaćinstvima koja se bave i stočarskom proizvodnjom

Kombinovanje parloga sa gajenjem otporne sorte krompira tokom pet vegetacionih sezona pokazalo se kao uspešna strategija suzbijanja KCN na lokalitetu Ponikve. Sa jednom godinom konvencionalnog gajenja krompira otporne sorte *agria* i četiri godine parloženja populacija *G. rostochiensis* svedena je na 5% inicijalne vitalnosti i granične vrednosti ekonomske štetnosti. Jedna godina konvencionalnog, naredna godina sa nekonvencionalnim gajenjem krompira otporne sorte *agria* i tri godine potonjeg parloženja uticalo je na smanjenje gustine populacije ispod 1% inicijalne vitalnosti i ispod ekonomski štetnih nivoa. Za isti efekat sa samo jednim gajenjem otporne sorte *agria* bilo je potrebno osam godina parloženja.

7 LITERATURA

- Agrico (2016): Potato breeding and trading company. <https://en.agrico.nl/>.
- Andersson, S. (1987): Den gula potatiscystnematodens (*Globodera rostochiensis*) populationsminskning vid odling av icke-värdväxt och nematodresistent potatis - några preliminära resultat. [The decline of the yellow potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* under non-host crops and under resistant potato cultivars - some preliminary results.]. Växtskyddsnotiser 5-6: 145–150.
- Anon. (2005) Naredba o preduzimanju mera radi sprečavanja širenja i iskorenjavanja krompirovih cistolikih nematoda. Službeni glasnik RS, 74/05: 1–11
- Anon. (2006): Testing of potato varieties to assess resistance to *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. EPPO Bulletin, 36: 419–420.
- Anon. (2007a): COUNCIL DIRECTIVE 2007/33/EC on the control of potato cyst nematodes and repealing Directive 69/465/EEC. Official Journal of the European Union 16.6.2007: 12–22.
- Anon. (2007b): 2007/619/EC: Commission Decision of 20 September 2007 concerning the non-inclusion of 1,3-dichloropropene in Annex I to Council Directive 91/414/EEC and the withdrawal of authorisations for plant protection products containing that substance. Official Journal of the European Union 25.9.2007, L 249/11: 1
- Anon. (2008): Pravilnik o zdravstvenom pregledu useva i objekata za proizvodnju semena, rasada i sadnog materijala i zdravstvenom pregledu semena, rasada i sadnog materijala. Službeni glasnik Republike Srbije, 107/08.
- Anon. (2009): Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC. Official Journal of the European Union 4.11.2009, L 309, 1-49.
- Anon. (2010a): Pravilnik o listama štetnih organizama i listama bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata. Službeni glasnik Republike Srbije, 7/10.
- Anon. (2010b): Zakon o priznavanju sorti poljoprivrednog bilja. Službeni glasnik Republike Srbije, 30/10.

- Anon. (2013a): Naredba o sprovođenju posebnih fitosanitarnih pregleda radi otkrivanja štetnih organizama bledožute krompirove cistolike nematode *Globodera pallida* (Stone) Behrens i zlatnožute krompirove cistolike nematode *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens, kao i o merama koje se preduzimaju u slučaju pojave tih štetnih organizama. Službeni glasnik Republike Srbije, 51/13.
- Anon. (2013b): PM 7/40 (3) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. EPPO Bulletin, 43(1): 119–138.
- Anon. (2014): Aerodrom Ponikve Užice klimatografija. Republički hidrometeorološki zavod, Beograd, 1–121. <http://www.hidmet.gov.rs>.
- Anon. (2015a): Godišnji bilten za Srbiju 2014. godina. Republički hidrometeorološki zavod Srbije, Beograd, 1-10.
- Anon. (2015b): Pravilnik o utvrđivanju programa mera zaštite zdravlja bilja za 2015. godinu. Službeni glasnik RS, 45 /15, 1–24.
- Anon. (2016): Lista priznatih sorti poljoprivrednog bilja. Ministarstvo poljoprivrede RS, Odeljenje za priznavanje sorti. <http://www.sorte.minpolj.gov.rs/sites/default/files/>.
- Arntzen, F.K., Henk Vinke, J., Hoogendoorn, C.J. (1993): Inheritance, level and origin of resistance to *Globodera pallida* in the potato cultivar Multa, derived from *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* CPC 1673. *Fundamental and Applied Nematology*, 16(2): 155–162.
- Arntzen, F. K., Visser, J.H.M., Hoogendoorn, J. (1994): Differences in virulence between some potato cyst nematode populations to potato genotypes with monogenic resistance to *Globodera pallida* from *Solanum multidissectum* or *S. tuberosum* ssp. *andigena* cpc 1673 Frits. *Fundamental and Applied Nematology*, 17(2): 190–192.
- Bačić, J. (2008): Osetljivost sorti krompira prema ekonomski značajnim vrstama roda *Globodera* (Nematoda): Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, 1-79.
- Bačić, J. (2010): Krompirova zlatna cistolika nematoda (*Globodera rostochiensis* Woll.) u Srbiji. *Biljni lekar*, 38(3): 201–207.
- Bačić, J. (2014): Prisustvo krompirovih cistolikih nematoda u regionima gajenja

- merkantilnog krompira Srbije. *Zaštita bilja*, 65(1): 184–191.
- Bačić, J., Barsi, L., Štrbac, P. (2011): Life cycle of the potato golden cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) grown under climatic conditions in Belgrade. *Archives of Biological Sciences*, 63(4): 1069–1075.
- Bačić, J., Geric Stare, B., Širca, S., Urek, G. (2013): Morphometric and molecular analysis of potato cyst nematodes from Serbia. *Zbornik Predavanj in Referatov 11. Slovenskega Posvetovanja O Varstvu Rastlin Z Mednarodno Udeležbo Bled*, 5.–6. Marec 2013, 4–7. [Abstract]
- Baermann, G. (1917): Eine einfache Methode zur Auffindung von *Ankylostomum* (Nematoden) Larven in Erdproben. *Geneesk Tijdschr Ned-Indie* 57:131–137.
- Baldwin, J.G., Mundo-Ocampo, M. (1991): Heteroderinae, cyst and non cyst forming nematodes. In: Nickle W.R. (ed.), *Manual of Agricultural Nematology*. Marcel Dekker, New York, pp. 275–362.
- Banks, N.C., Hodda, M., Singh, S.K., Matveeva, E.M. (2012): Dispersal of potato cyst nematodes measured using historical and spatial statistical analyses. *Phytopathology*, 102(6): 620–6.
- Been, T.H., Schomaker, C.H. (2000): Development and evaluation of sampling methods for fields with infestation foci of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *G. pallida*): *Phytopathology*, 90(6): 647–656.
- Been, T.H., Schomaker, C.H. (2001): Ways to improve the accuracy of hatching tests for *Globodera* spp. with special emphasis on nematicide trials. *Nematology*, 3(8): 773–795.
- Been, T.H., Schomaker, C.H. (2006): Distribution patterns and sampling. In: Perry, R.N., Moens, M. (eds.), *Plant nematology*. CABI, Wallingford, UK, pp. 302–324.
- Behrens, E. (1975): [*Globodera* Skarbilovich, 1959 an independent genus in the subfamily Heteroderinae Skarbilovich, 1949 (Nematoda: Heteroderidae)]. *Vortragstagung zu Aktuellen Problemen der Phytonematologie*, 1: 12–26.
- Bellvert, J., Crombie, K., Horgan, F.G. (2008): Effect of sample size on cyst recovery by flotation methods: Recommendations for sample processing during EU monitoring of potato cyst nematodes (*Globodera* spp.): *EPPO Bulletin*, 38: 205–210.

- Beniers, J. E., Been, T., Mendes, O. (2014): Quantification of viable eggs of the potato cyst nematodes (*Globodera* spp.) using either trehalose or RNA-specific Real-Time PCR. *Nematology*, 16(19): 1219–1232.
- Bijloo, J.D. (1954): A new method for estimating the cyst contents of the potato-root eelworm *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. *Journal of Helminthology*, 28(3–4): 123–126.
- Bohinc, T., Ban, Smiljana, Ban, D., Trdan, S. (2012): Glucosinolates in plant protection strategies: A review. *Archives of Biological Sciences*, 64(3): 821–828.
- Bohlmann, H., Sobczak, M. (2014): The plant cell wall in the feeding sites of cyst nematodes. *Frontiers in Plant Science*, 5, Article 89: 1–10.
- Boydston, R.A. (2010): Weed Hosts of *Globodera pallida* from Idaho. *Plant Disease*, 94(7): 918.
- Bulman, S.R., Marshall, J.W. (1997): Differentiation of Australasian potato cyst nematode (PCN) population using the polymerase chain reaction (PCR): *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 25: 123–129
- Bridgeman, M. R., Kerry, B. R. (1980): The sex ratios of cyst-nematodes produced by adding single second-stage juveniles to host roots. *Nematologica*, 26(2): 209–213.
- Brodie, B. B. (1983): Control of *Globodera rostochiensis* in relation to method of applying nematicides. *Journal of Nematology*, 15(4): 491–495.
- Brown, E.B. (1969): Assessment of the damage caused to potatoes by potato cyst eelworm, *Heterodera rostochiensis* Woll. *Annals of Applied Biology*, 63(3): 493–502.
- Byrne, J., Twomey, U., Maher, N., Devine K.J., Jones P.W. (1998): Detection of hatching inhibitors and hatching factor stimulants for golden potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, in potato root leachate. *Annals of Applied Biology*, 132(3): 463–472.
- Byrne, J.T., Maher, N.J., Jones, P.W. (2001): Comparative responses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* to hatching chemicals. *Journal of Nematology*, 33(4): 195–202.
- Carden, P.W. (1965): The relationship between cyst and egg counts in advisory sampling of potato root eelworm. *Plant Pathology*, 14(3): 129–137.
- Canto Saenz, M., De Scurrah, M.M. (1977): Races of the potato cyst nematode in the

- Andean region and a new system of classification. *Nematologica*, 23(3): 340–349.
- Castelli, L. Bryan, G., Blok, V.C., Ramsay, G., Sobczak, M., Gillespie, T., Phillips, M.S. (2006): Investigations of *Globodera pallida* invasion and syncytia formation within roots of the susceptible potato cultivar Désirée and resistant species *Solanum canasense*. *Nematology*, 8(1): 103–110.
- Clayden I. J. (1985): Potato cyst nematodes (eelworms) in Northern Ireland. Legislative control (2): Agriculture in Northern Ireland, 60(7): 233–235.
- Clarke, A.J., Perry, R.N. (1977): Hatching of Cyst-Nematodes. *Nematologica*, 23(3): 350–368.
- Clarke, A.J., Perry, R.N. (1985): Egg-shell calcium and the hatching of *Globodera rostochiensis*. *International Journal for Parasitology*, 15: 511–516.
- Cobb, N.A. (1918): Estimating the nema populations of soil. USDA Technical Circular 1, 48.
- Cole, C.S., Howard, H.W. (1959): The effect of growing resistant potatoes on a potato root eelworm (*Heterodera rostochiensis* Woll.) population. *Nematologica*, 4: 307–316.
- Cole, C.S., Howard, H.W. (1962): The effect of growing resistant potatoes on a potato-root eelworm population—a microplot experiment. *Annals of Applied Biology*, 50(1): 121–127.
- Cook, R., Evans, K. (1987): Resistance and tolerance. In: Brown, R.H., Kerry, B.R. (eds.), Principles and practice of nematode control in crops. Academic Press, New York, pp. 179–231.
- Cook, R., Starr, J.L. (2006): Resistant Cultivars. In: Perry, R.N., Moens, M. (eds.), Plant nematology. CABI, Wallingford, UK, pp. 370–391.
- Cooper B.A. (1953): Eelworm problems in North Fenland with special reference to crop rotation. Horticultural Education Association. Annual Report. 106–15.
- Dale, M.F.B., de Scurrah, M.M. (1998): Breeding for resistance to the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*: strategies, mechanisms and genetic resources. In: Marks R.J., Brodie, B.B. (eds.), Potato cyst nematodes: biology, distribution and control. CABI, Wallingford, UK, pp. 167–195.
- Dale, M.F.B., Phillips, M. S. (1982): An investigation of resistance to the white potato cyst-

- nematode. *The Journal of Agricultural Science*, 99(2): 325.
- Dalton, E. Griffin, D., Gallagher, T.F., de Vetten, N., Milbourne, D. (2013): The effect of pyramiding two potato cyst nematode resistance loci to *Globodera pallida* Pa2/3 in potato. *Molecular Breeding*, 31(4): 921–930.
- De Kubbe (2016) Company for storage and transshipment, weighing, cutting, washing and treatment of seed potatoes. Biddinghuizen, Netherlands. <http://www.dekubbe.nl/en/>
- Deliopoulos, T., Devine, K.J., Haydock, P.P.J., Jones, P.W. (2007): Studies on the effect of mycorrhization of potato roots on the hatching activity of potato root leachate towards the potato cyst nematodes, *Globodera pallida* and *G. rostochiensis*. *Nematology*, 9(5): 719–729.
- Deliopoulos, T., Haydock, P.P.J., Jones, P.W. (2008): Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and the nematicide aldicarb on hatch and development of the potato cyst nematode, *Globodera pallida*, and yield of potatoes. *Nematology*, 10(6): 783–799.
- Den Ouden, H. (1967): The influence of volunteer potato plants in oats on the population density of *Heterodera rostochiensis*. *Nematologica*, 13(3): 325–335.
- Den Ouden, H. (1970): De afname van de bevolkingsdichtheid van het aardappelcysteeltje bij afwezigheid van aardappelen. Jaarverslag 1969, Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, pp. 133.
- Den Ouden, H. (1974): Afname van de bevolkingsdichtheid van het aardappelcysteeltje bij teelt van resistente aardappelen en bij braak. Jaarverslag 1973, Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, pp. 96.
- Devine, K.J. Byrne, J., Maher, N., Jones, P.W. (1996): Resolution of natural hatching factors for golden potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*. *Annals of Applied Biology*, 129(2): 323–334.
- Devine, K.J., Dunne, C., O’Gara, F., Jones, P.W. (1999): The influence of in-egg mortality and spontaneous hatching on the decline of *Globodera rostochiensis* during crop rotation in the absence of the host potato crop in the field. *Nematology*, 1(6): 637–645.

- Devine, K.J., Jones, P.W. (2000): Response of *Globodera rostochiensis* to exogenously applied hatching factors in soil. *Annals of Applied Biology*, 137(1): 21–29.
- Dewar, A.M., Haylock, L.A., May, M.J., Beane, J., Perry, R.N. (2000): Glyphosate applied to genetically modified herbicide-tolerant sugar beet and 'volunteer' potatoes reduces populations of potato cyst nematodes and the number and size of daughter tubers. *Annals of Applied Biology*, 136: 179–187.
- Di Vito, M., Sasanelli, N. (1991): The effect of *Tagetes* sp. extracts on the hatching of an Italian population of *Globodera rostochiensis*. *Nematologia mediterranea*, 9: 135–137.
- Dybal-Lima, K.J., Groove, I.G., Edwards, S.G., Blok, V.C., Back, M.A. (2016): Survey of potato cyst nematode populations in Great Britain for sustainable crop management. In: Book of abstracts. 32nd Symposium of European Society of Nematologists, Braga, Portugal, 28th Aug.- 1st Sept., pp. 336.
- Doncaster, J. (1953): A study of host-parasite relationships. The potato root eelworm (*Heterodera rostochiensis*) in black nightshade (*Solanum nigrum*) and tomato. *Journal of Helminthology*, 27(1–2): 1–8.
- Ebrahimi, N., Demeulemeester, K., Moens, M., Viaene, N. (2014): Observations on the life cycle of potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, on early potato cultivars. *Nematology*, 16(8): 937–952.
- Efremenko, V.P., Klimakova, E.T. (1973): [The prospect of using potato hybrids as a biological control of *Heterodera rostochiensis*.] *Byulleten Vsesoyuznogo Instituta Gelmintologiiim. K.I.Skryabina* (11): 34–38.
- Ellenby, C. (1952): Resistance to the potato root eelworm, *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. *Nature*, 170: 1016.
- Ellenby, C. (1954): Environmental Determination of the Sex Ratio of a Plant Parasitic Nematode. *Nature*, 174, 1016–1017.
- Ellenby, C. (1956): The cyst of the potato-root eelworm (*Heterodera rostochiensis* Wollenweber) as a hatching unit. *Annals of Applied Biology*, 44(1): 1–15.
- Ellenby, C. (1963): Stimulation of hatching of potato root eelworm by soil leachings. *Nature*, 198: 110.
- Ellenby, C., Perry, R.N. (1976): The influence of the hatching factor on the water uptake of

- the second stage larva of the potato cyst nematode *Heterodera rostochiensis*. *Journal of Experimental Biology*, 64(1): 141–147.
- EPPO/CABI (1997): Data sheets on quarantine pests *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. In: Smith, I.M., McNamara, D.G., Scott, P.R., Holderness, M. (eds.), *Quarantine Pests for Europe*. 2nd edition. CABI, Wallingford, UK, 1425 pp.
- EPPO (2008): *Solanum sisymbriifolium* in Sardinia (IT): EPPO reporting service, 231. <https://gd.eppo.int/reporting/article-854>.
- EPPO (2015): PQR database. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Paris, France. <http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>.
- EU (2016). The European Cultivated Potato Variety Database. <https://www.europotato.org/varietyindex.php>
- Evans, K. (1983): Hatching of potato cyst nematodes in root diffusates collected from twenty-five potato cultivars. *Crop Protection*, 2(1): 97–103.
- Evans, K. (1993): New approaches for potato cyst nematode management. *Nematropica*, 23(2): 221–231.
- Evans, K., Brown, N.J., Trudgill, D.L. (1977): Effects of potato cyst-nematodes on potato plants V. *Nematologica*, 23(2): 153–164.
- Evans, K., Haydock, P.P.J. (1990): A review of tolerance by potato plants of cyst nematode attack, with consideration of what factors may confer tolerance and methods of assaying and improving it in crops. *Annals of Applied Biology*, 117(3): 703–740.
- Evans, K., Parkinson, K.J., Trudgill, D.L. (1975): Effects of potato cyst-nematodes on potato plants. *Nematologica*, 21(3): 273–280.
- Evans K., Rowe, J.A. (1998): Distribution and economic importance. In: *The cyst nematodes*. Sharma, S.B. (ed.) Springer Science+Business Media, Dordrecht B.V., The Netherlands, 1-30
- Eves-Van Den Akker, S., Lilley, C.J., Reid, A., Pickup, J., Anderson, E., Cock, P.J.A., Blaxter, M., Urwin, P.E., Jones, J.T., Blok, V.C. (2015): A metagenetic approach to determine the diversity and distribution of cyst nematodes at the level of the country, the field and the individual. *Molecular Ecology*, 24(23): 5842–5851.
- Fasan, T., Haverkort, A.J. (1991): The influence of cyst nematodes and drought on potato

- growth. 1. Effects on plant growth under semi-controlled conditions. Netherlands Journal of Plant Pathology, 97(3): 151–161.
- Fatemy, F. Trinder, P.K.E., Wingfield, J.N., Evans, K. (1985): Effects of *Globodera rostochiensis*, water stress and exogenous abscisic acid on stomatal function and water use of Cara and Pentland Dell potato plants. Revue de Nematologie, 8(3): 249–255.
- Fenwick, D.W. (1940): Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. Journal of Helminthology, 18(4): 155–172.
- Fenwick, D.W. (1952): The bio-assay of potato-root diffusate. Annals of Applied Biology 39, 457–467.
- Fenwick, D.W., Reid, E. (1951): The use of a microbalance in putting up uniformly sized batches of *Heterodera* cysts for experiment. Journal of Helminthology, 25(3-4): 161–165.
- Ferris, V., Ferris, J.M., Faghihi, J. (1993): Variation in spacer ribosomal DNA in some cyst-forming species of plant parasitic nematodes. Fundamental and Applied Nematology, 16(2): 177–184.
- Fleming C.C., Powers T.O. (1998a): Potato cyst nematode diagnostics: morphology, differential hosts and biochemical techniques. In: Marks R.J., Brodie B.B. (eds.), Potato cyst nematodes: biology, distribution and control. CABI, Wallingford, UK, pp. 51–58.
- Fleming C.C., Powers T.O. (1998b): Potato cyst nematodes: species, pathotypes and virulence concepts. In: Marks R.J., Brodie B.B. (eds.), Potato cyst nematodes: biology, distribution and control. CABI, Wallingford, UK, pp. 91–114.
- Foot, M.A. (1977): Laboratory rearing of potato cyst nematode; a method suitable for pathotyping and biological studies. New Zealand Journal of Zoology, 4(2): 183–186.
- Franco, J. (1979): Effect of temperature on hatching and multiplication of potato cyst-nematodes. Nematologica, 25(2): 237–244.
- Fudali, S. (2007): The reorganization of root anatomy and ultrastructure of syncytial cells in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) infected with potato cyst nematode. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 76(3): 181–191.

- Fullaondo, A., Barrena, E., Viribay, M., Barrena, I., Salazar, A., Ritter, E. (1999): Identification of potato cyst nematode species *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* by PCR using specific primer combinations. *Nematology*, 1: 157–163.
- Gardner, R., Beardsell, D., Nambiar, L., Partington, D. (2006): Efficacy of washing to remove cysts of *Globodera rostochiensis* from potato cv. Trent tubers from peaty clay soil. *Australasian Plant Pathology*, 35(4): 385–389.
- Gheysen, G., Fenoll, C. (2002): Gene expression in nematode feeding sites. *Annual Review of Phytopathology*, 40: 191–219.
- Greco, N., Di Vito, M., Brandonisio, A., Giordano, I., De Marinis, G. (1982): The Effect of *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* on potato yield. *Nematologica*, 28(4): 379–386.
- Greco, N., Inserra, R. N., Brandonisio, A., Tirro, A., De Marinis, G. (1988): Life-cycle of *Globodera rostochiensis* on potato in Italy. *Nematologia Mediteranea*, 16: 69–73.
- Greco, N., Moreno, I. (1992): Development of *Globodera rostochiensis* during three different growing seasons in Chile. *Nematropica*, 22: 175–181.
- Grubišić, D., Oštrec, L., Gotlin Culjak, T., Blumel, S. (2006): The occurrence and distribution of potato cyst nematodes in Croatia. *Journal of Pest Science*, 80(1): 21–27.
- Grubišić, D., Oštrec, L., Gotlin Čuljak, T., Ivezić, M., Novak, B. (2008): Biologija i ekologija karantenske vrste *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 (Nematoda: Heteroderidae) u Međimurskoj županiji. *Entomologica Croatica*, 12(1): 19–36.
- Grujić N. (2010): Intra-specific diversity in noncoding regions of the mitochondrial DNA of *Globodera pallida*. MSc thesis. European Master of Science in Nematology. Ghent University, Ghent (Belgium).
- Grujić, N., Radivojević, M. (2011): Manually operated device for washing nematode cists from potatoes [abstract]. In: Abstracts. IX International Symposium of Russian Society of Nematologists "Nematodes of natural and transformed ecosystems" Petrozavodsk, Russia, 27 June – 01 July 2011, p. 12.
- Grujić, N., Radivojević, M. (2017) Population decline of *Globodera rostochiensis* in

- Western Serbia. *Nematology*, 19(2): 185–195.
- Grujić, N., Simeunović, K., Radivojević M. (2013): Uticaj *Physalis alkekengi* L. na piljenje krompirovih cistolikih nematoda [apstrakt]. U: Zbornik rezimea 1. XII Savetovanje o zaštiti bilja; 25–29. novembar 2013; Zlatibor, str. 82–83.
- Grujić, N., Trifković, M., Radivojević, M. (2014): Resistance of potato cv. Crisps4all to Serbian populations of potato cyst nematodes [abstract]. In: Book of Abstracts. VII Congress on Plant Protection, 24–28. november 2014; Zlatibor. p. 142.
- Grujić, N., Trifković, M., Oro, V., Radivojević, M. (2015): Sporno prisustvo *Globodera pallida* (Stone, 1973) na Gojnoj Gori [apstrakt]. U: Zbornik rezimea 1. XIII savetovanje o zaštiti bilja; 23–26. novembar 2015; Zlatibor, str. 16.
- Halford, P.D., Russell, M.D., Evans, K. (1999): Use of resistant and susceptible potato cultivars in the trap cropping of potato cyst nematodes, *Globodera pallida* and *G. rostochiensis*. *Annals of Applied Biology*, 134(3): 321–327.
- Handoo, Z.A., Carta, L.K., Skantar, A.M., Chitwood, D.J. (2012): Description of *Globodera ellingtonae* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) from Oregon. *Journal of Nematology*, 44: 40–57.
- Haverkort, A.J., Fasan, T., Waart, M. (1991): The influence of cyst nematodes and drought on potato growth. 2. Effects on plant water relations under semi-controlled conditions. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 97(3): 162–170.
- Haydock, P.P.J., Deliopoulos, T., Ambrose, E.L., Wilcox, A. (2012): Degradation of the nematicide oxamyl under field and laboratory conditions. *Nematology*, 14(3): 339–352.
- Henderson, D.R., Riga, E., Ramirez, R.A., Wilson, J., Snyder, W.E. (2009): Mustard biofumigation disrupts biological control by *Steinernema* sp. nematodes in the soil. *Biological Control*, 48(3): 316–322.
- Hesling, J.J. (1959): The emergence of larvae of *Heterodera rostochiensis* Woll. from single cysts. *Nematologica*, 4(2): 126–131.
- Hockland, S., Niere, B., Grenier, E., Blok, V., Phillips, M., den Nijs, L., Anthoine, G., Pickup, J., Viaene, N. (2012): An evaluation of the implications of virulence in non-European populations of *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* for potato

- cultivation in Europe. *Nematology*, 14(1): 1–13.
- Holgado, R., Magnusson, C. (2010): Management of PCN (*Globodera* sp.) populations under Norwegian conditions. *Aspects of Applied Biology*, 103: 85–92.
- Hominick, W.M., Forrest, J.M.S., Evans, A.A.F. (1985): Diapause in *Globodera rostochiensis* and variability in hatching trials. *Nematologica* 31: 159–170.
- Hooks, C.R.R., Wang, K.-H., Ploeg, A., McSorley R. (2010): Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*, 46(3): 307–320.
- Howard, H.W., Cole, C.S., Fuller, J.M. (1970): Further sources of resistance to *Heterodera rostochiensis* Woll. in the andigena potatoes. *Euphytica*, 19(2): 210–216.
- Huijsman, C.A. (1961): The influence of resistant potato varieties on the soil population of *Heterodera rostochiensis* Woll. *Nematologica*, 6(3): 177–180.
- HZPC (2016): Potato breeding and trading company. <https://www.hzpc.com/potatoes-markets/potatoes>.
- Inagaki, H. (1977): Seasonal occurrence of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis* (Woll.) Mulvey, Stone, in a potato field in Hokkaido, Japan. *Japanese Journal of Nematology*, 7: 33–38.
- Inagaki, H. (1978): [Decrease of *Globodera rostochiensis* population by resistant potato varieties and non-host crops in greenhouse trials]. *Japanese Journal of Nematology*, 8(12): 11–15.
- Jacobs, J.M.E., van Eck, H.J., Horsman, K., Arens, P.F.P., Verkerk-Bakker, B., Jacobsen, E., Pereira, A., Stiekema, W. J. (1996): Mapping of resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* from the wild potato species *Solanum vernei*. *Molecular Breeding*, 2(1): 51–60.
- Jiménez-Pérez, N., Crozzoli, R., Greco, N. (2009): Ciclo biológico de *Globodera rostochiensis* en el cultivo de la papa en Venezuela. *Nematologia Mediteranea*, 37: 155–160.
- Jones, J.T., Perry, R.N., Johnston, M.R.L. (1993): Changes in the ultrastructure of the cuticle of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, during development and infection. *Fundamental and Applied Nematology*, 19: 433–445.

- Jones, M.G., Northcote, D.H. (1972): Nematode-induced syncytium-a multinucleate transfer cell. *Journal of Cell Science*, 10(3): 789–809.
- Kaczmarek, A. (2014): Population dynamics of potato cyst nematodes in relation to temperature. PhD thesis. University of Dundee, UK.
- Kawai, M., Yamamoto, T., Makino, B., Yamamura, H., Araki, S., Butsugan, Y., Saito, K. (2001): The structure of physalin T from *Physalis alkekengi* var. *francheti*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 3(3): 199–205.
- Kimpinski, J., Platt, H. W. (1983): Washing of potatoes to remove nematodes and to observe effect on storage rot diseases. *Canadian Plant Disease Survey*, 63(2): 45–46.
- Knoetze, R., Swart, A., Tiedt, L.R. (2013): Description of *Globodera capensis* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) from South Africa. *Nematology*, 15: 233–250.
- Kort, J. (1974): Identification of pathotypes of the potato cyst nematode. *EPPO Bulletin*, 4(4): 511–518.
- Kort, J., Ross, H., Rumpfenhorst, H.J., Stone, A.R. (1977): An international scheme for identifying and classifying pathotypes of potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Nematologica*, 23(3): 333–339.
- Kreike, C.M., de Koning, J.R.A., Vinke, J.H., van Ooijen, J.W., Stiekema, W.J. (1994): Quantitatively-inherited resistance to *Globodera pallida* is dominated by one major locus in *Solanum spegazzinii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 88(6–7): 764–769.
- Krnjaić, Đ., Krnjaić, S. (1987): Fitonematologija. NOLIT, Beograd. 433 pp.
- Krnjaić, Đ., Bačić, J., Krnjaić, S., Čalić, R. (2000): Prvi nalaz zlatnožute krompirove nematode u Jugoslaviji [apstrakt]. U: Zbornik rezimea. XI jugoslovenski simpozijum o zaštiti bilja i savetovanje o primeni pesticida; 4–9. decembar 2000; Zlatibor, str. 71.
- Krnjaić, D., Lamberti, F., Krnjaić, S., Bačić, J., Čalić, R. (2002): First record of the potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) in Yugoslavia. *Nematologia Mediterranea*, 30: 11–12.
- Krnjaić, Đ, Oro, V., Gladović, S., Trkulja, N., Šćekić, D., Kecović, V. (2006): Novi nalazi krompirovih nematoda u Srbiji. *Zaštita bilja*, 53 (4): 243: 147-156.
- Lamondia, J.A., Brodie, B.B. (1986): The effect of potato trap crops and fallow on decline of *Globodera rostochiensis*. *Annals of Applied Biology*, 108(2): 347–352.

- Lamondia, J.A., Rawsthorne, D., Brodie, B.B. (1986): Methods for reducing experimental variation in *Globodera rostochiensis*. *Journal of Nematology*, 18(3): 415–418.
- Lamondia, J.A., Rawsthorne, D., Brodie, B.B. (1987): Decline of *Globodera rostochiensis* as influenced by potato root diffusate movement and persistence in soil. *Journal of Nematology*, 19(2): 172–176.
- Langeslag, M., Mugniéry, D., Fayet, G. (1982): Développement embryonnaire de *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* en fonction de la température, en conditions contrôlées et naturelles. *Revue de Nématologie*, 5: 103-109.
- Lord, J.S., Lazzeri, L., Atkinson, H.J., Urwin, P.E. (2011): Biofumigation for control of pale potato cyst nematodes: activity of brassica leaf extracts and green manures on *Globodera pallida* *in vitro* and in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14): 7882–7890.
- Madani, M., Subbotin, S.A., Moens, M. (2005): Quantative detection of the potato cyst nematode, *Globodera pallida*, and the beet cyst nematode, *Heterodera schachtii*, using Real-Time PCR with SYBR green I dye. *Molecular and Cellular Probes*, 19: 81–86.
- Madani, M., Ward, L.J., De Boer, S.H. (2008): Multiplex real-time polymerase chain reaction for identifying potato cyst nematodes, *Globodera pallida* and *Globodera rostochiensis*, and the tobacco cyst nematode, *Globodera tabacum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 30: 554-564.
- Marks, R.J., Brodi, B.B. (1998): Potato cyst nematodes: biology, distribution and control. CABI, Wallingford, UK, pp. 7–27.
- Manduric, S., Olsson, E., Englund, J.-E., Andersson, S. (2004): Separation of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* (Tylenchida:Heteroderidae) using morphology and morphometrics. *Nematology*, 6(2): 171–181.
- Mankau, R. (1980): Biological control of nematode pests by natural enemies. *Annual Review of Phytopathology*, 18: 415–440.
- McKenna, L.A., Winslow, R.D. (1973): Integrated control of potato cyst nematode *Heterodera rostochiensis*. *Record of Agricultural Research, Department of Agriculture for Northern Ireland*, 23: 63–64.

- Mimee, B., Dauphinais, N., Belair, G. (2015): Life cycle of the golden cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, in Quebec, Canada. *Journal of Nematology*, 47(4): 290–295.
- Minnis, S.T., Haydock, P.P.J., Ibrahim, S.K., Grove, I.G., Evans, K., Russell, M.D. (2002): Potato cyst nematodes in England and Wales - occurrence and distribution. *Annals of Applied Biology*, 140: 187–195.
- Minnis, S.T., Haydock, P.P.J., Evans, K. (2004): Control of potato cyst nematodes and economic benefits of application of 1,3-dichloropropene and granular nematicides. *Annals of Applied Biology*, 145(2): 145–156.
- Mohan, S., Mauchline, T.H., Rowe, J., Hirsch, P.R., Davies, K.G. (2012): *Pasteuria* endospores from *Heterodera cajani* (Nematoda: Heteroderidae) exhibit inverted attachment and altered germination in cross-infection studies with *Globodera pallida* (Nematoda: Heteroderidae): *FEMS Microbiology Ecology*, 79, 675–684.
- Moss, S.R, Crump, D., Whitehead, A.G. (1976): Control of potato cyst-nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G pallida*, in different soils by small amounts of oxamyl or aldicarb. *Annals of Applied Biology*, 84, 355-359
- Mugniery, D. (1978): Vitesse de développement, en fonction de la température, de *Globodera rosotochiensis* et *G. pallida* (Nematoda: Heteroderidae): *Revue de Nématologie*, 1(1): 3–12.
- Mugniéry, D., Phillips, M.S., Rumpfenhorst, H.J., Stone, A.R., Treur, A., Trudgill, D.L. (1989): Assessment of partial resistance of potato to, and pathotype and virulence differences in, potato cyst nematodes. *EPPO Bulletin*, 19(1): 7–25. <http://Doi.Org/10.1111/J.1365-2338.1989.Tb00124.X>.
- Mulder, J.G., Diepenhorst, P., Plieger, P., Bruggemann-Rotgans, I.E.M. (1993): Hatching agent for the potato cyst nematode. Patent application. CT Int. Appl. WO 93 02 083 (1992) (Chemical Abstracts, 118, 185844z):
- Mulholland, V., Carde, L., O'Donnell, K.L., Fleming, C.C., Powers, T.O. (1996): Use of the polymerase chain reaction to discriminate potato cyst nematode at the species level. In: Marshall, C. (ed.), *BCPC Symposium Proceedings No. 65: Diagnostics in Crop Production*. Tarnham (UK), pp. 247-252.

- Mullin, B.A., Brodie, B.B. (1988): Effects of host resistance on the fecundity of *Globodera rostochiensis*. *Journal of Nematology*, 20(1): 109–112.
- Mulvey, R.H., Stone, A.R. (1976): Description of *Punctodera matadorensis* n.gen., n.sp., (Nematoda: Heteroderidae) from Saskatchewan with lists of species and generic diagnoses of *Globodera* (n.rank): *Heterodera* and *Sarisodera*. *Canadian Journal of Zoology*, 54(5): 772–785.
- Niere, B. (2016) Susceptibility of Pa3-resistant potato varieties to an unusually virulent *Globodera pallida* population [abstract]. In: Book of abstracts. 32nd Symposium of European Society of Nematologists, 28th Aug. - 1st Sept. 2016; Braga, Portugal, pp. 160.
- Nijboer, H., Parlevliet, J. E. (1990): Pathotype-specificity in potato cyst nematodes, a reconsideration. *Euphytica*, 49(1): 39–47.
- Nježić, B., Mitrović, B., Macanović, I., Grujić, N., Waeyenberge, L. (2012) Occurrence of the northern root-knot nematode in Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina. 31st International Symposium of The European Society of Nematologists, Adana, Turkey, September 23–27.
- NL (2016): List of available potato varieties in the Netherlands with accompanying resistance levels for potato cyst nematodes. NVWA, The Netherlands. <https://www.nvwa.nl/actueel/bestanden/bestand/2208356/aardappelmoehheid-lijst-van-in-nederland-beschikbare-aardappelrassen-met-bijbehoe>.
- Nowaczyk, K., Dobosz, R., Kornobis, S., Obrepalska-Stepalowska, A. (2008): TaqMan REAL-Time PCR-based approach for differentiation between *Globodera rostochiensis* (golden nematode) and *Globodera artemisiae* species. *Parasitology Research*, 103, 577–581.
- Nusbaum, C.J., Ferris, H. (1973): The role of cropping systems in nematode population management. *Annual Review of Phytopathology*, 11: 423–440.
- Omidvar, A.M. (1961): on the effects of root diffusates from *Tagetes* sp. on *Heterodera rostochiensis* Woll. *Nematologica*, 6(2): 123–129. <http://booksandjournals.brillonline.com/content/journals/10.1163/187529261x00379>.
- Omidvar, A.M. (1962): The nematicidal effects of *Tagetes* sp. on the final population of

- Heterodera rostochiensis* Woll. *Nematologica*, 7(1): 62–64.
<http://booksandjournals.brillonline.com/content/journals/10.1163/187529262x00756>
- Oro, V. (2011a): Novi nalazi *Globodera rostochiensis* u Srbiji. *Zaštita bilja*, 62(4): 233–241.
- Oro, V. (2011b): Krompirove cistolike nematode–morfologija, molekularna karakterizacija i antagonisti. Doktorska disertacija. Fakultet za biofarming, Univerzitet “Džon Nežbit”, Srbija.
- Perry, R.N. (1989): Dormancy and hatching of nematode eggs. *Parasitology today*, 5(12): 377–383.
- Perry, R.N. (1997): Plant signals in nematode hatching and attraction. In: Fenoll, C., Grundler, F.M.W., Ohl, S.A. (eds.), *Cellular and Molecular Aspects of Plant–Nematode Interactions*. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands, pp. 38–50.
- Perry, R.N. (1998): The physiology and sensory perception of potato cyst nematodes, *Globodera* species. In: Marks, R.J., Brodi, B.B. (eds.), *Potato cyst nematodes: biology, distribution and control*. CABI, Wallingford, UK, pp. 27–51.
- Perry, R.N. (1999): Desiccation survival of parasitic nematodes. *Parasitology*, 119 (supplement): S19–S30.
- Perry, R.N. (2002): Hatching. In: Lee, D.L. (ed.), *The Biology of Nematodes*. Taylor & Francis, London, UK, pp. 147–169.
- Perry, R.N., Aumann, J. (1998): Behaviour and sensory responses. In: Perry, R.N., Wright, D.J. (eds.), *The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes*. CABI, Wallingford, UK, pp. 75–102.
- Perry, R.N., Gaur, H.S. (1996): Host plant influences on the hatching of cyst nematodes. *Fundamental and Applied Nematology* 19, 505–510
- Phillips, M.S., Forrest, J.M.S., Wilson, L. (1980): Screening for resistance to potato cyst nematode using closed containers. *Annals of Applied Biology*, 96(3): 317–322.
doi:10.1111/j.1744-7348.1980.tb04782.x.
- Phillips M.S., Hackett C.A., Trudgill D.L. (1991): The relationship between the initial and final population densities of the potato cyst nematode *Globodera pallida* for partially

- resistant potatoes. *Journal of Applied Ecology*, 28, 109–119.
- Phillips M.S., Harrower B.E., Trudgill D.L., Catley M.A., Waugh R. (1992): Genetic variation in British populations of *Globodera pallida* as revealed by isozyme and DNA analyses. *Nematologica*, 38, 304–319.
- Piedra Buena, A., Díez-Rojo, M. A., López-Pérez, J. A., Robertson, L., Escuer, M., Bello, A. (2008): Screening of *Tagetes patula* L. on different populations of *Meloidogyne*. *Crop Protection*, 27(1): 96–100.
- Picard, D., Sempere, T., Plantard, O. (2008): Direction and timing of uplift propagation in the Peruvian Andes deduced from molecular phylogenetics of highland biotaxa. *Earth and Planetary Science Letters*, 271(1–4): 326–336.
- Plantard, O., Picard, D., Valette, S., Scurrah, M., Grenier, E., Mugniéry, D. (2008): Origin and genetic diversity of Western European populations of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) inferred from mitochondrial sequences and microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 17(9): 2208–2218.
- Popeijus, H., Overmars, H., Jones, J., Blok, V., Goverse, A., Helder, J., Schots A., Bakker J., Smant, G. (2000): Degradation of plant cell walls by a nematode. *Nature*, 406(6791): 36–7.
- Quader, M., Nambiar, L., Cunnington, J. (2008): Conventional and real-time PCR-based species identification and diversity of potato cyst nematodes (*Globodera* sp.) from Victoria, Australia. *Nematology*, 10, 471–478.
- Quentin, M., Abad, P., Favery, B. (2013): Plant parasitic nematode effectors target host defense and nuclear functions to establish feeding cells. *Frontiers in plant science*, p. 53.
- Radivojević, M. (2009): Biološko suzbijanje krompirovih cistolikih nematoda pomoću biljaka. *Biljni lekar*, 37(6): 587–604.
- Radivojević, M., Čalić, A., Grujić, N. (2007): Otpornost nekih sorti krompira prema zlatnožutoj krompirovoj cistolikoj nematodi na području Ponikava [apstrakt]. U: Zbornik rezimea 1. XIII Simpozijum sa savetovanjem o Zaštiti bilja., 26–30. novembar 2007; Zlatibor, str. 95–96.
- Radivojević, M., Grujić, N. (2010): Viability of a *Globodera pallida* population in the

- absence of host plants. Harper Adams University College, UK, 14. -15. September. Aspects of Applied Biology 103, 3rd Symposium on Potato Cyst Nematodes, pp. 115–116.
- Radivojević, M., Gvozdrenović, D., Grujić, N. (2009): An approach to monitoring cyst nematode populations [abstract]. In: Book of Abstracts 16. 1st International Symposium on Crop protection; 19th May 2009; Gent, Belgium, pp. 59.
- Radivojević, M., Krnjaić, Đ., Krnjaić, S., Bačić, J., Subbotin, S., Madani, M., Moens, M. (2001): Molecular methods confirming the presence of *Globodera rostochiensis* in Yugoslavia. Russian Journal of Nematology, 9: 139–141.
- Radivojević, M., Krnjaić, Đ., Grujić, N., Oro, V., Gladović, S., Madani, M. (2006a): The first record of potato cyst nematode *Globodera pallida* (Stone, 1973) from Serbia [abstract]. In: Book of Abstracts 1. 58th International Symposium on Crop protection; 23rd May 2006; Gent, Belgium, pp. 73.
- Radivojević, M., Kuzmanović M., Grujić, N. (2006b): Prisustvo krompirovih cistolikih nematoda na području Ponikava 2005 – 2006 godine [abstract]. U: Zbornik rezimea 1. VIII Savetovanje o Zaštiti bilja; 27. novembar - 01. decembar 2006; Zlatibor, Srbija, str. 87–88.
- Radivojević, M., Labudović, T. (2010): Novi nalaz *Globodera rostochiensis* [abstract]. U: Zbornik rezimea 1. X savetovanje o Zaštiti bilja; 29. novembar - 3. decembar. 2010; Zlatibor, Srbija, str. 94–95.
- Ramirez, R., Henderson, Donna R., Riga, Ekaterini, Lacey, L.A., Snyder, W.E. (2009): Harmful effects of mustard bio-fumigants on entomopathogenic nematodes. Biological Control, 48(2): 147–154.
- Rasheed, N. Shareef, M.A., Ahmad, M. Gupta, V.C. Shamsul, A., Shamshad, A.K. (2010): HPTLC finger print profile of dried fruit of *Physalis alkekengi* Linn. Pharmacognosy Journal, 2(12): 464–469.
- Rawsthorne, D., Brodie, B.B. (1987): Movement of potato root diffusate through soil. Journal of Nematology, 19(1): 119–122.
- Reid, A., Evans, F., Mulholland, V., Cole, Y., Pickup, J. (2015): High-throughput diagnosis of potato cyst nematodes in soil samples. Methods in Molecular Biology, 1302: 137–

148.

- Renčo, M. (2007): Comparison of the life cycle of potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) pathotype Ro1 on selected potato cultivars. *Biologia*, 62, 195–200.
- Roberts, P.A. (1992): Current status of the availability, development, and use of host plant resistance to nematodes. *Journal of Nematology*, 24(2): 213–227.
- Robinson, M.P., Atkinson, H.J., Perry, R.N. (1987a): The influence of soil moisture and storage time on the motility, infectivity and lipid utilization of second stage juveniles of the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Revue de Nematologie*, 10(3): 343–348.
- Robinson, M.P., Atkinson, H.J., Perry, R.N. (1987b): The influence of temperature on the hatching, activity and lipid utilization of second stage juveniles of the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Revue de Nematologie*, 10(3): 349–354.
- Rolf, T., Helder, J., Fred, J. (1997): Storage of potato cyst nematodes at -80 °C. *Fundamental and applied Nematology*, 20(3): 299–302.
- Rott, M., Lawrence, T., Belton, M. (2011): Nightshade hosts for Canadian isolates of *Globodera rostochiensis* pathotype Ro1. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 33(3): 410–415.
- Roupe van der Voort, J., Wolters, P., Folkertsma, R., Hutten, R., van Zandvoort, P., Vinke, H., Kanjuka, K., Bendahmane, A., Jakobsen, E., Jansen R., Bakker, J. (1997): Mapping of the cyst nematode resistance locus Gpa2 in potato using a strategy based on comigrating AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(5–6): 874–880.
- Roupe van der Voort, J., Lindeman, W., Folkertsma, R., Hutten, R., Overmars, H., van der Vossen, E., Jacobsen E., Bakker, J. (1998): A QTL for broad-spectrum resistance to cyst nematode species (*Globodera* sp.) maps to a resistance to gene cluster in potato. *Theoretical and Applied Genetics*, 96(5): 654–661.
- Roupe van der Voort, J., van der Vossen, E., Bakker, E., Overmars, H., van Zandvoort, P., Hutten, R., Lankhorst, R.K., Bakker, J. (2000): Two additive QTLs conferring broad-spectrum resistance in potato to *Globodera pallida* are localized on resistance gene clusters. *Theoretical and Applied Genetics*, 101(7): 1122–1130.

- Russo, G., Greco, N. (2006): Responses of Italian populations of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* to hatching agents. *Nematologia mediterranea*, 34: 93–94.
- Ryan, A., Devine, K.J. (2005): Comparison of the in-soil hatching responses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* in the presence and absence of the host potato crop cv. British Queen. *Nematology*, 7(4): 587–597.
- Sasaky-Crawley, A. (2012): Signalling and behaviour of *Globodera pallida* in the rhizosphere of the trap crop *Solanum sisymbriifolium*. PhD thesis. University of Plymouth, UK.
- Schans, J. (1991): Reduction of leaf photosynthesis and transpiration rates of potato plants by second-stage juveniles of *Globodera pallida*. *Plant, Cell and Environment*, 14, 707–712.
- Schans, J., Arntzen, F.K. (1991): Photosynthesis, transpiration and plant-growth characters of different potato cultivars at various densities of *Globodera pallida*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 97(5): 297–310.
- Schenk, H., Driessen, R.A.J., de Gelde, R., Goubitz, K., Nieboer, H., Brüggemann-Rotgans, I.E.M., Diepenhorst, P. (1999): Elucidation of the structure of solanoeclepin A, a natural hatching factor of potato and tomato cyst nematodes, by single-crystal X-ray diffraction. *Croatica Chemica Acta*, 72(2-3): 593–606.
- Scholte, K. (2000a): Effect of potato used as a trap crop on potato cyst nematodes and other soil pathogens and on the growth of a subsequent main potato crop. *Annals of Applied Biology*, 136(3): 229–238.
- Scholte, K. (2000b): Screening of non-tuber bearing Solanaceae for resistance to and induction of juvenile hatch of potato cyst nematodes and their potential for trap cropping. *Annals of Applied Biology*, 136(3): 239–246.
- Scholte, K., Vos, J. (2000): Effects of potential trap crops and planting date on soil infestation with potato cyst nematodes and root-knot nematodes. *Annals of Applied Biology*, 137(2): 153–164.
- Shepherd, A.M. (1962): New Blue R, a stain that differentiates between living and dead nematodes. *Nematologica*, 8(3): 201–208.
- Siddiqui, M.A., Alam, M.M. (1988): Control of plant parasitic nematodes by *Tagetes*

- tenuifolia*. Revue de Nematologie, 11(3): 369–370.
- Skarbilovich, T.S. (1959): On the structure of the systematics of nematode order Tylenchida Thorne, 1949. Acta Parasitologica Polonica, 7: 117–132.
- Seinhorst, J.W. (1993): The regulation of numbers of cysts and eggs per cyst produced by *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* on potato roots at different initial egg densities. Nematologica, 39(1): 104–114.
- Silva, M.T., Simas, S.M., Batista, T.G., Cardarelli, P., Tomassini, T.C. (2005): Studies on antimicrobial activity, in vitro, of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 100(7): 779–782.
- Smant, G., Stokkermans, J.P., Yan, Y., de Boer, J.M., Baum, T.J., Wang, X., Hussey, R.S., Gommers, F.J., Henrissat, B., Davis, E.L., Helder, J., Schots, A., Bakker J. (1998): Endogenous cellulases in animals: isolation of beta-1, 4-endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 95(9): 4906–4911.
- Smit, A.L., Vamerali, T. (1998): The influence of potato cyst nematodes (*Globodera pallida*) and drought on rooting dynamics of potato (*Solanum tuberosum* L.). European Journal of Agronomy, 9(2–3): 137–146.
- Srivastava, S., Dvivedi, A., Shukla, R.P. (2015): *Solanum sisymbriifolium* Lam. (Solanaceae) a new invasive undershrub of the old-fields of northeastern Uttar Pradesh. Check List, 11(3): pp. Art. 1643.
- Southey, J.F. (Ed.) (1986): Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Reference Book 402, London, UK, 202 pp.
- Stanton, J.M., Sartori, M. (1990): Hatching and reproduction of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, from potato fields in Western Australia as influenced by soil temperature. Nematologica, 36(1): 457–464.
- Stelter, H. (1970): [A population dynamic study of the potato nematode (*Heterodera rostochiensis* Wollenweber) type A.]. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 24(2): 27–32.

- Stone, A.R. (1973) *Heterodera pallida* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae): a second species of potato cyst nematode. *Nematologica*, 18: 591–606.
- Subbotin S.A., Mundo-Ocampo M., Baldwin J.G. 2010. Systematics of cyst nematodes (Nematoda: Heteroderinae): *Nematology Monographs and Perspectives*, Volume 8A (Series Editors: Hunt, D.J., Perry, R.N.): Brill, Leiden, The Netherlands, 351 pp.
- Sullivan, M.J., Inserra, R.N., Franco, J., Moreno-Leheude, I., Greco, N. (2007): Potato cyst nematodes: plant host status and their regulatory impact. *Nematropica*, 37(2): 193–202.
- Timmermans, B.G.H. (2005): *Solanum sisymbriifolium* (Lam.): A trap crop for potato cyst nematodes. PhD thesis. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.
- Timmermans, B.G.H., Vos, J., Stomph, T.J., Van Nieuwburg, J., Van der Putten, P.E.L. (2006): Growth duration and root length density of *Solanum sisymbriifolium* (Lam.) as determinants of hatching of *Globodera pallida* (Stone): *Annals of Applied Biology*, 148(3): 213–222.
- Timmermans, B.G.H., Vos, J., Stomph, T.J., Van Nieuwburg, J., Van der Putten, P.E.L. (2007a): Field performance of *Solanum sisymbriifolium*, a trap crop for potato cyst nematodes. I. Dry matter accumulation in relation to sowing time, location, season and plant density. *Annals of Applied Biology*, 150(1): 89–97.
- Timmermans, B. G. H., Vos, J., Van Nieuwburg, J., Stomph, T. J., Van der Putten, P. E. L., Molendijk, P. G. (2007b): Field performance of *Solanum sisymbriifolium*, a trap crop for potato cyst nematodes. II. Root characteristics. *Annals of Applied Biology*, 150(1): 99–106.
- Tobin, J.D., Haydock, P.P.J., Hare, M.C., Woods, S.R., Crump, D.H. (2008): Effect of the fungus *Pochonia chlamydosporia* and fosthiazate on the multiplication rate of potato cyst nematodes (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*) in potato crops grown under UK field conditions. *Biological Control*, 46: 194–201.
- Trudgill, D.L. (1967): The effect of environment on sex determination in *Heterodera rostochiensis*. *Nematologica*, 13(2): 263–272.
- Trudgill, D. L. (1985): Potato cyst nematodes: a critical review of the current pathotyping scheme. *EPPO Bulletin*, 15(3): 273–279.

- Trudgill, D.L. (1986): Yield losses caused by potato cyst nematodes: a review of the current position in Britain and prospects for improvements. *Annals of Applied Biology*, 108(1): 181–198.
- Trudgill, D.L. (1991): Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. *Annual Review of Phytopathology*, 29: 167–192.
- Trudgill, D.L., Elliott, M.J., Evans, K., Phillips, M.S. (2003): The white potato cyst nematode (*Globodera pallida*) - a critical analysis of the threat in Britain. *Annals of Applied Biology*, 143: 73–80.
- Trudgill, D.L., Phillips, M.S., Elliott, M.J. (2014): Dynamics and management of the white potato cyst nematode *Globodera pallida* in commercial potato crops. *Annals of Applied Biology*, 164(1): 18–34.
- Turner, S.J. (1993): Soil sampling to detect potato cyst-nematodes (*Globodera* spp.): *Annals of Applied Biology*, 123(2): 349–357.
- Turner, S.J. (1996): Population decline of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*) in field soils in Northern Ireland. *Annals of Applied Biology*, 129: 315–322.
- Turner S.J., Evans, K. (1998): The origins, global distribution and biology of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* (Woll.) and *G. pallida* Stone). In: Marks, R.J., Brodi, B.B. (eds.), *Potato cyst nematodes: biology, distribution and control*. CABI, Wallingford, UK, pp. 7-27.
- Turner S.J., Rowe, J.A. (2006): Cyst nematodes. In: Perry, R.N., Moens, M. (eds.), *Plant nematology*. CABI, Wallingford, UK, pp. 91–120.
- Turner, S.J., Stone, A.R. (1981): Hatching of potato cyst-nematodes (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*) in root exudates of *Solanum vernei* hybrids. *Nematologica*, 27: 315–318.
- Twomey, U., Raftery, T., Devine, K., Jones, P. (1995): An improved procedure for assaying hatching activity of potato root diffusates towards *Globodera rostochiensis*. *Nematologica*, 41(1): 258–268.
- UK (2016): AHDB Potatoes Variety Database. <http://varieties.ahdb.org.uk/varieties>.
- UNEP (1992): The Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer. Article

- 2H: Methyl bromide. http://ozone.unep.org/new_site/en/Treaties/treaties_decisions-hb.php?art_id=36.
- Van den Elsen, S., Ave, M., Schoenmakers, N., Landeweert, R., Bakker, J., Helder, J. (2012): A rapid, sensitive, and cost-efficient assay to estimate viability of potato cyst nematodes. *Phytopathology*, 102(2): 140–146.
- Van der Vossen, E.A.G., Rouppe van der Voort, J.N.A.M., Kanyuka, K., Bendahmane, A., Sandbrink, H., Baulcombe, D.C., Bakker, J., Stiekema, W.J., Klein-Lankhorst, R.M. (2000): Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode. *Plant Journal*, 23(5): 567–576.
- Van Oijen, M., De Ruijter, F.J., Van Haren, R.J.F. (1995): Analyses of the effects of potato cyst nematodes (*Globodera pallida*) on growth, physiology and yield of potato cultivars in field plots at three levels of soil compaction. *Annals of Applied Biology*, 127(3): 499–520.
- Van Riel, H.R., Mulder, A. (1998): Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in western Europe. In: Marks, R.J., Brodie, B.B. (eds.), *Potato cyst nematodes: biology, distribution and control*. CABI, Wallingford, UK, pp. 271–299.
- Whitehead, A.G. (1995): Decline of potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, in spring barley microplots. *Plant Pathology*, 44(1): 191–195.
- Whitehead, A.G., Nichols, A.J.F., & Senior, J.C. (1994): The control of potato pale cyst-nematode (*Globodera pallida*) by chemical and cultural methods in different soils. *The Journal of Agricultural Science*, 123(2): 207–218.
- Whitehead, A.G., Tite, D.J., Fraser, J.E., Nichols, A.J.F. (1984): Differential control of potato cyst-nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* by oxamyl and the yields of resistant and susceptible potatoes in treated and untreated soils. *Annals of Applied Biology*, 105: 231–244.
- Whitehead, A.G., Turner S.J. (1998): Management and regulatory control strategies for potato cyst nematodes. In: Marks R.J. and Brodie, B.B. (eds), *Potato cyst nematodes: biology, distribution and control*. CABI, Wallingford, UK, pp.135-152.
- Womersley, C.Z., Wharton, D.A., Riga, L.M. (1998): Survival biology. In: Perry, R.N., Wright, D.J. (eds.), *The physiology and biochemistry of free-living and plant-*

- parasitic nematodes. CABI, Wallingford, UK, pp. 271–302.
- Woods, S.R., Haydock, P.P.J. (2000): The effect of granular nematicide incorporation depth and potato planting depth on potatoes grown in land infested with the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G pallida*. *Annals of Applied Biology*, 136: 27–33.
- Yamada, E., Sakuma, F., Yamashita, S., Takahashi, M. (2007): Antagonistic effect of solanaceous plants on *Globodera rostochiensis*. *Japanese Journal of Nematology*, 37(1): 21–36.
- Yan, Y., Smant, G., Stokkermans, J., Qin, L., Helder, J., Baum, T., Schots, A., Davis, E. (1998): Genomic organization of four beta-1,4-endoglucanase genes in plant-parasitic cyst nematodes and its evolutionary implications. *Gene*, 220(1–2): 61–70.
- Zimmermann, H.G., Moran, V.C., Hoffmann, J.H. (2004): Biological control in the management of invasive alien plants in South Africa , and the role of the Working for Water programme. *South African Journal of Science*, 100: 34–40.

PRILOZI

Prilog 1. Standardna notacija stepena rezistentnosti genotipova krompira.

Relativna osetljivost (%)	Skor	Opisno
< 1	9	Vrlo visoko otporna
1.1 - 3	8	Visoko do vrlo visoko otporna
3.1 - 5	7	Visoko otporna otporna
5.1 - 10	6	Srednje do visoko otporna
10.1 - 15	5	Srednje otporna
15.1 - 25	4	Nisko do srednje otporna
25.1 - 50	3	Nisko otporna
50.1 - 100	2	Nisko do vrlo nisko otporna
>100	1	Vrlo nisko otporna

(Prevedeno iz: EU direktiva 2007/33/EC (Anon., 2007a).

Prilog 2. Sortiment krompira sa najoptimalnijom dostupnom otpornošću prema krompirovim cistolikim nematodama u registru priznatih sorti u Republici Srbiji.

Sorta	Godina dobijanja dozvole za promet	Patotipovi							
		Ro1		Ro2,3		Pa2		Pa3	
		RO (%)	skor	RO (%)	skor	RO (%)	skor	RO (%)	skor
<i>Jelly</i>	2009	0,1	9	0,4	9				
<i>Manitou</i>	2011	0,1	9	0,2	9				
<i>Red Sonja</i>	2014	0,1	9	0,1	9				
<i>Royata KWS</i>	2015	0,1	9	0,84	9				
<i>Arsenal</i>	2015	0,8	9	1,3	8	0,2	9	2,5	8
<i>Taurus</i>	2011		9	9,6	6				
<i>El mundo</i>	2014		9		5		6		6
<i>Crisps4all</i>	2011		9			0,6	9		
<i>Innovator</i>	2016					3,0	8	0,7	9
<i>Camel</i>	2015	0,36	9			4,67	7	2,34	8

Prilog 3. Patotipovi i virulentne grupe krompirovih cistolikih nematoda, *Globodera rostochiensis* i *G. pallida* (Iz: Subbotin *et al.*, 2010).

Species and accession	<i>G. rostochiensis</i>					<i>G. pallida</i>						Virulentne grupe <i>Globodera sp.</i> ^a	
	<i>Ro1</i>		<i>Ro3</i>		<i>Ro5</i>	<i>Pa1</i>			<i>Pa2/3</i>				
	<i>Ro1</i>	<i>Ro4</i>	<i>Ro2</i>	<i>Ro3</i>	<i>Ro5</i>	<i>Pa1</i>	-	-	<i>Pa2</i>	<i>Pa3</i>	Evropski patotipovi ^b		
	<i>R1A</i>	<i>R1B</i>	<i>R2A</i>	<i>R3A</i>	-	<i>P1A</i>	<i>P1B</i>	<i>P2A</i>	<i>P3A</i>	<i>P4A</i>	<i>P5A</i>	<i>P6A</i>	Južnoamerički patotipovi ^c
<i>Solanum tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>S. tuberosum</i> spp. <i>andigena</i> CPC 1673	-	-	+	+	+	+	"	"	"	+	+	"	
<i>S. kurtzianum</i> KTT 60.21.19	-	(+)	-	(+)	(+)	+	+	+	-	+	+	+	
<i>S. vernei</i> GLKS 58.1642.4	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	
<i>S. vernei</i> Vt ⁶ 62.33.3	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	
ex. <i>S. multidissectum</i> hybrid P55/7	+	+	+	+	+	-	-/+	-	-	+	+	+	
<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i> (H3 + polygenes) ⁺	+	"	"	"	"	(-)	"	"	"	(-)	(-)	"	
CIP 280090.10	"	"	"	"	"	"	"	"	"	-	-	+	
<i>S. vernei</i> hybrid 69.1377/94	-	-	-	-	-	-	"	"	"	-	-	"	
<i>S. vernei</i> hybrid 65.346/19	-	-	-	-	-	+	"	"	"	+	+	"	
<i>S. spegazzinii</i> (Fa = H1)	-	-	+	+	+	"	"	"	"	"	"	"	
<i>S. spegazzinii</i> (Fb + 2 minor)	+	-	+	-	-	"	"	"	"	"	"	"	

^aTrudgill (1985); ^bKort *et al.* (1977); ^cCanto-Saenz and de Scurrah (1977).

Note: + = compatible interaction: nematode multiplication, potato susceptible; - = incompatible interaction: nematode no multiplication, potato resistant; () = partial or uncertain interaction; " = no information.

BIOGRAFIJA AUTORA

Nikola S. Grujić je rođen 1981. godine u Zrenjaninu, gde je završio osnovnu školu i gimnaziju. Na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu, smer Zaštita bilja i prehrambenih proizvoda, diplomirao je januara 2008. godine odbranivši diplomski rad na temu: „Prisustvo krompirovih cistolikih nematoda na Ponikvama i planini Javor“. Na univerzitetu u Gentu, Belgija, 2010. godine završava *Erasmus Mundus* master studije EUMAINE (European Master of Science in Nematology) sa odbranjenom istraživačkom master tezom „Intraspecijski diverzitet u nekodirajućim regionima mitohondrijalne DNK *Globodera pallida*“ koju je uradio u Škotskoj na SCRI (danas The James Hutton Institute). Školske 2010/2011. godine upisuje doktorske akademske studije Poljoprivredne nauke-modul fitomedicina na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu pod mentorstvom prof. dr Milana Radivojevića.

Volonterski učestvuje u pripremi i izvođenju vežbi iz predmeta Nematologija tokom školske 2006/2007. godine a 2010/2011. i 2011/2012. godine na predmetima osnovnih i master akademskih studija, Fitonematologija, Otpornost biljaka na štetne organizme, Biološka kontrola štetnih organizama i Zoоекologija u zaštiti bilja. Od februara 2012. zaposlen je na Poljoprivrednom fakultetu u zvanju asistenta na istim predmetima i predmetu Poljoprivredna zoologija.

U periodu od 2005. godine do danas, sa prekidima, kao saradnik dr Milana Radivojevića aktivno učestvuje u projektima Ministarstva poljoprivrede i zaštite životne sredine vezanim za detekciju, monitoring i suzbijanje karantinskih štetočina, krompirovih cistolikih nematoda, kao i u fitosanitarnim i drugim stručnim analizama uzoraka na štetne i karantinske nematode koje se obavljaju u nematološkoj laboratoriji Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu.

Koautor je 28 saopštenih i objavljenih naučnih radova iz nematologije od kojih su dva u međunarodnim naučnim časopisima sa SCI liste.

Od 2012. godine vrši funkciju sekretara Katedre za entomologiju i poljoprivrednu zoologiju i član je Saveta Poljoprivrednog fakulteta. Član je Društva za zaštitu bilja Srbije i Evropskog nematološkog društva. Govori engleski i služi se portugalskim jezikom.

IZJAVE

Izjava o autorstvu

Potpisani: Nikola Grujić

Broj indeksa ili prijave doktorske disertacije: 10/35

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

„Populaciona dinamika i održivi modaliteti suzbijanja *Globodera rostochiensis* (Woll.) i *G. pallida* (Stone) (Nematoda: Heteroderinae) u uslovima zapadne Srbije“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena doktorska disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, _____

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije

Ime i prezime autora: Nikola Grujić

Broj indeksa: 10/35

Studijski program: Poljoprivredne nauke

Naslov doktorske disertacije: „Populaciona dinamika i održivi modaliteti suzbijanja *Globodera rostochiensis* (Woll.) i *G. pallida* (Stone) (Nematoda: Heteroderinae) u uslovima zapadne Srbije“.

Mentor: dr Milan Radivojević, vanredni profesor

Potpisani: Nikola Grujić

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije istovetna elektronskoj verziji koju sam predao za objavljivanje na portalu Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada. Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, _____

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Populaciona dinamika i održivi modaliteti suzbijanja *Globodera rostochiensis* (Woll.) i *G. pallida* (Stone) (Nematoda: Heteroderinae) u uslovima zapadne Srbije“

koja je moje autorsko delo. Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje. Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

Potpis doktoranda

U Beogradu, _____

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.