

Monitoring pojave vrsta nematoda prenosioca virusa iz roda *Xiphinema* u vinogradima Vukovarsko-srijemske, Osječko-baranjske i Istarske županije, 2018. godine

Poturiček, Luka

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:374317>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYER
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Luka Poturiček

Diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**MONITORING POJAVE VRSTA NEMATODA PRENOSIOCA
VIRUSA IZ RODA XIPHINEMA U VINOGRADIMA
VUKOVARSKO-SRIJEMSKE, OSJEČKO-BARANJSKE I
ISTARSKE ŽUPANIJE, 2018. GODINE**

Diplomski rad

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYER
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Luka Poturiček

Diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstva i vinarstva

**MONITORING POJAVE VRSTA NEMATODA PRENOSIOCA
VIRUSA IZ RODA XIPHINEMA U VINOGRADIMA
VUKOVARSKO-SRIJEMSKE, OSJEČKO-BARANJSKE I
ISTARSKE ŽUPANIJE, 2018. GODINE**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Emilija Raspudić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Mirjana Brmež, mentor
3. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, član

Osijek, 2019.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	2
2.1. Nematode.....	2
2.1.1. Morfologija.....	3
2.1.2. Biologija i ekologija nematoda.....	5
2.1.3. Ishrana nematoda.....	6
2.1.4. Biljno parazitske nematode.....	6
2.2. Rod <i>Xiphinema</i> , Cobb, 1913.....	11
2.2.1. <i>Xiphinema index</i> Thorne and Allen, 1950.....	12
2.2.1.1. Vektor virusa.....	14
2.2.1.2. Simptomi.....	17
2.2.1.3. Zamjena simptoma	18
2.2.1.4. Dijagnoza virusnih bolesti.....	19
2.2.1.5. Mjere suzbijanja virusnih bolesti.....	19
2.2.1.6. Mjere suzbijanja <i>Xiphinema index</i>	20
2.2.2. <i>Xiphinema americanum</i> Cobb, 1913.....	21
2.2.3. <i>Xiphinema americanum</i> (sensu lato).....	22
2.2.4. <i>Xiphinema diversicaudatum</i> Micoletzky, 1927.; Thorne.....	23
2.2.5. <i>Xiphinema vuittenezi</i> Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964.....	25
2.2.6. <i>Xiphinema italiae</i> Meyl, 1953.....	25
2.2.7. <i>Xiphinema pachtaicum</i> Tulganov, 1939., Kirjanova, 1951.....	25
3. MATERIJAL I METODE.....	26
4. REZULTATI.....	32
4.1. Rezultati mjerenja.....	32
5. RASPRAVA.....	37
6. ZAKLJUČAK.....	39
7. POPIS LITERATURE.....	40
8. SAŽETAK.....	44
9. SUMMARY.....	45
10. Popis tablica.....	46
11. Popis slika.....	47

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA
BASIC DOCUMENTATION CARD

1. UVOD

Znanost koja proučava nematode zove se Nematologija (grč. nema – konac i oides – nalik na). Nematode su (Slika 1.) crvolike životinje koje se još zovu i oblići, žive u slanim i slatkim vodama te u tlu. Voda je nužna za život nematoda, tako da i one koje obitavaju u tlu zapravo se nalaze u filmu vode oko čestice tla.

Iako su prve nematode zabilježene kod čovjeka, najčešće parazitiraju životinje te se hrane biljkama, biljnim ostacima, gljivama, bakterijama i dr. Nematode se šire putem tla, biljnim materijalom, nečistom opremom, aktivnim kretanjem nematoda, prenošenjem s polja u polje i navodnjavanjem. Neke od vrsta nematoda roda *Xiphinema* hrane se na korijenu vinove loze te su prenosioci (vektori) virusa koji štetno djeluju na biljku. Neki od tih virusa su virus lepezastog lista vinove loze (GFLV) i virus mozaik gušarke (ArMV). Oni prenose bolest zvanu infektivna degeneracija koja se može prepoznati po deformaciji različitih biljnih organa (Ivezić, 2014.).

U istraživanjima Ivezić i sur. (2002.) otkrivene su neke od nematoda roda *Xiphinema* u Hrvatskoj, a to su: *Xiphinema diversicaudatum* (Hvar), *Xiphinema index* (Vis, Biševo, Korčula, Hvar, Istra), *Xiphinema italiae* (Vis, Biševo, Korčula, Hvar, Istra), *Xiphinema pachtaicum* (Vis, Biševo, Korčula, Hvar, Istra, Slavonija i Baranja) i *Xiphinema vuittenezi* (Slavonija i Baranja).

Cilj ovog istraživanja je utvrditi prisutnost nematoda vrste roda *Xiphinema* u vinogradima tri Hrvatske županije u Vukovarsko-srijemskoj, Osječko-baranjskoj i Istarskoj županiji u 2018. godini.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Nematode

Sistematika:

- Carstvo životinja (Animalia)
- Koljeno Nemata (Nemathelminthes)
- Razred Nematoda

Unutar koljena Nemathelminthes postoji osam razreda od kojih su razred nematoda najbrojnije.

Razred Nematoda dijeli se u dva podrazreda:

- a) Secernentea
- b) Adenophorea

Trenutno je poznato oko 800.000 vrsta nematoda (Oštrec, 1998.). Samo u jednoj šaci zemlje možemo naći oko 50 različitih nematoda. Osim u spomenutim biotopima, nematode možemo naći i u truloj vegetaciji, na primjer u jednoj truloj jabuci nađeno je čak 90.000 nematoda (Brmež, 2004.).



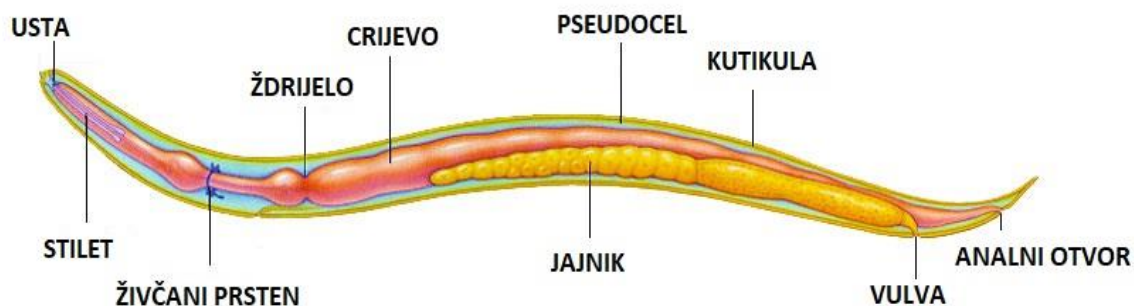
Slika 1. Nematoda pod mikroskopom
Foto: Poturiček L.

2.1.1. Morfologija

Tijelo nematoda može biti končaste forme, crvolikog oblika, cistolikog oblika, okruglo, limunasto, cilindrično i cilindrično-končastog oblika (Ivezić, 2014.). Većina nematoda ima tijelo veličine između 0,4 mm i 5 cm. Tijelo većine biljno parazitskih nematoda iznosi od 0,5 do 2 mm a širina od 15 do 20 μm (Ivezić, 2014.). Njihova su tijela bilateralno simetrična i bez pigmenta. Unutar tjelesne šupljine nalazi se tekućina pod pritiskom u kojem se nalaze organi tijela.

Tijelo nematode možemo podijeliti na tri dijela: prednji dio ili glava, srednji dio koji se proteže do analnog otvora te stražnji dio tijela koji se proteže od analnog otvora a završava repom (Ivezić, 2014.). Stijenka tijela sastavljena je od kutikule, epiderme i mišićnog sloja (Oštrec, 1998.). Kutikula je proteinske strukture te je višeslojna. Sloj mišića nalazi se ispod epiderme te se sastoji od uzdužnih mišićnih vlaknaca. Između unutarnjih organa i stijenke tijela nalazi se tekućina (Slika 2.).

Na prednjoj strani glave nalaze se usta i najčešće su okružena sa 6 usnica. Usta dalje vode u usnu šupljinu koja je obavijena kutikulom. Kod nekih nematoda se u usnoj šupljini nalazi hitinizirana bodlja ili stilet. Kod biljno parazitskih nematoda, kao što je na primjer *Xiphinema index*, takva bodlja služi za probijanje biljnog tkiva. U određivanje vrste nematode značajnu ulogu ima građa stileta. Mišići koji pokreću stilet da izađe iz usnog otvora zovu se protraktori, a mišići koji služe za vraćanje stileta u usnu šupljinu zovu se retraktori. Stilet još možemo podijeliti na pravi stilet ili stomatostilet i odontostilet. Stomatostilet imaju biljno parazitske nematode te takav stilet ima guke, a odontostilet nema guke (Slika 3.).



Slika 2. Dijelovi tijela ženke
Izvor: www.biology.stackexchange.com

Probavni sustav nematoda u obliku je cijevi (Slika 4.) te se sastoji od tri dijela: prednjeg, srednjeg i stražnjeg crijeva. Prednje crijevo počinje usnim ustrojem te se nastavlja jednjakom. Srednje crijevo se nastavlja od jednjaka cijelom dužinom nematode, dok je stražnje crijevo relativno kratko. Kroz crijevni otvor stražnjeg crijeva otvaraju se rektalne žlijezde. Dio iza analnog otvora nematode predstavlja rep nematode (Slika 5.). Probavni sustav apsorbira hranjive tvari koje dolaze iz jednjaka i metabolizira ih u potrebne komponente, sprema dio kao rezervnu hranu te izlučuje otpadne tvari.

Većina nematoda se razmnožava gamogenezom te su razlučenog spola, ali javlja se i partenogeneza. Neke vrste mogu biti viviparne, ali većina je nematoda oviparna. Ženski spolni organi kod nematoda su jajovodi i maternica, a između njih može se nalaziti posebna spermatoka, gdje se čuva sperma. Od maternice se nastavlja mišićna rodnica (vagina) koja s ventralne strane čini vulvu. Kod determinacije vrste nematoda može se koristiti morfologija spolnih organa ženke. Mužjaci su glavnom manji od ženki. Muški spolni organi nematoda su spikula i bursa, ovisno o vrsti nematode. Za vrijeme kopulacije, spikula ulazi u genitalni organ ženke.

Živčani sustav nematoda sastoji se od nekoliko osjetnih organa i nekoliko stotina stanica. Živci su povezani s osjetnim organima i mišićima te uzajamno u tijelu. Pored jednostavnih osjetnih organa nalaze se i dvije specijalne strukture: amfidi i fazmidi. Amfidi se nalaze lateralno u prednjem dijelu tijela, kod usnog ustroja. Fazmidi su slične strukture, a nalaze se lateralno u drugom dijelu tijela, blizu analnog otvora.

Sustav za krvotok i disanje nisu posebno razvijeni kod nematoda. Disanje, respiracija, se obavlja kroz kožu te je ovisna o temperaturi, veličini i pritisku kisika. Neke vrste se mogu prilagoditi i na anaerobne uvjete. Nematode se mogu kretati okrećući se sa strane na stranu te podižući prednji dio tijela.



Slika 3. Glava i usni ustroj
Foto: Poturiček L.



Slika 4. Srednji dio crijevo
Foto: Poturiček L.



Slika 5. Rep
Foto: Poturiček L.

2.1.2. Biologija i ekologija nematoda

Nematode prolaze kroz sljedeće razvojne faze: jaje, ličinka i odrasli stadiji (imago). Najveći broj nematoda izlazi iz jajeta i slični odraslom obliku. Ličinke tijekom svog razvoja prolaze kroz četiri presvlačenja, odnosno četiri stadija. Prvi stadiji ličinke, odnosno prvo presvlačenje odvija se još u jajetu. Drugi stadiji ličinki izlazi iz jajeta, to je drugo presvlačenje, a slijede ga treći i četvrti stadiji ličinki. Prije pojave odraslog oblika razvijaju se spolni organi. Ženke odlažu jajašca i ugibaju. Mužjaci su obično manji i žive kraće od ženki. Većina biljno parazitskih nematoda završava životni ciklus za 3-4 tjedna.

Voda je nematodama prijeko potrebna jer su one zapravo vodene životinje. Njihova staništa su ekosustavi s određenom vlažnošću. Stres može biti izazvan gubitkom vlage. Kada ličinka izađe iz jajašca ona se počinje kretati kroz tlo do korijena biljke oviseći o strukturi tla i vlažnosti koja omogućuje migraciju nematode. Nematode ovise o prisustvu tankog sloja (filma) vode oko čestice tla da bi ostale aktivne (Ivezić, 2014.). Pri manjoj vlažnosti nematode bolje podnose utjecaj nepovoljnih temperatura. Aktivnost nematoda se povećava kako raste i vlaga u tlu (Brmež, 2004.). Neke nematode mogu preživjeti nepovoljne uvjete tako da smanje aktivnost i metabolizam do te mjere da su prividno mrtve. Zatim se aktiviraju kada nastanu uvjeti optimalne vlage u tlu. Takav proces zove se anabioza.

Nematode reagiraju na promjene temperature, kemijskih tvari, izvor hrane i dr. Optimalne temperature za razvoj i rast nematoda kreće se od 5 do 30 °C. Većina biljno parazitskih nematoda u vlažnoj sredini uginu na temperaturi od 40 do 50 °C, a mnoge vrste prežive na vrlo niskim temperaturama i do -40 °C.

Struktura tla izravno utječe na kretanje nematode u filmu vode oko čestice tla. Nematode se kreću teže u kompaktnijim tlima (Ivezić, 2014.). Više nematoda se nalazi u gornjim slojevima nego u dubljim. Na dubini od 0 do 30 cm nalazi se najveći broj nematoda. Najveće dubine gdje se nematode nalaze su 7 do 8 metara dubine tla. Veći broj nematoda nalazi se u tlima koja su bogata humusom, a neke nematode nalaze se samo u određenim slojevima jer imaju specifične potrebe tih nematoda (Brmež, 2004.). Nematode su adaptirane na obilje kisika te je za aktivnost nematoda aeracija vrlo značajna. Neke vrste nematoda nastanjuju vlažna tla i vjerojatno se snabdijevaju dovoljnom količinom kisika iz korijena (Ivezić, 2014.).

2.1.3. Ishrana nematoda

Nematode možemo podijeliti prema načinu ishrane:

1. Slobodnoživuće nematode
 - Žive slobodno u tlu, u filmu vode oko čestice tla
 - Hrane se gljivicama, bakterijama, mrtvim organizmima, fekalijama, korjenčićima i dr
2. Entomopatogene nematode
 - Žive kao parazitski kukci
3. Biljno parazitske nematode
 - Imaju karakterističan stilet pomoću kojega se hrane na biljci

2.1.4. Biljno parazitske nematode

Biljno parazitske nematode možemo podijeliti prema mjestu zaraze:

1. Sedentorne
 - Djelomično gube kretanje nakon ulaska u tkivo
2. Migratorne
 - Slobodno se kreću u tlu u zoni korijena
 - Dije se dalje na:
 - a) Endoparazite – nematode koje ulaze u biljku
 - b) Semiendoparazite
 - c) Ektoparazite – nematode koje ne ulaze u biljku (Brmež, 2004.)

Štete biljno parazitskih nematoda

Biljno parazitske nematode rade štete na nadzemnim i podzemnim dijelovima biljaka.

Štete koje mogu nastati na nadzemnim dijelovima biljaka su:

- a) Oštećenja izbojaka – napadaju terminalne pupove pa stablo i lišće nisu pravilno razvijeni
- b) Smežurana i deformirana stabljika i listovi – kada zaražena točka rasta nije uništena iz nje se razvije stablo, list i drugi organi koji su smežurani, iskrivljeni, skraćeni i dr.
- c) Skraćeni internodiji
- d) Gale na klasu – umjesto zrna, na napadnutom klasu formiraju se gale u kojima se nalaze odrasle nematode i njihova jaja
- e) Nekroza tkiva – nematode izazivaju odumiranje staničnog tkiva tako što se hrane unutrašnjosti tkiva stabla i lista (Slika 6.)
- f) Pjege na listu i ozljede – neke vrste nematoda prodirući u list razaraju parenhim lista pa se na tim mjestima javljaju pjege, a kasnije nekrotične mrlje
- g) Lisne gale
- h) Gale na stablu



Slika 6.. Nekroza tkiva
Izvor: www.alamy.com

Štete koje mogu nastati na podzemnim dijelovima biljaka su:

- a) Gale na korijenu – zadebljanja na korijenu mogu biti posljedica ulaska ličinke u tkivo korijena gdje se ličinka i hrani te posljedica hranjenja nematoda na površini korijena (Slika 7.)
- b) Trulež
- c) Nekroze površine korijena
- d) Rane i pjege na korijenu – neke nematode izazivaju nekrotične rane koje su posljedica prodiranja, hranjenja ili razmnožavanja parazita u tkivu korijena
- e) Pretjerano grananje korijena
- f) Oštećenja vrhova korijena
- g) Skraćenje i zadebljanje korijena – nematode koje žive kao ektoparaziti na vrhovima korijena gdje se i hrane (Krnjaić i Krnjaić, 1987.)



Slika 7. Gale na korijenu
Izvor: www.barmac.com.au

Biljno parazitske nematode se hrane na biljkama te ju tako oštećuju, ali osim toga one na njima stvaraju rane koje su „ulazne rane“ kroz koja u biljno tkivo navire mnoštvo štetnih mikroorganizama koji inače, bez pomoći nematoda, ne bi mogli dospjeti u biljku.

Mjere suzbijanja biljno parazitskih nematoda

Radi prevencije važno je educirati se o nematodama, čistiti i oprati oruđe za rad, provjeravati stanje u polju, koristiti certificirano sjeme, kontrolirati korove i održavati druge štetnike ispod praga štetnosti.

Mjere suzbijanja biljno parazitskih nematoda možemo podijeliti na:

1. Agrotehničke – plodored, sadnja otpornih sorata, obrada tla, suzbijanje korova i navodnjavanje
2. Fizikalne mjere – termička sterilizacija tla, solarizacija, uranjanje dijela biljke u zagrijanu vodu i dr.
3. Biološke mjere – praživotinje, neke vrste kukaca, predatorske nematode, nematofagne gljivice i bakterije te biljke s nematocidnim djelovanjem
4. Karantenske mjere – radi sprječavanja unošenja raznih vrsta štetnika iz jedne države u drugu
5. Kemijske mjere
 - nematocidi te neki insekticidi koji imaju i nematocidno djelovanje
 - u Hrvatskoj su najčešće korišteni nematocid Basamid granulat (Slika 8.) i Nemathorin 10 G (Slika 9.) (Ivezić 2014.)



Slika 8. Nemathorin 10G

Izvor:
www.farmaexport.it



Slika 9. Basamid Granulat

Izvor:
<http://www.logisticagro.rs>

Metode uzorkovanja i izdvajanja nematoda iz biljaka i tla

Metoda uzorkovanja tla i biljnog materijala za nematološke analize ovisi o različitim čimbenicima:

- a) Razdoblje uzorkovanja – broj nematoda varira sezonski
- b) Vegetacijska faza kulture
- c) Dio biljke koji nematoda parazitira
- d) Mjesto uzorkovanja – slučajni odabir ili po shemi cik.cak linije
- e) Dubina uzorkovanja i dr.

Alati koji se koriste za uzorkovanje tla i biljnog materijala su lopata, nematološka sonda, svrdla i dr. Dubina uzorkovanja za slobodno živeće nematode je do 25 cm, a za cistolike nematode do 10 cm, kod višegodišnjih kultura koje imaju dubok korijen i do 60 cm, a u svakom slučaju najbolje je uzorkovati tlo na dubini gdje se nalazi najveća masa korijena. Osim tla, za nematološke analize isto se uzimaju i korijen i stabljika.

Uzorake tla moguće je čuvati do 6 mjeseci u hladnjaku na temperaturi od 4 do 5°C. Preporučuje se što prije pregledati uzorke radi vjerodostojnijih rezultata. Uzorci biljnog materijala treba također što prije pregledati prema posebno odabranoj metodi.

Izdvajanje nematoda iz uzoraka tla ili biljnog materijala primjenjuje se radi promatranja, identificiranja i brojanja prisutnih nematoda unutar biljnog materijala. Ovisno o vrsti nematoda ili vrsti biljnog materijala koristimo specifične metode izdvajanja.

Najznačajnije metode izdvajanja nematoda iz tla su metoda Baermannovih lijevaka, pomoću Cobbovih sita, Seinhorst-Erlenmeyerova metoda, a ciste se mogu izdvajati Fenwickovim aparatom. Baermannovim lijevkom se nematode mogu izdvojiti i iz biljnog materijala, osim te metoda prisutne su još brza metoda izdvajanja nematoda iz biljnog materijala i metoda bojanja i dr. (Ivezić, 2014.).

2.2. Rod *Xiphinema*, Cobb, 1913.

- Carstvo životinja (*Animalia*)
- Koljeno *Nemata* (*Nemathelminthes*)
- Razred *Nematoda*
- Podrazred *Adenophorea* (*Aphasmidia*)
- Red *Dorylaimida*
- Porodica *Longidoridae*
- Rod *Xiphinema* Cobb, 1913. (Ivezić, 2014.)

Xiphinema je vrlo velika, raznolika i kompleksna skupina nematoda. Zbog preklapanja morfometrije i dijeljenja mnogih morfoloških znakova morfološka identifikacija jako je složena u ovoj skupini. Pouzdane dijagnostičke metode potrebne su kako bi se omogućilo razlikovanje vrsta radi upravljanja, regulatornih i karantenskih svrha.

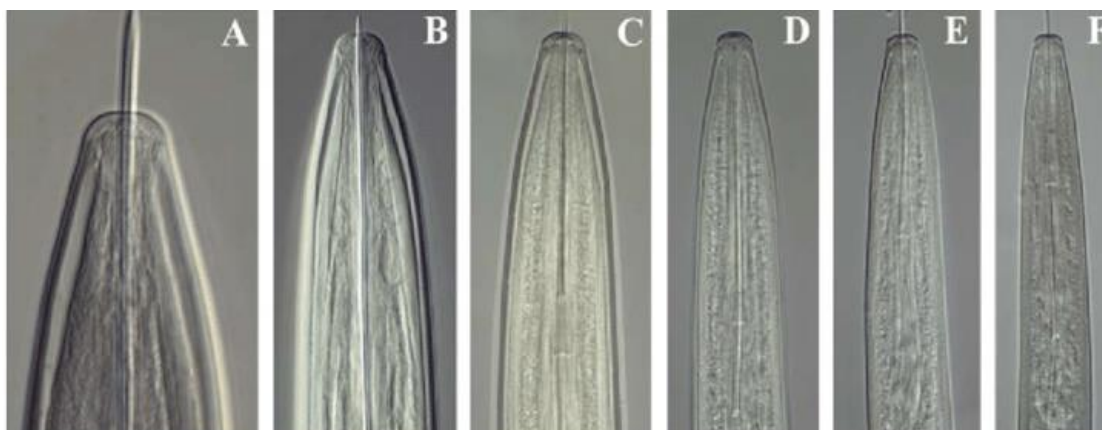
Vrste roda *Xiphinema* su relativno velike nematode, duljine otprilike od 2 do 3 mm. Karakteristike ovoga roda je prisutnost izrazito dugog odontostileta. Jednjak im se sastoji od dva dijela što je tipično za većinu iz reda *Dorylamida*. Mužjaci nemaju bursu, ali imaju uparene spikule dok ženke imaju jedan ili dva jajnika. Mužjaci su jako rijetki u većini vrsta i očigledno nepotrebni za reprodukciju. Jaja iz kojih se javljaju ličinke prvog stadija, odlažu se pojedinačno u vodenim filmovima oko čestica tla i nisu zatvorena u masu jaja. Uglavnom postoje tri do četiri stadija, tj. presvlačenja.

Nematode roda *Xiphinema* hrane se na vrhovima korijena i po dužini mladih korijena gdje i uzrokuju oštećenja i guke. Prvenstveno su problematične na dvogodišnjim i trajnim usjevima. Osim štete na rastućim sadnicama, rijetko su od velike važnosti u godišnjim usjevima, jer rijetko postižu visoku populacijsku razinu kada se tlo često obrađuje. Međutim, u slučaju vrsta koje su vektori biljnih virusa, šteta koju uzrokuju virusi može biti neovisna o obilju nematoda (<http://nemaplex.ucdavis.edu>).

2.2.1. *Xiphinema index* Thorne and Allen, 1950.

Vrsta *Xiphinema index* izvorno je opisana od uzoraka tla koje je uzeo E.F.Serr iz tla blizu Planade (Kalifornija) i poslao ih Gerald Thorneu, u Salt Lake City na determinaciju. Iz tih uzoraka Thorne i Allen (1950.) opisali su *Xiphinema index* i *Paratilenchus hamatus*.

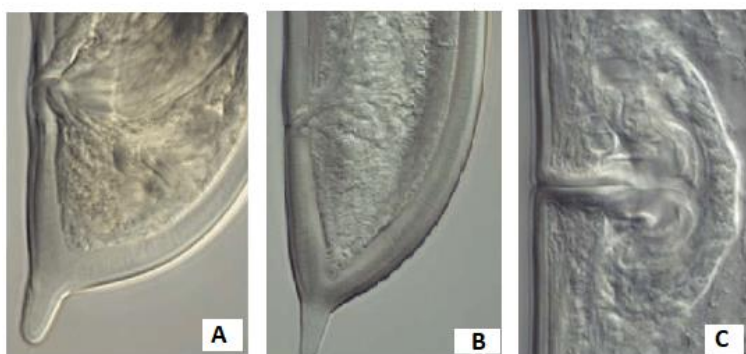
Xiphinema index, ili kalifornijska kopljasta nematoda, pripada rodu *Xiphinema* te ima muške i ženske jedinke, sa znatno većim brojem ženki. Dužina tijela ženke iznosi između 2,91 i 3,28 mm, a kada ugine, formira otvorenu spiralu koja se više savija u zadnjoj polovici tijela. Ima debelu kutikulu te usni ustroj sa 16 papila. U usnoj šupljini nalazi se stilet kojemu je prednji dio igličast i prosječno dugačak oko 126 mikrona (0,126 mm), a zadnji dio je zadebljan i dugačak oko 70 mikrona (0,7 mm) tako da su stileti kod *Xiphinema index* u prosjeku dugi oko 196 mikrona (0,190 – 0,206 mm) (Slika 10.)



Slika 10. Usni ustroj odrasle ženke (A –B) i od četvrtog do prvog stadija ličinke (C-F)

Izvor: Mariana i sur. (2013.)

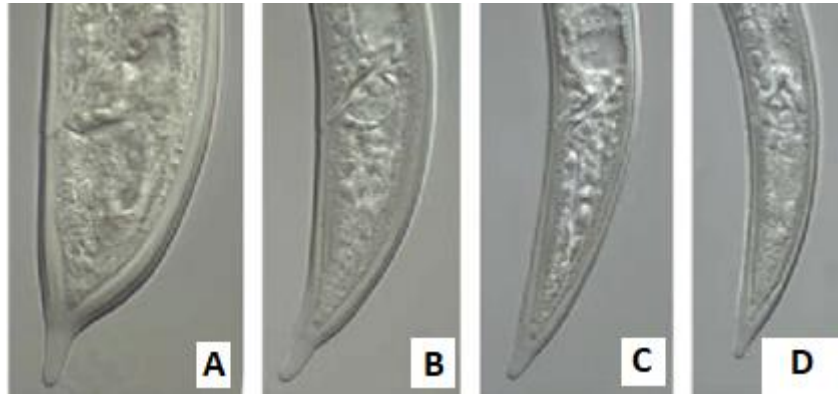
Prednji dio ezofagusa (jednjak) je sužen, dok je zadnji cilindričan i jako mišićav. Vulva se obično nalazi na 38-40% dužine tijela, što je često način za sistematiziranje nematoda. Jajnici su izduženi i simetrični, s nekoliko oocita (jajnih stanica) (Slika 11.).



Slika 11. Rep odraslog mužjaka (A), rep odrasle ženke (B) i vulva (C)

Izvor: Mariana i sur. (2013.)

Mužjaci su poprilično rijetki u prirodi te značajno duži od ženki (prosječno 3,6 mm). Ezožofagus, usni ustroj i oblik tijela su slični kao i kod ženki. Sjemenici su parni, jedan je ravan a drugi povijen. Spikula je dobro razvijena i duga oko 63 mikrona. Kod oba spola je repni dio tijela kratak, konusan i s bradavičastim produžetkom (Krnjaić i Krnjaić, 1987.).



Slika 12. Rep ličinke od četvrtog do prvog stadija (A-D)
Izvor: Mariana i sur., 2013.

Ivezić (2014.) tvrdi da životni ciklus *Xiphinema index* traje 23 do 27 dana na temperaturi od 24 °C, drugi pak tvrde da traje 3 do 5 mjeseci na temperaturi od 28 °C, a zadnji pak tvrde da njen životni ciklus može trajati od 7 do 9 mjeseci na temperaturi od 20 °C. Duljina životnog ciklusa *Xiphinema index* različita je, tako u Kaliforniji traje 27 dana (Radewald i Raski, 1962.) dok u Izraelu traje od 7 do 9 mjeseci (Cohn i Mordechai, 1969.).

Za optimalni razvoj *Xiphinema index* poželjna su tla srednje teksture te lagana tla s pH od 6,5 do 7,5 (Prota, 1970.). Optimalne temperature zraka kreću se od 16 do 29°C. Maksimalna količina ovih nematoda uočava se u jesen. Reproductive ženke najčešće se pojavljuju u srpnju. Razmnožavaju se partenogenetski 6 do 8 dana nakon oplodnje leže se jajašca. Prvo presvlačenje događa se 24 do 48 sati na što se ličinka izleže iz jajašca. Drugo, treće i četvrto presvlačenje se događa u vremenskim intervalima od 6 dana.

Rasprostranjenost (Slika 13.) *Xiphinema index* ovisi o domaćinu kojim se hrani, pogotovo o njenom najvažnijem domaćinu – vinovoj lozi. Osim vinove loze njezini domaćini su i maslina, jabuka, smokva, limun, dud, ruža, pistacio i dr. Istraživanja tvrde da je ova nematoda prisutna u mnogim zemljama Europe, Sjeverne i Južne Amerike, Bliskom i Srednjem istoku te u sjevernoj Africi (Krnjaić i Krnjaić, 1987.).



Slika 13. Rasprostranjenost *Xiphinema index* u svijetu
Izvor: www.cabi.org

U Hrvatskoj je utvrđena na površinama gdje se uzgaja vinova loza: Kutjevo, Istra, Dalmacija i otoci (Ivezić i sur. 2002.). Odrasle jedinke *Xiphinema index* su migratorne i hrane se kao ektoparaziti na korijenu biljaka domaćina te tako izazivaju mehanička fiziološka oštećenja (Krnjaić i Krnjaić, 1987.). Ova nematoda uzrokuje slabiji rast korijena i stvaranje guka na vrhu korijena. Kirkpatrick i sur. (1965.) pokazali su smanjenje gornjeg i donjeg dijela korijena do 65%.

2.2.1.1. Vektor virusa

Xiphinema index je vektor virusa lepezastog lista vinove loze (Grapevine fanleaf virus – GFLV) i virusa mozaika gušarke (Arabis mosaic virus – ArMV) koji su uzročnici bolesti infektivne degeneracije (Krnjaić i Krnjaić, 1987.). Prvi zapis o prijenosu virusa pomoću nematoda uočili su Hewitt i sur. (1958.).

Znanost koja se bavi biljnim bolestima zove se fitopatologija (grč-phyton=biljka; paros=bolest; logos=riječ, znanost), a njen zadatak je spriječiti zarazu, odnosno postanak bolesti, smanjiti štetne posljedice i pritom zaštititi biljke i okolinu (Jurković i Ćosić, 2003.).

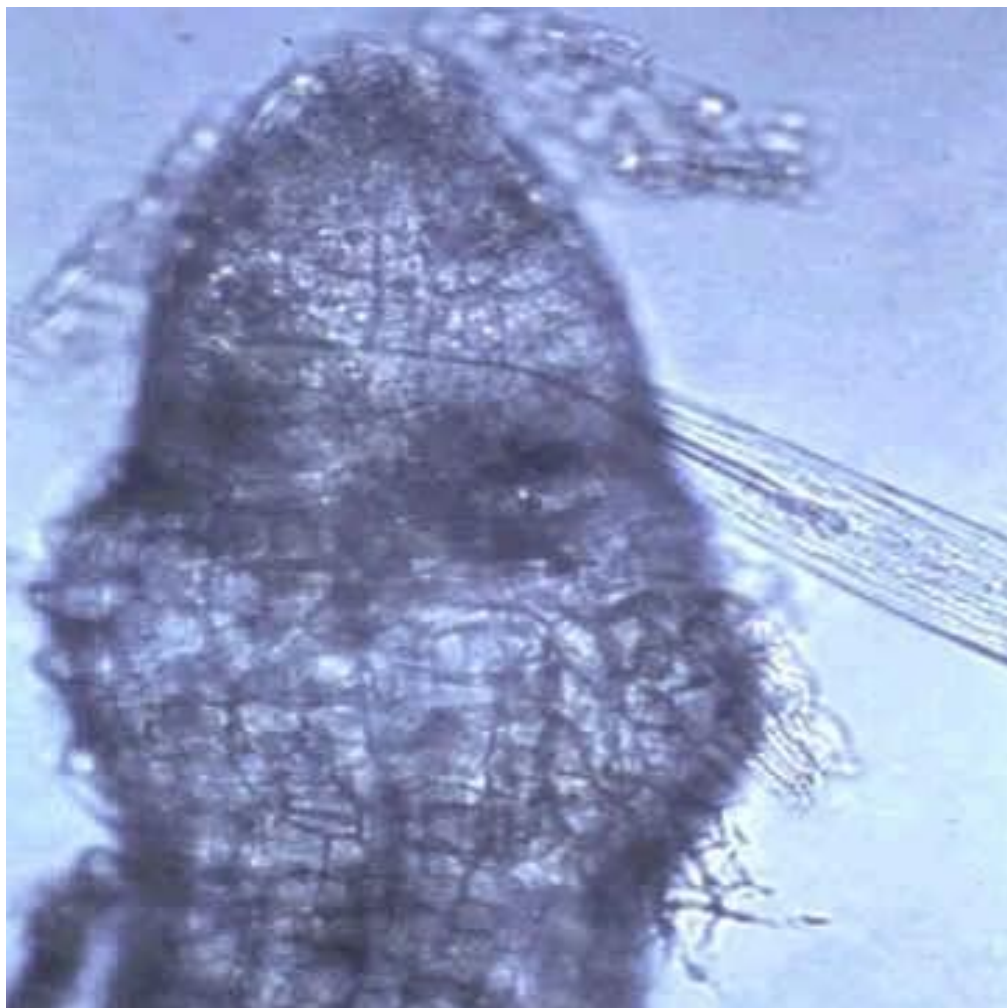
Virus lepezastog lista vinove loze i virus mozaika gušarke spadaju pod virusne bolesti. Trsovi zaraženi virusima ne mogu se izliječiti za razliku od gljivičnih bolesti te su zbog toga jedna od gospodarski vrlo važnih bolesti na vinovoj lozi. Gospodarski su važne jer čine velike štete, a posljedice kod zaraženih trsova su dugovječne. Bolest uvijenosti lista i naboranosti drva druge su dvije važnije virusne bolesti pored infektivne degeneracije (Maceljski i sur., 2006.).

Xiphinema index ove viruse može prenijeti kao ličinka i kao odrasli oblik (imago). Prenosi ju tako da hraneći se na zaraženoj biljci unese virus u svoj organizam. Nematoda pomoću svojih mišića izbaci stilet van i probija biljno tkivo korijena (Slika 14.). Hrani se tako što kroz stilet izbacuje izlučevine jednjačkih žlijezdi koje biljne stanice razgrađuju da budu pogodne za probavljanje. Tada nematoda crpi biljne sokove uz pomoć otkucaja jednjačke cijevi i vremena otkucaja. Ako je biljka na kojoj se nematoda hrani zaražena gore navedenim virusima postoji velika šansa da će ju hranjenjem ona i usisati u svoj organizam. Neki rezultati pokazuju da je potrebna mala količina vremena za usvajanje virusa tijekom hranjenja, čak 5 do 15 minuta je potrebno da *Xiphinema index* usvoji virus putem stileta (Ivezić, 2014.). Virusi koji su usvojeni putem stileta zadržavaju se u usnoj šupljini, oko stileta i u jednjaku. Ako dođu u kontakt sa zdravom biljkom nematode istim načinom hranjenja, dok izbacuju izlučevinu, prenose virus (Oštrec, 1998.). Nematoda zadržava mogućnost prijenosa virusa u razdoblju od nekoliko mjeseci do čak godine dana (Ivić i Fazinić 2011.). Virus se može izgubiti prilikom presvlačenja jedinki mlađih uzrasnih stadija (Krnjaić i Krnjaić, 1987.). Najčešći način prijenosa virusa je od jednog zaraženog trsa na okolne jer se *Xiphinema index* kreće vrlo sporo kroz tlo i prelazi male udaljenosti tako da je i taj način prijenosa rjeđi. Virus lepezastog lista vinove loze (GFLV) pronađen je na još nekim biljkama osim na vinovoj lozi: troskot, ptičji dvornik, vučjoj stopi i lagenariji. GFLV ima uzak krug domaćina koje može zaraziti, Virus mozaika gušarke (ArMV) može zaraziti blizu 100 biljnih vrsta iz različitih porodica.

GFLV je najznačajniji virus iz skupine virusa koji prenosi bolest infektivne degeneracije jer se smatra najštetnijim. Virus uzrokuje štete poput: smanjenja prinosa, smanjena sadržaja šećera i kiselina u grozdovima, negativno utječe na vigor i razvoj biljke te općenito iscrpljuje biljku i smanjuje njen životni vijek.

ArMV je izuzetno štetan virus te slično kao i GFLV negativno utječe na kakvoću i količinu prinosa te smanjuje životni vijek zaražene biljke (Ivić i Fazinić, 2011.).

Bolest infektivne degeneracije prvi put je utvrđena u Istri 1959. godine (Šarić i Corte, 1959.), a laboratorijski je potvrđena 1977 (Šarić i Hranueli, 1977.).



Slika 14. Hranjenje Xiphineme pomoću stileta
Izvor: www.apsnet.org

2.2.1.2. Simptomi

Tijekom pregleda vinograda i trsova, posebno kod pregleda matičnih trsova koji služe za proizvodnju plemki i podloga, važno je poznavati simptome gospodarski značajnih virusnih bolesti vinove loze. Postoji nekoliko stvari o kojima ovisi intenzitet i pojava simptoma na određenoj biljci, to su: okolišni uvjeti, vrsta virusa, starost, podloga i sorta vinove loze. Ponekada je simptome teško uočiti jer postoji mogućnost da je biljka zaražena s više virusa ili dolazi do pojave teško uočljivih simptoma, a moguća je i zamjena simptoma sa znakovima drugih poremećaja ili bolesti.

Virusi lepezastog lista vinove loze (GFLV) uzrokuje deformaciju lista po kojoj je virus i dobio ime – zbog otvorenog sinusa i zbijenosti žila listovi mogu poprimiti oblik lepeze. Bolest infektivne degeneracije na listu uzrokuje još i asimetričnost, naboranost, mozaično ili klorotično šarenilo te rubovi mogu biti izraženije nazubljeni (Slike 15. i 16.).

Na rozgvi se mogu primijetiti kraći internodiji i „cik-cak“ rast mladica te može doći do pojave fascijacija (spljoštenog oblika) i prekomjernog grananja mladica. Neravnomjerno i nepotpuno odrvenjivanje rozgve još je jedan od glavnih simptoma bolesti. Simptomi na trsu su zakržljalogost, deformacija i žućenje trsa. Najčešći simptomi koji se javljaju na grozdovima su rehljavost grozda, veći broj manjih i tvrdih bobica te neravnomjerno dozrijevanje.



Slika 15., 16. Simptomi GFLV
Izvor: <http://entoweb.okstate.edu>

2.2.1.3. Zamjena simptoma

Kako bi razlikovali simptome virusnih bolesti od simptoma pojedinih poremećaja, napada štetnika i drugih bolesti, potrebna nam je visoka stručnost i iskustvo. Napad grinja *Calepitrimerus vitis* i *Eryophies vitis* može dovesti do deformacije listova što se može zamijeniti za jedan od simptoma virusne bolesti infektivne degeneracije. Razlika je u tome što pri napadu ovih grinja ne dolazi do javljanja mozaika na lišću, ono ne žuti i simptomi napada se ne pojavljuju na grozdovima. Grinja *Calepitrimerus vitis* uzrokuje sitne klorotične točke na mjestima uboda, a grinja *Eryophies vitis* na lišću uzrokuje pojavu gala prekrivenih vunastom prevlakom na naličju, oba simptoma se ne pojavljuju kao posljedica infektivne degeneracije.

Uzročnik eutipoze, gljiva *Eutypa lata*, dovodi do pojave kratkih mladica s kratkim internodijima te žutih i deformiranih listova koji se pojavljuju i kao simptomi infektivne degeneracije. Simptom nedostatka bora je rehljavost grozdova te se isto može zamijeniti za simptom infektivne degeneracije. Nedostatak bora u biljci uzrokuje samo ovaj slični simptom, ostali simptomi infektivne degeneracije nisu vidljivi.

Pojava lepezastog lista može uzrokovati i „hormonski“ herbicid (derivat fenoksi-karboksilnih kiselina) kao i virusna bolest infektivne degeneracije.

Nepotpuno odrvenjivanje mladica simptom je koji je karakterističan za infektivnu degeneraciju, ali se može pojaviti i kao simptom zaraze fitoplazmoza.

Teško je razlikovati simptome fitoplazmoza i simptome virusnih bolesti, ali u oba slučaja radi se o štetnim bolestima koje se ne mogu liječiti ili suzbijati izravnim mjerama.

2.2.1.4. Dijagnoza virusnih bolesti

Laboratorijskom analizom moguće je postaviti točnu dijagnozu virusnih bolesti. U dijagnostici biljnih virusa danas se koriste serološke i molekularne metode te biološki testovi koji se temelje na provjeri specifičnih simptoma na osjetljivim biljkama indikatorima. Serološka metoda, poznata kao ELISA, najbrža i najpraktičnija je metoda koja se danas rutinski koristi u dijagnozi virusnih bolesti te je ujedno i najjeftinija metoda.

2.2.1.5. Mjere suzbijanja virusnih bolesti

Jednom zaražen virusom trs vinove loze ostaje njime zaražen čitav životni vijek. Mjere zaštite od virusnih bolesti vinove loze su isključivo preventivne zbog toga što ne postoje mogućnosti liječenja ili suzbijanja takvih bolesti u polju.

Jedina učinkovita mjera zaštite od gospodarski značajnih virusa vinove loze jest sadnja zdravog sadnog materijala. U Europi i Hrvatskoj je proizvodnja certificiranog sadnog materijala vinove loze strogo regulirana. Osim što se površine na kojima su podignuti matični nasadi moraju laboratorijski analizirati kako bi se potvrdilo da na njima nisu prisutne vektorske vrste nematoda, matični se trsovi moraju različitom dinamikom laboratorijski testirati nakon određene starosti, kako bi se potvrdilo da nije došlo do njihove zaraze gospodarski značajnim virusima.

Direktiva Komisije Europske unije 2005/43/EC propisuje da se matični trsovi u različitim kategorijama sadnog materijala u sklopu certifikacijske sheme moraju obavezno laboratorijski testirati svakih pet, šest ili deset godina na GFKV i AeMV. Prihvativši odredbe te direktive „Pravilnikom o sastavljanju na tržište materijala za vegetativno umnažanje loze“ (NN 133/06) propisuje obavezna laboratorijska testiranja za matične nasade vinove loze i lozne podloge, koji se koriste za dobivanje certificiranih podloga i plemki (Ivić i Fazinić, 2011.).

Hibrid *Vitis vinifera* i *Muscadinie rotundifolia small*, koji je razvio Olmo krajem 1940-ih, pokazao se sredinom 1980-ih pogodan za preživljavanje GFLV (Lider i sur., 1988.).

Esmenjaud (1986.) navodi kako je otpornost sorata na GFL važno rješenje problema zaraze. Po svojoj prirodi, ektoparazitske nematode mogu preživjeti u tlu ili se zadržati na korovima duže vrijeme. Problem je postojanje starih korijena na kojima se zadržavaju nematode.

Novi korijen vinove loze obično prati kanale u tlu koje su ostavili stariji korijeni. GFLV se može premjestiti iz tih kanala na zdrave sadnice pomoću *Xiphinema index*. Postoji velika mogućnost da će biti teško razviti „imunu“ podlogu na kojima se ova nematoda ne može reproducirati i nikada ne pokušava hraniti. Presađivanje vinograda zaraženog virusom s podlogom koja je otporna na *Xiphinema index* unutar 6 do 7 godina nakon uklanjanja neće biti dugoročno uspješna osim ako se nematoda ne pokuša opet hraniti. Tlo neće biti sigurno 1 do 2 godine nakon što zadnji stari korijen nije mrtav. Takvi vremenski intervali, navodi Esmenjaud (1986.) neće biti ekonomski izvedivi te je zbog toga izrazito važna otpornost na GFLV.

2.2.1.6. Mjere suzbijanja *Xiphinema index*

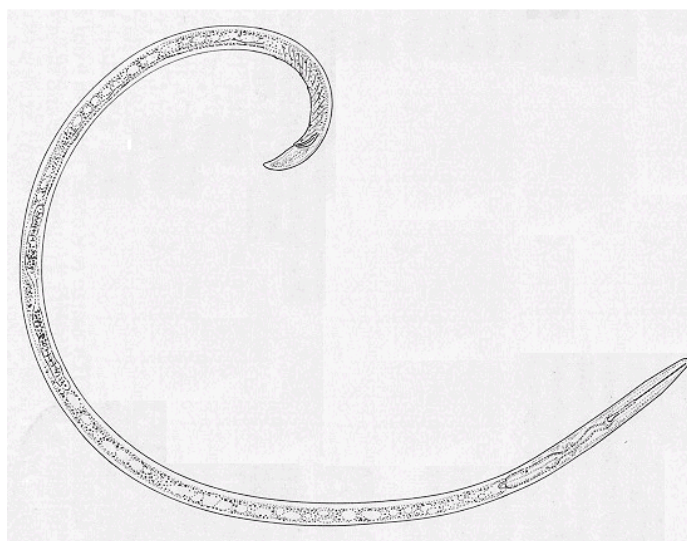
Većina nematoda vrste roda *Xiphinema* suzbija se sličnim agrotehničkim, fizikalnim, kemijskim, biološkim i karantenskim mjerama kao i ostale nematode. Najvažnije je koristiti nezaražene sadnice, birati otporne podloge, vršiti obradu tla, navodnjavanje, suzbijati korove i uzgajati otporne biljke. Raski i Hewitt (1960.) navode da je *Xiphinema index* na sterilnom tlu bez izvora hrane preživjela 9 do 10 mjeseci. Još jedno istraživanje koje pokazuje izdržljivost ove nematode je ono Cottena i suradnika (1971.) gdje su pokazali da može preživjeti zimske temperature u Engleskoj, uključujući i zamrzavanje. Najotpornije vrste *Vitis* na *Xiphinema index* su *Vitis candicans*, *Vitis solonis*, *V. arizonica*, *V. rufotomentosa* i *V. smaliana* (Kunde i sur., 1968.).

Glavne fizikalne mjere suzbijanja nematoda su termička sterilizacija tla i solarizacija. Za biološke mjere suzbijanja koriste se različiti drugi organizmi. Prirodni neprijatelji *Xiphinema index* su *Catenaria anguillulae*, *Cunninghamella elegans*, *Pasteuria penetrans* i *Rhizoglyphus enchiopus* (patogeni) (<https://www.cabi.org>). Endoparazit, gljiva *Catenaria anguillulae* parazitira *Xiphinema index* (Boosalis i Mankau, 1965.). *Pasteuria penetrans* ima veliki potencijal za biokontrolu *Xiphinema index* (Sturhan, 1985.). Sturhan i Hampel (1977.) navode kako se *Rhizoglyphus enchiopus* hrani na *Xiphinema index*. U Kaliforniji jedno je istraživanje pokazalo da je 1,3-diklorpropen smanjio populaciju *Xiphinema index* i povećao prinose trsova (Raski i Goheen, 1988.).

2.2.2. *Xiphinema americanum* Cobb, 1913.

Xiphinema americanum, ili Američka kopljasta nematoda, je zapravo grupa od 39 vrsta nematoda xiphineme i smatra se da potječe iz istočnih dijelova SAD-a. Dužina tijela odraslog stadija ove nematode je između 1,3 i 2,2 mm. Dužina životnog cikla pretpostavlja se da bi mogla biti oko 1 godinu.

Xiphinema americanum (Slika 17.) je migratorni ektoparazit korijena te se hrani na različitim vrstama korijena. Hrani se pomoću stileta kojim ulazi duboko u korijen te tako uzrokuje hipertrofiju stanica i zadebljanje stijenki. Osim što im je domaćin vinova loza napadaju i korove, travnjake, jagode, soju, šumsko drveće (smreka, bor i dr.) te višegodišnje voćnjake. Ova nematoda može preživjeti i razvijati se i kada nema biljaka domaćina, ali se tada ne može razmnožavati. Optimalan pH za razvoj je od 5,6 do 7,4. Ne mogu se dugo zadržati u zamrznutom tlu te su osjetljive na smanjenje kisika u tlu (Ivezić, 2014.). Najraširenija je u gornjim dijelovima tla na dubini od 30 do 45 cm gdje su uvjeti aeracije povoljni ali vlažnost i temperatura tla oscilira. Njihova pojava u gornjim dijelovima tla i sklonost prema tlima sa smanjenim stresom unutar vinograda rezultira njihovom najvećom brojnošću u netaknutom tlu nekoga vinogradu. Ova nematoda osjetljiva je na nedostatak kisika (Ferris i McKenry, 1974.). Neki radovi pak sugeriraju da je održavanje relativno konstantnih vlažnih uvjeta bilo poprilično važno (Lownsberi i Mitchell, 1964.).



Slika 17. *Xiphinema americanum*
Izvor: <http://nemaplex.ucdavis.edu>

Mužjaci su građom slični ženjkama te im je dužina tijela oko 1,6 mm. Ova nematoda je poprilična rasprostranjena na poljskom i šumskom tlu, a mužjaci su vrlo rijetki. Trenutno je utvrđena u Italiji, Francuskoj, SAD-u, Kanadi, Peruu i Gvatemali. Iako se nalazi na karantenskoj listi za sada još nije utvrđena na području Hrvatske.

Vektor je virusa pjegavosti duhana i rajčice te mozaika kruške na kruški, jagodi, šljivi i breskvi. Osim što prenosi virus može uzrokovati nekrozu korijena, pogotovo na jagodi, te uzrokuje prestanak rasta korijena i stvaranje gala.

2.2.3. *Xiphinema americanum* (sensu lato)

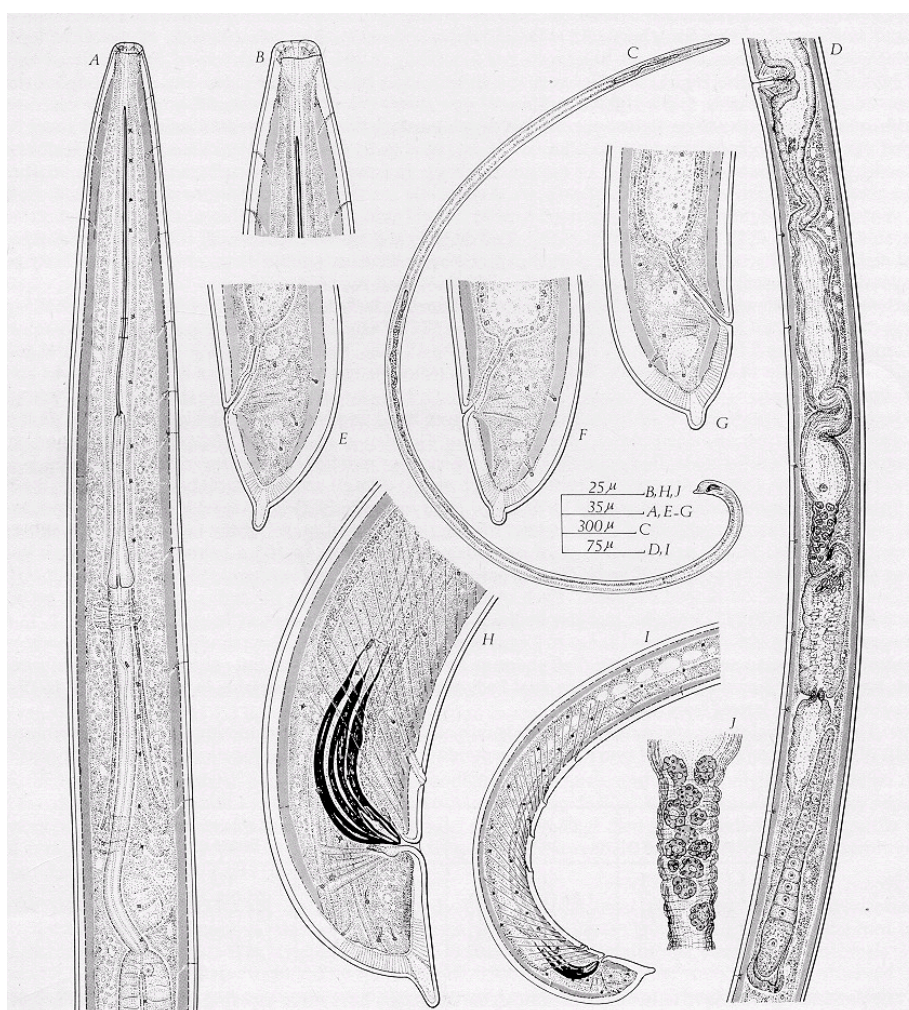
Ova nematoda je najviše raširena u Kanadi i SAD-u ali istraživanja su utvrdila da je prisutna i u Australiji, Čileu, Brazilu, Indiji, Japanu, Novom Zelandu, Panami, Pakistanu i dr. Žive isključivo u vlažnom tlu te se kreću u filmu vode oko čestice tla. Mogu se kretati najviše 1 m na godinu, osim ako se ne kreću otjecanjem vode. Preferiraju hranjenje na mladom korijenju tako što probijaju nekoliko slojeva stanice i sišu citoplazmatski sadržaj. Mužjaka ima jako malo ili ih nema te se ove nematode razmnožavaju partenogenetski. Temperatura koja im je najpovoljnija za reprodukciju je 20-24°C. Na područjima s niskim zimskim temperaturama prezimljavaju uglavnom u stadiju jajeta, ali ne mogu dugo preživljavati u smrznutom tlu. Na područjima gdje tlo nije smrznuto svi stadiji mogu preživjeti tijekom zime.

Xiphinema americanum (sensu lato) vektor je nekoliko virusa. Hraneći se na zaraženoj biljci čestice virusa priljubljuju se na stilet i jednako ove nematode. Kada se *X. americanum* (sensu lato) hrani na drugoj zdravoj biljci unosi čestice tog virusa kojega je usvojila. Virus može preživjeti 2 godine u nematodi. Ova nematoda prenosi četiri glavna američka virusa: virus pjegavosti duhana, virus pjegavosti rajčice, cherry rasp leaf nepovirus i peach rosette mosaic nepovirus. Blizu vrha korijena pojavljuju se kvržice prilikom jakih zaraza.

Jedna od glavnih mjera suzbijanja je zabrana uvoza supstrata iz zemalja koje ne pripadaju EPPO regiji gdje se pojavljuje *Xiphinema americanum* (sensu lato). Područja iz kojih biljke dolaze moraju se pregledati i ne smiju biti zaražene nematodama.

2.2.4. *Xiphinema diversicaudatum* Micoletzky, 1927.; Thorne, 1939.

X. diversicaudatum ili Europska kopljasta nematoda (Slika 18.) spada u najkrupnije biljno parazitske nematode jer im je prosječna dužina od 4 do 6 mm. Ženke su u prosjeku duge od 4 do 5,5 mm dok su mužjaci od 4,1 do 6,2 mm (Ivezić, 2014.). Tijelo jedinki nakon ubijanja i fiksiranja ima oblik slova C, pri čemu je repni dio uvijen. Vulva je poprečna i nalazi se na kraju prve polovine tijela (V= 39-46%). Vrh repa je konveksan i obično s bradavičastim produžetkom dužine do 16 mikrona.



Slika 18. *Xiphinema diversicaudatum*
Izvor: <http://nemaplex.ucdavis.edu>

Mužjaci su vrlo česti i slični ženjkama, ali su u prosjeku duži dok im je stilet nešto kraći. Spikula im je vrlo sužena i ventralno povijena (Krnjaić i Krnjaić, 1987.). Česti je stanovnik šuma i pašnjaka Europe, nekih dijelova SAD-a te je također nađena i u Australiji. Nalazi se u tlima s visokom razinom podzemne vode ili na vlažnim i tamnim mjestima u blizini izvora s vodom. Poprilično je proširena te se uglavnom nalazi u težim tlima, ali je prisutna i u lakšim. Životni ciklus traje 3 godine, a ženke mogu živjeti i do 5 godina (Ivezić, 2014.). Ukupna reproduktivna sposobnost ženki procijenjena je na 180 do 200 potomaka za jednu populaciju iz Škotske uzgojenu na korijenima jagode. Razvoj od jaja do odraslog oblika trajao je 12 tjedana na temperaturi od 18 ° C (Brown i Coiro, 1983).

Nematoda se hrani na korijenu biljaka pomoću stileta koji doseže do vaskularnog tkiva i uzrokuje hipertrofije i nekroze kod biljaka. Drvenaste i zeljaste kulture su dobre hraniteljske vrste za ovu nematodu. U zonama korijena ovih kultura može se naći nekoliko stotina pa i tisuća jedinki ove vrste u uzorcima. Domaćini su korovi, razno drveće, pašnjaci, ruže i hmelj.

Hranjenjem uzrokuju izravne štete na biljci te osim što može doći do uvenuća i propadanja može i prenijeti viruse (Ivezić, 2014.). Izravne štete na biljci uključuju terminalno ili podzemno izobličjenje vrhova korijenskog kanala te pojava guka. U eksperimentu s 40 biljnih vrsta inokuliranih zaraženom nematomom *X. diversicaudatum*, većina biljaka pokazivala je simptome virusa mozaika gušarke (AMV) i latentne pjegavosti (SLRV – strawberry latent ringspot virus). Međutim, virusi nisu bili otkriveni u nekim vrstama drveća i grmlja, čak i kada su biljke bile dobri domaćini za nematode. (Thomas, 1970.).

Xiphinema diversicaudatum vektor je virusa mozaika gušarke („arabis mosaic virus“ – AMV) na velikom broju biljaka. U području Europe najčešće ga prenosi na raznim vrstama usjeva, uključujući hmelj i višnje te se kao simptom na korijenu napadnutih biljaka javljaju gale. Prenositelj je i virusa pjegavosti lista maline, karanfila i „strawberry latent ringspot virus“ (Ivezić, 2014.).

2.2.5. *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964.

Vitinezova kopljasta nematoda ili *Xiphinema vuittenezi* oblikom je slična *Xiphinema index*. Ove dvije vrste se često mogu pronaći zajedno u području vinove loze. Prosječna dužina tijela ženke iznosi 3,27 mm, dok je vulva ekvatorijalna (V=50,5%). Dužina repne bradavice varira od 2,3 do 3,5 mikrona (Krnjaić i Krnjaić, 1987.). Stilet im je prosječno dugo 203,5 mikrona. Domaćin su joj voćke, ruže, šumsko drveće, vinova loza te u rjeđim slučajevima mrkva i šećerna repa. Vektor je većeg broja virusa infektivne degeneracije vinove loze, mozaika lišća vinove loze i uvijenosti lista trešnje.

2.2.6. *Xiphinema italiae* Meyl, 1953.

Ova vrsta nematode prenosi virus infektivne degeneracije vinove loze i prisutna je u mediteranskom dijelu Europe te u sjevernoj Africi. Pripada grupi tanjih i sitnijih nematoda. Rep je relativno dug i konusno produžen. Zabilježeno je razmnožavanje na vinovoj lozi i *Citrus aurantium* (Ivezić, 2014.).

2.2.7. *Xiphinema pachtaicum* Tulganov, 1939., Kirjanova, 1951.

Tulaganova kopljasta nematoda jedna je od najrasprostranjenijih i najčešćih vrsta roda *Xiphinema* na našem području. Prosječna dužina jedinki iznosi 1,8 mm dok je stilet dug prosječno 125,4 mikrona. Rep je konusan i ne završava s bradavicom. Usni dio tijela odvojen je od ostalog dijela jasnim udubljenjem kutikule. Mužjaci kod ove vrste nisu utvrđeni (Krnjaić i Krnjaić, 1987.).

3. MATERIJAL I METODE

Za potrebe ovog rada prikupljeni su uzorci s 13 lokaliteta unutar Osječko-baranjske, Vukovarsko-srijemske i Istarske županije u 2018. godini. U Osječko-baranjskoj županiji uzeti su uzorci s 2 različita lokaliteta, u Vukovarsko-srijemskoj sa 5 različitih lokaliteta i Istarskoj županiji uzeto je 6 različitih lokaliteta (Tablica 1.).

Tablica 1. Datum i mjesto uzorkovanja te oznaka i ukupan broj uzoraka.

Županija	Datum uzorkovanja	Mjesto uzorkovanja	Oznaka uzorka
Istarska	02. – 07.01. 2018.	1. Poreč 2. Poreč 3. Nova Vas 4. Lindar 5. Vodnjan 6. Rovinj	Poreč 1 Poreč 2 Nova Vas 1 Lindar 1 Vodnjan 1 Rovinj 1
Vukovarsko-srijemska	10.06.2018.	1. Ilok 2. Ilok 3. Ilok 4. Ilok 5. Ilok	Ilok 1 Ilok 2 Ilok 3 Ilok 4 Ilok 5
Osječko-baranjska	15.04.2018.	1. Zmajevac 2. Zmajevac	Zmajevac 1 Zmajevac 2
Ukupno uzoraka			13

Izvedeno je nasumično uzimanje uzoraka tla iz vinograda na dubinu od 30 cm u zoni korijena (Slika 19.) pomoću lopate. Uzorci tla spremljeni su u plastične vrećice zajedno s papirom za označavanje uzoraka. Na papiru je zapisano tko je sakupio uzorak, kultura, redni broj uzorka, datum uzorkovanja, lokalitet i dubina uzorkovanja te datum. Nakon sakupljanja uzorci su spremljeni u hladnjak na temperaturu od +4 °C.



Slika 19. Uzimanje uzoraka u zoni korijena na dubini od 30 cm
Foto: Poturiček L.

Svi uzorci obrađeni su u Laboratoriju nematologije (Laboratoriji za nematologiju, Zavod za fitomedycinu) na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Uzorci su doneseni na obradu unutar 48 sati od uzimanja u vinogradu.

Nematode roda *Xiphinema* su migratorne nematode stoga je prema EPPO (European plant protection organization) odlučeno koristiti metodu Baermannovih lijevaka pomoću koje se izdvajaju nematode iz uzoraka tla ispiranjem. Prije ispiranja uzorak tlo treba pripremiti. Iz vrećice gdje se nalazi uzorak tlo se prvo usitni te se izdvoji 100 g (Slike 20. i 21.).



Slika 20. Uzorci tla u vrećicama
Foto: Poturiček L.

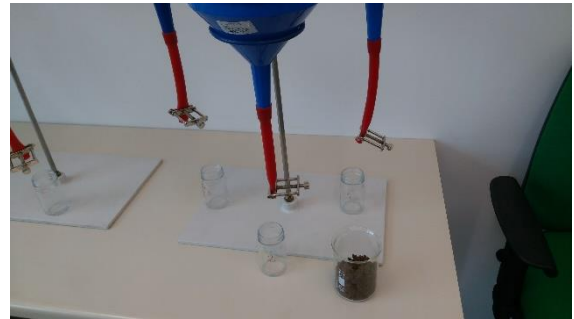


Slika 21. Usitnjavanje tla
Foto: Poturiček L.

U sito se stavi vlažni nematološki filter-papir te na njega 100 g tla koje smo izdvojili. Za ovu metodu izdvajanja nematoda iz tla koriste se plastični lijevci koji na dnu imaju gumenu cijev koja se zatvara sa stegom. Lijeenci (Slike 22.,23. i 24.) se napune vodom do razina koja će pokrivati tlo. Sito s tlom smjesti se na vrh plastičnog lijevka. Moguće je nadodati vode u lijevak ako ne pokriva tlo. Ispod gumene cijevi stavi se staklena čašica u koju ćemo skupiti vodu iz lijevka. Potrebno je 24-48 sati da bi se nematode odvojile od čestica tla te potonule na dno gumene cijevi. Nakon što je prošlo određeno vrijeme i nematode su se nakupile na dno gumene cijevi otpuštamo stegu te staklenu čašicu napunimo s vodom u kojoj se nalaze nematode.



Slika 22. Punjenje sita
Foto: Poturiček L.



Slika 23. Baermannov
lijevak
Foto: Poturiček L.



*Slika 24. Ispiranje
nematoda iz tla
metodom
Baermannovih lijevaka
Foto: Poturiček L.*

Staklena čašica s nematodama treba odstajati još neko vrijeme kako bi se nematode spustile na dno. Zatim se pomoću pipeta izdvoji višak vode uzimajući je s vrha (Slika 25.). Ostatak vode s nematodama prebaci se u manju staklenu posudicu koja se mikroskopira. U međuvremenu se pripremi predmetno stakalce tako da se u središtu napravi tanki prste od parafina te se stavi kap dehidriranog glicerina (Slika 26.). Ako mikroskopiranjem pronađemo nematodu ona se hvata pomoću pecaljke te se pažljivo prenese u kap glicerina (moguće je u kap staviti do 5 nematoda). Na predmetno stakalce s glicerinom u kojoj je jedna ili više nematoda spusti se pokrovno stakalce i zagrije nad plamenikom. Potrebno je obraćati pozornost da nema zračnih mjehurića i da sa glicerina nije prelio preko rubova.



Slika 25. Izdvajanje
viška vode pomoću
pipete
Foto: Poturiček L.



Slika 26. Pripremanje
trajnog preparata
Foto: Poturiček L.

Nakon pripreme trajnog preparata potrebno je izvršiti determinaciju nematoda mjerenjem tjelesnih karakteristika (oblik tijela, građa stileta, građa usni, bočna polja, izgled repa i dr.) (Slika 27.).

Tjelesne mjere nematoda (J. van Bezooijen, 2006.):

- L – totalna dužina tijela (μ)
- $a = \frac{\text{dužina tijela}}{\text{najširi dio tijela}}$
- $b = \frac{\text{dužina tijela}}{\text{dužina oezofagusa (od usana do vulve)}}$
- $c = \frac{\text{dužina tijela}}{\text{dužina repa (od anusa do kraja)}}$
- $c' = \frac{\text{dužina repa}}{\text{širina tijela (kod anusa)}}$
- $V (\% \text{ vulve}) = \frac{\text{dužina od glave do vulve}}{\text{širina tijela (kod anusa)}}$



Slika 27. Determinacija nematoda obavljena je mjerenje pomoću mikroskopa Olympus BX50 i pripadajućeg programa za Foto: Poturiček L.

4. REZULTATI

Nakon determinacije nematoda mjerenjem tjelesnih karakteristika utvrđena je prisutnost odraslih oblika nematoda rod *Xiphinema* ali i ličinka istog roda. Nematoda vrste *Xiphinema index* prisutna je bila u dva uzoraka na lokalitetu Vukovarsko-srijemske županije i u jednom uzorku Istarske županije. U sva tri uzorka pronađena nematoda je ženka što je i očekivano jer su mužjaci jako rijetki u prirodi. Rezultati su prikazani u tablici 2.

4.1. Rezultati mjerenja

Vukovarsko-srijemska županija

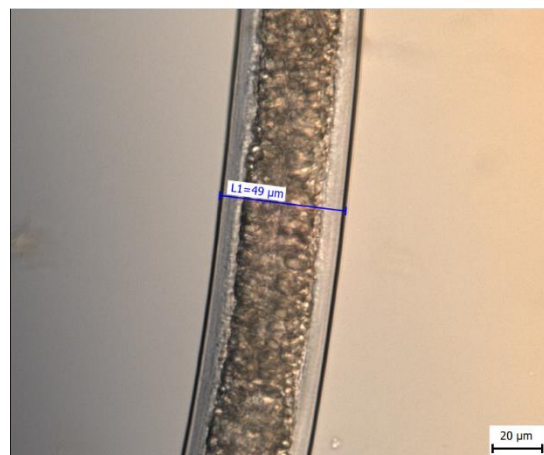
Od ukupno 5 uzoraka uzetih iz Vukovarsko-srijemske županije u samo dva su nađene nematode vrste *Xiphinema index*. Kod ostalih uzoraka su također pronađene nematode, ali niti jedna nije bila roda *Xiphinema*.

1. Ilok 1 – ženka *Xiphineme* spp. (Slike 28. i 29.)

- $L = 3066 \mu$ (3,066 mm)
- $a = \frac{L}{\text{najširi dio tijela}} = 62.57 \mu$

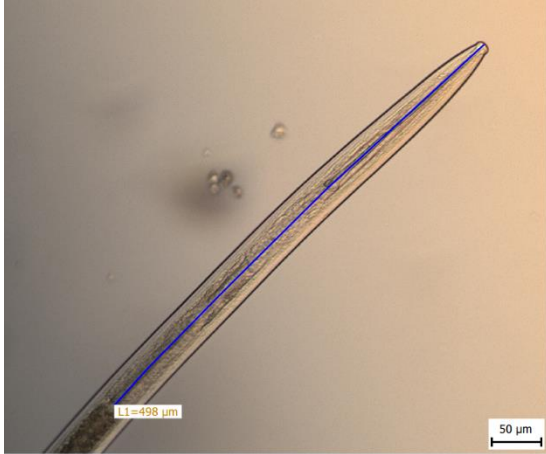


Slika 28. Totalna dužina tijela (L)
Foto: Poturiček L.



Slika 29. Najširi dio tijela
Foto: Poturiček L.

- $b = \frac{\text{dužina tijela}}{\text{dužina oezofagusa}} = 6,156 \mu$ (Slika 30.)
- $c = \frac{\text{dužina tijela}}{\text{dužina repa}} = 76,65 \mu$ (Slika 31.)

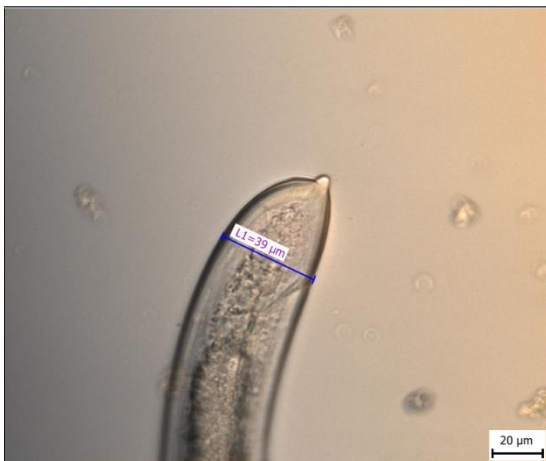


Slika 30. Dužina oezofagusa
Foto: Poturiček L.



Slika 31. Dužina repa
Foto: Poturiček L.

- $c' = \frac{\text{dužina repa}}{\text{širina repa}} = 1,02 \mu$ (Slika 32.)
- $V = \frac{\text{dužina od glave do vulve}}{\text{širina tijela (kod anusa)}} \times 100 = 38,66 \%$ (Slika 33.)



Slika 32. Širina repa
Foto: Poturiček L.



Slika 33. Dužina od glave do vulve
Foto: Poturiček L.

2. Ilok 5 – ženka *Xiphinema* spp.

- $L = 3126 \mu = 3,126 \text{ mm}$
- $a = 59,51 \mu$
- $b = 6,05 \mu$
- $c = 78 \mu$
- $c' = 1,39 \mu$
- $V = 42\%$

Istarska županija

Na području Istarske županije uzeto je 6 uzoraka iz različitih vinograda te je samo u jednom uzorku nađen odrasli oblik ženke rod *Xiphinema index* te dvije ličinke.

1. Nova Vas 1 – ženka *Xiphinema* spp.

- * $L = 3012 \mu = 3,012 \text{ mm}$
- * $a = 62 \mu$
- * $b = 6,3 \mu$
- * $c = 72 \mu$
- * $c' = 1,13 \mu$
- * $V = 42,08\%$

Osječko-baranjska županija

Uzorci su uzeti s 2 različita lokaliteta u naselju Zmajevac unutar Osječko-baranjske županije. Utvrđena je velika raznolikost nematoda, ali nije pronađena niti jedna nematoda iz roda *Xiphinema*.

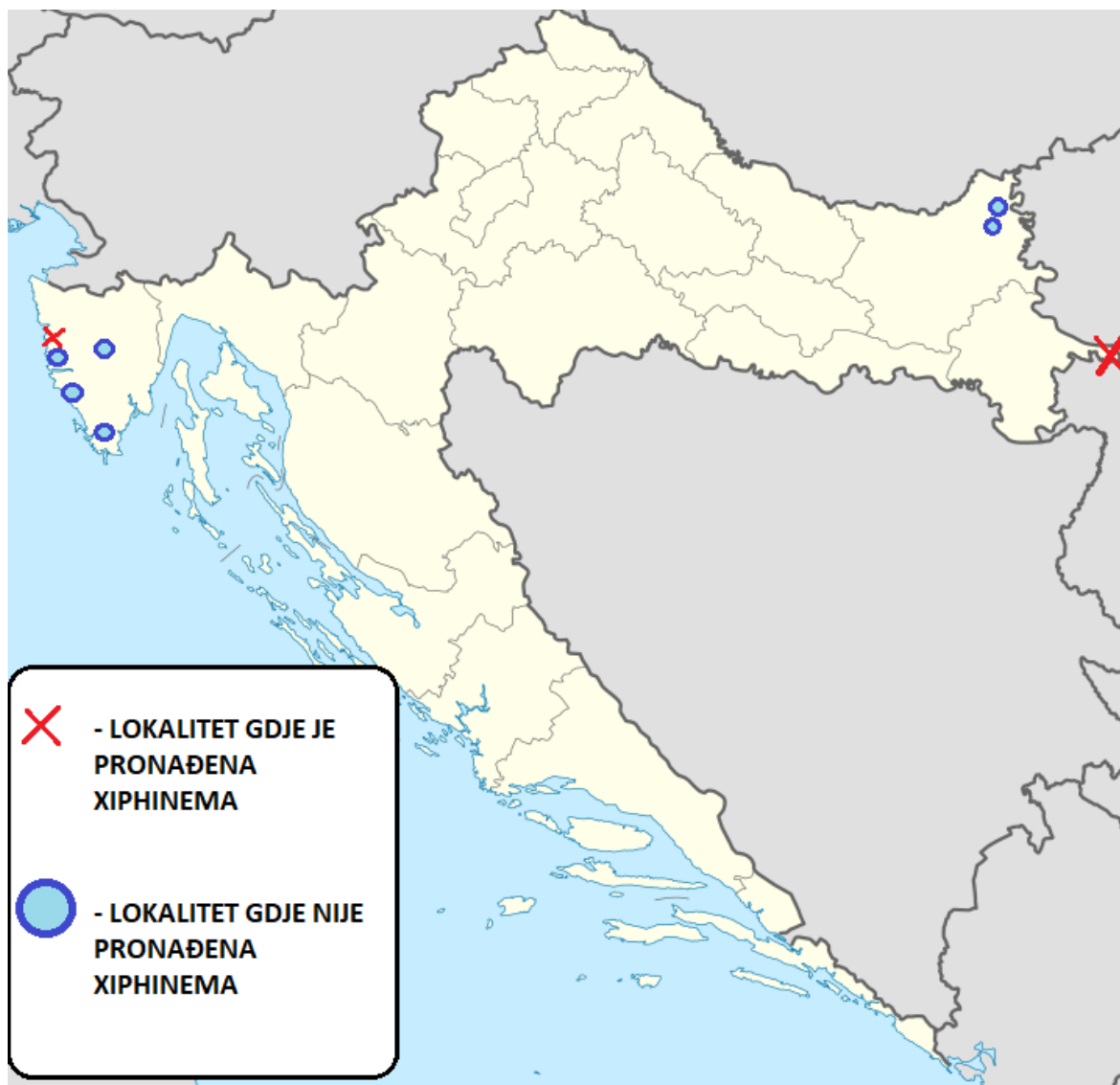
Tablica 2. Rezultati mjerenja odraslih nematoda prema J. van Bezooijen (2006.)

Oznaka uzorka Mjere	Vukovarsko-srijemska					Istarska						Osječko-baranjska	
	Ilok 1	Ilok 2	Ilok 3	Ilok 4	Ilok 5	Poreč 1	Poreč 2	Nova Vas 1	Lindar 1	Vodnjan 1	Rovinj 1	Zmajevac 1	Zmajevac 2
Broj jedinki	-	1 ženka 1 lič.	-	-	1 ženka	-	-	1 ženka	-	-	-	-	-
mm	-	3,06 mm	-	-	3,12 mm	-	-	3,01 mm	-	-	-	-	-
a	-	62,57 μ	-	-	59,51 μ	-	-	62 μ	-	-	-	-	-
b	-	6,15 μ	-	-	6,05 μ	-	-	6,3 μ	-	-	-	-	-
c	-	76,65 μ	-	-	78 μ	-	-	72 μ	-	-	-	-	-
c'	-	1,02 μ	-	-	1,39 μ	-	-	1,13 μ	-	-	-	-	-
v	-	38,66 %	-	-	42 %	-	-	42,08 %	-	-	-	-	-

* - mjerene su samo odrasle ženke, ličinke nisu mjerene

Nakon mjerenja tjelesnih karakteristika nematoda, pomoću ključeva za determinaciju, utvrdili smo da se radi o vrsti *Xiphinema index*.

Na slici 34. prikazana je prostorna rasprostranjenost utvrđene vrste *Xiphineme index*, unutar 3 promatrane županije.



Slika 34. Karta Hrvatske sa označenim mjestima gdje su uzeti uzorci
Izvor: www.bs.wikipedia.org

5. RASPRAVA

Dobiveni rezultati ovog istraživanja ukazuju kako mjere tjelesnih karakteristika za determinaciju mogu varirati unutar vrste. Rezultati mjerenja *Xiphinema* spp. (Tablica 2.) ukazuju kako može postojati razlika u veličini pojedinih tjelesnih karakteristika između jedinki, iako je u slučaju ove nematoda ta razlika izrazito mala, ali uvijek mora biti u granicama određenim za tu vrstu. Slično navode Meza i sur. (2012.) koji su izmjerivši *Xiphinema index* iz Čilea, Španjolske, Srbije, Lebanona i Perua uvidjeli određen raspon kod svake tjelesne karakteristike.

Nakon provedenog monitoringa utvrđeno je da su nematode roda *Xiphinema* prisutne u hrvatskim vinogradima. Ovo istraživanje dokazalo je prisutnost nematode *Xiphinema index* u Istarskoj i Vukovarsko-srijemskoj županiji. U Istarskoj županiji uzeti su uzorci iz vinograda u Poreču, Novoj Vasi, Lindaru, Rovinju i Vodnjanu, a jedina pronađena *Xiphinema* bila je iz vinograda u Novoj Vasi. Prisutnost *Xiphinema* u Istarskoj županiji potvrđuju i drugi radovi pa tako Ivezić i sur. (1998.) utvrđuju prisutnost *Xiphinema index* u Poreču te *Xiphinema pathatiacum* u Buzetu i Bujama. U drugom istraživanju u Istri su pronađene *Xiphinema* vrste *X. index*, *italiae* i *pachtaicum* (Ivezić i sur., 2002.).

Ovo istraživanje utvrdilo je prisutnost *Xiphinema index* u Vukovarsko-srijemskoj županiji i to u dva vinograd blizu Iloka. U Osječko-baranjskoj županiji, točnije Zmajevac, nije pronađena niti jedna nematoda roda *Xiphinema*. Šamota i sur. (1994.) utvrdili su prisutnost *Xiphinema vuittenezi* u vinogradu iz mjesta Karanac i *Xiphinema pachtaicum* u vinogradu iz mjesta Erdut. U jednom istraživanju pronađena je *Xiphinema vuittenezi* (Kneževi Vinogradi) i *Xiphinema pachtiacum* (Erdut i Mandićevac) (Ivezić i sur., 1998.). Ivezić i sur. (2002.) u drugom istraživanju navode prisutnost *Xiphinema pachtaicum* i *X. vuittenezi* u Slavoniji i Baranji.

Postoje istraživanja koja utvrđuju da nematode roda *Xiphinema* ima i u vinogradima drugih krajeva Hrvatske. Barsi (1996) navodi u istraživanju prisutnost ovih nematoda u mjesto Slano, Kaštelir i otoku Krku. Ivezić i sur. (1998.) potvrđuju prisutnost *Xiphinema* na otocima te navode u jednom istraživanju prisutnost *Xiphinema* na Visu, Korčuli, Hvaru, Biševu i Budikovcu.

Rezultati ovog istraživanja u većini slučajeva su potvrdili pretpostavke s obzirom na već poznate činjenice i rezultate drugih autora (Ivezić i sur., 1998.; Šamota i sur.,1994.). Kako bi nastavili s istraživanjem o nematodama i kako bi nastavili s praćenjem njenog kretanja potrebno je prikupljati što veći broj uzoraka te ih analizirati.

6. ZAKLJUČAK

Nematode roda *Xiphinema* su biljno parazitske nematode koje mogu nanijeti velike štete kulturi na kojoj se hrane. Vektori su raznih virusa koje mogu smanjiti plod ili oštetiti podzemne i nadzemne dijelove biljke. Suzbijanje ovog štetnika nije jednostavan zadatak, a već zaraženi trs gotovo je nemoguće povratiti u prvobitno stanje. Stoga je iznimno važno praćenje ovih nematoda kako bi se metode suzbijanja mogle primijeniti na vrijeme i kako bi se štete dovele na minimum.

Za potrebe ovog istraživanja uzeto je sveukupno 13 uzoraka iz Vukovarsko-srijemske, Istarske i Osječko-baranjske županije koji su analizirani u cilju otkrivanja prisutnosti nematode roda *Xiphinema*. Rezultatima determinacije utvrđene su tri odrasle ženke nematoda vrste *Xiphinema index* te nekoliko ličinka. Nematode su se nalazile u vinogradima u okolini Iloka te u vinogradu u okolice Nove Vas.

Na temelju podataka ovog istraživanja i istraživanja drugih autora može se zaključiti da je *Xiphinema* poprilično prisutna u Hrvatskoj te kako na njenu pojavu treba iznimno obraćati pozornost radi štete koju može izazvati hrvatskim vinogradarima. Najzastupljenija vrsta iz roda *Xiphinema* je *X. index*, ali prisutne su i *X. diversicaudatum*, *X. americanum*, *X. pachtaicum*, *X. italiae* i *X. vuittenezi*.

7. POPIS LITERATURE

1. Barsi, L. (1996.): Occurrence of *Xiphinema* species in the former Yugoslavia. Supplement to the „atlas of plant parasitic nematodes of Yugoslavia. Institute of Biology, Faculty of Science, University of Novi Sad, Srbija. *Nematol. Medit.*, 24: 195-199.
2. Boosalis, M.G., Mankau, R. (1965.): Parasitism and predation of soil microorganisms. In: Baker KF, Snyder WC, eds. *Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens*. Berkeley, California, USA: University of California Press, pp. 374-391.
3. Brmež, M. (2004.): Zajednica nematoda kao bioindikatori promjena u agroekosustavu. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek
4. Brown, D.J.F., Coiro, M.I. (1983): The total reproductive capacity and longevity of individual female *Xiphinema diversicaudatum* (Nematoda: Dorylaimida). *Nematologia Mediterranea*. 11: 87-92.
5. Cohn, E., Mordechai, M. (1969): Investigations on the life cycles and host preference of some species of *Xiphinema* and *Longidorus* under controlled conditions. *Nematologica* 15, 295-302.
6. Cotten, J., Flegg, J.J.M., Popham, A.M. (1971.): Population studies with *Xiphinema diversicaudatum* and *X. index* maintained under two temperature regimes. *Nematologica*, 16 (1970):584-590.
7. Esmenjaud, D. (1986.): Les nematodes de la vigne. *Phytoma* 374, 24-27.
8. Ferris, H., McKenry, M.V., (1974.): Seasonal fluctuations in the spatial distribution of nematode populations in a California vineyard. *Journal of Nematology* 6:203-210.
9. Groza, M., Lazarova, S., Costache, C., De Luca, F., Rosca, I., Fanelli, E., Peneva, V. (2013.): Morphological characterisation and diagnostics of *Xiphinema non-americanum* group species (Nematoda: Longidoridae) from Romania using multiplex PCR, Article in *Helminthologia* 50 (3).
10. Hewitt, W. B., Raski, D. J., Goheen, A. C., (1958.): Nematode vector of soil-borne fanleaf virus of grapevines. *Phytopathology* 48, 586-595.
11. Ivezić, M., Raspudić, E. (1998.): *Xiphinema* spp. (Nematoda, Dorylaimida, Longidoridae) u vinogradima Hrvatske. *Poljoprivreda* 4 (98) 2; str. 11-20.

12. Ivezić, M., Raspudić, E., Lamberti, F., Pribetić, Đ. (2002.): *Xiphiniema* spp. in vineyards of Istra Peninsula in Croatia. *Helminthologia* 39(2):119-120
13. Ivezić, M., (2014.): *Fitonematologija*. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek.
14. Ivić, D., Fazanić, T. (2011.): *Gospodarski značajni virusi vinove loze*. Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo. Zagreb.
15. Jurković, D., Čosić, J. (2003.): *Zaštita vinograda i voćnjaka od uzročnika bolesti (skripta)*. Veleučilište u Požegi. Požega.
16. Kirkpatrick, J.D., Van Gundy, S.D., Martin, J.P. (1965.): Effects of *Xiphinema* index on growth and abscission in Carignane grape, *Vitis vinifera*. *Nematologica* 11, 41.
17. Krnjaić, Đ., Krnjaić, S. (1987.): *Fitonematologija: štetne nematode u biljnoj proizvodnji i suzbijanje*, Beograd – Nolit.
18. Kunde, R.M., Lider, L.A., Schmitt, R.V. (1968.): A test of *Vitis* resistance to *Xiphinema* index. *Am. J. Enol. Vitic.* 19:30-36.
19. Lider, L.A., Olmo, H.P., Goheen, A.C. (1988.): *Hybrid Grapevine Rootstock Patent No. 6166 U.S. Patent Office*.
20. Lownsbery, B.F., Mitchell, J.T. (1965.): Some effects of chemical amendments and cultural conditions on population levels of *Xiphinema americanum*. *Pl. Dis. Repr* 49.
21. Maceljčki, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Barić, B. (2006.): *Štetočinje vinove loze*. Zrinski d. d. Čakovec.
22. Meza, P., Aballay, E., Hinrichsen, P. (2012.): Morphological and molecular characterisation of *Xiphinema* index Thorne and Allen, 1950 (Nematoda: Longidoridae) isolates from Chile. *Nematropica* 42:41-47.
23. Oštrec, Lj. (1998.): *Zoologija: štetne i korisne životinje u poljoprivredi*. Čakovec: „Zrinski“.
24. Prota, U. (1970.): The effect of some soil properties and the age of vines on the distribution of *Xiphinema* index Thorne and Allen in Sardinia. *Stidi sassar*, sez. 3, 18:1-12.
25. Radewald, J.D., Raski, D.J. (1962.): A study of the lifecycle of *Xiphinema* index. *Phytopathology* 52, 748.
26. Raski, D.J., Hewitt, W.B. (1960.): Experiments with *Xiphinema* index as a vector of fanleaf of grapevines. *Nematologica*, 5:166-170.

27. Raski, D.J., Goheen, A.C. (1988.): Comparison of 1,3-dichloropropene and methyl bromide for control of *Xiphinema index* and grapevine fanleaf degeneration complex. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(4):334-336; 6 ref.
28. Sturhan, D. (1985.): Studies on distribution and hosts of *Bacillus penetrans* parasitic in nematodes. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem*, No.226:75-93; 22 ref.
29. Sturhan, D., Hampel, G. (1977.): Plant-parasitic nematodes as prey of the bulb mite *Rhizoglyphus echinopus* (Acarina, Tyroglyphidae). *Anzieger für Schadlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 50:115-118.
30. Šamota, D., Ivezić, M., Raspudić, E. (1994.): Ecology of *Xiphinema vuittenezi* and *Xiphinema pachtaicum* in vineyards of north-east Croatia. University of J.J. Strossmayer in Osijek, Faculty of Agriculture, POB 117, 54000 Osijek (Croatia). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 24, 375-381.
31. Šarić, A., Hranueli, T. (1977.): Istraživanje virusnih bolesti loze u SR Hrvatskoj. *Proc. Symp. Excoriosis in Vine, Mostar*.
32. Šarić, A., Corte, A. (1959): Dati preliminari su una forma di „degenerazione infettiva“ della vite in Istria a complesso sintomatologico insolito. *Atti. Ist. Bot. Univ. Pavia*.
33. Thomas, P.R. (1970.): Host status of some plants for *Xiphinema diversicaudatum* (Micol.) and their susceptibility to viruses transmitted by this species. *Ann. Appl. Biol.* 65:169-178.
34. Thorne, G., Allen, M.W. (1950.): *Paratylenchus hamatus* n. sp. and *Xiphinema index* n.sp., two nematodes associated with fig roots, and a note on *Paratylenchus anceps*. *Proc. Helminth. Soc. Wash* 17:27-35.
35. Van Bezooijen, J. (2006.): *Methods and techniques for nematology*. Wageningen University. 112 str.
36. www.biology.stackexchange.com
37. www.alamy.com
38. www.barmac.com.au
39. www.farmaexport.it
40. <http://www.logisticagro.rs>
41. <http://nemaplex.ucdavis.edu>
42. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/57032>

43. www.apsnet.org
44. <http://entoweb.okstate.edu>
45. www.bs.wikipedia.org

8. SAŽETAK

Nematode roda *Xiphinema* su jedna od vrlo važnih grupa organizama u tlu koje su prilagođene životu u različitim uvjetima. Hrane se na korijenu vinove loze, a neke su prenosioci virusa lepezastog lista vinove loze (GFLV) i virusa mozaik gušarke (ArMV) koji prenose bolest infektivne degeneracije. Cilj ovog istraživanja bio je praćenje pojave nematoda prenosioca virusa iz roda *Xiphinema* u vinogradima Vukovarsko-srijemske, Osječko-baranjske i Istarske županije u 2018. godini. Uzorci su uzeti sa 13 lokalite unutar 3 županije (Vukovarsko-srijemske, Istarske i Osječko-baranjske). Uzorak se uzimao u zoni korijena na dubini od 30 cm te unutar 24-48 sati dostavio na analizu u Laboratorij za nematologiju na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek. Izdvajanje nematoda iz uzorka tla ispiranjem vršilo se metodom Baermannovih lijevaka. Nakon što su nematode izdvojenje iz tla slijedila je priprema trajnog preparata kako bi se nematode moglo promatrati na mikroskopu te izmjeriti njihove tjelesne karakteristike. Sve nematode koje su determinirane iz uzoraka pripadale su vrsti *Xiphinema index*, a nalazile su se u Vukovarsko-srijemskoj i Istarskoj županiji. Ovim istraživanjem pokazalo se kako je *Xiphinema index* prisutna nematoda u hrvatskim vinogradima.

Ključne riječi: *Xiphinema*, vinograd, korijen, tlo, determinacija, monitoring

9. SUMMARY

Nematode *Xiphinema* is one of the most important groups of organisms in the soil that are adapted to life under different conditions. They are feeding on the roots of vines and some of them are vectors of Grapevine fanleaf virus (GFLV) and Arabis mosaic virus which transmit Fanleaf Degeneration disease of grape. The goal of this study was to monitor the occurrence of nematode virus transmitters from the genus *Xiphinema* in vineyards of Vukovar-srijem, Osijek-baranja and Istrian counties in year 2018. Samples were taken from 13 localities within 3 county (Vukovarsko-srijemska, Istarska and Osječko-baranjska). They were taken from the root zone at a depth of 30 cm and delivered within 24-48 hours in the Nematology Laboratory at the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek. The extraction of the nematode from the soil sample was done using the Baermann funnel method. Once the nematodes are extracted from the soil, the making of the permanent preparation is followed to allow the nematodes to be observed on the microscope and to measure their physical characteristics. All nematodes that were determined from the samples belonged to the *Xiphinema index* variety and they were found in Vukovar-srijem and Istrian county. This study showed that *Xiphinema index* is present nematode in Croatian vineyards.

Keywords: *Xiphinema*, vineyard, root, soil, determination, monitoring

10. Popis tablica

Redni broj	Naziv tablice	Stranice
Tablica 1.	Datum i mjesto uzorkovanja te oznaka i ukupan broj uzoraka	26
Tablica 2.	Rezultati mjerenja odraslih nematoda prema J. van Bezooijen (2006.)	35

11. Popis slika

Redni broj	Naziv slike	Stranica
Slika 1.	Odrasla nematoda pod mikroskopom	2
Slika 2.	Dijelovi tijela odrasle ženke	3
Slika 3.	Glava i usni ustroj	4
Slika 4.	Srednji dio – crijevo	4
Slika 5.	Rep	4
Slika 6.	Nekroza tkiva	7
Slika 7.	Gale na korijenu	8
Slika 8.	Nemathorin 10G	9
Slika 9.	Basamid Granulat	9
Slika 10.	Usni ustroj	12
Slika 11.	Rep odraslog mužjaka i ženke te vulva	12
Slika 12.	Rep ličinke od četvrtog do prvog stadija	13
Slika 13.	Rasprostranjenost <i>Xiphinema index</i> u svijetu	14
Slika 14.	Hranjenje <i>Xiphinema</i> pomoću stileta	16
Slika 15.	Simptomi GFLV	17
Slika 16.	Simptomi GFLV	17
Slika 17.	<i>Xiphinema americanum</i>	21
Slika 18.	<i>Xiphinema diversicaudatum</i>	23
Slika 19.	Uzimanje uzoraka u zoni korijena na dubini od 30 cm	27
Slika 20.	Uzorci tla u vrećicama	28
Slika 21.	Usitnjavanje tla	28

Slika 22.	Punjenje sita	29
Slika 23.	Baermannov lijevak	29
Slika 24.	Ispiranje nematoda iz tla metodom Baermannovih lijevaka	29
Slika 25.	Izdvajanje viška vode pomoću pipete	30
Slika 26.	Pripremanje trajnog preparata	30
Slika 27.	Determinacija nematoda	31
Slika 28.	Totalna dužina	32
Slika 29.	Najširi dio tijela	32
Slika 30.	Dužina oezofagusa	33
Slika 31.	Dužina repa	33
Slika 32.	Širina repa	33
Slika 33.	Dužina od glave do vulve	33
Slika 34.	Karta Hrvatske sa označenim mjestima gdje su uzeti uzorci	36

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

Poljoprivredni fakultet u Osijek

Sveučilišni diplomski studij, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

Diplomski rad

MONITORING POJAVE VRSTA NEMATODA PRENOSIOCA VIRUSA IZ RODA XIPHINEMA U VINOGRADIMA VUKOVARSKO-SRIJEMSKJE, OSJEČKO-BARANJSKE I ISTARSKJE ŽUPANIJE, 2018. GODINE

Luka Poturiček

Sažetak: Nematode roda *Xiphinema* su jedna od vrlo važnih grupa organizama u tlu koje su prilagođene životu u različitim uvjetima. Hrane se na korijenu vinove loze a neki su prenosioci virusa lepezastog lista vinove loze (GFLV). Cilj ovog istraživanja bio je praćenje pojave nematoda prenosioca virusa iz roda *Xiphinema* u vinogradima Vukovarsko-srijemske, Osječko-baranjske i Istarske županije u 2018. godini. Uzorci su uzeti sa 13 lokalite unutar 3 županije. (Vukovarsko-srijemsku, Istarsku i Osječko-baranjsku). Uzorak se uzimao u zoni korijena na dubini od 30 cm te unutar 24-48 sati dostavio na analizu u Laboratorij za nematologiju na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek. Izdvajanje nematoda iz uzorka tla ispiranjem vršilo se metodom Baermannovih lijevaka. Nakon što su nematode izdvojenje iz tla slijedi priprema trajnog preparata kako bi se nematode moglo promatrati na mikroskopu te izmjeriti njihove tjelesne karakteristike. Sve nematode koje su determinirane iz uzoraka pripadale su vrsti *Xiphinema index*, a nalazile su se u Vukovarsko-srijemskoj i Istarskoj županiji. Ovim istraživanjem pokazalo se kako je *Xiphinema index* prisutna nematoda u hrvatskim vinogradima.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: prof. dr. sc. Mirjana Brmež

Broj stranica: 48

Broj grafikona i slika: 34

Broj tablica: 2

Broj literaturnih navoda: 45

Ključne riječi: *Xiphinema*, vinograd, korijen, tlo, determinacija, monitoring

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Emilija Raspudić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Mirjana Brmež, mentor
3. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Graduate thesis

Univeristy Graduate Studies, course: Viticulture and winemaking

MONITORING OCCURRENCE OF NEMATODE VECTOR VIRUS FROM GENUES XIPHINEMA IN VINEYARDS OF VUKOVAR-SRIJEM, OSIJEK- BARANJA AND ISTRIAN COUNTIES, 2018.

Luka Poturiček

Summary: Nematode *Xiphinema* is one of the most important groups of organisms in the soil that are adapted to life under different conditions. They are feeding on the roots of vines and some of them are vectors of Grapevine fanleaf virus (GFLV). The goal of this study was to monitor the occurrence of nematode virus transmitters from the genues *Xiphinema* in vineyards of Vukovar-srijem, Osijek-baranja and Istrian counties in year 2018. Samples were taken from 13 localities within 3 county (Vukovarsko-srijemsku, Istarsku i Osječko-baranjsku). They were taken from the root zone at a depth of 30 cm and delivered within 24-48 hours in the Nematology Laboratory at the Faculty of agrobiotechnical Sciences Osijek. The extraction of the nematode from the soil sample was done using the Baermann funnel method. Once the nematodes are extracted from the soil, the making of the permanent preparation is followed to allow the nematodes to be observed on the microscope and to measure their physical characteristics. All nematodes that were determined from the samples belonged to the *Xiphinema index* variety and they were found in Vukovar-srijem and Istrian county. This study showed that *Xiphinema index* is present nematodes in Croatian vineyards.

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: prof. dr. sc. Mirjana Brmež

Number of pages: 48

Number of figures: 34

Number of tables: 2

Number of references: 45

Keywords: *Xiphinema*, vineyard, root, soil, determination, monitoring

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. prof. dr. sc. Emilija Raspudić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Mirjana Brmež, mentor
3. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, član

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University, Kralja Petra Svačića 1d.