

Zaštita bilja

Vol. 62 (4), № 278, 233-236

, Beograd

UDK: 632.651.32(497.11)

Naučni rad

NOVI NALAZI***GLOBODERA ROSTOCHIENSIS U SRBIJI***

VIOLETA ORO

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd, Srbija
e-mail: viooro@yahoo.com

Pripadnost grupi karantinskih organizama svrstava cistolike nematode krompira u najopasnije parazite čije je prisustvo visoko rizično u usevima i zasadima gajenih biljaka i prepostavlja zakonske konsekvene. Poznavanje morfologije *Globodera pallida* i *G. rostochiensis* je od značaja za pravilnu dijagnostiku nematoloških oboljenja krompira a posebno je od značaja za službe koje se nalaze u fitosanitarnom sistemu Republike Srbije koji je i prva brana introdukcije karantinskih i ekonomski štetnih organizama. Dve nove populacije *G. rostochiensis* su opisane. Uprkos određenom morfološkom preklapanju među njima, postoji morfološke karakteristike poput dužine i morfologije stileta, distance vulvanus i broja kutikularnih nabora ciste koji ukazuju na dva nova nalaza *G. rostochiensis* u Srbiji.

Ključne reči: *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, novi nalazi, Srbija.

UVOD

Pripadnost grupi karantinskih organizama svrstava cistolike nematode krompira (CNK): *Globodera pallida* (Stone) Behrens i *G. rostochiensis* (Wollenweber) Behrens u najopasnije parazite čije je prisustvo visoko rizično u usevima i zasadima gajenih biljaka i prepostavlja zakonske konsekvene. Pored toga što izazivaju velike gubitke u proizvodnji čak i totalno propadanje krompira (Evans and Rowe, 1998), ove nematode su značajne i zbog svoje duge perzistencije u zemljjištu.

Globodera pallida se naziva i bledom cistolikom nematodom krompira, zbog mlečno bele boje mladih ženki na korenju krompira ili neke druge biljke iz roda *Solanum* a *G. rostochiensis* zlatnom cistolikom nematodom krompira zbog zlatnožute boje mladih ženki.

Etimološki, naziv roda je izведен od latinskog: *globus* = lopta i grčkog: *deras* = koža (Siddiqi, 2000) što ukazuje na oblik i omotač tela ženki a naziv vrsta potiče od latinskih pridjeva: *pallidus* = bled, odn. *rostochiensis* = iz Rostocka po tipskom lokalitetu u Nemačkoj.

U našem okruženju, u Sloveniji je prisutna samo *G. rostochiensis* (Širca & Urek, 2004). U Hrvatskoj su otkrivene obe vrste u više različitih oblasti od kojih su najpoznatije: Međimurska oblast (Slemnice, Palovec, Gardinovec, Sivice, Novo Selo Rok, Čakovec, Ivanovec, Pribislavec, Domaševec, Mala Subotica), Varaždinska oblast (Zamlača, Nova Ves), Zagrebačka oblast: Pećno i u Primorsko-goranskoj oblasti: Ravna Gora u kojima je pronađena *G. rostochiensis* dok je *G. pallida* prisutna u mešanoj populaciji sa *G. rostochiensis* u Sivicama i Ivanovcu u Međimurju i Vidovcu kod Varaždina (Grubišić et al., 2007). U Mađarskoj je *G. pallida* utvrđena 2001. na tri lokaliteta u području Pešte a prethodno je bila prisutna i na četiri lokaliteta u Rumuniji (Palkovics, 2003). U Bugarskoj nema podataka za *G. pallida* a *G. rostochiensis* je od 1987. kada je prvi put registrovana, utvrđena u pet odgajivačkih regiona: Blagoevgrad, Sofia, Plovdiv, Pazardžik i Smolian (Nikolov et al., 2006).

U Srbiji, cistolike nematode krompira su prisutne na više različitih lokaliteta. *G. pallida* je pronađena na lokalitetima Kladnica i Šanac na planini Javor (Krnjaić et al., 2005; Radivojević et al., 2006; Bačić et al., 2008) i u mešanoj populaciji sa *G. rostochiensis* na lokalitetima Ograđenik i Milatovići (Krnjaić et al., 2006; Radivojević i Labudović, 2010) dok je *G. rostochiensis* kao samostalna utvrđena na lokalitetima: Ponikve (Krnjaić et al., 2000; Radivojević et al., 2001), Brdo, Bata, Legina Torina, Đokina njiva i Vukovo voće (Bačić et al., 2008, Bačić, 2008) i u Milatovićima (Krnjaić et al., 2002; Bačić et al., 2008). Prilikom zdravstvene kontrole zemljišta tokom 2010. godine, utvrđena su dva nova nalazišta *G. rostochiensis* u Srbiji: u K.O. Tomanj K.br. 1381 kod Krupnja i u K.O. Teočin K.br. 1394/1 kod Gornjeg Milanovca.

Poznavanje taksonomije i morfologije *G. pallida* i *G. rostochiensis* je od značaja za pravilnu dijagnostiku nematoloških oboljenja a posebno je od značaja za službe koje se nalaze u fitosanitarnom sistemu Republike Srbije koji je i prva brana introdukcije karantinskih i ekonomski štetnih organizama.

Morfologija odn. ispitivanje morfoloških karakteristika različitih populacija cistolikih nematoda krompira daje odgovor o njihovoj međusobnoj sličnosti (razlikama) unutar vrsta, između vrsta i sličnost sa tipskim populacijama.

MATERIJAL I METODE

Ekstrakcija cisti iz zaraženog zemljišta je vršena elutrijacijom na Spirsovom aparu (Spears, 1968) a ciste su zahvatane na sitima od 150 µm, dok su invazivne larve dobijene disekcijom cisti. Za morfološke studije ciste i larve su fiksirane formalin-glicerinskim fiksativom (Hooper, 1986), preparirane u glicerinu i posmatrane svetlosnim mikroskopom. Merenje je vršeno preko okularnog mikrometra. Dobijene merne karakteristike su poredene sa karakteristikama vrsta iz originalnih opisa sa lokaliteta Rostock (Stone, 1973a) i Epworth, Lincolnshire (Stone, 1973b) i izvršena je njihova međusobna komparacija. Morfološka identifikacija vrsta obuhvata dužinu stileta i oblik bazalnog proširenja stileta larvi, prečnik vulvalnog bazena cisti, distancu vulve i anusa, Granekov odnos (indeks) (rastojanje vulve i anusa podeljeno prečnikom vulvalnog bazena) i broj kutikularnih nabora u perianalnoj oblasti (EPPO Standards PM 7/40, 2004).

REZULTATI I DISKUSIJA

Uporedna analiza novootkrivenih populacija *G. rostochiensis* pokazuje da ne postoje velike razlike u prosečnim vrednostima morfoloških parametara. U tabelama 1 i 2 su date zbirne vrednosti morfometrijskih karakteristika larvi i cisti posmatranih populacija zasnovanih na merenju 30 jedinki sa njihovim opsegom (min-max), prosekom (\bar{x}) i standardnom devijacijom (sd).

Tabela 1 - Morfološke karakteristike jedinki populacije Tomanj

Table 1 - Morphological characters of specimens
of Tomanj population

karakteristike	Larve (L ₂)			Ciste		
	min-max	\bar{x}	sd	min-max	\bar{x}	sd
L ₂ , dužina (µm)	435.00-504.00	462.50	14.64	-	-	-
L ₂ , stilet (µm)	17.60-24.00	20.59	1.56	-	-	-
L ₂ , rep (µm)	44.80-59.20	50.67	3.60	-	-	-
L ₂ , hijalinski deo (µm)	18.80-32.00	28.09	2.85	-	-	-
dužina ciste (µm)	-	-	-	434.00-744.00	574.23	85.38
širina ciste (µm)	-	-	-	310.00-744.00	534.43	97.10
prečnik vulval. bazena (µm)	-	-	-	16.00-35.20	24.69	5.36
distanca vulva-anus (µm)	-	-	-	44.80-92.80	69.28	12.11
Granekov odnos	-	-	-	1.79-4.50	2.92	0.74
kutikularni nabori	-	-	-	13-27	18.20	3.25

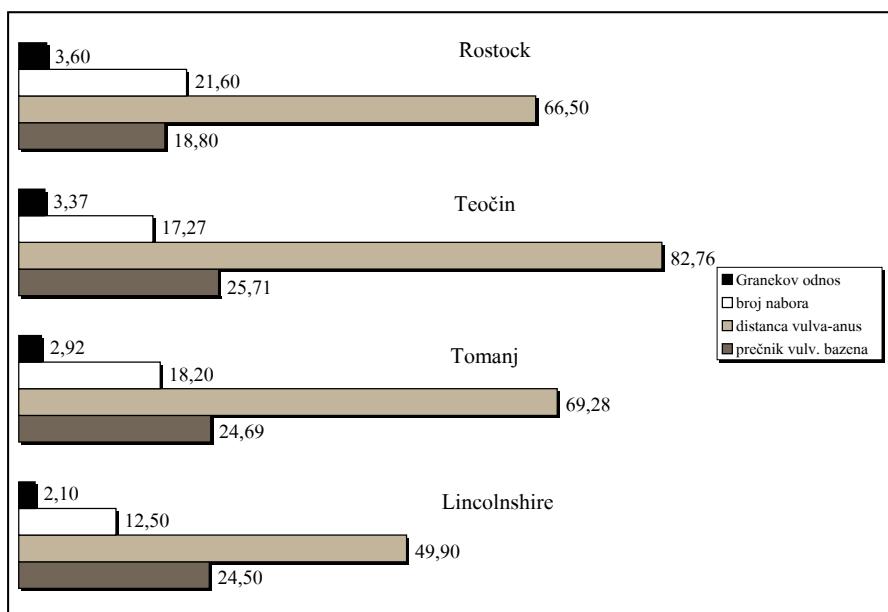
Tabela 2 - Morfološke karakteristike jedinki populacije Teočin**Table 2 - Morphological characters of specimens
of Teočin population**

karakteristike	Larve (L _r)			Ciste		
	min-max	Ȑx	sd	min-max	Ȑx	sd
L, dužina (µm)	397.00-504.00	447.50	28.55	-	-	-
L, stilet (µm)	19.20-22.40	20.32	1.20	-	-	-
L, rep (µm)	38.40-57.60	49.44	4.37	-	-	-
L, hijalinski deo (µm)	19.20-30.40	24.32	2.98	-	-	-
dužina ciste (µm)	-	-	-	434.00-744.00	568.03	81.65
širina ciste (µm)	-	-	-	434.00-713.00	565.97	85.79
prečnik vulval. bazena (µm)	-	-	-	16.00-40.00	25.71	6.09
distanca vulva-anus (µm)	-	-	-	48.00-112.00	82.76	14.56
Granekov odnos	-	-	-	2.00-6.00	3.37	0.93
kutikularni nabori	-	-	-	11-24	17.27	3.07

Morfološke karakteristike posmatranih populacija iz Srbije se razlikuju ali ne u velikoj meri. Cista najmanje veličine je pronađena u populaciji Tomanj 434 X 310 µm a iz iste populacije je i najveća cista 744 X 713 µm. Prosečne vrednosti veličina cisti su ujednačene kod obe populacije. Najveći prečnik fenestre u proseku ima populacija Teočin (25.71 µm), a ova populacija ima i veći prečnik vulvalnog bazena u apsolutnom iznosu. Najveću prosečnu distancu vulva-anus imaju ciste populacije Teočin (82.76 µm) a u ovoj populaciji se nalazi i cista sa najvećom distancom u apsolutnom iznosu (112.00 µm). Najveću vrednost Granekovog indeksa (u proseku) ima populacija iz Teočina (3.37) ali i najveću apsolutnu vrednost ovog parametra (6.00). Veći broj kutikularnih nabora u proseku ima populacija Tomanj (18.20) kao i u apsolutnom iznosu (27).

Poredići ispitivane populacije larvi *G. rostochiensis*, najkraća jedinka je nadena u populaciji Teočin (397.00 µm) a najduža jedinka u obe populacije ima istu vrednost (504.00 µm).

U relativnom iznosu, duže larve (u proseku) ima populacija Tomanj (462.50 µm). Prosečna dužina stileta larvi obe populacije iznosi oko 20 µm ali postoje i larve u populaciji Tomanj sa dužim stiletom. Jedna od osnovnih morfoloških karakteristika je i oblik odn. usmerenost bazalnih proširenja (bubreščića) stileta. Kod obe populacije bazalna proširenja stileta larvi su zaobljena i usmerena na dole, što je karakteristika *G. rostochiensis*. Prosečno duži rep imaju larve iz populacije Tomanj (50.67 µm). Što se tiče hijalinskog dela repa, veću prosečnu vrednost ima populacija Tomanj (28.09 µm), što je u saglasnosti sa dužinom repa.



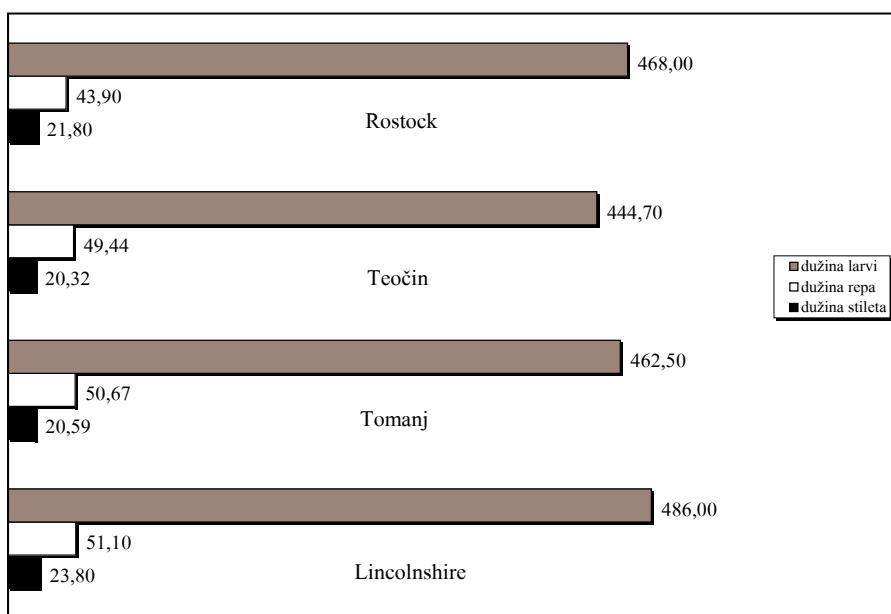
Graf. 1 - Uporedna analiza cisti različitih populacija CNK.

Graph. 1 - Comparison of cyst morphometrics of different PCN populations.

Uporedna analiza karakteristika cisti proučavanih i tipskih populacija je prikazana na grafiku 1. U odnosu na tipske populacije, prosečne veličine cisti proučavanih populacija su približnije proseku populacije *G. pallida*, Lincolnshire (579 X 534 µm) nego populaciji iz Rostocka (445 X 382 µm).

U odnosu na prečnik vulvalnog bazena odn. fenestre, obe populacije su takođe približnije tipskoj populaciji Lincolnshire jer populacija Rostock ima znatno manju prosečnu vrednost prečnika fenestre.

U odnosu na prosečnu distancu vulva-anus, ciste populacija Tomanj i Teočin su bliže populaciji iz Rostocka, dok posebno visoku vrednost parametra ima populacija Teočin. Najpričinjuju vrednost Granekovog odnosa tipskoj populaciji u proseku ima populacija Teočin dok populacija Tomanj ima nižu prosečnu vrednost indeksa (< 3) što bi je svrstalo u populacije *G. pallida*. Prema broju kutikularnih nabora u proseku obe populacije po vrednostima pripadaju *G. rostochiensis* jer imaju vrednosti veće od 14.



Graf. 2 - Uporedna analiza larvi različitih populacija CNK

**Graph. 2 - Comparison of larval morphometrics
of different PCN populations**

Uporedna analiza karakteristika larvi proučavanih i tipskih populacija je prikazana na grafiku 2. U odnosu na tipske populacije, posmatrane populacije iz Srbije imaju prosečno kraće larve od tipskih populacija Lincolnshire i Rostock, i one su po vrednosti i približnje populaciji Rostock.

Prosečna dužina stileta larvi obe populacije odgovara proseku za *G. rostochiensis* ($21.80\text{ }\mu\text{m}$). Ipak, u populaciji Tomanj postoje i larve sa stilometrom ($24.00\text{ }\mu\text{m}$) koji ima vrednost blisku *G. pallida*. Obe prosečne vrednosti dužine repa ispitivanih populacija su bliže vrednosti date za Lincolnshire ($51.10\text{ }\mu\text{m}$).

Analizom morfoloških i morfometrijskih karakteristika ispitivanih populacija se uočavaju preklapanja vrednosti, koja su i uobičajena kod sestrinskih vrsta, tako da su neke vrednosti približnje iznosima za *G. pallida* nego za *G. rostochiensis*. Ipak, morfologija stileta larvi i njegova dužina, distanca vulva-anus kao i broj kutikularnih nabora kod populacija Tomanj i Teočin nedvosmisleno ukazuju da se radi o novim žarištima *G. rostochiensis* u Srbiji.

ZAHVALNICA

Zahvalnica. Rad je podržan sredstvima Projekata Ministarstva prosvete i nauke br. TR 31018 i III 46007.

LITERATURA

- Bačić, J., Geric Stare, B., Širca, S. and Urek, G. (2008): Analyses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* populations from Serbia by morphometrics and real-time PCR. Russian Journal of Nematology, 16 (1), 63-65.
- Bačić, J., (2008): Prisustvo krompirovih cistolikih nematoda na području Krupnja. IX Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea, 77-78.
- EPPO Standards PM 7/40 (2004): Diagnostic protocols for regulated pests: *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. EPPO bulletin, 34, 309-314.
- Evans, K. and Rowe, J.A. (1998): Distribution and economic importance. In: The cyst nematodes (S.B. Sharma, ed.), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1-31.
- Grubišić, D., Oštrec, Lj., Gotlin Čuljak, T. and Blümel, S. (2007): The occurrence and distribution of potato cyst nematodes in Croatia. Journal of Pesticide Science, 80, 21-27.
- Hooper, D. J. (1986): Handling, fixing, staining and mounting nematodes. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes, J. F. Southey (ed.), Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 59-80.
- Krnjaić, Đ., Bačić, J., Krnjaić, S. and Ćalić, R. (2000): Prvi nalaz zlatnožute krompirove nematode u Jugoslaviji. XI Jugoslovenski simpozijum o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea, 71.
- Krnjaić, D., Lamberti, F., Krnjaić, S., Bačić, J. & Ćalić, R. (2002): First record of the potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) in Yugoslavia. Nematologia mediterranea, 30 (1), 11-12.
- Krnjaić, Đ., Oro, V., Gladović, S., Trkulja, N., Šćekić, D. & Kecović, V. (2005): Novi nalazi krompirovih nematoda u Srbiji, Zaštita bilja, 53 (4), 147 -156.
- Krnjaić, Đ., Oro, V., Gladović, S. & Trkulja, N. (2006): Distribution of potato cyst nematodes in Serbia. XXVIII International Symposium of Nematology, Blagoevgrad, Bulgaria, Programme and Abstracts, 134-135.
- Nikolov, P., Hristova, T. & Trifonova Z. (2006): Potato cyst nematodes (*Globodera* spp.) in Bulgaria. XXVIII International Symposium of Nematology, Blagoevgrad, Bulgaria, Programme and Abstracts, 135.

- Radivojević, M., Krnjaic, D., Krnjaic, S., Bacic, J., Subbotin, S.A., Madani, M. & Moens, M. (2001). Molecular methods confirming the presence of *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) in Yugoslavia. Russian Journal of Nematology, 9, 139-141.
- Radivojević, M., Krnjaic, D., Grujic, N., Oro, V., Gladovic, S. and Madani, M. (2006): The first record of potato cyst nematode *Globodera pallida* (Stone, 1973) from Serbia, 58th International Symposium on Crop Protection, Gent, Programme and abstracts, 203.
- Radivojević, M. i Labudović, T. (2010): Novi nalaz *G. rostochiensis*. X Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea, 94.
- Siddiqi, M.R. (2000): Outline classification of Tylenchida. In: Tylenchida-Parasites of plants and insects, CAB International, 101-109.
- Spears, J.F. (1968): *The Golden Nematode Handbook-Survey, Laboratory, Control and Quarantine Procedures. Agriculture Handbook 353*, USDA, Agricultural Research Service. Washington, D.C., 82 pp.
- Stone, A.R. (1973a): *Heterodera rostochiensis*. C.I.H. Descriptions of plant-parasitic nematodes, Set 2, No. 16, CAB International, Wallingford.
- Stone, A.R. (1973b): *Heterodera pallida*. C.I.H. Descriptions of plant-parasitic nematodes, Set 2, No. 17, CAB International, Wallingford.
- Širca, S. and Urek, G. (2004): Morphometrical and ribosomal DNA sequence analysis of *Globodera rostochiensis* and *Globodera achilleae* from Slovenia. Russian Journal of Nematology, 12 (2), 161-168.

(Primljeno: 18.11.2011.)
(Prihvaćeno: 30.12.2011.)

NEW RECORDS OF *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* IN SERBIA

VIOLETA ORO

Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia
e-mail: vioro@yahoo.com

SUMMARY

Belonging to a group of quarantine organisms classifies potato cyst nematodes into the most dangerous parasites whose presence in crops is high-risk and assumes legal consequences. Knowledge of the morphology of *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* is important for proper diagnostics of potato nematode diseases and it is especially important for services established by the phytosanitary system of the Republic of Serbia, which is the first barrier of introduction of quarantine and pest organisms. Two new populations of *G. rostochiensis* are described. In spite of certain morphological overlap between them, there are morphological characters such as stylet length and morphology, vulva-anus distance as well as number of cuticular ridges that indicate two new records of *G. rostochiensis* in Serbia.

Key words: *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, potato, new records, Serbia.

(Received: 18.11.2011.)

(Accepted: 30.12.2011.)

Plant Protection, Vol. 61 (4), № 278, 233-241, 2011, Belgrade, Serbia.