Biološka kontrola biljno – parazitnih nematoda u povrću

Jakobović, Monika

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josip Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:385429

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

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

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

MONIKA JAKOBOVIĆ, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

BIOLOŠKA KONTROLA BILJNO – PARAZITNIH NEMATODA U POVRĆU

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

MONIKA JAKOBOVIĆ, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

BIOLOŠKA KONTROLA BILJNO – PARAZITNIH NEMATODA U POVRĆU

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

MONIKA JAKOBOVIĆ, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

BIOLOŠKA KONTROLA BILJNO – PARAZITNIH NEMATODA U POVRĆU

Diplomski rad

Povjerenstvo za 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, 2016.

SADRŽAJ

1.UVOD....1
1.1. Značaj nematoda u poljoprivrednoj proizvodnji i mjere zaštite....4
1.2. Cilj istraživanja....6
2. PREGLED LITERATURE....7
3. MATERIJAL I METODE RADA....11
3.1. Plan pokusa....11
3.2. Uzorkovanje tla....12
3.3. Izdvajanje i determinacija nematoda 13
3.4. Indeksi uznemirenja....15
3.5. Indeksi hranidbenog lanca....16
4. REZULTATI RADA 18
4.1. Ukupna brojnost nematoda u uzorcima....18
4.2. Ukupna brojnost rodova nematoda u uzorcima....19
4.3. Rezultati zastupljenosti trofičkih grupa....22
4.4. Rezultati indeksa uznemirenja....23
4.5. Rezultati indeksa hranidbenog lanaca....24
5. RASPRAVA....25
5.1. Analiza ukupnog broja nematoda i broja rodova....25
5.2. Analiza udjela trofičkih grupa....25
5.3. Analiza indeksa uznemirenja i hranidbenog lanca....27
6. ZAKLJUČAK....29
7. POPIS LITERATURE....30
8. SAŽETAK....37
9. SUMMARY....38
10. POPIS TABLICA....39
11. POPIS SLIKA....40
12. POPIS GRAFIKONA....41
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA
BASIC DOCUMENTION CARD

1. UVOD

Nematode su vrlo specifična skupina organizama koja naseljava brojne ekosustave. Naziv im potječe od dviju grčkih riječi: *nema*, *nematos* (nit, konac) i *eidos* (slično). Prvi zapisi o pojavi nematoda zabilježeni su 1743. g., kada je Nedham uočio promjene na klasovima pšenice, a riječ je o galama (lažnim zrnima) koje nastaju kao posljedica napada nematode *Anquine trtici.* Prema sistematskoj klasifikaciji nematode pripadaju razredu *Nematoda* (oblića) koji se dijeli na dva podrazreda: *Secernentea* (*Phasmida*) i *Adenophora* (*Aphasmida*) (Siddiqi, 1997.).

Tijelo nematoda je bilateralno simetrično, nesegmentirano, mliječno bijele do žučkaste boje (Oštrec, 1998.). Oblik tijela može biti končast, cilindričan, vretenast, limunast, okrugao ili kruškolik. Zbog specifično građenog kožnog pokrova koji je sastavljen od nekoliko slojeva kaže se da je tijelo nematoda "cijev u cijevi". Nematode su vrlo sitne, veličine svega nekoliko mikrometara (μm) i nisu vidljive golim okom, njihovo prisustvo u tlu se može utvrditi uzimanjem uzorka tla i pregledom pod mikroskopom. Postoje i nešto veći oblici koji se pojavljuju u morima i oceanima kao što je *Placentonema gigantisima* koja postiže dužinu i preko 8 m.

Za poljoprivrednu proizvodnju vrlo su značajne biljno – parazitne nematode koje čine štete na biljkama, smanjuju prinose i prenose vrlo opasne viruse poput, *Xiphineme index* koja je posebno značajna u vinogradarstvu. Njihov usni ustroj čini hitiniziran bodež (stilet) kojim probijaju biljno tkivo, sišu sokove i izlučuju štetne tvari koje dovode do slabljenja i propadanja biljaka. Neke vrste nematoda su nametnici ljudi i životinja te se proučavaju u okviru humane i veterinarske nematologije (Heip i sur., 1985.). Primjerice nematoda *Trihinella spiralis* uzročnik je trihineloze jedne od najznačajnijih zoonoza kod životinja i ljudi. Glavni prijenosnik na životinje je štakor, a kod ljudi infekcija nastaje konzumiranjem zaraženog svinjskog mesa (Hay, 2008.).

Pojedine vrste nematoda su i korisne kao primjerice *Chenorhabditis elegans* koja se koristi u brojnim znanstvenim istraživanjima kao "model organizam" (Heip i sur., 1985.).

Za život nematoda vrlo je važna voda, jer se zadržavaju u filmu vode oko čestica tla. Pen-Mouratov i sur. (2008.) u svome istraživanju vezanom za rasprostranjenosti nematoda u pustinjskim uvjetima, ističu važnost vode kao jednog od glavnih ekoloških čimbenika za preživljavanje i kretanje nematoda u tlu. Stoga su kod nematoda prisutne sezonske migracije, gdje u potrazi za vodom tijekom sušnih ljetnih mjeseci odlaze u dublje slojeve tla.

Nematode su vrlo važna sastavnica tla, jer osim što sudjeluju u brojnim životnim procesima smatraju se najdominantnijom skupinom živih organizama u tlu (Chen i sur., 2010.). Prema navodima (Bongers i Ferris, 1999.) na svijetu je poznato između 40 000 i 10 000 000 vrsta nematoda. Yeates (2010.) ističe kako se nematode mogu pronaći gdje god ima živih organizama s kojima su često u interakciji. Na pojavu nematoda bitan utjecaj imaju kemijske i fizikalne karakteristike tla kao što su: poroznost, aeriranost, vlaga, sadržaj organske tvari i dr. (Ferris, 2003.).

Kod nematoda je posebno značajna podjela u trofičke i c - p grupe, gdje na temelju utvrđenih zajednica nematoda koje su osnova za izračunavanje indeksa uznemirenja je moguće utvrditi kakvo je stanje u tlu, ali i pratiti trenutne životne procese i uspoređivati ih sa drugima (Bongers i Bongers, 1998.).

C - p grupe uključuju podjelu nematoda prema dužini životnog ciklusa, reproduktivnoj sposobnosti, kao i tolerantnosti na onečišćenja,. Bongers i sur. (1991.) navode važnost c- p grupa za određivanje MI indeksa koji je razvijen s ciljem praćenja oporavka tla nakon uznemirenja. Vrijednost c – p grupa se kreće u granicama od 1 do 5, te je poželjno da ta vrijednost bude čim veća, jer se tada pojavljuju nematode koje naseljavaju stabilne i ne uznemirene ekosustave, a nazivaju se perzisterima. Nematode iz skupine kolonizera imaju najmanju vrijednost na c – p skali, te se javljaju odmah nakon uznemirenja i vrlo su kratkog životnog vijeka u odnosu na perzistere.

Vrijednost c – p grupa se kreće u granicama od 1 do 5, te je poželjno da ta vrijednost bude čim veća, jer se tada pojavljuju nematode koje naseljavaju stabilne i ne uznemirene ekosustave, a nazivaju se perzisterima. Nematode iz skupine kolonizera imaju najmanju vrijednost na c – p skali, te se javljaju odmah nakon uznemirenja i vrlo su kratkog životnog vijeka u odnosu na perzistere.

Trofičke grupe su nastale klasifikacijom nematoda prema hranidbenim navikama. Poznato je petnaest trofičkih grupa, od čega se pet (herbivore, bakterivore, fungivore, predatori, omnivore) najčešće pojavljuju u tlu (Yeates, 1981.). Postoje još dvije značajne trofičke grupe nematoda, a to su nematode koje se hrane gutanjem supstrata (podloge) i one koje se hrane različitim infektivnim stadijima parazita, ali se one rijetko koriste u istraživanjima budući da su to vrlo raznolike skupine organizama čija je klasifikacija dosta složena. Unutar trofičkih grupa nematode se razlikuju prema građi usnog ustroja, čime se olakšava determinacija nematoda kod analiziranja uzoraka tla.

Neher, 2001. navodi kako su nematode vrlo korisni bioindikatori jer će najbrže reagirati na promjene u okolini, budući da su njihove propusne opne u stalnom kontaktu s otopinama u tlu, dok cistoliki oblici zahvaljujući debelim opnama mogu preživjeti vrlo nepovoljne uvjete. Dosada su provedena brojna istraživanja u kojima su nematode korištene kao bindikatori (pokazatelji) trenutnog stanja tla na određenom području, ali i kod utvrđivanja utjecaja obrade tla, gnojidbe ili kemijskog tretmana na zajednicu nematoda u tlu (Benković - Lačić, 2012., Brmež, 2004., Varga, 2011.).

Iako je današnja poljoprivredna proizvodnja u kojoj se uzgoj biljaka provodi na velikim površinama gotovo nemoguć bez primjene mineralnih gnojiva i pesticida, važno je naglasiti da čovjek mora biti svjestan štetnih posljedica koje kemikalije uzrokuju u okolini i koliko god je moguće smanjiti njihovu uporabu, vodeći računa da ti postupci primjene ne ugrožavaju okolinu, pa i same žive organizme u tlu čija je uloga vrlo važna u brojnim procesima (Freckman i sur., 1985.).

Osim toga troškovi nastanka novih kemijskih pripravaka su ogromni, a sam postupak registracije je spor i dugotrajan. Stoga je i ovo istraživanje usmjerena prema biološkoj kontroli biljno – parazitnih nematoda i utvrđivanju njezine učinkovitosti u praksi.

1.1. Značaj biljno – parazitnih nematoda u poljoprivrednoj proizvodnji i mjere zaštite

Najveći broj istraživanja vezan za nematode usmjeren je prema biljno - parazitnim nematodama, jer 15 % od svih poznatih nematoda čine upravo biljno - parazitne nematode (Isleib, 2012.). Hallmann (2007.) navodi kako gubitci prinosa kod luka i mrkve, kao i mnogih drugih biljnih vrsta mogu biti i preko 50 %, te je izrazito važno na vrijeme uočiti simptome napada nematoda i obaviti zaštitu. Međutim simptomi napada nematoda su dosta nespecifični (zaostajanje u porastu, kloroza) i mogu se pripisati napadu drugih štetnih organizama ili nepovoljnim abiotskim uvjetima.

Biljno – parazitne nematode se najčešće zadržavaju u području oko korijena biljke pri tome ga oštećuju i otežavaju apsorbciju vode i hranjiva čime ujedno stvaraju ulazna mjesta za patogene organizme. Osim na korijenu štete čine i na stabljici, listovima, cvjetovima i sjemenkama. Vrlo lako se prenose sjemenom, sadnim materijalom, kompostom i raznim oruđima na nova područja (McSorley, 1997.). Pored toga i razni vektori kao što su primjerice kukci sudjeluju u prenošenju nematoda na nova područja, npr. nematodu *Bursaphelenchus xylophilus* prenose kukci iz porodice *Cerambycidae* (Lambert i Bekal, 2001.). Zbog različitih prehrambenih navika, reproduktivnog potencijala i drugih čimbenika, prag štetnosti je različit za pojedine vrste nematoda. Visina štete će varirati ovisno o starosti biljke, veličini, ishranjenosti biljke kao i o stresnim uvjetima tijekom vegetacije. Međutim važno je naglasiti da određene vrste nematoda kao što su primjerice nematode roda *Meloidogyne* spp., štete čine na velikom broju domaćina, te su izraziti kozmopoliti, dok su neke ograničene na samo jednog domaćina kao što je *Heterodera carotae* na mrkvi.

Oštrec, (1998.) ističe kako se zaštita od biljno – parazitnih nematoda odnosi na održavanje njihove brojnosti ispod praga štetnosti odnosno raznim mjerama se nastoji smanjiti visina populacije na što nižu razinu. Mjere zaštite od biljno - parazitnih nematoda mogu se podijeliti na:

Agrotehničke mjere: kao što je plodored, uzgoj otpornih sorata, obrada tla, zdrav sadni materijal, navodnjavanje, suzbijanje korova

Fizikalne mjere: korištenje topline (vruća voda, vodena para) ili zračenja (solarizacija tla) kojom se suzbijaju biljno – parazitne nematode i brojni patogeni u tlu, ali i sjemenke korova. Od fizikalnih mjera posebno je važno istaknuti solarizaciju tla u kojoj se koristi sunčeva toplina, a tlo se prethodno pokriva PVC ili PE folijama u najtoplijem dijelu godine tijekom 1 - 2 mjeseca. To je vrlo učinkovita mjera, ali i jeftinija u odnosu na ostale fizikalne mjere zaštite.

Biološke mjere: korištenje pripravaka na osnovi bakterija (dozvolu za primjenu ima pripravak Thiofer) i predatora kao što su različite nematofagne gljivice iz rodova: *Artrobotritis*, *Aspergillus*, *Verticillium, Dactylella*, *Dactylaria* ili predatoskih nematoda iz redova *Monochida* i *Dorylaimida*. Osim navedenih organizama u zaštiti od biljno – parazitnih nematoda koriste se i određene biljne vrste kao što su: *Tagetes patula* i *T. erecta*, *Asparagus officinalis*, *Sinapis alba*, *Brassica nigra*, *Crotolaria spp*., *Ambrosia spp*., *Polygonum spp*. koje iz svog korijena luče sekrete za koje se smatra da imaju nematocidno djelovanje. Međutim biološke mjere zaštite nisu dovoljno proučene, jer primjena kemijskih sredstva nažalost i dalje zauzima dominantno mjesto u zaštiti od štetnih organizama.

U biološkoj kontroli štetočinja posljednjih nekoliko godina sve se više istražuju entomopatogene nematode. Ličinke entomopatogenih nematoda razvijaju se u unutrašnjosti tijela kukca, luče otrovne tvari i uzrokuju smrt (Grewal i sur, 2005.). Entomopatogene nematode su svrstane u 9 porodica, a najznačajnije su nematode iz porodica: *Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*, *Phasmarhabditidae* (Oštrec, 2001.).

Kemijske mjere: korištenje nematocida ili fumiganata za kemijsku sterilizaciju tla. U Hrvatskoj dozvolu za primjenu imaju sredstva na osnovi fostiazata, dazometa i oksamila.

Karantenske mjere: karantenska lista štetočinja, inspekcijski nadzor, mjere kojima se nastoji spriječiti širenje i unošenje biljno – parazitnih nematoda kao i drugih štetnika koje nisu prisutne u određenoj zemlji.

Zadnjih nekoliko godina sve se više istražuju nova metoda, a riječ je o izmjeni tla koja se provodi u zaštićenim prostorima prije podizanja hidroponskog sustava. Tlo se iskopava do 1 m dubine kako bi se izbacila sva zemlja iz dubljih slojeva nakon čega se nanose novi čisti slojevi tla. To je vrlo skupa i zahtjevna metoda kojom se postižu dobri rezultati ne samo u borbi protiv biljno – parazitnih nematoda nego i patogena.

Međutim suvremena poljoprivredna proizvodnja sve više okreće prema integriranom sustavu proizvodnje i korištenju svih drugih raspoloživih mjera zaštite kao što su mehaničke, fizikalne i biološke mjere borbe protiv štetnih organizama. Razlog tome je što se primjenom kemijskih sredstava postižu vrlo dobri rezultati u suzbijanju štetnih organizama, ali istodobno se uništavanju brojni korisni organizmi. Važno je naglasiti kako uspješna borba protiv štetnih nematoda podrazumijeva preventivne mjere, budući da kada dođe do oštećenja biljaka vrlo teško se nematode mogu u potpunosti uništiti, te je tada jedini način uništiti samu biljku domaćina.

1.2. Cilj istraživanja

Cilj ovoga istraživanja je utvrditi kako biljke s nematocidnim djelovanjem utječu na pojavu i brojnost nematoda u tlu, ali i njihovu učinkovitost u kontroli biljno - parazitnih nematoda u povrću.

2. PREGLED LITERATURE

Dosada su provedena brojna istraživanja o načinima suzbijanja biljno – parazitnih nematoda u različitim sustavima uzgoja biljaka, od zaštićenih prostora do uzgoja na otvorenom.

Siddiqi, (2000.), navodi da su na području Indije utvrđene štete uzrokovane vrstom *Heterodera avenae* od 1,5 milijun $. Dok su na području Afrike zabilježeni prosječni gubici prinosa povrća, voća i žitarica od 14 %, uglavnom nematodama reda *Tylenchida*.

Seinhorst, (1965.) navodi kako štetnost biljno – parazitnih nematoda ovisi o njihovoj brojnosti i rasprostranjenosti u tlu.

Noling (1997.) ističe kako zaštiti luka kao i svih ostalih pripadnika porodice *Alliaceae* treba pristupiti temeljito, budući da biljno – parazitne nematode štete čine na korijenu i stabljici time vrlo često stvaraju povoljna ulazna mjesta za brojne patogene. Upravo zato je važno poznavati uvjete u kojima se uzgaja luk kao i sam tip tla, jer ponekad integrirani pristup u zaštiti ne daje zadovoljavajuće rezultate.

Abawi i sur. (2010.) navode kako *Ditylenchus dipsaci* čini izrazito velike štete na luku kao i mnogim drugim biljnim vrstama, a prvi puta je zabilježena njezina pojava 1930. na području Canonsote u okrugu Madisona.

Collange i sur., (2012.) navode kako biljno – parazitne nematode uzrokuju velike probleme u uzgoju povrća, te se pored korištenja kemijskih sredstva treba dati prednost svim drugim raspoloživim mjerama zaštite.

Pen - Mouratov i sur., (2008.) navodi kako je vegetacijski pokrov vrlo važan abiotski čimbenik koji utječe na pojavu nematoda u tlu.

Ivezić i sur. (2001.) u svome istraživanju vezanom za suzbijanje *Meloidogyne spp.* u proizvodnji povrća ističe kako je važno pored korištenja zdravog sadnog materijala obaviti prije sadnje pregled tla kako bi se spriječilo nekontrolirano širenje biljno – parazitnih nematoda.

Cook (2000.) ističe kako upravljanje tlom sa znanstvenog i praktičnog stajališta podrazumijeva usklađivanje biotskih i abiotskih čimbenika kako bi svaka biljka postigla svoj genetski potencijal.

Kulturne mjere kao što su obrada tla, korištenje pokrovnih usjeva, malča i plodored vrlo su bitne jer utječu na zdravlje tla i njegovu produktivnost, te na samu brojnost štetnih organizama u tlu. (Abawi, Widmer, 2000.).

Bridge (1996.) navodi kao održiva poljoprivredna proizvodnja svoje mjesto uglavnom nalazi u malim vrtovima gdje se uzgoj biljaka provodi na tradicionalan način. Takav način uzgoja donosi brojne prednosti, budući da se primjenjuju sve raspoložive mjere zaštite kao što su korištenje bioloških pripravaka, uzgoj biljka u konsocijaciji (uzgoj više biljaka na istoj površini) i sve druge kulturne mjere koje će utjecati na povećanje biološke raznolikosti, te spriječiti pojavu biljno – parazitnih nematoda.

Hooks, i sur. (2006.) navode kako je proteklih pedesetak godina primjena nematocida značajno porasla. S obzirom na slabiju dostupnost nematocida u pojedinim zemljama, ali i rizika kojeg donosi primjena kemijskih sredstva za okoliš mnogi poljoprivredni proizvođači se okreću biološkim mjerama zaštite, korištenju pokrovnih usjeva ili biljka koje nisu pogodni domaćini za ishranu biljno – parazitnih nematoda.

Jatala (1986.) ističe važnost biološke kontrole nematoda, budući da primjena kemijskih sredstava postaje glavna mjera zaštite od štetnih organizama pri čemu dolazi do pojave rezistentnosti štetnika na pesticide. Problem rezistentnosti nematoda danas postaje ogroman i mnogi nematocidi više nisu djelotvorni u njihovu suzbijanju.

Akhtar i Malik (2000.) u svome istraživanju ističu mogućnosti korištenja alternativnih mjera u suzbijaju nematoda pored korištenja nematocida. Naime zaoravanjem biljnih ostatka u tlo i korištenjem malča, razgradnjom se oslobađaju spojevi koji imaju nematocidno djelovanje. Također se stvaraju i povoljni uvjeti za pojavu određenih organizama (predatora) koji mogu štetno djelovati na razvoj biljno - parazitnih nematoda.

Chitwood (2002.) navodi da brojne biljne vrste sadrže određene spojeve kao što su npr. glukozinolati, fenoli, terpeni, cijanogeni glikozidi, alkoloidi i dr. za koje je dokazano da imaju toksično djelovanje na brojne štetne organizme u tlu, pa i same biljno - parazitne nematode.

Određene biljke su u stanju uništiti ili otjerati štetočinje, poremetiti njihov životni ciklus ili utjecati na njihovu ishranu (Guerena, 2006.).

Majić i sur. (2016.) proveli su istraživanje o mogućnostima suzbijanja nematoda korijenovih kvržica pri uzgoju mrkve u zaštićenim prostorima. Pokus je postavljen u plasteniku, te su korišteni pripravci koji sadrže korisne mikroorganizme, fermentirane biljne ekstrakte i kameno brašno.

Wang (2007.) navodi kako određeni kultivari kadifice (*Tagetes* spp.) imaju alelopatski učinak na biljno - parazitne nematode u tlu.

Tang i sur. (1987.) ističu da *Tagetes patula* L. sadrži sekundarne metabolite toksične za različite organizme.

Tsay i sur. (2004.) navode kako od 56 vrsta iz 37 rodova čak 9 vrsta iz porodice *Asteraceae* među kojima je i kadifica se smatra otpornim na napada biljno - parazitnih nematoda.

Visser (1959.) u svome istraživanju navode da nekoliko različitih tipova kadifice (*Tagetes patula* i *T. erecta*) može značajno smanjiti populaciju štetnih nematoda u tlu kao što su: *Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus, Paralylenehus, Rotylenchus i Meloydogine* spp. u tlu.

Hooks i sur. (2010.) u svome istraživanju vezanom za utjecaj kadifice kao pokrovnog usjeva u suzbijanju fitoparazitnih nematoda, ističu kako je kadifica zapravo budućnost u zaštiti bilja, jer u mnogim dosadašnjim istraživanjima njezin učinak na biljno - parazitne nematode je bio bolji od većine nematocida i fumiganata.

Alexander i Waldenmaier (2002.) istraživali su uzgoj krumpira i rajčice u konvencionalnom sustavu korištenjem pesticida i mineralnih gnojiva i organski uzgoj u kombinaciji sa kadificom. Rezultat je pokazao da je uzgoj kadifice u kombinaciji sa rajčicom i krumpirom bio izrazito uspješan. Naime brojnost nematoda *Pratylenchus penetrans* je bila za 93 % manja u odnosu na konvencionalnu proizvodnju.

Hackney i Dickerson (1975.) proučavali su utjecaj kadifice, ricinusa i krizanteme na razvoj *Meloidogyne incognite* i *Pratylenchus alleni* kod rajčice. Iako su sve tri vrste imale inhibitorni učinak u kontroli nematoda najboljom se pokazala kadifica.

Caswell i sur. (1991.) su proučavali utjecaj *Chloris gayana*, *Crotalaria juncea*, *Digitaria decumbens*, *Tagetes patula* na pojavu *Rotylenchulus reniformis.* Pokazalo se da je kadifica imala najbolji utjecaj u reduciranju brojnosti ove nematode, a kod svih ostalih vrsta nisu zabilježene štete na korijenu, ali nematocidni učinak navedenih biljaka nije potvrđen.

Zasada i sur. (2004.) navode kako sjeme gorušice koje je bogato uljima sadrži glukozinolat čijom degradacijom se oslobađaju spojevi za koje se smatra da ima nematocidni učinak.

McGuire (2001.) je proučavao utjecaj gorušice (*Sinapis alba* L.) u suzbijanju nematoda, patogena i korova. Istraživanje je provedeno na krumpiru, gdje je prije sadnje obavljena zelena gnojidba. Razgradnjom biljnih ostataka iz korijena gorušice oslobađa se spoj glukozinolat koji inhibitorno utječe na razvoj biljnih patogena i biljno - parazitnih nematoda.

Gruver (2007.) je provela istraživanje sa nekoliko različitih biljnih vrsta iz porodice *Brassicaceae* (*Brassica juncea, Sinapis alba*, *B*. n*apus* i *Raphanus sativus*) na travnjacima i u kombinaciji kada su navedene vrste uzgajane kao pokrovni usjevi sa sojom, raži i djetelinom

3. MATERIJAL I METODE RADA

3.1. Plan pokusa

Pokus je postavljen 18. 03. 2016. u vlastitom obiteljskom vrtu u selu Strizivojna. U kombinaciji s crvenim lukom (*Allium cepa* L.) sorte Holandski žuti posađena je gorušica (*Sinapis alba* L.) i kadifica (*Tagetes patula* L.). Pokus je proveden u četiri ponavljanja i uključivao je sljedeće tretmane: luk – gorušica (Slika 1.), luk – kadifica (Slika 2.) i luk (kontrola) (Slika 3.). Između svakog tretmana ostavljen je razmak od 20 cm kako bi se spriječilo međusobno djelovanje jedne biljke na drugu.



Slika 1. Prikaz tretmana luk – gorušica



Slika 2. Prikaz tretmana luk - kadifica

(Foto: Monika Jakobović)



Slika 3. Prikaz tretmana luk (kontrola)

(Foto: Monika Jakobović)

3.2. Uzorkovanje tla

Uzorci tla uzeti su 10. 05. 2016. pomoću sonde na dubini od 1 - 20 cm. Budući da luk stvara vrlo plitko korijenje uzorke tla nije bilo potrebno uzimati vrlo duboko. Uzorci su prikupljeni u samoj blizini korijena luka, budući da se biljno – parazitne nematode najčešće zadržavaju u tom području. Kako je pokus postavljen u 4 ponavljanja, ukupno je uzeto 12 uzoraka težine 200 g, koji su potom zapakirani u najlonske vrećice kako bi se održala vlaga koja je nužna za preživljavanje nematoda i nakon toga su obilježeni. Uzorci su dostavljeni u Laboratoriji za nematologiju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku gdje su čuvani u hladnjaku na 4 ^{0}C do izdvajanja iz tla.

.3.3. Izdvajanje nematoda iz tla

U ovome istraživanju nematode su iz tla izdvojene Baermannovom metodom lijevka (Slika 4.). To je jednostavna i vrlo učinkovita metoda koja se koristi za izdvajanje nematoda iz tla i kojom se dobivaju najčišći uzorci (Zec i sur., 2012.). Na metalni okvir postavi se lijevak, na čijem se donjem dijelu nalazi gumena cjevčica koja je pri dnu pričvršćena stezaljkom i koja sprječava istjecanje vode. Prije stavljanja uzoraka na ispiranje, prikupljenu zemlju je potrebno prosijati kako bi izdvojili krupne čestice tla i razne primjese (krupnije čestice tla, dijelove korijena, kamenčiće i dr.) koje mogu utjecati na čistoću ispranih uzoraka i otežati danje analiziranje. Potom se u sita s navlaženim filter papirom koja se postave u ljevak na okvirima doda oko 100 g prosijane zemlje, a preostala količina se može sačuvati ukoliko je potrebno ponoviti izdvajanje.



Slika 4. Baermannova metoda lijevka



Slika 5. Prikaz uzoraka tla nakon ispuštanja

(Foto: Monika Jakobović)

Potom se u ljevak sipa čista voda do polovice sita sa uzorcima tla. Postupak ispiranja traje 24 h, pri čemu nematode u potrazi za vlagom prolaze kroz sito i zadržavaju se u donjem dijelu gumene cijevi. Nakon toga se sljedećeg dana uzorci ispuštaju laganim otpuštanjem stezaljke u čiste čaše (Slika 5.). Uzorke je potrebno ostaviti oko 2 h da miruju kako bi se nematode slegnule na dno posude, a potom se pristupa prebrojavaju nematoda (Slika 6.) i dalje analiziranju.



Slika 6. Prebrojavanje nematoda

(Foto: Monika Jakobović)

U ovome istraživanju analizirana je ukupna brojnost nematoda, broj rodova, trofičke grupe, izračunati su indeksi uznemirenja i hranidbenog lanaca za svaku kombinaciju i u sva 4 ponavljanja. Nematode su determinirane do roda, a za determinaciju je korišten sljedeći determinacijski ključ: Bongers, T. (1994.), Nematoden van der Nederland. Rezultati pokusa su statistički obrađeni koristeći programe Poljoprivredne statistike (Vukadinović, 2013.) utvrđena je analiza varijance.

ANOVA (analiza varijance) je računski postupak kojim se ispituje otklon pojedinih srednjih vrijednosti od prosječne vrijednosti uzorka, a taj otklon se naziva pogreška pokusa i rezultat je nekontroliranog djelovanja određenih čimbenika (Horvat, 2005.). Pri određivanju ANOVE provodi se F (grupni) test čija vrijednost predstavlja razliku unutar i između tretmana i ako je razlika značajna provode se pojedinačni testovi pri čemu se utvrđuju vrijednosti LSD (statistički najmanje značajna razlika) sa značajnošću od 95 (0,05) ili 99 (0,01) %.

3.4. Indeksi uznemirenja

Indeksi uznemirenja omogućuju praćenje trenutnih životnih procesa u tlu, a nastali su na temelju činjenice da sve vrste nematode ne reagiraju jednako na uznemirenja u tlu (Neher i Darby, 2006.). Među prvim je razvijen MI indeks, a kasnije tijekom provođenja brojnih znanstvenih istraživanja razvijeni su i ostali indeksi uznemirenja.

MI (Maturity Index) je srednja vrijednost c – p grupa koja ne obuhvaća biljno – parazitne nematode. Ovaj indeks omogućuje proučavanje promjena u zastupljenosti nematoda u tlu, jer sve vrste ne reagiraju jednako na promjene koje nastaju u okolini. Iako MI indeks može imati vrijednosti od 1 do 5, poželjno je da ta vrijednost bude što veća, odnosno da u tlu budu brojnije nematode iz viših c- p grupa, što ukazuje na stabilan ekosustav koji je pogodan za rast i razvoj biljaka. (Neher i sur., 2004.). Računa se prema formuli:

$$\mathbf{MI = \sum[v(i)*f(i)] / \sum f(i)}$$

v(i) – vrijednost c- p grupe

f(i) – frekvencija (brojnost) nematoda iz određene trofičke grupe u uzorku

MI (2 – 5) sličan je MI indeksu, ali prilikom njegovog računanja u obzir se ne uzimaju nematode iz c – p grupe 1 (Neher i sur. 2004.). Razlog tome je što nematode iz navedene c - p grupe se puno brže razmnožavaju i time smanjuju vrijednost ovoga indeksa što bitno utječe na prikaz stvarnog stanja u tlu.

Bongers i sur. (1997.) navode kako je do nastanka ovog indeksa došlo prilikom proučavanja povezanosti MI i koncentracije bakara u tlu, kada je utvrđeno malo nematoda iz c – p grupe 1, a istodobno se broj nematoda iz viših c- p grupa znatno smanjivao.

PPI (Plant parasitic Index) uključuje samo biljno – parazitne nematode koje se ne računaju u okviru MI Indeksa. Vrijednost PPI se kreće od 2 – 5 i ne uključuje nematode iz c – p grupe 1, jer se biljno – parazitne nematode zadržavaju u tlu oko korijena biljke (Bongers i Bongers, 1998.).

PPI/MI je vrlo osjetljiv pokazatelj stanja tla, čija se vrijednost vrlo lako mijenja pod utjecajem bilo kakvog uznemirenja (Neher, 1999.). Vrijednost ovog indeksa se kreće od 0.9 do 1.6 i više. Na tlima koja su siromašna hranjivima vrijednost PPI/MI indeksa je puno manja u odnosu na tla koja su bogatija hranjivima, budući da je na takvim tlima i brojnost biljnih parazita manja. Bongers (1999.) navodi kako u prirodnim ekosustavima gdje biljke rastu neometano i bez utjecaja ljudske aktivnosti ovaj indeks ne postiže vrijednost veću od 0.9.

3.5. Indeksi hranidbenog lanaca

Navedeni indeksi daju uvid o tome na koji se način razgrađuju tvari u tlu, kolika je opskrbljenost tla hranjivima, koje skupine organizama sudjeluju u životnim procesima u tlu i u kojem smjeru se razvija hranidbeni lanac zemljišnih organizama (Ferris i sur., 1996.). Najznačajniji indeksi hranidbenog lanaca su:

EI (Enrichment Index) je pokazatelj stanja raspoloživih hranjiva u tlu. (Cesarz i sur., 2015.), a računa se prema formuli:

$E = 100 * e/(e+b)$

$e = (Ba_1 * w_1) + (Fu_2 * w_2)$, $w_1 = 3.2$, $w_2 = 0.8$

$b = (Ba_2 + Fu_2) * w_2$

e- koeficijent obogaćivanja

b- bazni koeficijent

Koeficijent (e) obuhvaća samo bakterivore c - p grupe 1 i fungivore c – p grupe 2, dok se u izračunavanju baznog koeficijenta koriste bakterivore i fungivore c – p grupe 2.

SI (Structural Index) je pokazatelj zrelosti određenog ekosustava koji je bio izložen uznemirenju ili je u periodu oporavka od uznemirenja. Obuhvaća nematode iz viših c – p grupa (3 - 5), jer one naseljavaju stabilne ekosustave u kojima nije bilo uznemirenja. Veća vrijednost ovoga indeksa pokazuju da je riječ o stabilnom ekosustavu sa velikom raznolikošću rodova. SI indeks se računa prema formuli:

$SI = 100* s/(s+b)$

$s = (Ba_n* w_n+ Ca_n* w_n+ Fu_n * w_n+ Om_n* w_n)$

s – hranidbene grupe

b – bazni koeficijent

CI (Channel Index) je pokazatelj razgrađenosti organske tvari u tlu. Manja vrijednost ovog indeksa ukazuje na veliku brojnost bakterivora koje sudjeluju u razgradnji organske tvari u tlu. Računa se prema formuli.

$CI = 100* (Fu_2* w_2)/(Ba_1* w_1 + Fu_2* w_2)$

BI (Basal Index) obuhvaća samo nematode iz viših c – p grupa (3 – 5). Ovaj indeks pokazuju za koliko je smanjena brojnost navedenih nematoda uslijed raznih stresnih uvjeta. Računa se prema formuli:

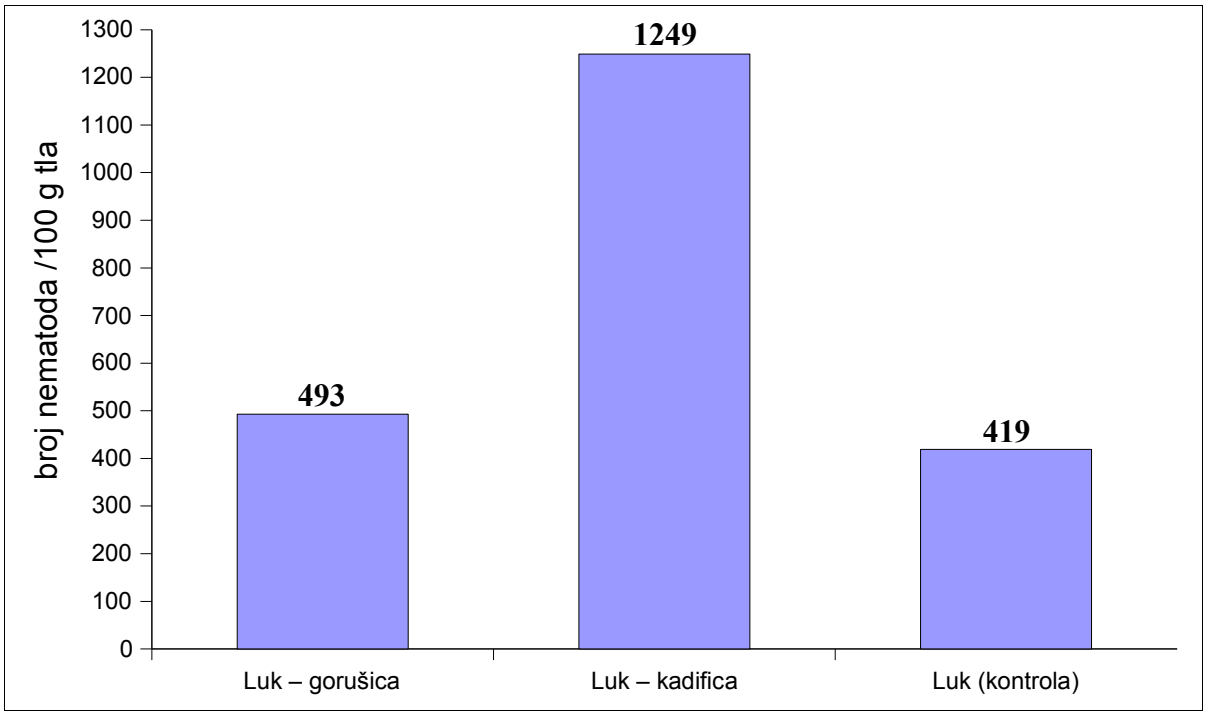
$BI = 100* b/(e+s+b)$

4. REZULTATI RADA

Ovim istraživanjem pokušalo se utvrditi da li gorušica (*Sinapis alba* L.) i kadifica (*Tagetes patula* L.) imaju utjecaja na pojavu i brojnost biljno – parazitnih nematoda u luku, kao i na ostale grupe nematoda u tlu. U daljem testu prikazani su rezultati istraživanja.

4.1. Ukupna brojnost nematoda u uzorcima

Grafikon 1. prikazuje podatke o prosječnom ukupnom broju nematoda u 100 g tla za svaki tretman. Kod tretmana luk – kadifica utvrđen je najveći broj nematoda (1249), dok je najmanja brojnost bila kod luk (kontrole) (419).



Grafikon 1. Prikaz ukupnog broja nematoda u tretmanima

Analizom varijance utvrđena je statistički vrlo značajna razlika u ukupnoj brojnost nematoda. između tretmana (Tablica 1.), pri čemu je u tretmanu luk – kadifica brojnost nematoda bila veća od ostalih tretmana.

Tablica 1. Prikaz rezultata analize varijance za broj nematoda/100 g tla

	LSD 0.05	**LSD 0,01**	**F**
broj nematoda/100 g tla	n.s.	175, 5405	9,06**..

4.2. Ukupna brojnost rodova nematoda u uzorcima

Najznačajniji rodovi koji su se pojavili u tretmanima (Tablica 2.) pripadaju sljedećim trofičkim grupama:

- Bakterivore: *Rhabditis*, *Acrobeloides*, *Eucephalobus*, *Plectus*
- Fungivore: *Aphelenchus, Aphelenchoides*, *Ditylenchus*
- Biljni – paraziti: *Paratylenchus*, *Tylenchorynchus*, *Tylenchus*, *Pratylenchus*
- Omnivore: *Eudorylaimus*, *Mesodorylaimus*, *Prodorylaimus*
- Predatori: *Anatonchus*, *Clarcus*, *Mylonchulus*

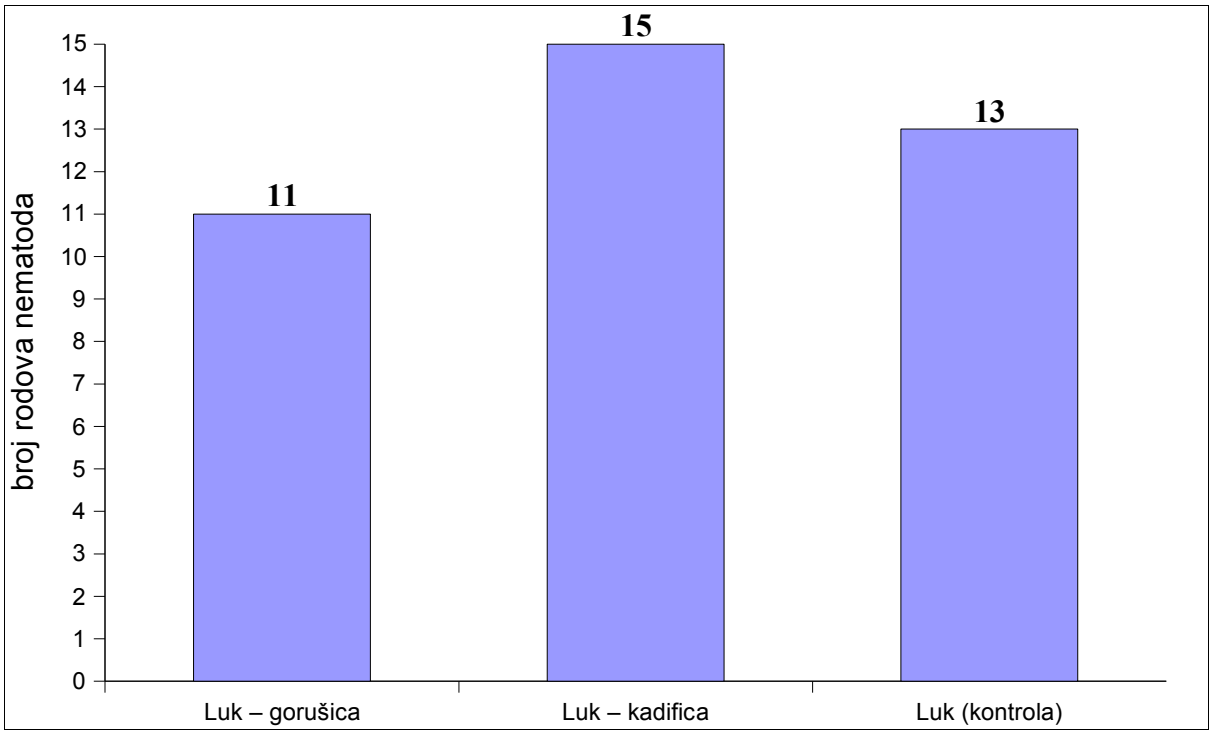
Tablica 2. Prikaz utvrđenih rodova nematoda u tretmanima

Rod nematoda	c-p	**Luk - gorušica**	**Luk - kadifica**	**Luk (kontrola)**
Bakterivore				
Acrobeloides	2	+	+	+
Alaimus	4	-	-	+
Chiloplacus	2	-	+	+
*Dichromadora**	3	+	-	-
Eucephalobus	2	+	+	+
*Eumonhystera**	1	-	-	+
Heterocephalobus	2	+	-	-
Metateratocephalus	3	+	+	+
Panagrobelus	1	-	+	-

Panagrolaimus	1	+	-	-
Plectus	2	+	+	+
Rhabditis	1	+	+	+
Teratocephalus	3	+	-	-
Fungivore				
Aphelenchoides	2	+	+	+
Aphelenchus	2	+	+	+
Diphterophora	3	-	+	-
Ditylenchus	2	+	+	+
Biljni paraziti				
Helicotylenchus	3	-	-	+
Malenchus	2	-	+	-
Paratylenchus	2	+	+	+
Pratylenchus	3	+	+	+
Psilenchus	2	+	+	-
Tylenchorhynchus	3	+	+	+
Tylenchus	2	+	+	+
Omnivore				
Apocelaimus	5	+	-	+
Eudorylaimus	4	+	+	+
Mesodorylaimus	5	+	+	+
Prodorylaimus	5	+	+	-
Predatori				
Anatonchus	4	-	+	-
Clarcus	4	-	+	+
Mylonchulus	4	-	+	+

* prema literaturi pripadaju skupini algivora ili bakterivora

U svim tretmanima najveća je brojnost nematoda iz rodova: *Rhabditis*, *Acrobeloides*, *Eucephalobus*, *Aphelenchus* i *Aphelenhoides* koje pripadaju skupini bakterivora i fungivora. U tretmanu luk – kadifica utvrđen je najveći broj nematoda (15), dok je najmanji broj rodova bio u tretmanu luk – gorušica.



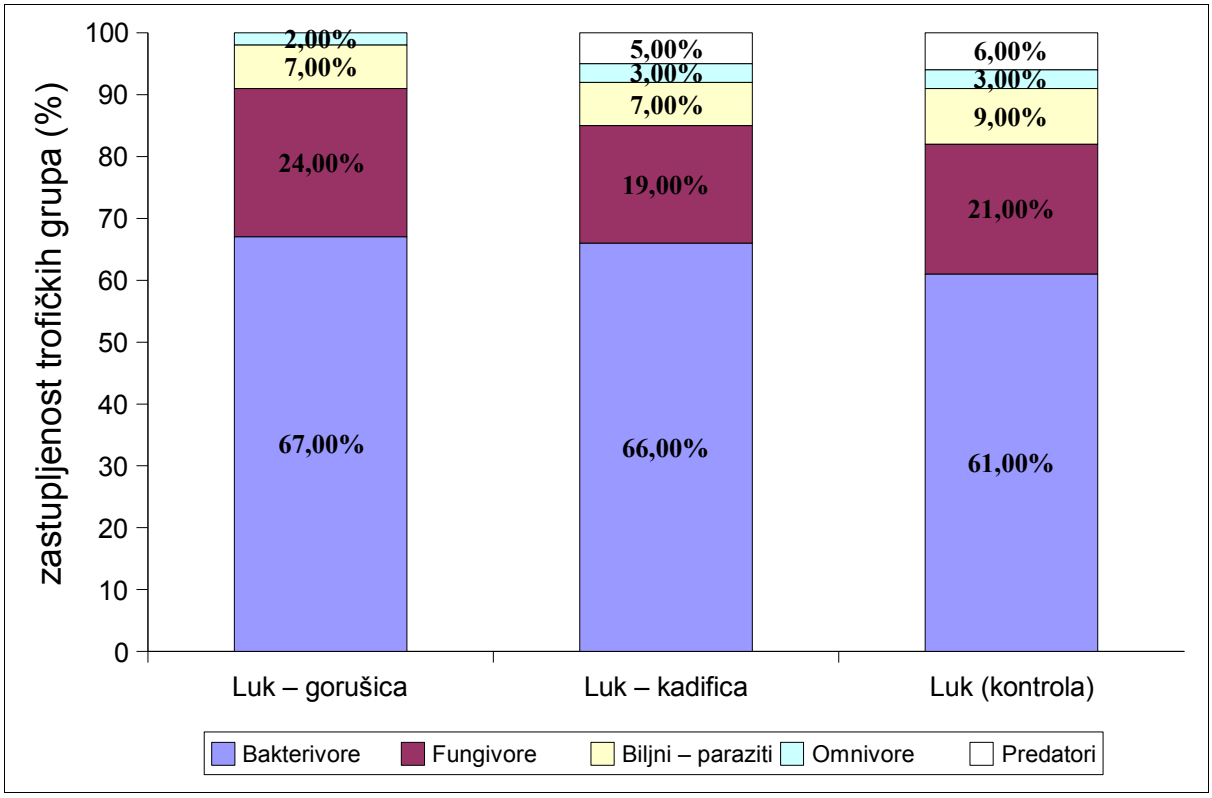
Grafikon 2. Prikaz rodova po tretmanima

4.3. Rezultat zastupljenosti trofičkih grupa

Grafikon 3. prikazuje zastupljenost pojedinih trofičkih grupa u % za svaki tretman. Kod tretmana luk – gorušica najbrojnije su bakterivore (67 %) čija prisutnost ukazuje na dobru mikrobiološku aktivnost u tlu, dok su biljno – parazitne nematode zastupljene sa 7 %. Kod ove kombinacije nije utvrđen niti jedan predator.

U tretmanu luk – kadifica u najvećem postotku se također pojavljuju bakterivore (66 %). Predatora su zastupljeni s 5 %. Dok su biljno – parazitne nematode zastupljene s 7 %. (Grafikon 3.).

Prema podacima iz Grafikona 3. kod kontrole je slična zastupljenost bakterivora i fungivora kao i u prethodnim tretmanima, osim omnivora i predatora koji su nešto brojniji. Biljno – parazitne nematode su zastupljene sa 9 %.



Grafikon 3. Prikaz zastupljenosti trofičkih grupa po tretmanima

Statistički značajna razlika između tretmana utvrđena je kod zastupljenosti bakterivora (Tablica 3.), pri čemu je njihova brojnost veća u odnosu na ostale trofičke grupe nematoda u pokusu. Razlike između tretmana su utvrđene i kod trofičke grupe predatora (Tablica 3.), jer u tretmanu luk - gorušica nije utvrđen niti jedan predator, a kod tretmana luk (kontrola) je njihova brojnost najveća.

Tablica 3. Prikaz rezultat analize varijance za trofičke grupe nematoda

	LSD 0,05	LSD 0,01	F
Bakterivore	14,7667	n.s.	7, 5242*
Predatori	n.s.	2,3611	14, 92105**

4.4. Rezultati indeksa uznemirenja

Nakon provedene analize izračunati su indeksi uznemirenja koji su prikazani u Tablici 4., kako bi se dobio što bolji uvid u sastav zajednica nematoda kroz sve tretmane. Najveće vrijednosti MI indeksa (2,09) utvrđene su kod tretmana luk (kontrola), dok je najmanja vrijednost (1,47) utvrđena kod tretmana luk – kadifica.

Vrijednost MI (2 – 5) je najveća kod luk (kontrole), a najmanja u tretmanu luk – gorušica zbog velike brojnosti nematoda iz nižih c- p grupa koje se javljaju u uznemirenim ekosustavima.

Biljno – parazitni indeks (PPI) u svim tretmanima je u približno jednakim omjerima i kreće se od 2,1 do 2,6. Iako su biljno – parazitne nematode bile slabo zastupljene u pokusu kod luk (kontrola) je njihova brojnost nešto veća u odnosu na tretmane luk – gorušica i luk – kadifica. Odnos PPI/MI prema podacima iz Tablice 4. u svim tretmanima prelazi 0,9 što ukazuje na uznemirenje u tlu.

Tablica 4. Prikaz vrijednosti indeksa uznemirenja

Indeksi uznemirenja	Luk -gorušica	Luk - kadifica	Luk (kontrola)
MI	1, 73	1,47	2,09
MI (2 - 5)	2,13	2,22	2,45
PPI	2,1	2,4	2,6
PPI/MI	1,21	1,63	1,2

Analizom varijacije utvrđene su statistički vrlo značajne razlike između tretmana kod MI indeksa i MI (2-5) (Tablica 5.), te su kod tretmana luk (kontrola) vrijednost ovih indeksa najveća zbog veće zastupljenosti nematoda iz viših c- p grupa.

Tablica 5. Prikaz rezultata analize varijance za indekse uznemirenja

	LSD 0,05	LSD 0,01	F
MI	n.s.	0,2350	9,06**..
MI (2- 5)	175, 5405	n.s.	4,835826*

4.5. Rezultati indeksa hranidbenog lanaca

Hranjive tvari su vrlo bitne za rast i razvoj biljaka, stoga analizom ovih indeksa (Tablica 6.). dobiva se uvid u stanje tla.

Prema podacima iz Tablice 6. najveća vrijednost EI je kod tretmana luk – gorušica (72, 49), dok su u preostalim kombinacijama vrijednosti približne. Takve vrijednosti postignute su zbog izrazito velike brojnosti bakterivora u ovom tretmanu za koje je poznato da sudjeluju u razgradnji organske tvari u tlu.

Najveća vrijednost SI indeksa utvrđena je kod tretmana luk – kadifica i luk (kontrola) što ukazuju na veliku brojnost nematoda iz viših c – p grupa, dok su u tretmanu luk - gorušica zbog zastupljenosti bakterivora i fungivora koje uglavnom pripadaju nižim c – p grupama vrijednost SI indeksa je najmanja.

Kod CI indeksa na temelju dobivenih rezultata (Tablica 6.) vidljivo je da su u razgradnji tvari u tlu dominantne bakterivore, jer vrijednost indeksa nije veća od 50 %. U slučaju da je vrijednost veća od 50 % tada u razgradnji dominiraju fungivore.

BI indeks u svim kombinacijama pokusa nije značajno odstupao, te nije utvrđena statistički značajna razlika između tretmana, jer je brojnost bakerivora i fungivora koje su osnova za izračunavanje ovog indeksa u svim tretmanima vrlo slična. Tablica 6. Prikaz rezultata indeksa hranidbenog lanca

Indeksi hranidbenog lanca	**Luk -gorušica**	**Luk - kadifica**	**Luk (kontrola)**
EI	72,49	68,21	66, 41
SI	21,89	52,22	52,42
CI	15,43	15,07	19,30
BI	25,26	27,61	23,17

5. RASPRAVA

5.1. Analiza ukupnog broja nematoda i broja rodova

Analiza ukupnog broja nematoda pokazala je kako između tretmana postoje vrlo značajne razlike u broju nematoda. Kod tretmana luk – kadifica brojnost nematoda u 100 g/tla je bila najveća (1249), dok je najmanji broj nematoda utvrđen u tretmanu luk (kontrola) (419). Međutim u tretmanima luk – gorušica i luk – kadifica utvrđena je velika brojnost nematoda iz nižih c- p grupa tj. kolonizera a poznato je da oni naseljavaju uznemirene ekosustave, te se vrlo brzo razmnožavaju i tako utječu na povećanje brojnosti nematoda u tlu.

Najveći broj rodova utvrđen je u tretmanu sa kadificom (15), dok je najmanji broj bio u tretmanu luk- gorušica (11). U svim tretmanima su utvrđeni sljedeći rodovi: *Rhabditis*, *Acrobeloides*, *Eucephalobus*, *Aphelenchus* i *Aphelenhoides,* koji nisu osjetljivi na uznemirenja u tlu Varga (2011.) ističe u svome istraživanju kako su neki rodovi nematoda vrlo osjetljivi na uznemirenje u tlu, te se u određenim tretmanima gnojidbe nisu pojavili, dok je prisutnost roda *Rhabditis* zabilježena u svim kombinacijama.

5.2. Analiza udjela trofičkih grupa

Analiza udjela trofičkih grupa pokazuje kako su u cijelom pokusu najdominantnije bakterivore i fungivore. Prisutnost bakterivora ukazuje na dobru mikrobiološku aktivnost u tlu, ali isto tako toj skupini pripadaju nematoda iz nižih c - p grupa koje se javljaju u uznemirenim tlima i prve reagiraju na promjene u tlu, dok prisutnost fungivora ukazuje na kiselo tlo. Varga, (2011.) u svome istraživanju navodi kako su fungivore dominantne u svim tretmanima u kojima je provedena gnojidba. Budući da se u vrtu u kojem je provedeno istraživanje primjenjuju mineralna gnojiva i pesticidi moguće je da je njihov utjecaj uzrokovao veliku brojnost nematoda iz navedenih trofičkih grupa.

Biljno – parazitne nematode su u cijelom pokusu vrlo slabo zastupljene, iako je uzrokovanje provedeno u samoj blizini korijena luka gdje se i najčešće zadržavaju. U tretmanu luk (kontrola) utvrđena je najveća zastupljenost biljno – parazitnih nematoda (9 %), dok je najmanja zastupljenost bila kod tretmana luk – kadifica i luk – gorušica (7 %).

Omnivore su uz predatore najmanje zastupljena trofička grupa u pokusu. Najveća je brojnost omnivora utvrđena kod tretman luk (kontrola), a najmanja kod tretmana luk - gorušica u kojoj su uglavnom dominantne bakterivore i fungivore. Stirling (2014.) ističe kako odsutnost omnivora u tlu ukazuje na uznemiren i nestabilan ekosustav.

Prisutnost predatora utvrđena je u tretmanu luk - kadifica i luk (kontrola), dok kod tretmana luk – gorušica nije zabilježena pojava navedene trofičke grupe. U obje kombinacije javili su se predatori iz rodova *Clarcus* i *Mylonchulu*s. Te je važno istaknuti kako je u tretmanu luk-kadifica zastupljenot biljnih parazita bila 7 %, a predatora 5 % što nam ukazuje kako kadifica može djelovati na smanjenje štetnih nematoda i povećanje korisnih nematoda u tlu.

5.3. Analiza indeksa uznemirenja i indeksa hranidbenog lanca

Najveća vrijesnost MI indeksa utvrđena je u tretmanu luk (kontrola) (2,09) zbog prisutnosti nematoda iz viših c- p grupa, dok je najmanja bila u tretmanu luk – kadifica (1,47). Bongers i sur. (2007.) navode kako uznemirenje tla može biti jedan od razloga smanjenja vrijednosti ovog indeksa, jer je vrlo osjetljiv na promjene.

Vrijednosti PPI indeksa kretala se od 2,1 do 2,6 zbog vrlo male razlike u zastupljenosti biljnih parazita između tretmana.

Odnos PPI/MI je u svim tretmanima veći od 0,9 što govori da je tlo bilo uznemireno. Matute i sur. (2015.) u svome istraživanju na pšenici navode kako su se vrijednosti PPI/MI kretale od 1,31 do1,32 što nije poželjno, jer u takvim tlima su brojne biljno – parazitne nematode koje osim što čine štete i umanjuju prinos, otežavaju biljci normalno usvajanje hranjiva.

Kod indeksa hranidbenog lanaca nisu utvrđene statistički značajne razlike, jer su osnova za računanje navedenih indeksa uglavnom bakterivore i fungivore čija je zastupljenost podjednaka u svim tretmanima. Vrijednosti CI indeksa pokazuju da u razgradnji tvari sudjeluju bakterivore, što ukazuje na stabilan ekosustav koji je povoljan za rast i razvoj biljaka. Ukoliko je vrijednost navedenog indeksa veća od 50 % tada su u tlu dominantne fungivore, čija prisutnost ukazuje na kiselo tlo u kojem nisu povoljni uvjeti za razvoj biljaka, te je otežano normalno usvajanje hranjivih tvari.

6. ZAKLJUČAK

Ovim istraživanjem utvrđen je utjecaj gorušice (*Sinapis alba* L.) i kadifice (*Tagetes patula* L.) na pojavu i brojnost nematoda u crvenom luku, kao i učinkovitost u kontroli biljnih – parazita.

Najveća brojnost nematoda bila je u tretmanu luk - kadifica (1249), dok je najmanja bila kod kontrole (419).

U tretmanu luk – kadifica utvrđen je najveći broj rodova (15), a najmanje u tretmanu luk - gorušica (11). U svim tretmanima najzastupljenije su nematode iz rodova: *Rhabditis*, *Acrobeloides*, *Aphelenchus*, *Aphelenchoides* i *Eucephalobus*.

Od trofičkih grupa u najvećem postotku pojavljuju bakterivore i fungivore, a najmanje biljni – paraziti, omnivore i predatori. Statistički zanačajna razlika između tretmana utvrđena je u zastupljenosti bakterivora koje su najbrojnije u tretmanima luk -. gorušica i luk – kadifica, a najmanje ih ima u tretmanu luk (kontrola). Prisutnost predatora nije zabilježena u tretmanu luk – gorušica, te je analiza varijance pokazala statistički značajnu razliku između tretmana u zastupljenosti predatora.

Kod MI indeksa i MI (2-5) utvrđena je statistički značajna razlika između tretmana čije su vrijednosti bile najveće u tretmanu luk (kontrola), a najmanje u tretmanima luk – gorušica i luk – kadifica zbog velikog broja kolonizera.

Na temelju rezultata istraživanja može se zaključiti da je kadifica imala najveći utjecaj na pojavu nematoda u odnosu na tretman sa gorušicom i luk (kontrolu). Kako su biljno – parazitne nematode bile slabo zastupljene u svim tretmanima ne može se sa sigurnošću potvrditi nematocidni učinak gorušice i kadifice, ali prema zastupljenosti trofičkih grupa u tretmanu luk – kadifica vidljiv je utjecaj kadifice na korisne i štetne nematode u tlu.

7. POPIS LITERATURE

1. Abawi, G.S., Widmer T.L. (2000.): Mechanism of Suppression of *Meloidogyne hapla* and Its Damage by a Green Manure of Sudan Grass, Volume 84: 562 - 585.
2. Abawi,G.S, Moktan, K. (2010.): Bloat nematode problem on garlic symptoms, distribution and managment guidlines, Cornell University, Geneva, NY 14456, pp. 1 - 14.
3. Akhtar, M., Malik, A. (2000.): Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes. A review. Bioresource Technology Volume 74, pp. 35 – 47.
4. Alexander, A.S., Waldenmaier, M.C. (2002.): Suppression of *Pratylenchus penetrans* Populations in Potato and Tomato using African Marigolds, Journal Nematology, 34 (2): 130 – 134.
5. Benković – Lačić T. (2012.): Nematode kao bioindikatori ekološkog stanja tla, Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. pp. 1-126.
6. Benković – Lačić T, Brmež, M., Ivezić, M., Raspuduć, E., Pribetić, D., Lončarić, Z., Grubišić, D. (2013.): Influence of organic and inorganic fertilizers on nematode communities in cornfield, Bulgarian Journal of Agricultural Science, 19 (2), 235 – 240.
7. Bongers, T, Alkemade, R., Yeates, G.W. (1991.): Interpretation of disturbance-induced maturity decrease in marine nematode assemblages by means of the Maturity Index, Marine Ecology progress series, Volume 76: 135- 142.
8. Bongers, T. (1994.): Nematoden van der Nederland., KNNV-bibliotheekuitgave 46. Pirola, Schoorl. pp. 408.

9. Bongers, T, van der Meulen, H., Korthals, G. (1997.): Inverse relationship between the nematode maturity index and plant parasite index under enriched nutrient conditions, Soil Ecology (6): 195 - 199.

10. Bongers, T., Bongers, M. (1998.): Functional diversity of nematodes. Applied Soil Ecology 10 (3): 239 – 251.

11. Bongers, T, Ferris, H. (1999.): Nematode community as a bioindicator in envirommental monitoring, Trends in Ecology and evolution (14): 224 – 228.

12. Bongers, T. (1999.): The Maturity index, the evolution of nematode life history traits v, adaptive, radiation, and cp -scaling, Plant and soil, Volume 212: 13 – 22.

13. Bridge, J. (1996.): Nematodes of bananas and plantains in Africa, Acta Horti. 10 – 1776: 44 – 550.

14. Brmež, M. (2004.): Nematode kao bioindikatori promjena u agroekosustavu. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek.

15. Caswell, P.E., Tang, C.S., De Frank, J.I, Walter, J. A.M. (1991.): The influence of root exudates of *Chloris gayana* and *Tagetes patula* on *Rotylenchulus renîiiormis,* Department of Nematology, University of California, Davis, CA 95616, USA; University of Hawaii Honolulu, HI 96822, USA. pp. 1 -14.

16. Chen, X.J., Daniell, T.J.,Neilson, R., Flaherty, V.O., Griffihts, B.S. (2010.): A comparison of molecular methods for monitoring soil nematodes and their use as biological indicators, European Journal of Soil Biology, Volume 46: 319 – 324.

17. Chitwood, J.D. (2002.): Phytochemical based strategies for nematode control, Annual Review of Phytopathology, Volume 40: 221 – 249.

18. Cook, A.. Lambshead, P.J.D., Hawkins, L.E., Mitchell, N., Levin, L.A. (2000.): Nematode abundance at the oxygen minimum zone in the Arabian Sea, Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, Volume 47, pp. 75 – 85.

19. Collange, B., Navarrete, M., Peyre, G., Mateille, T., Tchamitchian, M. (2012.): Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: the challenge of an agronomic system analysis, Science Direct, Volume 30, pp. 1251 – 1262.

20. Freckman, N.W., Caswell, E.P. (1985.): The ecology of nematodes in agroecosystems. Annual Review of Phytopathology (23), pp. 275 - 296.

21. Ferris, H. (2003.): Nematodes: Ecology, University of California, Dacvis, pp. 809 – 812.

22. Ferris, H., Eyre, M., Venette, R.C., Lau, S.S. (1996.): Population energetics of bacterial-feeding nematodes, stage-specific development and fecundity rates. Soil Biology and Biochemistry (28), pp. 271 – 280.

23. Grewal, P.S., Ehlers, R.U., Shapiro- Ilan, D.I. (2005.): Nematodes as biocontrol agents CAB International Publishing. Wallingford, pp.394.

24. Gruver, S.L. (2007.): Soil Nematode Communities as Influenced by Cover Crops, with a Focus on *Brassicaceae*, Plant science & Landscape Architecture Theses and Dissertation, pp. 1 - 199.

25. Guerena, M. (2006.): Nematodes: Alternative Controls; NCAT Agriculture Specialist, pp. 1 - 20.

26. Hackney, RW, Dickerson, OJ, (1975.): Marigold, castor bean and chrysanthemum as controls of Meloidogyne incognita and Pratylenchus alleni. Journal of Nematology (7), pp. 84 – 90.

27. Cook, A.. Lambshead, P.J.D., Hawkins, L.E., Mitchell, N., Levin, L.A. (2000.): Nematode abundance at the oxygen minimum zone in the Arabian Sea, Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, Volume 47: 75 – 85.

28. Collange, B., Navarrete, M., Peyre, G., Mateille, T., Tchamitchian, M. (2012.): Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: the challenge of an agronomic system analysis, Crop Production, Volume 30, pp. 1251 – 1262.

29. Freckman, N.W., Caswell, E.P. (1985.): The ecology of nematodes in agroecosystems. Annual Review of Phytopathology (23), pp. 275 - 296.

30. Ferris, H. (2003.): Nematodes: Ecology, University of California, Dacvis, pp. 809 – 812.

31. Ferris, H., Eyre, M., Venette, R.C., Lau, S.S. (1996.): Population energetics of bacterial-feeding nematodes, stage-specific development and fecundity rates. Soil Biology and Biochemistry (28): 271 – 280.

32. Grewal, P.S., Ehlers, R.U., Shapiro- Ilan, D.I. (2005.): Nematodes as biocontrol agents CAB International Publishing. Wallingford, pp. 394.

33. Gruver, S.L. (2007.): Soil Nematode Communities as Influenced by Cover Crops, with a Focus on *Brassicaceae*, Plant science & Landscape Architecture. Theses and Dissertation, pp. 1 - 199.

34. Guerena, M. (2006.): Nematodes: Alternative Controls; NCAT Agriculture Specialist, pp. 1 - 20.

35. Hackney, RW, Dickerson, O.J. (1975.): Marigold, castor bean and chrysanthemum as controls of Meloidogyne incognita and Pratylenchus alleni. Journal of Nematology (7): 84 – 90.

36. Matute, M.M., Carter, A.H., Sherman, J. (2015.): Nematode Composition and Soil Conditions in Plots under a Wheat Crop in Colfax, Washington State, Journal of Agricultural Science; Volume 7: 1 -14.

37. McSorley, R. (1997.): Soil Inhabiting Nematodes, Phylum *Nematoda*. Univrsity of Florida. Institute of Food and Agriculture Sciences, ENY – 058, pp. 1 - 9.

38. McGuire, M. A. (2001.): Mustard Green Manure Use in Eastern Washington State, Sustainable Potato Production: Global Case Studies, pp. 117 – 130.

39. Moreno, S.S., Minoshima, H., Ferris, H., Jackson, L.E. (2006.): Linking soil properties and nematode community composition: effects of soil management on soil food webs , Nematology, 2006, Vol. 8(5): 703 – 715.

40. Neher, D.A. (1999.): Nematode Communities in Organically and Conventionally Managed Agricultural Soils, Journal of Nematology 31(2): 142 – 154.

41. Neher, D.A. (2001.): Role of nematodes in Soil Health and their use as indicators, Nematology 33(4): 161 – 168.

42. Neher, D., Bongers, T., Ferris, H. (2004.): Computation of Nematode communty indicies, Society of Nematologists Workshop, pp. 2 – 31.

43. Neher, D., Darby, B. (2006.): Computation and application of nematode community indices, General guidelines, pp. 211 - 222.

44. Noling, J.W. (1997.): Nematode management in commercial vegetable production, ENY – 014, pp. 1 -26.

45. Oštrec, Lj. (1998.): Zoologija: Štetne i korisne životinje u poljoprivredi. Zrinski. Čakovec, pp. 232.

46. Oštrec, Lj. (2001.): Entomopathogenic Nematodes for the Biological Control of Pest Insects, Agriculturae Conspectus Scientificus,Volume 66: 129 – 132.

47. Pen-Mouratov, S., Rodriguez-Zaragoza, S, Steinberger, Y. (2008.): The effect of *Cercidium praecox* and *Prosopis laevigata* on vertical distribution of soil free-living nematode communities in the Tehuacán Desert, Mexico. Ecol. Res. (23): 973 - 982.

48. Seinhorst, J.W. (1965): The relation between nematode density and damage to plants. Nematologica (11): 137 – 54.

49. Siddiqi, M.R. (1997.): Techniques and methodologies for nematode disease diagnosis and nematode identification, FAO Corporate document reprisatory, pp. 144.

50. Siddiqi, M.R. (2000.): *Tylenchida*: parasites of plants and insects. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 833.

51. Stirling, G.R. (2014.): Biological control of plant-parasitic nematodes: soil ecosystem management in sustainable agriculture, CABI Publishing, UK, pp. 536.

52. Tang, L. (1987.): Heterologous Expression and Enzymatic Properties of a Selenium-independent Glutathione Peroxidase from the Parasitic Nematode Brugia pahang, Volume 27 (31), pp. 8 - 18312

53. Tsay, T., Wu, S. T., Lin, Y. (2004.). Evaluation of *Asteraceae* plants for control of Meloidogyne incognita. Journal of Nematology. Vol. 36: 36 - 41.

54. Tsiafouli, M. A., Argyropoulou, M. D., Stamou, G. P., Sgardelis, S. P. (2007.): Is duration of organic management reflected on nematode communities of cultivated soils? Belgian Journal of Zoology, 137 (2): 165 – 175.

55. Varga, I. (2011.): Utjecaj fosfora i cinka na zajednicu nematoda u tlu, Diplomski rad, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.

56. Yeates, W.G. (1981.): Populations of nematode genera in soils under pasture, New Zeland Journal of Agricultural Reserch, Volume 24: 95 - 102.

57. Yeates, W.G. (2010.): Nematodes in ecologycal Webs, Wiley Online Libary, pp. 1 - 8.

58. Van Bezooijen, J. (2006.): Methodes and techniques for nematology, Wageningen, 2 – 92.

59. Visser, T. (1959.): The effect of marigolds and some other crops on the *Pratylenchus* and *Meloidogyne* populations in tea soil. Tea Quarterly (30): 30 – 38.

60. Vukadinović, V. (2013.): Poljoprivredna statistika VVStat – računalni program za statističku obradu podataka, http://www.pfos.hr/~vladimir/statistika/stat.htm (primjenjeno 23. 05. 2016.).

61. Wang, D.Y, Hooks, CR, Ploeg, A. (2007.): Protecting crops from nematode pests: Using marigold as an alternative to chemical nematicides. Honolulu (HI): University of Hawaii, pp. 6.

62. Wasilewska, L. (1998.): Changes in the proportions of groups of bacterivorous soil nematodes with different life strategies in relation to environmental conditions. Applied Soil Ecology 9 (1-3): 215 - 220.

63. Zasada, A.I., Ferris, H. (2004.): Nematode suppression with brassicaceous amendments: application based upon glucosinolate profiles, Soil Biology and Biochemistry, Volume 36: 1017 – 1024.

64. Zec, M., Brmež, M., Ivezić, M., Raspudić, E., Majić, I. (2012.): Usporedba učinkovitosti različitih metoda izdvajanja nematoda iz tla, Glasilo biljne zaštite (5), p. 6 – 16.

8. SAŽETAK

Cilj ovoga istraživanja je bio utvrditi utjecaj gorušice (*Sinapis alba* L.) i kadifice (*Tagetes patula* L.) na biljno – parazitne kao i ostale vrste nematoda u crvenom luku. Pokus je postavljen u ožujku 2016 g. u selu Strizivojna u tri tretmana: luk – gorušica, luk – kadifica i luk (kontrola) i četiri ponavljanja.

Najveći broj nematoda u 100 g tla utvrđen je u tretmanu luk – kadifica (1249), dok je najmanji broj bio u tretmanu luk (kontrola) (419). Broj rodova se kretao od 11 – 15. U svim tretmanima pojavile su se nematode iz rodova: *Rhabditis*, *Acrobeloides*, *Aphelenchus*, *Aphelenhoides* i *Eucephalobus*. Od trofičkih grupa najzastupljenije su bile bakterivore i fungivore, a najmanje biljni – paraziti, omnivore i predatori. Rezultati indeksa uznemirenja pokazuju da su u tretmanu luk (kontrola) bile najveće vrijednosti MI i MI (2-5), a najmanje u tretmanima luk – gorušica i luk – kadifica. Vrijednosti PPI indeksa su se kretale od 2,1 do 2,6, dok odnos PPI/MI ukazuje na uznemirenje u tlu. Statistički značajna razlika između tretmana utvrđena je za ukupnu brojnost nematoda, broj bakterivora i predatora, te MI i MI (2 - 5). Kod indeksa hranidbenog lanca nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana. Prema dobivenim rezultatima vidljivo je kako je kadifica najpovoljnije djelovala na zajednicu nematoda u tlu.

Ključne riječi: gorušica, kadifica, trofičke grupe, indeksi uznemirenja, indeksi hranidbenog lanca

9. SUMMARY

The aim of this study was to determine the effect of mustard (Sinapis alba L.) and marigold (Tagetes patula L.) plant - parasitic and other types of nematodes in red onion. The experiment was set in March 2016 in the village Strizivojna in three treatments (onion - mustard, onion - marigold and onion (control) and four repetitions.

The largest number of nematodes in 100 g of soil was found in the treatment with onion - marigold (1249), whereas the lowest number was in the treatment only with onion (control) (419). Number of families ranged from 11 - 15. Nematode genera that was found in all treatment were: *Rhabditis, Acrobeloides, Aphelenchus, Aphelenhoides* and *Eucephalobus*. Bacterivorous and fungivorous nemaodes were the most dominant trophic groups, while the least represented were plant - parasites, predators and omnivores. Disturbance indicies showed that the treatment with onion (control) demonstrated the maximum value MI and MI (2-5), while minimum values were found in treatment with onion - mustard and onion - marigold. PPI index values ranged from 2.1 to 2.6., while the ratio of PPI / MI indicated disturbance in the soil. Statistically significant difference between treatments was found in the number of nematodes / 100 g of soil, percentage of bacterivoruous nematodes and predators, and MI and MI (2-5). The indexes of food chain statistically did not differ significantly between treatments. According to the results it is evident that the marigold showed the best impact on nematode community in the soil.

Key words: mustard, marigold, trophic groups, indices disturbances, indices of the food chain

10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Prikaz broja nematoda u tretmanima.....19

Tablica 2. Prikaz broja rodova po tretmanima.....19

Tablica 3. Prikaz rezultata analize varijance za trofičke grupe nematoda.....23

Tablica 4. Prikaz vrijednosti indeksa uznemirenja.....23

Tablica 5. Prikaz rezultata analize varijance za indekse uznemirenja.....24

Tablica 6. Prikaz vrijednosti indeksa hranidbenog lanca.....25

11. POPIS SLIKA

Slika 1. Prikaz tretmana luk – gorušica.....11

Slika 2. Prikaz tretmana luk – kadifica.....11

Slika 3. Prikaz tretmana luk (kontrola).....12

Slika 4. Baermannova metoda lijevka.....13

Slika 5. Prikaz uzoraka tla nakon ispuštanja.....13

Slika 6. Prebrojavanje nematoda.....14

12. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Prikaz ukupne brojnosti nematoda u tretmanima.....18

Grafikon 2. Prikaz rodova po tretmanima.....21

Grafikon 3. Prikaz zastupljenosti trofičkih grupa po tretmanima 22

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Poljoprivredni fakultet u Osijeku **Diplomski rad**
Diplomski studij Bilinogojstvo, smjer Zaštita bilja

Biološka kontrola biljno – parazitnih nematoda u povrću
Monika Jakobović

Sažetak: Cilj ovoga istraživanja je bio utvrditi utjecaj gorušice (*Sinapis alba* L.) i kadifice (*Tagetes patula* L.) na biljno – parazitne kao i ostale vrste nematoda u crvenom luku. Pokus je postavljen u ožujku 2016 g. u selu Strizivojna u tri tretmana: luk – gorušica, luk – kadifica i luk (kontrola) i četiri ponavljanja .Najveći broj nematoda u 100 g tla utvrđen je u tretmanu luk – kadifica (1249), dok je najmanji broj bio u tretmanu luk (kontrola) (419). Broj rodova se kretao od 11 – 15. U svim tretmanima pojavile su se nematode iz rodova: *Rhabditis*, *Acrobeloides*, *Aphelenchus*, *Aphelenhoides* i *Eucephalobus*. Od trofičkih grupa najzastupljenije su bile bakterivore i fungivore, a najmanje biljni – paraziti, omnivore i predatori. Rezultati indeksa uznemirenja pokazuju da su u tretmanu luk (kontrola) bile najveće vrijednosti MI i MI (2-5), a najmanje u tretmanima luk – gorušica i luk – kadifica. Vrijednosti PPI indeksa su se kretale od 2,1 do 2,6, dok odnos PPI/MI ukazuje na uznemirenje u tlu. Statistički značajna razlika između tretmana utvrđena je za ukupnu brojnost nematoda, broj bakterivora i predatora, te MI i MI (2 - 5). Kod indeksa hranidbenog lanca nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana. Prema dobivenim rezultatima vidljivo je kako je kadifica najpovoljnije djelovala na zajednicu nematoda u tlu.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Mentor: prof. dr. sc. Mirjana Brmež
Broj stranica: 41
Broj grafikona i slika: 9 (3 grafikona i 6 slika)
Broj tablica: 6
Broj literaturnih navoda: 65
Jezik izvornika: hrvatski
Ključne riječi: gorušica, kadifica, trofičke grupe, indeksi uznemirenja, indeksi hranidbenog lanca
Datum obrane:
Stručno povjerenstvo za obranu:
1. Prof. dr. sc. Emilija Raspudić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, član
3. Prof. dr. sc. Mirjana Brmež, mentor

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilišta u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d

BASIC DOCUMENTATION CARD
Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agriculture **Graduate thesis**
University Graduate Studies, course Plant Protection

Biological control of plant - parasitic nematodes in vegetables
Monika Jakobović

Abstract: The aim of this study was to determine the effect of mustard (Sinapis alba L.) and marigold (Tagetes patula L.) plant - parasitic and other types of nematodes in red onion. The experiment was set in March 2016 in the village Strizivojna in three treatments (onion - mustard, onion - marigold and onion (control) and four repetitions. The largest number of nematodes in 100 g of soil was found in the treatment with onion - marigold (1249), whereas the lowest number was in the treatment only with onion (control) (419). Number of families ranged from 11 - 15. Nematode genera that was found in all treatment were: *Rhabditis, Acrobeloides, Aphelenchus, Aphelenhoides* and *Eucephalobus*. Bacterivorous and fungivorous nemaodes were the most dominant trophic groups, while the least represented were plant - parasites, predators and omnivores. Disturbance indicies showed that the treatment with onion (control) demonstrated the maximum value MI and MI (2-5), while minimum values were found in treatment with onion - mustard and onion - marigold. PPI index values ranged from 2.1 to 2.6., while the ratio of PPI / MI indicated disturbance in the soil. Statistically significant difference between treatments was found in the number of nematodes / 100 g of soil, percentage of bacterivoruous nematodes and predators, and MI and MI (2-5). The indexes of food chain statistically did not differ significantly between treatments. According to the results it is evident that the marigold showed the best impact on nematode community in the soil. .

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek
Mentor: prof. dr. sc. Mirjana Brmež
Number of pages: 41
Number of figures: 9 (3 graphs and 6 pictures)
Number of tables: 6
Number of references: 65
Original in: Croatian
Key words: mustard, marigold, trophic groups, indices disturbances, indices of the food chain
Thesis defended on date:
Reviewers:
Prof. dr. sc. Emilija Raspudić, president
Prof. dr. sc. Mirjana Brmež, mentor and member
Prof. dr.sc. Karolina Vrandečić, member
Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d