

UDK 632.3/.9

ISSN 2584-6477

ANNO MCMLXXI FUNDATA

FRAGMENTA PHYTOMEDICA*

* sljednik Fragmenta phytomedica et herbologica

**Izdaje – Published by:
HRTVASKO DRUŠTVO BILJNE ZAŠTITE
ZAGREB, Svetošimunska cesta 25**

FRAGMENTA PHYTOMEDICA, Vol. 32. No 1, 2018, str. 1-60

Zagreb, 2018.

Uređivački odbor – Editorial Bord:

Renata Bažok (RH)	Ivan Ostojić (BiH.)
Jasminka Igrc Barčić (RH)	Zvonimir Ostojić (RH)
Draženka Jurković (RH)	Gabrijel Seljak (Slovenija)
Stanislava Lazarevska (Makedonija)	Klara Barić (RH)
Dario Ivić (RH)	

Glavni urednik – Editor in Chief

Klara Barić

Tehnički urednik – Technical Editor

Ana Pintar

Jezički savjetnik – Language Advisor

Marija Flanjak, prof.

Adresa uredništva – Editor's address

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
10000 Zagreb, Svetošimunska 25
Hrvatska – Croatia
Tel: +385 1 2393-776
kbaric@agr.hr / apintar@agr.hr

Izdavač:

Hrvatsko društvo biljne zaštite (HDBZ)
Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
Zagreb, Svetošimunska cesta 25
Tel./fax: +385 1 2393-804

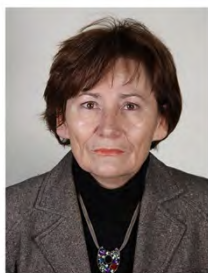
Časopis izlazi polugodišnje
Journal is issued twice a year.

Naklada: 500

Realizacija i marketing

Infomart Zagreb d.o.o.

Zagreb, 2018.



Drage čitateljice i čitatelji, u rukama držite prvi broj znanstvenog časopisa Hrvatskog društva biljne zaštite (HDBZ) **Fragmenta phytomedica**. Pod novim nazivom, časopis je zapravo sljednik znanstvenog časopisa **Fragmenta Herbologica Croatica** utemeljenog davne 1971. Inicijativu za tiskanje časopisa dao je naš uvaženi fitocenolog i herbolog profesor Josip Kovačević koji je bio glavnim urednikom sve do 1980. Kao što navodi Petar Preradović: „*Stalna na tom svijetu samo mijena jest.*“, tako je i časopis *Fragmenta herbologica Croatica* od osnutka do danas više puta mijenjao naziv. Prvo u *Fragmenta Herbologica Jugoslavica* (1973 - 1991.), zatim *Fragmenta herbologica* (1991 - 1993.), *Fragmenta Phytomedica et Herbologica* (1993 -2017.) te danas u *Fragmenta phytomedica*. Uz profesora Kovačevića glavnim urednikom do sada (1980 - 2017.) bio je naš uvaženi prof. emerit. Zvonimir Ostojić.

Časopis je uz manje ili veće prekide izlazio kontinuirano gotovo pola stoljeća i bio citiran u više znanstvenih citatnih baza. Do 1993. uređivačka politika zasnivala se samo na fragmentima (separatima) iz područja herbologije. Nakon promjene naziva (1993.) u *Fragmenta phytomedica et herbologica* časopis je proširio djelatnost na područje entomologije, fitopatologije, fitofarmacije, ekologije i druga područja iz zaštite bilja. Ista područja, odnosno cjelovita znanstvena problematika zaštite bilja bit će zadržana (nadam se i poboljšana) i u novim izdanjima ovog časopisa. Naime, Upravni odbor Hrvatskog društva biljne zaštite na čelu s predsjednicom Društva prof. dr. sc. Jasminkom Igrec Barčić na svojoj 2. sjednici (5. svibnja 2017.) zaključio je da Društvo ima potencijala i za stručni (Glasilo biljne zaštite) i za znanstveni časopis te je donio odluku o ponovnom aktiviranju ovog znanstvenog časopisa. U Uređivačkom odboru časopisa su predstavnici svih disciplina iz područja fitomedicine (vidi impresum).

Kao vršiteljica dužnosti glavnog urednika pozivam sve koji se bave znanstvenim radom da aktivno podrže ovaj časopis Društva, a članovima Društva i drugim čitateljima preporučujem da se upoznaju i sa znanstvenim radom Društva. Detaljnije informacije o časopisu, poziv na objavu radova i upute autorima dostupne su na stranici HDBZ-a <http://hdbz.hr/fragmenta/>.

Izv. prof. dr. sc. Klara Barić

SADRŽAJ

Izvorni znanstveni članci

Zrinka Drmić, Maja Čačija, Darija Lemić, Helena Virić Gašparić, Martina Mrganić, Renata Bažok	SEKSUALNI INDEKS REPINE PIPE (<i>Bothynoderes punctiventris</i> Germ. 1824) (Coleoptera: Curculionidae).....	1
Matej Batinić, Valentina Šoštarčić, Mirela Jaganjac, Barbara Đukić, Maja Šćepanović	DESTRUKTIVNE METODE Iстраživanja VIJABILNOSTI SJEMENA PELINOLISNOG LIMUNDŽIKA (<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.).....	8
Ivan Ostojić, Mladen Zovko, Danijela Petrović, Luka Bošnjak	ŠTETNICI SMILJA [<i>Helichrysum italicum</i> (Roth) G. Don.] U PLANTAŽNOM UZGOJU NA PODRUČJU HERCEGOVINE	21
Tatjana Masten Milek, Andrijana Novak, Mladen Šimala, Maja Pintar	PRVI NALAZ INDIJSKE ŠTITASTE VOŠTANE UŠI - <i>Ceroplastes ceriferus</i> (Fabricius) 1798 (Hemiptera: Coccoomorpha: Coccidae).....	31
Pregledni rad		
Bogdan Cvjetković	RASPROSTRANJENOST CRNE TRULEŽI BOBE [<i>Phyllosticta ampellicida</i> (Engelm.) Aa] NA VINOVOJ LOZI U HRVATSKOJ.....	38
Prethodno priopćenje		
Sara Godena, Dario Ivić, Adrijana Novak	FITOPATOGENE GLIIVE POVEZANE SA SUŠENJEM STABALA MASLINE (<i>Olea europaea</i> L.) NA PODRUČJU ISTRE	43

CONTENTS

Original scientific paper

Zrinka Drmić, Maja Čačija, Darija Lemić, Helena Virić Gašparić, Martina Mrganić, Renata Bažok	SEXUAL INDEX OF THE SUGAR BEET WEEVIL <i>(Bothynoderes punctiventris</i> Germ. 1824) <i>(Coleoptera: Curculionidae)</i>	1
Matej Batinić, Valentina Šoštarčić, Mirela Jaganjac, Barbara Đukić, Maja Šćepanović	DESTRUCTIVE METHODS FOR VIABILITY TEST OF <i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	8
Ivan Ostojić, Mladen Zovko, Danijela Petrović, Luka Bošnjak	INSECT PESTS OF IMMORTELLE [<i>Helichrysum</i> <i>italicum</i> (Roth) G. Don] IN FIELD PRODUCTION IN THE AREA OF HERZEGOVINA	21
Tatjana Masten Milek, Andrijana Novak, Mladen Šimala, Maja Pintar	FIRST RECORD OF INDIAN WAX SCALE - <i>Ceroplastes ceriferus</i> (Fabricius, 1798) (Hemiptera, Coccoomorpha: Coccidae) IN CROATIA	31

Review

Bogdan Cvjetković	DISTRIBUTION OF BLACK ROT [<i>Phyllosticta</i> <i>ampelicida</i> (Engelm.) Aa] OF GRAPEVINE IN CROATIA.....	38
-------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------

Preliminary communication

Sara Godena, Dario Ivić, Adrijana Novak	PHYTOPATHOGENIC FUNGI CAUSATIVE AGENTS OF OLIVE (<i>Olea europaea</i> L.) DECLINE IN THE AREA OF ISTRIA.....	43
-----------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------

SEKSUALNI INDEKS REPINE PIPE**(*Bothynoderes punctiventris* Germ. 1824) (Coleoptera: Curculionidae)**Zrinka DRMIĆ, Maja ČAČIJA, Darija LEMIĆ, Helena VIRIĆ GAŠPARIĆ, Martina
MRGANIĆ, Renata BAŽOKSveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju,
Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

zdrmic@agr.hr

Prihvaćeno: 2017-11-28

U fazi klijanja i nicanja pa do pojave prvih pravih listova repina je pipa (*Bothynoderes punctiventris* Germar 1824; Coleoptera: Curculionidae) najznačajniji štetnik šećerne repe. Cilj je ovog istraživanja bio ustanoviti seksualni indeks prezimjele repine pipe na dvjema lokacijama na području istočne Hrvatske (Tovarnik i Dalj). Prezimjela repina pipa prikupljena je agregacijskim mamcima od 29. ožujka do 20. travnja 2017. Na ulovljenim odraslim oblicima pipa određen je spol i ustanovljena dinamika izlaska s prezimljenja te je izračunat seksualni indeks. Rezultatima je ustanovljeno više prezimjele repine pipe u Tovarniku nego u Dalju. U trenutku izlaska repine pipe sa starih repišta (posljednja dekada ožujka) broj je mužjaka veći od broja ženki, a dva do tri tjedna kasnije odnos je spolova izjednačen. Nakon toga populacijom prevladavaju ženke, što upućuje na moguće povećanje broja populacije repine pipe.

Ključne riječi: agregacijski mamci, repina pipa, seksualni indeks

SEXUAL INDEX OF THE SUGAR BEET WEEVIL**(*Bothynoderes punctiventris* Germ. 1824) (Coleoptera: Curculionidae)****SUMMARY**

The sugar beet weevil (*Bothynoderes punctiventris* Germar 1824; Coleoptera: Curculionidae) is the most important sugar beet pest from sugar beet germination and emergence till forming first true leaves. The aim of this study was to establish sexual index of the overwintering sugar beet weevil on two locations in eastern Croatia (Tovarnik and Dalj). The overwintering adult weevils were collected with aggregation baits, from 29th March to 20th April 2017. According to the collected specimens, dynamics of adult emergence was established, sex was determined, and the sexual index was calculated. The results showed a larger number of pests collected in Tovarnik compared to Dalj. In time of sugar beet weevil emergence (the last decade of March), the number of males was higher than the number of females. However, two to three weeks later the ratio between males and females was equalized, and

after the population was dominated by females. Early female dominance in spring could indicate increased number of pests in the future population.

Key words: aggregation bait, sexual index, sugar beet weevil

UVOD

Prvi masovni napad repine pipe (20 imaga/m²) zabilježen je 17 godina nakon uvođenja šećerne repe u istočnu Hrvatsku (područje Osijeka, Vukovara i Vinkovaca), (Kovačević, 1929). Visina populacije repine pipe u Hrvatskoj danas je najveća na području Vukovarsko-srijemske županije, a od 2008. svake godine bilježi se masovni napad (Bažok i sur., 2012; Drmić, 2016).

Biotički potencijal prema Champmanu 1928 (cit. Kovačević, 1961) predstavlja vrijednost bilo koje vrste kao ekološkog čimbenika u životnoj zajednici. To je zapravo sposobnost organizma (odnosno vrste) za preživljavanje i razmnožavanje. Biotički potencijal ovisi o plodnosti i broju potomstva, trajanju razvoja, prehrani i sposobnosti samoobrane svake vrste. Populacija svakog štetnika ima gornju i donju granicu brojnosti tijekom godine. Optimalan broj populacije rezultira i najvećim indeksom razmnožavanja. Za štetnike to je trenutak kada pričinjavaju najveće štete u usjevu kojim se hrane. Seksualni indeks opisuje se kao odnos mužjaka i ženki u populaciji (Kovačević, 1961). On je karakterističan za svaku vrstu, a uglavnom ovisi o ponašanju kukca u kopulaciji. Ako mužjaci kopuliraju samo jednom ili ako jedan mužjak može oploditi samo jednu ženku, tada je povoljan seksualni indeks 1:1. Tada bilo koja neravnoteža (bilo na stranu mužjaka ili ženki) može dovesti do smanjenja populacije. Ako jedan mužjak može oploditi više ženki (kao što je kod repine pipe), tj. ako mužjaci kopuliraju više puta, tada je za vrstu povoljno da u populaciji prevladavaju ženke. S biološkog stajališta vrste kukaca u kojima prevladavaju ženke imaju bolji biološki potencijal.

U ovom je istraživanju praćen odnos spolova u populaciji repine pipe radi ustanovljivanja seksualnog indeksa prezimjele repine pipe na dvama lokalitetima na području istočne Hrvatske.

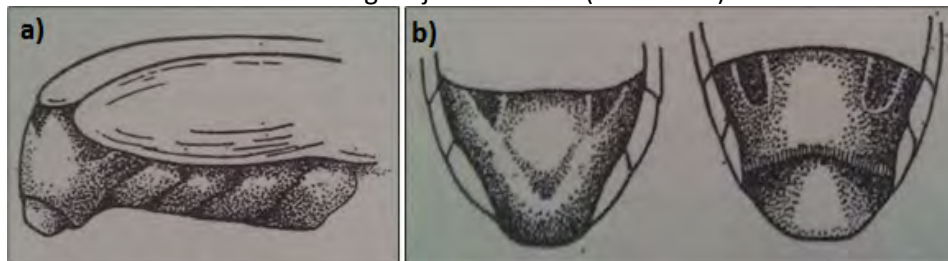
MATERIJALI I METODE RADA

Tijekom zime 2017. godine odabrano je po jedno polje na lokalitetu Tovarnik (Vukovarsko-srijemska županija, ARKOD broj 2090110) i jedno polje na lokalitetu Dalj (Osječko-baranjska županije, ARKOD broj 1916045) na kojima je prethodne godine bila zasijana šećerna repa te su zabilježene štete od repine pipe. Tla koja okružuju Tovarnik karakterizirana su kao černozemna, a tla na području Dalja kao aluvijalna. Na obama lokalitetima tla su neutralne do slabo alkane pH-reakcije, dobro opskrbljena dušikom te vrlo bogata humusom, sadržajem fosfora i kalija (Lončarić i sur., 2014). U godini koja je prethodila

istraživanju na obama lokalitetima provedene su uobičajene agrotehničke mjere u proizvodnji šećerne repe. Brojnost repine pipe u prezimljenju ustanovljena je pregledom tla, u Dalju 24. veljače, a u Tovarniku 27. veljače 2017. Pregled tla proveden je kopanjem jama dimenzija 0,5 m x 0,5 m x 0,5 m. Pregledane su jame i zemlja iz jama na prisutnost odraslih jedinki. Ukupno je iskopano i pregledano tlo iz 12 jama, odnosno po šest jama po polju.

U drugoj polovici ožujka temperatura je tla dosegla optimalne vrijednosti (6 - 8 °C) za izlazak štetnika na površinu te su postavljeni agregacijski mamci. Agregacijski mamac (CSALOMON® TAL, Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary; Tóth i sur., 2002; 2007) sastoji se od kapsule s feromonom postavljene u posebnoj lovnoj posudi. Mamci su bili postavljeni uz rubove prošlogodišnjih repišta na razmak od 15 m. Na obama lokalitetima postavljeno je 10 agregacijskih mamaca. Nakon izlaska s prezimljenja odrasle su repine pipe, privučene feromonima, ulazile u mamce oštih vertikalnih rubova te su fizički bile spriječene da izađu iz mamca. Praćenje je trajalo od 22. 3. do 20. 4. 2017. (13. do 16. tjedan u godini), a mamci su jednom tjedno pražnjeni.

S obaju su lokaliteta (Tovarnik i Dalj) sakupljeni uzorci repine pipe iz agregacijskih mamaca, pohranjeni su u 96 %-tni etanol, dopremljeni na Zavod za poljoprivrednu zoologiju Agronomskog fakulteta u Zagrebu, prebrojeni te je određen spol kukaca (prema Tielecke, 1952; Auersch, 1954; Čamprag, 1984) na osnovi karakteristika dorzalnog kraja abdomena (slika 1. i 2.).



Slika 1. i 2. Zadnji članak trbuha odrasle repine pipe: a) lijevo u ženke; b) lijevo u ženke i desno u mužjaka gledano s dorzalne strane (Auersch, 1954)

Fig. 1 and 2 The last segment of the abdomen in adult's weevils: a) in females; b) left in females and males on the right from the dorsal side (Auersch, 1954)

Prikupljeni podatci o broju i odnosu spolova repine pipe prikazani su kao dinamika izlaska kukaca s prezimljenja u čitavom razdoblju praćenja na obama lokalitetima. Izračunat je udjel mužjaka i ženki u populacijama repine pipe za svaki datum ulova. Seksualni indeks (udjel ženki u ukupnoj populaciji) izračunat je prema sljedećoj formuli (Gotlin Čuljak i Juran, 2014):

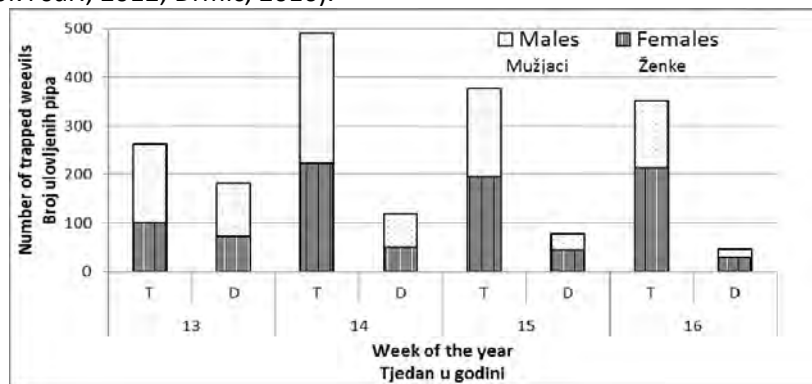
$$\text{seksualni indeks} = \frac{\text{broj ženki}}{\text{broj ženki} + \text{broj mužjaka}}$$

REZULTATI I RASPRAVA

Pregledima tla u veljači 2017. godine nije pronađena ni jedna odrasla repina pipa. Ovakav je rezultat upućivao na izostanak prisutnosti ovog štetnika na odabranim parcelama. S obzirom na povijest obaju polja te na činjenicu da je u 2016. godini na istim poljima bilo znatnih šteta, postavljeni su mamci. Kasniji rezultati u kojima je ustanovljen dosta visok broj pipa u agregacijskim mamcima pokazali su da kratkoročna prognoza o broju štetnika na osnovi pregleda tla nije bila točna. Pregled tla obavljen je dosta rano, potkraj veljače. U to vrijeme pipe su vjerojatno još bile dosta duboko na prezimljenju pa ih, unatoč činjenici da su iskopane rupe pri pregledu tla bile duboke oko 40 cm, što je znatno dublje od 25 - 30 cm, koju dubinu preporučuje Čamprag (1963), nije bilo moguće pronaći.

Na lokalitetu Tovarnik u agregacijskim mamcima prikupljeno je ukupno 1481 jedinka repine pipe, dok su na lokalitetu Dalj ulovljene 424 jedinice. Broj je repine pipe na području Tovarnika bio veći nego na području Dalja. Na slici 3. prikazana je dinamika izlaska repine pipe u razdoblju praćenja na obama lokalitetima. Populacija je prikazana odvojeno po spolovima. Iz rezultata se vidi da je u početnom razdoblju praćenja zabilježen veći broj i porast mužjaka u ukupnoj populaciji na obama lokalitetima.

Broj populacije i dinamika izlaska prezimjelih jedinki repine pipe ustanovljena ovim istraživanjem potvrđuje prethodna istraživanja (Čamprag i Mihajlović, 1973). Na obama istraživanim područjima poznati su podaci o masovnim napadima repine pipe u Hrvatskoj od 1922. godine (Kovačević, 1929), zatim u razdoblju od 1925. do 1931. godine te 1964. godine 44 % polja šećerne repe bilo je prorijeđeno (Čamprag, 1963). Broj populacije repine pipe danas je najveća upravo na području Vukovarsko-srijemske županije (i do 20 imaga /m²), gdje joj uvjeti za prezimljenje, razvoj i razmnožavanje najviše odgovaraju (Bažok i sur., 2012; Drmić, 2016).



Slika 3. Dinamika izlaska repine pipe na lokalitetima Tovarnik (T) i Dalj (D) tijekom 2017.

Fig. 3 The dynamic of sugar beet weevil adult emergence in Tovarnik (T) and Dalj (D) during 2017.

Kao siguran znak raspoznavanja spolova repine pipe Tielecke (1952) navodi razlike u karakteristikama dorzalnog kraja abdomena. Razlike su prema spolu vidljive kad se iglom za prepariranje kukaca podigne pokrilje. Ženka se prepoznaje po većoj i jače hitiniziranoj leđnoj pločici na kraju trbuha, a posljednji se segment nalazi s unutrašnje strane te izvana nije vidljiv. Upravo je ova morfološka osobina korištena za determinaciju spola.

Determinacijom spola ustanovljen je 751 mužjak i 730 ženki prikupljenih na lokalitetu Tovarnik te 228 mužjaka i 196 ženki na lokalitetu Dalj. U tablici 1. prikazan je izračunati seksualni indeks (SI) prezimjele repine pipe na obama lokalitetima za svaki datum pregleda, prikazani kao tjedni u godini. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da mužjaci repine pipe prvi izlaze iz tla (Tovarnik SI = 0,38; Dalj SI = 0,40) i dominiraju u populaciji do 15. tjedna u godini kada dolazi do postupnog smanjenja broja mužjaka i porasta broja ženki u populaciji (Tovarnik SI = 0,45 - 0,52; Dalj SI = 0,42 - 0,57). Sredinom travnja dolazi do izjednačavanja broja mužjaka i ženki repine pipe te od kraja travnja ženke dominiraju prezimjelom populacijom (SI = 0,61 Tovarnik; SI = 0,63 Dalj).

Tablica 1. Seksualni indeks prikupljene repine pipe na području Tovarnika i Dalja tijekom 2017.

Table 1 Sexual index of trapped sugar beet weevils in Tovarnik and Dalj during 2017.

Week of the year Tjedan u godini	Tovarnik	Dalj
13	0,38	0,40
14	0,45	0,42
15	0,52	0,57
16	0,61	0,63

U razdoblju praćenja (13. - 16. tjedan u godini) odnos spolova prezimjele repine pipe se potpuno promijenio, što odgovara navodima Drmić (2016) prema kojima se u 15. tjednu u godini odnos spolova izjednačava te od 16. tjedna u godini ženke dominiraju populacijom. Dobiveni rezultati o dominaciji mužjaka u početku izlaska pipe iz tla potvrđuju istraživanja Manolache i Moklova (1961) u Rumunjskoj. Dominacija je mužjaka bila do sredine travnja (15. tjedan u godini), u drugoj polovici travnja zabilježeno je izjednačavanje spolova i potom dominacija ženki. Prema Bogdanovu (1965) omjer spolova u Bugarskoj tijekom 15. tjedna bio je 58 : 42 u korist mužjaka, a već u 16. tjednu u godini 41 : 59 u korist ženki. Istraživanja Tomaševa i sur. (2006) u Srbiji tijekom 2000. i 2004. godine pokazala su ≤30 % udjela ženki u ukupnoj populaciji koja izlazi s prezimljenja. Seksualni indeks repine pipe u Srbiji pri izlasku s prezimljenja bio je niži (SI = 0,23 - 0,35) nego seksualni indeks dobiven u ovom istraživanju (SI = 0,38 - 0,40) u istom razdoblju praćenja (13. tjedan u godini). To upućuje na činjenicu da su u populaciji repine pipe koja prezimljuje i

šteti šećernoj repi na istoku Hrvatske brojnije ženke u trenutku izlaska s prezimljenja u odnosu na istraživanja provedena u Srbiji. No, njihovo je istraživanje obuhvatilo izlazak repine pipe u obje godine tijekom dvaju tjedana, do 15. tjedna u godini.

Tijekom travnja, jedan do dva tjedna nakon izlaska s prezimljenja, repina se pipa kreće hodanjem po tlu u potrazi za hranom prema novozasijanim poljima šećerne repe. Porastom temperature štetnik spolno sazrijeva i već dva do tri tjedna nakon izlaska s prezimljenja počinje letjeti i kopulirati (Čamprag, 1984). Dominacija ženki u kopulaciji mogući je pokazatelj povećanja broja repine pipe na tom području. Odnos spolova u trenutku kopulacije na novozasijanim repištima pokazatelj je visine buduće populacije.

ZAKLJUČAK

Izlazak repine pipe s prezimljenja bio je najintenzivniji u 14. tjednu u godini na lokalitetu Tovarnik, odnosno u 13. tjednu u godini na lokalitetu Dalj. Broj se štetnika koji izlaze s prezimljenja u idućim tjednima praćenja smanjuje.

U početku izlaska repine pipe s prezimljenja broj je mužjaka veći u odnosu na broj ženki. Sredinom travnja (15. tjedan u godini) odnos mužjaka i ženki se izjednačava te od 16. tjedna u godini populacijom dominiraju ženke. Sukladno tome, seksualni indeks raste u korist ženki. Tijekom 16. tjedna u godini SI na lokalitetu Tovarnik bio je 0,61 i na lokalitetu Dalj do 0,63, što upućuje na činjenicu da je udjel ženki u populaciju narastao i da je u vrijeme kada počinje kopulacija i odlaganje jaja veći od 60 %.

LITERATURA

AUERSCH, O. (1954). Über die vorbereitung, Biologie, Histologie und Epidemiologie des Rübenderbrüsslers (*Bothynoderes punctiventris* Germ.). Wissenschaftliche Zeitschrift der Martin-Luther-Universität Halle Wittenberg (3): 601-658.

BAŽOK, R., BUKETA, M., LOPATKO, D., LIJKAR, K. (2012). Suzbijanje štetnika šećerne repe nekad i danas. Glasilo biljne zaštite, 12(5), 414-428.

BOGDANOV, V. (1965). Zavisimost između temperaturnoj, intenzivnostju pitanija i količestvom otloženih jaic u obilknovenavo (*Bothynoderes punctiventris* Germ.) i černavo (*Psalidium maxillosum* F.) sveklovičnih dolgonosikov. Hemizacija poljoprivrede, 9/12, Beograd.

ČAMPBRAG, D. (1963). Prognoza pojave repine pipe. U mnogim mestima Bačke i Banata može se ovog proleća očekivati jaka pojava obične repine pipe. Novi Sad, Poljoprivrednik, pp 387.

ČAMPBRAG, D., MIHAJLOVIĆ, B. (1973). Štetočine šećerne repe u Jugoslaviji, Mađarskoj, Rumuniji i Bugarskoj, sa posebnim osvrtom na važnije štetne vrste. Poljoprivredni fakultet, Institut za zaštitu bilja, Novi Sad, 363(16): 343-352.

ČAMPBRAG, D. (1984). Repina pipa (*Bothynoderes punctiventris* Germ.) i njeno suzbijanje. Nolit, Beograd.

DRMIĆ, Z. (2016). The sugar-beet weevil (*Bothynoderes punctiventris* Germ. 1824. Col: Curculionidae): life cycle, ecology and area wide control by mass trapping. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet. Zagreb.

GOTLIN ČULJAK, T. JURAN, I. (2014). Raznolikost vrsta potporodice Meligethinae u usjevima uljane repice u Hrvatskoj. Glasilo biljne zaštite, 14(6), 443-449.

KOVAČEVIĆ, Ž. (1929). Über die wichtigsten Schädlinge der Kulturpflanzen in Slawonien und Bačka. Berlin, Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Angewandte Entomology.

KOVAČEVIĆ, Ž. (1961) Primjenjena entomologija. II knjiga. Poljoprivredni štetnici. Poljoprivredni nakladni zavod. Zagreb, 15–119.

LONČARIĆ, Z., RASTIJA, D. (2014). Plodnost i tipovi tala u pograničnom području. U: Plodnost i opterećenost tala u pograničnome području (Z. Lončarić ur.). Osijek. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku, pp 15-18.

MANOLACHE, F., MOKLOVA, I. (1961). The action of BHC preparations on the root structure of beet. Bucharest Inst Agron N Balcescu Lucr Stiint Ser A. 93-100.

TIELECKE, H. (1952). Biologie, Epidemiologie und Bekämpfung des Rübenderbrüsslers (*Bothynoderes punctiventris* Germ.). Beiträge zur Entomologie, band 2, NR 2/3: 256-315. 112.

TOMAŠEV, I., SIVCEV, I., UJVÁRY, I., TÓTH, M. (2006). Attractant-baited traps for the sugar-beet weevil *Bothynoderes (Cleonus) punctiventris*: Preliminary study of application potential for mass trapping. Crop Protection 26(9): 1459-1464.

TÓTH, M., SIVCEV, I., TOMAŠEV, I., SZAUKÁN, I., IMERI, Z., UJVÁRY, I. (2002). Development of a new pheromone trap design for capture of the sugar-beet weevil (*Bothynoderes punctiventris* Germar.) (Coleoptera, Curculionidae). Növényvédelem, 38, 145-152.

TÓTH, M., UJVÁRY, I., SIVCEV, I., IMREI, Z., SZARUKÁN, I., FARKAS, O., GÖMÖRY, Á., GÁCS-BAITZ, E., FRANCKE, W. (2007). An aggregation attractant for the sugar-beet weevil *Bothynoderes (Cleonus) punctiventris*. Entomologia experimentalis et applicata, 122(2), 125-132.

DESTRUKTIVNE METODE ISTRAŽIVANJA VIJABILNOSTI SJEMENA PELINOLISNOG LIMUNDŽIKA (*Ambrosia artemisiifolia* L.)

Matej BATINIĆ,* Valentina ŠOŠTARČIĆ, Mirela JAGANJAC, Barbara ĐUKIĆ,
Maja ŠĆEPANOVIĆ

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod herbologiju, Svetošimunska
cesta 25, 10000 Zagreb

*Izvod iz diplomskog rada „*Usporedba destruktivnih metoda za utvrđivanje
vijabilnosti sjemena korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* L.*“ Sveučilište u
Zagrebu Agronomski fakultet

mscepanovic@agr.hr

Prihvaćeno: 2017-11-22

Za procjenu dinamike nicanja korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* L. potrebno je ustanoviti udjel vijabilnog sjemena u banci sjemena tla. Vizualno nije moguće razdvojiti dormantno od klijavog i mrtvog sjemena pa je sjeme potrebno dodatno testirati. Destruktivne metode određivanja vijabilnosti bili su test klijavosti + tetrazol (TTC), samostalan TTC te crush-test (test pritiska). Budući da svaka od navedenih metoda ima određena ograničenja te da su tetrazol i crush-test u određenom dijelu subjektivne metode, cilj je ovoga rada bio usporediti destruktivne metode određivanja vijabilnosti sjemena i ustanoviti daju li TTC i crush-test pouzdane i ponovljive rezultate. Laboratorijsko je istraživanje provedeno na sjemenu pelinolisnog limundžika prikupljenom u rujnu 2014. na lokalitetu Popovača. U pokusu I) sjeme pelinolisnog limundžika testirano je testom klijavosti + TTC testom, TTC testom i crush-testom. Pokus II) podijeljen je na provjeru pouzdanosti TTC-a i crush-testa. Kod TTC testa u pokusu a) testirana je razlika u vizualnoj percepciji dvaju različitih ocjenjivača i istog ocjenjivača u vremenskom odmaku između dvaju ocjenjivanja (60 min.), a u pokusu b) cilj je bio odrediti eventualne razlike između ocjena istog ocjenjivača za obje polovice istog sjemena te ocjene jednog ocjenjivača jedne polovice sjemena s ocjenom drugog ocjenjivača druge polovice sjemena. Kod crush-testa određivana je razlika između dvaju ocjenjivača gdje je jednu polovicu sjemena ocjenjivao prvi, a drugu polovicu drugi ocjenjivač. Rezultati istraživanja pokazuju da ne postoje veće razlike u vijabilnosti sjemena između testa klijavosti + TTC testa, TTC testa ni crush-testa. Prva ocjena TTC testa istog ocjenjivača u vremenskom odmaku od 60 minuta u odnosu na drugu ocjenu nije znatno promijenjena. Također, rezultati usporedbe prve i druge ocjene obaju ocjenjivača pokazuju da su na sličan način procjenjivali vijabilnost sjemena što potvrđuje pouzdanost i ponovljivost TTC testa. Međutim, polovice istog sjemena pelinolisnog limundžika nisu jednako ocijenjene kod obaju ocjenjivača (pokus b). Crush-test daje objektivne rezultate

procjene vijabilnosti sjemena pelinolisnog limundžika jer njime nije ustanovljena znatnija razlika u procjeni vijabilnosti između dvaju ocjenjivača.

Ključne riječi: pelinolisni limundžik, crush-test, test klijavosti, tetrazol-test, vijabilnost sjemena

DESTRUCTIVE METHODS FOR VIABILITY TEST OF *Ambrosia artemisiifolia* L.

SUMMARY

In order to estimate the germination dynamic of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) it is necessary to determine percentage of viable seed in the soil seed bank. Since it is impossible to visually distinguish dormant from germinating and dead seed, it is necessary to conduct some additional tests. Destructive methods to test seed viability are: germination test + tetrazolium (TTC), individual tetrazolium (TTC) and crush test. Each of these methods has some limitations and since tetrazolium and crush test are in certain part subjective methods, the aim of this research was to: I) compare the viability results of destructive methods and II) to determine if TTC test and crush test can give reliable and repeatable results. Laboratory research was conducted on common ragweed seed which was collected in September 2014 in Popovača. In experiment I seed was tested through germination test + TTC test, individual TTC test and crush test. Experiment II was separated on reliability of testing TTC and crush test. In TTC test in experiment a difference in visual perception of 2 evaluators and the same evaluator in time interval between 2 evaluations (60') was tested, and in experiment b aim was to determine possible differences between evaluations of the same evaluators for both halves of same seed, and to compare evaluations from 1st evaluator who evaluated one half of the seed with another half which was evaluated by 2nd evaluator. In crush test, difference between two evaluators was determined where one seed half was evaluated by 1st evaluator and other half by 2nd evaluator. Results showed that there were no significant difference in seed viability between germination test + TTC test, individual TTC test and crush test. First evaluation in TTC test from the same evaluator in time lag from 60 minutes compared to another one, was not significantly changed. Also, the results of the comparison of the first and second evaluations of both evaluators indicate that they evaluated the viability of the seed in a similar way, confirming the reliability and repeatability of the TTC test (experiment a). The halves of the same seed of common ragweed were not evaluated the same by both evaluators (experiment b). Crush test gave objective results in seed viability estimation because with this test it was not determined significant difference in assessment of viability between both evaluators.

Key words: *Ambrosia artemisiifolia* L., crush-test, germination test, tetrazol test, seeds viability

UVOD

Pelinolisni limundžik (*Ambrosia artemisiifolia*) jedna je od najvažnijih korovnih vrsta današnjice široj javnosti najviše poznata po prekomjernoj produkciji peluda koji uzrokuje alergijske reakcije kod ljudi i životinja. Na ruderalnim mjestima, gdje najčešće raste kao biljka soliter, može stvoriti i do 8 milijuna peludnih zrnaca (Mezei i sur., 1995). Procjenjuje se da će klimatske promjene pogodovati i daljnjem širenju ove vrste što dodatno može utjecati na zdravlje alergičnih ljudi (Chapman i sur., 2016).

Iako alergeni pelud pričinjava zdravstvene probleme, uspješno dugoročno suzbijanje ove korovne vrste moguće je jedino ako se priječi unos i reducira potencijal iz banke sjemena tla. Pelinolisni limundžik proizvodi velike količine sjemena koje u tlu ostaju vijabilne i nekoliko desetaka godina predstavljajući izvor zakorovljenosti u sljedećim godinama. Ujesen, nakon fiziološkog dospijea sjemena, roška pelinolisnog limundžika dospijeva u tlo obogaćujući banku sjemena tla. Već u trenutku osipanja sjeme posjeduje primarnu dormantnost, odnosno nije odmah sposobno klijati. Ulaskom u tlo sjeme prelazi u sekundarnu dormantnost u kojoj i dalje nije sposobno za klijanje. Da bi sjemenke mogle klijati, moraju tijekom zimskog razdoblja proći fazu stratifikacije u hladnim i vlažnim uvjetima tla. Sjeme pelinolisnog limundžika tako može prolaziti kroz ove ciklične dormantnosti i nekoliko puta, čak i do 40 sezona (Baskin i Baskin, 1977). Upravo je ciklična dormantnost sjemena glavni razlog razvučenog razdoblja nicanja pelinolisnog limundžika što otežava njegovo suzbijanje u poljoprivrednim usjevima, ali i produžava razdoblje polinacije alergenog peluda.

S obzirom na to da je pelinolisni limundžik biljna vrsta koja proizvodi velike količine sjemena (Fumanal i sur., 2007) koje ostaju u banci sjemena tla dormantne i nekoliko desetaka godina (Toole i Brown, 1946), dinamika će populacije ovisiti o rezervama sjemena u banci sjemena tla. Stoga se poznavanjem sastava i gustoće sjemenki korova u banci sjemena tla može predvidjeti buduća zakorovljenost, ali i procijeniti učinkovitost svih prethodno provedenih mjera suzbijanja na dotičnoj površini.

Najčešće korištena metoda analize banke sjemena tla je metoda ispiranja gdje se suspenzija ispire kroz sustav sita kako bi se izdvojile sjemenke iz tla. Da bi se međutim saznalo jesu li izdvojene sjemenke žive, potrebno je provoditi dodatne testove za određivanje vijabilnosti sjemena. Iako postoje i nedestruktivne metode (određivanje tipa sjemena na osnovi mase sjemena, sposobnosti električne provodljivosti te na osnovi sposobnosti bubrenja), najčešće su metode određivanja vijabilnosti sjemena korištene i u ovome radu destruktivne metode: test klijavosti + tetrazol-test, samostalni tetrazol-test (TTC) i crush-test.

Test klijavosti standardna je metoda određivanja klijavosti svih biljnih vrsta i jedna je od najčešće korištenih metoda jer je prilično jednostavna i lako

dostupna metoda. Ovim se testom dobije podatak o postotku klijavih sjemenki unutar određene sjemenske populacije, međutim nije moguće dobiti informaciju o broju živih (dormantnih) sjemenki unutar te populacije. Stoga je sve nepoklijalo sjeme potrebno dodatno testirati tetrazol-testom. U TTC testu koristi se trifenil tetrazol klorid, bijeli prah topiv u vodi koji se koristi kao redoks indikator u biokemijskim pokusima, a ukazuje na dijelove tkiva u kojima se odvija stanično disanje. Priznat je kao ispravan test za određivanje vijabilnosti sjemena i jedna je od najpopularnijih tehnika određivanja vijabilnosti korova u 21. stoljeću (Borza i sur., 2007), iako je otkriven 1949. (Lakon, 1949), a na našim područjima upotrebljavan i 80-ih godina prošlog stoljeća (Ujević i Ujević, 1982). Uvođenjem ovoga testa, s testom klijavosti ili bez njega, znatno je unaprijeđeno određivanje vijabilnog sjemena unutar sjemenske populacije. Naime, industrija sjemena treba u kratkom vremenu informacije o vijabilnosti kako bi donijeli brze odluke u marketingu sjemena (Elias i Garay, 2004), što se može postići upravo ovim testom. U nekim institucijama za ispitivanje kvalitete sjemena dopušteno je izdavati certifikat o vijabilnosti sjemena baziran na tetrazol- testu, dok se test klijavosti ne dovrši do kraja. Prednost je TTC testa brza procjena vijabilnosti sjemena. Nedostatak ovog testa leži u njegovoj nepraktičnosti jer je potrebno imati određeno znanje kako ne bi došlo do krive evaluacije. Crush-test je vremenski kraća opcija od TTC testa i smatra se njegovom alternativom. U ovome se testu koristi pritisak na sjeme kako bi se nakon oštećenja sjemene ovojnice vidio tekući sadržaj koji sjemenke izbacuju iz živih stanica nakon pritiska (Borza i sur., 2007).

S obzirom na to da svaka od navedenih metoda ima određena ograničenja te da su TTC test i crush-test u određenom dijelu subjektivne metode, cilj je ovoga rada bio usporediti tri destruktivne metode određivanja vijabilnosti sjemena (testom klijavosti + TTC test, TTC testom i crush-testom) i ustanoviti postoje li između TTC testa i crush-testa razlike u pouzdanosti ovisno o subjektivnosti različitih ocjenjivača i mogućnost ponovljivosti istih.

MATERIJALI I METODE RADA

Sjeme korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* prikupljeno je na lokalitetu u Popovači (N 45056' 22" E 16068' 11") u zapuštenom vinogradu u rujnu 2014. Laboratorijsko istraživanje provedeno je na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, na Zavodu za herbologiju. Istraživanje je podijeljeno na dva dijela: I) Određivanje vijabilnosti sjemena pelinolisnog limundžika destruktivnim metodama: test klijavosti + TTC test, TTC test te crush-test te II) Određivanje pouzdanosti i ponovljivosti rezultata TTC testa i crush-testa procjenom razlika u ocjeni između dvaju ocjenjivača i ponovnom ocjenom nakon 60 min. Opis pojedinih metoda istraživanja u skladu s navedenim ciljevima istraživanja prikazan je u nastavku teksta.

I) Određivanje vijabilnosti sjemena pelinolisnog limundžika destruktivnim metodama

Test klijavosti + tetrazol-test

Sjemenke pelinolisnog limundžika postavljene su u sterilizirane Petrijeve zdjelice na filter-papir. Posijano je 100 sjemenki pelinolisnog limundžika u četiri repeticije. Potom su Petrijeve zdjelice stavljene u klima-komoru na temperaturni režim od 25 °C/15 °C s fotoperiodom od 12 sati dana i 12 sati noći. Klijavost je provjeravana tri puta tjedno tijekom tri tjedna. Prokljalim sjemenom smatrano je sjeme s vidljivom radikulom > 1 mm.

Vijabilnost sjemena (V_1) određena je prema sljedećoj formuli (Borza i sur., 2007):

$$V_1 = \frac{G + CR}{N} \times 100$$

gdje G predstavlja prokljale sjemenke, CR potencijalno žive sjemenke, a N ukupan broj posijanih sjemenki.

Klijavost je praćena tri tjedna, nakon čega je neprokljalo sjeme podvrgnuto tetrazol-testu. Neprokljalo sjeme potopljeno je u vodu 17 sati, na sobnoj temperaturi od 25 °C te je idući dan prepolovljeno na dvije polovice. Veća je polovica stavljena u eppendorf-epruvete i potopljena u otopinu trifenil tetrazol klorida na 24 sata na 30 °C te obavljena ocjena obojenosti embrija (slika 1). Sve sjeme u istraživanju koje je procijenjeno kao djelomično obojeno (0,5) tretirano je kao mrtvo sjeme (Karrer i sur., 2016). Postotak vijabilnost sjemena nakon provođenog TTC testa (V_2) određen je prema sljedećoj formuli (Borza i sur., 2007):

$$V_2 = \frac{G + T}{N} \times 100$$

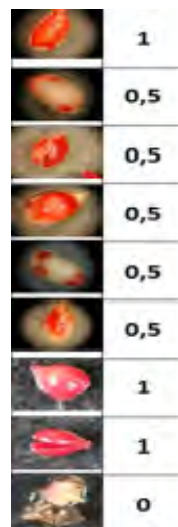
gdje G predstavlja prokljale sjemenke, T neprokljale sjemenke pozitivne na T test, a N ukupan broj posijanih sjemenki.

Tetrazol-test

TTC test proveden je i bez prethodnog provođenja testa klijavosti. Upotrijebljeno je 100 sjemenki pelinolisnog limundžika. Metoda provođenja tetrazol-testa identična je kao kod gore opisanog tetrazol-testa provedenog na neprokljalim sjemenkama testa klijavosti.

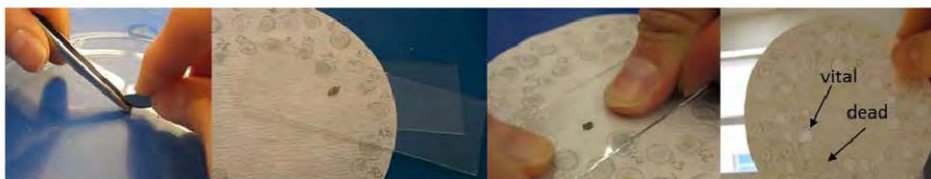
Slika 1. Klasifikacija obojenosti za korovnu vrstu *Ambrosia artemisiifolia* (<http://ragweed.eu/>)

Fig. 1 Color classification for weed species *Ambrosia artemisiifolia* (<http://ragweed.eu/>)



Crush test

Crush-test proveden je na 100 sjemenki pelinolisnog limundžika. Sjeme je prepolovljeno i obje su polovice pritisnute uz pomoć predmetnog stakalca te je promatrana prisutnost vodenog traga na filter-papiru. Ako je uočen mokri trag, sjeme je klasificirano kao živo, a ako je filter-papir ostao suh, kao mrtvo sjeme (slika 2.).



Slika 2. Postupak provedena crush-testa (izvor: <http://ragweed.eu>)

Fig. 2 Procedure implementation of crush testa (izvor: <http://ragweed.eu>)

II) Pouzdanost i ponovljivost rezultata ocjene vijabilnosti sjemena destruktivnim metodama

Metoda provođenja tetrazol i crush-testa bila je identična metodi opisanoj u poglavlju I. Pri izvedbi ovog dijela testa uzeto je po 100 sjemenki u dvije serije za tetrazol-test i za crush-test. Provjera ponovljivosti tetrazol-testa sastojala se od dvaju paralelnih pokusa (a i b), a sudionici pokusa bila su dva ocjenjivača (A i B). Pokus a) uključivao je rezanje 100 sjemenki pelinolisnog limundžika te stavljanje samo veće polovice u otopinu trifenil tetrazol klorida. Cilj je bio ustanoviti postoji li razlika u vizualnoj percepciji između dvaju ocjenjivača (A i B) te isto u odnosu na vremenski odmak između ocjenjivanja. Prvi ocjenjivač (A) vizualnom ocjenom procjenjuje obojenje odmah nakon vađenja sjemena pelinolisnog limundžika na filter-papir iz otopine TTC-a. Druga ocjena istog ocjenjivača (A) obavljena je sat vremena nakon prve ocjene. Drugi ocjenjivač (B) na isti je način ocijenio istraživano sjeme. Pokusom b) cilj je bio odrediti eventualne razlike između ocjena istog ocjenjivača za obje polovice istog sjemena te ocjene jednog ocjenjivača jedne polovice sjemena s ocjenom drugog ocjenjivača druge polovice sjemena. Za potrebe provođenja ovog testa korištene su obje polovice 100 sjemenki pelinolisnog limundžika. Svaka je sjemenka razrezana na dva jednaka dijela i obje su sjemene polovice stavljene u zasebne eppendorf-epruvete na kojima su brojevima i slovima označeni parovi polovica, npr. 1A, 1B, 2A, 2B, itd. U svaku eppendorf-epruvetu dodano je 2 ml otopine trifenil tetrazol klorida. Objе sjemene polovice prvo je ocijenio prvi ocjenjivač (A), a zatim drugi ocjenjivač (B).

Kod provođenja crush testa cilj je bio utvrditi pouzdanost odnosno ponovljivost ove metode ovisno o istraživaču (ocjenjivaču). Sjeme je prepolovljeno. Prvu polovicu sjemena ocjenjivao je prvi ocjenjivač (A), dok je drugi ocjenjivač (B) na isti način ocjenjivao drugu polovicu.

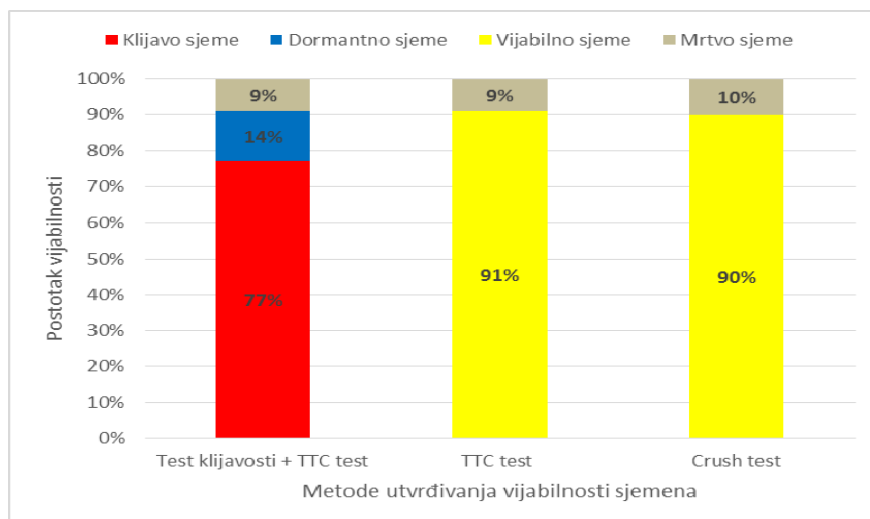
Podatci o vijabilnosti sjemena ustanovljeni TTC i crush-testom statistički su obrađeni Kappa- testom (Altman, 1991) tako da je određivan postotak

identičnih odgovora pomoću Kappa-statistike, koja je dobar pokazatelj ujednačenosti dviju ili više metoda, uzimajući u obzir njihovu slučajnu pojavnost kad dva ocjenjivača ocjenjuju istu stvar. Kappa-koeficijent je uvijek manji ili jednak 1. Vrijednost 1 podrazumijeva savršeno poklapanje ocjena, a vrijednosti manje od 1 podrazumijevaju manje poklapanje ocjena. Prema istom autoru loša je pouzdanost kad je koeficijent manji od 0,20, slaba pouzdanost kad je 0,20 – 0,40, umjerena 0,40 - 0,60, dobra pouzdanost kod 0,60 - 0,80 te vrlo dobra pouzdanost kad koeficijent izosi 0,80 – 1,00

REZULTATI I RADA

I) Rezultati destruktivnih metoda određivanja vijabilnosti sjemena korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* L.

Testom klijavosti ustanovljeno je 77 % klijavog sjemena korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia*. Naknadnim provođenjem tetrazol-testa na neprokljalim sjemenkama nakon provedenog testa klijavosti, ustanovljeno je da od 23 % neprokljalih 14 % predstavlja dormantno, a kod 9 % je bilo mrtvo sjeme. Prema tome, u uzorku je ustanovljeno 91 % vijabilnog sjemena. Kod metode određivanja vijabilnosti sjemena istraživane vrste samo TTC testom je ustanovljeno također 91 % vijabilnog sjemena i 9 % mrtvog sjemena u populaciji. Gotovo isti rezultati (90 %) o vijabilnosti sjemena pelinolisnog limundžika dobiveni su i provedbom crush-testa (graf 1.).



Grafikon 1. Usporedba rezultata triju istraživanih destruktivnih metoda određivanja vijabilnosti sjemena

Fig. 1 Comparison of the results of three destructive methods for seed viability detection

II) Pouzdanost i ponovljivost rezultata subjektivne ocjene tetrazol i crush testom

Tetrazol-test (pokus a)

Statističkom analizom dobivenih podataka ustanovljen je postotak identičnih odgovora između dvaju ocjenjivača i vremenskog odmaka između ocjenjivanja jednog ocjenjivača (tablica 1.).

Tablica 1. Usporedba vizualne percepcije ocjenjivača (A i B) te vremenskog odmaka između ocjenjivanja na jednoj polovici sjemena

Table 1 Comparison of the visual perception of the evaluator (A and B) and the time lag between the evaluation of one half of the seed

Ocjenjivač	Sjeme identično ocijenjeno (%)	Kappa koeficijent
A –A	99	0,98
B –B	92	0,84
A ₁ –B ₁	94	0,88
A ₂ –B ₂	95	0,90

A-A = 1. ocjena ocjenjivača A odmah i 2. ocjena nakon 60'

B-B = 1. ocjena ocjenjivača B odmah i 2. ocjena nakon 60'

A₁-B₁ = 1. ocjena ocjenjivača A i 1. ocjena ocjenjivača B

A₂-B₂ = 2. ocjena ocjenjivača A i 2. ocjena ocjenjivača B

Ocjena vijabilnosti sjemena kod obaju ocjenjivača vrlo je pouzdana (Kappa-koeficijent 0,84 -0,98). Ocjenjivač A ima 99 % istih odgovora uspoređujući prvu i drugu ocjenu, a ocjenjivač B 92 % istih odgovora. Osim toga vidi se da se prva ocjena ocjenjivača A i prva ocjena ocjenjivača B poklapaju u čak 94 % odgovora, odnosno 95 % kod druge ocjene.

Tetrazol-test (pokus b)

Ocjene vijabilnosti obaju ocjenjivača (A i B) između prve i druge polovice sjemenki kreću se od 46 do 57 % identičnih ocjena (tablica 2.) što je Kappa-koeficijentom protumačeno kao loša pouzdanost. Kod ocjenjivača A poklapanje ocjena između prve i druge polovice sjemena iznosi 57 % istih ocjena, a kod ocjenjivača B 46 %. Kad je prvu polovicu ocjenjivao ocjenjivač A, a drugu polovicu ocjenjivao ocjenjivač B, poklapanje ocjena iznosilo je 56 % , a kod obrnute situacije poklapanje je iznosilo 52 %.

Tablica 2. Usporedba vizualne percepcije ocjenjivača (A i B) na objema polovicama sjemena**Table 2** Comparison of the visual perception of the evaluator (A and B) on both half of the seed

Ocjenjivač	Sjeme identično ocijenjeno (%)	Kappa koeficijent
A _{1.2} - A _{2.2}	57	0,13
B _{1.2} - B _{2.2}	46	-0,07
A _{1.2} - B _{2.2}	56	0,11
B _{1.2} - A _{2.2}	52	0,03

A_{1.2} - A_{2.2} = ocjena ocjenjivača A za prvu (1.2) i drugu (2.2) polovicu sjemena

B_{1.2} - B_{2.2} = ocjena ocjenjivača B za prvu (1.2) i drugu (2.2) polovicu sjemena

A_{1.2} - B_{2.2} = ocjena ocjenjivača A za prvu (1.2) polovicu sjemena i ocjena ocjenjivača B za drugu (2.2) polovicu istog sjemena

B_{1.2} - A_{2.2} = ocjena ocjenjivača B za prvu (1.2) polovicu sjemena i ocjena ocjenjivača A za drugu (2.2) polovicu istog sjemena

Crush-test

Ocjene vijabilnosti kod 100 sjemenki iz prve serije čije su polovice ocjenjivali oba ocjenjivača, poklapaju se u 94%, a kod 100 sjemenki iz druge serije u 82% što je kappa koeficijentom protumačeno kao dobra odnosno vrlo dobra pouzdanost (tablica 3).

Tablica 3. Usporedba vizualne percepcije ocjenjivača A za prvu polovicu sjemenke i ocjenjivača B za drugu polovicu iste sjemenke**Table 3** Comparison of the visual estimation of evaluator A for the first half of the seed and B for the second half of the same seed

Serija	Ocjenjivač	Sjeme identično ocijenjeno (%)	Kappa koeficijent
1.	A-B	94	0,88
2.	A-B	82	0,64

A-B ocjena ocjenjivača A za prvu polovicu sjemena i ocjena ocjenjivača B za drugu polovicu istog sjemena

RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da se pomoću testa klijavosti u kombinaciji s TTC testom, crush-testom i samostalnim tetrazol-testom dobiju vrlo slični rezultati vijabilnosti sjemena pelinolisnog limundžika (graf 1.). Stoga će odabir odgovarajuće metode za određivanje vijabilnosti ovisiti ponajviše o potrebnim podacima, odnosno predmetu pojedinog istraživanja,

opremljenosti laboratorija te o vremenu koje istraživač ima na raspolaganju. Ako se provodi samo test klijavosti, koji je inače standardna metoda određivanja klijavosti biljnih vrsta, kod korovnih se vrsta ne dobiju potpuni podatci jer je ustanovljeno 77 % klijavih sjemenki. Stoga je ovaj test nužno kombinirati s nekom drugom metodom (tetrazol ili crush-testom) kako bi se dobili podatci o vijabilnom sjemenu, odnosno o onom sjemenu koje je potencijalno sposobno dati živu biljku. Stoga se danas u istraživanjima najčešće i koriste kombinacija testa klijavosti i tetrazol-testa za određivanje postotka dormantnog sjemena unutar određene sjemenske populacije. Rezultatima ovog istraživanja također je potvrđena kombinacija testa klijavosti i tetrazol-testa vrlo pouzdanom metodom određivanja količine nedormantnog (klijavog), dormantnog i mrtvog sjemena. Samo se kombiniranjem ovih dviju metoda mogu precizno razdvojiti ova tri stanja sjemena. Naime, samostalnim tetrazol i crush-testom dobiveni su podatci o vijabilnom i mrtvom sjemenu, ali nedostaje informacija o dormantnom sjemenu što je za kratkoročnu prognozu buduće zakorovljenosti posebice zanimljivo.

Drugi je cilj ovog istraživanja bio ustanoviti pouzdanost i ponovljivost destruktivnih metoda tetrazol i crush-testa. Pri ocjenjivanju tetrazol-testa percepcija procjene vijabilnosti kod obaju ocjenjivača nije se znatno promijenila u vremenskom odmaku od 60 minuta. Također je usporedbom ocjena obaju ocjenjivača zaključeno da su na sličan način procjenjivali vijabilnost sjemena. Kod prve ocjene istraživača A i B, ocjene su se poklapale u 94 %, a kod druge ocjene 95 %. Ovi rezultati pokazuju da tetrazol-test ne ovisi o tome tko je istraživač, što potvrđuje ponovljivost ove metode. Međutim, rezultati također pokazuju da je ocjena kod TTC testa znatno više subjektivna kad se ocjenjuju obje polovice sjemena (pokus b). Naime, ocjene ocjenjivača A i B kod prve i druge polovice sjemenki kreću se od 46 do 57 % identičnih ocjena (tablica 2.), što je statistički procijenjeno kao slabo pouzdano. Polovice istog sjemena nisu jednako ocijenjene od strane obaju ocjenjivača, a razlog tome može biti nejednoliko rezanje sjemenki odnosno neravnomjerna zastupljenost embrija u polovicama sjemena, što je vrlo važno za provođenje TTC testa. Čak i kad je isti ocjenjivač ocjenjivao obje polovice sjemena, pouzdanost je bila vrlo niska (tablica 2.). Borza i sur. (2007) također navode da točnost provođenja tetrazol-testa uvelike ovisi o iskustvu i znanju ocjenjivača i razumijevanju embrionalne strukture sjemena. Autori pogotovu ističu da je ovu metodu teško primijeniti na malim sjemenkama korova kao što su *Setaria* spp., gdje je čak nužno identificirati embrij pod znatnim povećanjem. Iako je pelinolisni limundžik korovna vrsta s nešto većim sjemenom, rezultati istraživanja također pokazuju da je dosta teško ravnomjerno razrezati sjeme kako bi se na objema polovicama mogla ustanoviti vijabilnost sjemena, što je rezultiralo niskom pouzdanošću u pokusu b. Nasuprot tome, kad se uzimala samo vizualno veća polovica sjemena (pokus a), ustanovljena je visoka podudarnost između ocjenjivača. U istraživanjima ove tematike najčešće se i uzima samo veća

polovica sjemena za procjenu vijabilnosti. Oberson (2014) također navodi da TTC test rezultira visokim postotkom sjemena jednako ocijenjenim u dva navrata od strane dvaju različitih istraživača (92 %), s ipak nešto manjom podudarnosti između istraživača nego između vremenskog odmaka istog istraživača, slično rezultatima ovog rada. Dodatno je autorica istaknula važnost namakanja sjemena u vodu prije rezanja i potapanja u trifenil klorid otopinu jer je sjeme koje nije bilo natopljeno vodom bilo slabije obojeno od namočenoga sjemena.

Pri provođenju crush-testa ustanovljeno je relativno visoko poklapanje u ocjenjivanju između dvaju ocjenjivača, s prosječno 88 % identičnih ocjena (tablica 3.). Problem nejednolikog rezanja sjemena pri provođenju TTC i crush-testa i u recentnoj se literaturi navodi kao jedan od njegovih glavnih nedostataka. Oberson (2014) navodi da kod crush-testa dvije polovice istog sjemena ne daju uvijek slične rezultate (87,5 %). Primjenjujući oba testa (TTC i crush-test) na jednoj od polovica sjemena, autorica je ustanovila 45 % vijabilnih sjemenki kod TTC-a i 88 % kod crush-testa, što pokazuje da je crush-test gotovo za dvostruko procijenio vijabilnost sjemena u odnosu na TTC test. Razlog su tomu, prema mišljenju autorice, djelomično obojene sjemenke (0,5) koje su se isto kao i u ovom radu ocjenjivale kao mrtvo sjeme. Nasuprot tome, u crush-testu već male količine tekućeg sadržaja prisutne na filter-papiru procjenjivale su to sjeme kao vijabilno. Rezultati Sawma i Mohler (2002) također pokazuju da određivanje vijabilnosti sjemena crush-testom može rezultirati odstupanjima od oko 20% u odnosu na TTC test za korovne vrste *Chenopodium album* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Amaranthus hybridus* L. i *Abutilon theophrasti* Med. Ipak, zbog svoje jednostavnosti, brzine izvođenja i nezahitjevnosti crush-test je rado odabrana metoda velikog broja istraživača, a posebice pogodna za svježe prikupljene sjemenke (pohranjeno do 8 tjedana na hladnom mjestu) pelinolisnog limundžika (Borza i sur., 2007) i kada se testira veliki broj sjemena poput određivanja banke sjemena (Sawma i Mohler, 2002). Iako se u literaturi često tetrazol-test navodi kao najpouzdaniji test, ustanovljeno je da, osim prikazanog problema pri rezanju sjemena, vijabilnost također može varirati i zbog različitog sadržaja vlage u sjemenkama. Tako se vijabilnosti sjemena parazitske vrste *Striga asiatica* (L.) Kuntze s 97 % smanjila na čak 3 % pri povećanju vlage u sjemenu te opet nakon sušenja sjemena povećala na više od 90 % (Mohamed i sur., 1998). Autori stoga sugeriraju da, kada se radi o ovoj vrsti, tetrazol-test ne može biti pouzdan pokazatelj vijabilnosti sjemena, već samo procjena klijavog potencijala pri različitoj vlažnosti sjemena. I kod TTC testa može doći do pogreške pri ocjenjivanju zbog tamnocrvenih taloga nastalih zbog mikrobnog disanja (ISTA, 1985). Stoga Sawma i Mohler (2002) zaključuju da je provođenje crush-testa znatno manje napornije od TTC testa, a pogotovu korisna zamjena za istraživanja gdje je rizik od malih pogrešaka prihvatljiviji.

Odluka o odabiru metode određivanja vijabilnosti sjemena može također ovisiti i o starosti dostupnog sjemena. Na starijim sjemenkama pelinolisnog limundžika crush-test precjenjuje procjenu vijabilnosti jer starije sjeme upije vlagu i daje pozitivne rezultate. Stoga, Karrer i sur. (2016) preporučuju primjenu tetrazol-testa kad nije poznata starost sjemena, što se uglavnom i radi kod sjemena uzetog iz tla.

ZAKLJUČCI

Podatci istraživanja pokazuju na gotovo podjednake rezultate vijabilnosti sjemena pelinolisnog limundžika u svim istraživanim destruktivnim metodama (test klijavosti + TTC test, TTC test te-crush test). Tetrazol i crush-test daju objektivne i pouzdano ponovljive rezultate na sjemenu pelinolisnog limundžika ovisno o subjektivnosti različitih ocjenjivača. Percepcija procjene vijabilnosti kod obaju ocjenjivača TTC testa nije znatno promijenjena kod dviju različitih ocjena s vremenskim odmakom od 60 minuta. Također su oba ocjenjivača na sličan način procjenjivala vijabilnost sjemena s visokom podudarnošću istih odgovora u objema ocjenama. Ipak, kad su se ocjenjivale obje polovice sjemena, podudarnost je istih ocjena bila znatno manja, što upućuje na važnost ravnomjernog rezanja sjemena. Kod crush-testa nije ustanovljena veća razlika u procjeni vijabilnosti sjemena pelinolisnog limundžika, iako su se ocjenjivale obje polovice sjemena. Zaključno, vijabilnost sjemena pelinolisnog limundžika može se ustanoviti pomoću svih istraživanih destruktivnih metoda. Odabir metode ovisi isključivo o potrebama i mogućnostima istraživača.

LITERATURA

ALTMAN, D. G. (1991). Practical statistics for medical research. London: Chapman and Hall.

BASKIN, J. M. i BASKIN, C. C. (1977). Dormancy and germination in seeds of common ragweed with reference to Beal's buried seed experiment. Amer. J. Bot. 64(9): 1174-1176. 1977.

BORZA, J. K., WESTERMAN, P. R., LIEBMAN, M. (2007). Comparing estimates of seed viability in three foxtail (*Setaria*) species using the imbibed seed crush test with and without additional tetrazol testing : Weed Technology, 21:518-522.

CHAPMAN, D. S; MAKRA, L., ALBERTINI, R., BONINI, M., PÁLDY A., RODNIKOVA, V., ŠIKOPARIJA, B., WERYSZKO-CHMIELEWSKA, E., BULLOCK, J. M. (2016). Modelling the introduction and spread of non-native species: international trade and climate change drive ragweed invasion. Global Change Biology. 2016;22:3067–3079.

ELIAS, S. i GARAY, A. (2004). Tetrazol test (TZ) a fast, reliable test to determine seed viability, Oregon State University seed laboratory, [online] (<http://seedlab.oregonstate.edu/sites/seedlab.oregonstate.edu/files/value-tz-test-2004.pdf>), pristupljeno 10. kolovoza 2017.

FUMANAL, B., CHAUVEL, B., BRETAGNOLLE, F. (2007). Estimation of pollen and seed production of common ragweed in France : Annals of Agricultural and Environmental Medicine, V. 14, p. 233–236.

ISTA – INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (1985). International rules for seed testing. Seed Sci. Technol. 13:300–520.

KARRER, G., LEITSCH-VITALOS, M., HALL, R., KONSTATINOVIC, B., SÖLTNER, U., STARFINGER, U., LESKOVSEK, R., KAZINCZI, G., CHAUVEL, B., JOHAN VAN VALKENBURG, SKALOVA, H., LEIBLEIN-WILD, M., MORAVCOVÁ, L., ULUDAG, A., MATHIASSEN, S. K., LOMMEN, S. (2016). Soil seedbank analysis of *Ambrosia artemisiifolia*, University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, [online]

([http:// internationalragweedsociety.org/smarter/wp-content/uploads/Soil-seed-bank-of-Ambrosia-art-leaflet-new 12-12-2016. pdf](http://internationalragweedsociety.org/smarter/wp-content/uploads/Soil-seed-bank-of-Ambrosia-art-leaflet-new-12-12-2016.pdf)), pristupljeno 10. kolovoza 2017.

LAKON, G. (1949). The topographical tetrazolium method for determining the germinating capacity of seeds. Pl. Physiol., Lancaster, 24, 389-94.

MEZEI, G., JARAI-KOMOLDI, M., MEDZIHRADESKY, Z., CSERHATI, E. (1995). Seasonal allergenic rhinitis and pollen count (a 5-year survey in Budapest). Orvosi Hetilap 136, 1721–1724.

MOHAMED, A. H., EJETA, G., BUTLER, L. G., HOUSLEY, T. L. (1998). Moisture content and dormancy in *Striga asiatica* seeds. Weed Res. 38:257–265.

OBERSON, A. (2014). Soil seed bank dynamics of *Ambrosia artemisiifolia*, How can we get a good estimate of amounts of viable seeds in the soil ?, Bachelor thesis, University of Fribourg (CH)

RAGWEED, (izvor: www.ragweed.eu/), pristupljeno 10. kolovoza 2017.

SAWMA, J. T. i MOHLER, C. L. (2002). Evaluating seed viability by an unimbibed weed crush test in comparison with the tetrazol test. Weed Technology. 16:781–786.

TOOLE, E. H. i BROWN, E. (1946). Final results of the Duvel buried seed experiment : Journal of Agricultural Research, v. 72, p. 201–210.

UJEVIĆ, M. i UJEVIĆ, A. (1982). Tetrazol test u komparaciji s klasičnim metodama ispitivanja kljivosti sjemena, Agronomski glasnik : Glasilo Hrvatskog agronomskog društva, Vol.44 No.5-6 Prosinac 1982., [online] (<http://hrca.srce.hr/151307>), pristupljeno 20. prosinca 2017.

**ŠTETNICI SMILJA [*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don.] U PLANTAŽNOM
UZGOJU NA PODRUČJU HERCEGOVINE**

Ivan OSTOJIC¹, Mladen ZOVKO¹, Danijela PETROVIĆ¹, Luka BOŠNJAK²
¹Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilišta u Mostaru
²Sjemenarna d.o.o., Široki Brijeg
ivan.ostojic@sjemenarna.com
Prihvaćeno: 2017-12-15

Primorsko smilje (*Helichrysum italicum*), na području Hercegovine, u posljednjih nekoliko godina postaje vrlo značajna poljoprivredna kultura koja doživljava pravu ekspanziju. Intenzivno se podižu plantažni nasadi smilja a površine su različite i kreću se od 1000 m² pa do nekoliko desetaka hektara. Danas je na području Hercegovine oko 1500 hektara pod smiljem. Kako se radi o monokulturnim nasadima na velikim površinama, počeli su se javljati štetnici koji su na nekim lokalitetima pricinili i veće štete. Istraživanje štetne entomofaune smilja provedeno je tijekom 2015. i 2016. godine na 19 lokaliteta na području općina Čitluk, Čapljina, Mostar, Široki Brijeg, Ljubuški, Grude i Posušje. U istraživanju se koristila vizualna metoda. Determinacija vrsta obavljena je na osnovi morfoloških karakteristika imaga. Tijekom istraživanja determinirano je devet štetnika smilja iz pet različitih redova kukaca. Najveće štete na smilju u obje godine istraživanja zabilježene su od gusjenica stričkova šarenjaka (*Vanessa cardui* L.). Posebno znatne štete zabilježene su na presadnicama smilja pa je na pojedinim lokalitetima zabilježeno znatno prorjeđivanje sklopa. Znatne štete na smilju na nekoliko lokaliteta s područja općine Široki Brijeg nastale su zbog ishrane imaga vrsta *Phyllobius argentatus* L. i *P. oblongus* L. Osim ovih štetnika na većini istraživanih lokaliteta pronađene su i lisne uši iz roda *Macrosiphoniella*.

Ključne riječi: Hercegovina, *Helichrysum italicum*, smilje, štetna entomofauna

**INSECT PESTS OF IMMORTELE [*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don] IN
FIELD PRODUCTION IN THE AREA OF HERZEGOVINA
SUMMARY**

In the last few years, immortelle (*Helichrysum italicum*) cultivation has experiencing rapid expansion and become a very important agricultural culture in the area of Herzegovina. Areas under immortelle are constantly increasing, and surfaces where immortelle is planted are ranging from 0.1 up to several tens of hectares. The total estimated area under immortelle in Herzegovina today is between 1500 hectares. A monoculture production system on large areas has resulted in appearing of some insect pests, causing significant damage at some sites. During two-year (2015-2016) harmful entomofauna of immortelle was

researched at 19 sites in municipalities: Čitluk, Čapljina, Mostar, Široki Brijeg, Ljubuški, Grude and Posušje. For the insect pests sampling, plants visual inspection method, were used. Insect pest's determination was performed on the basis of the morphological characteristics of the adults. In total, nine different insect species from five orders were determined. The most significant damage on immortelle plants in both years of research, was caused by larvae of painted ladies (*Vanessa cardui* L.). Particularly significant damage was noted on seedlings of the *H. italicum*, so plant density was significantly reduced on certain sites. Extensive damage caused by adults of two weevil species *Phyllobius argentatus* L. and *P. oblongus* L. at several sites in municipality of Široki Brijeg was recorded. In addition to these pests, in most investigated sites, aphids from the genus *Macrosiphoniella* were also found.

Key words: Hercegovina, *Helichrysum italicum*, immortelle, harmful entomofauna ž

UVOD

Primorsko smilje (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don.) mediteranska je biljka koja raste u sunčanim kamenjarima Dalmacije i Hercegovine i s ovih područja daje najkvalitetnije ulje. Unatrag nekoliko godina na području Hercegovine započinje plantažni uzgoj ljekovitog i aromatičnog bilja, među kojim dominira primorsko smilje. Površine pod nasadima smilja različite su i kreću se od nekoliko stotina kvadrata pa sve do desetak hektara. Veći se nasadi uglavnom podižu na površinama koje nastaju kultiviranjem krša, dok su oni manji uglavnom na tzv. obradivim površinama na kojima su se u prošlosti uzgajale različite poljoprivredne kulture. Prema neslužbenim informacijama Grupacije proizvođača i prerađivača smilja, do sada u Hercegovini na području Neuma, Stoca, Ravnog, Širokog Brijega, Posušja, Mostara, Gruda, Ljubuškog, Čitluka, Čapljine i Tomislavgrada smiljem zasađene površine iznose oko 1500 hektara. Dugotrajnost je smilja u plantažnom uzgoju desetak godina. U drugoj godini nakon sadnje može se ostvariti prinos od oko 200 grama po biljci. U trećoj je godini prinos oko 300 grama, dok je u punoj rodnosti (od četvrte do osme godine uzgoja) prinos 400 - 500 grama. U posljednje dvije godine uzgoja prinos je niži i kreće se u rasponu 200 - 300 grama (Džubur, 2017). Otkupna cijena svježeg ubranog smilja zadnjih godinu dana postupno opada, što je usporilo podizanje novih nasada smilja.

Naglo širenje uzgoja jedne biljke u jednom području, kao na primjer smilja na širem prostoru Hercegovine, često prati i progresija različitih problema u proizvodnji među kojima važno mjesto zauzima i pojava štetnika i uzročnika biljnih bolesti (Beljo i sur., 2016). Budući da se smilje u posljednje vrijeme u ovom području uzgaja plantažno na lokalitetima na kojima do tada nije zabilježen njegov uzgoj, očekivali bismo da štetnici i uzročnici bolesti smilja ne predstavljaju ozbiljniji problem u proizvodnji, pogotovu zato što se za štetnike i uzročnike bolesti smilja prije njegovog znatnijeg plantažnog uzgoja na ovom

području gotovo nije ni znalo. Međutim, pojedine specifičnosti klimatskih, zemljišnih i drugih agroekoloških uvjeta određenog lokaliteta i podneblja te tradicija pri korištenju određenih agrotehničkih mjera i specifična povijest uzgoja pojedinih biljaka mogu biti od presudnog značenja za uspjeh u proizvodnji pojedinih biljnih vrsta i pojavu štetnika i uzročnika bolesti, što se u praksi jasno pokazalo i na primjeru uzgoja smilja. Kako se radi o monokulturnim nasadima smilja na velikim površinama tijekom 2015., a osobito tijekom 2016. godine, počeli su se javljati štetnici koji su na nekim lokalitetima pričinili i veće štete. Uglavnom se javljaju polifagni štetnici iz reda Lepidoptera, ali i štetnici iz reda Coleoptera, Hemiptera, Diptera i Thysanoptera. Njihovo je suzbijanje dosta otežano jer se proizvođači odlučuju na ekološku proizvodnju pa je i izbor pripravaka dosta ograničen.

PREGLED LITERATURE

Istaknutiji štetnici presadnica smilja u zaštićenim prostorima jesu kalifornijski trips (*Frankliniella occidentalis* Pergande) te lisne uši iz roda *Macrosiphoniella* koje mogu pričiniti velike štete (Ostojić i sur., 2016). Lisne uši iz ovog roda javljaju se i na sadnicama smilja u proizvodnim nasadima. U istraživanjima provedenim 2007. i 2008. godine Wrzesińska i Sawilska (2009) navode *Macrosiphoniella janckeii* Börner kao lisnu uš koja se javlja na smilju (*Helichrysum arenaria* L.). U istraživanjima faune lisnih uši na području regija Campania i Lazio (Italia), Barbagallo i Massimino Cocuzza (2014) kao vrstu koja dolazi na smilju (*H. italicum*) navode lisnu uš *Macrosiphoniella helichrysi* Remaudière.

Problem sa štetnicima smilja izraženiji je u uzgoju na otvorenom. Sredinom i krajem travnja 2016. godine od gusjenica stričkova šarenjaka (*V. cardui* L.) zabilježene su štete na mladim sadnicama smilja (*H. italicum*) kod plantažnog uzgoja na području Hercegovine. Štete su posebno bile izražene na sadnicama smilja koje su sađene u jesen 2015. te u proljeće 2016. godine. Na mladim su sadnicama bile prisutne 2 - 3 gusjenice (Ostojić i sur., 2016; Zovko i sur., 2016). Na nekoliko lokaliteta (Knešpolje, Uzarići i Potpolje) zabilježene su štete i na biljkama smilja starosti 3 - 4 godine na kojima je bilo i po tridesetak gusjenica. Na ovim su lokalitetima štete bile vidljive u obliku oaza ili plješina s po desetak biljaka koje su bile jako oštećene (Beljo i sur., 2016). Na lokalitetu Uzarići tijekom travnja 2015. godine zabilježene su ekonomski važne štete na biljkama starosti četiri godine. Pojedine su biljke bile potpuno uništene od gusjenica stričkova šarenjaka, a na nekim je sadnicama pronađeno više od 100 gusjenica stričkova šarenjaka (Ostojić i sur., 2016).

Kao štetnike smilja (*H. arenaria*) na području Poljske Wrzesińska i Sawilska (2010) ističu stričkova šarenjaka (*V. cardui*). Od drugih štetnika iz reda Lepidoptera isti autori navode vrste *Bucculatrix gnaphaliella* (Treitschke, 1833), *Eublemma minutata* (Fabricius, 1794), *Pyrausta aerealis* (Hübner, 1793) i *Coleophora gnaphalii* (Zeller, 1839). Osim gusjenica stričkova šarenjak veće štete

u nasadima smilja na području Hercegovine pričinjavaju i listojedi, među kojima veće značenje ima srebrni listojed (*Phyllobius argentatus* L.). Tijekom svibnja i početkom lipnja 2016. godine štetnik je u većem broju zabilježen na nekoliko lokaliteta u Širokom Brijegu (Gornji Gradac, Donji Gradac, Uzarići). Osobito su bili ugroženi nasadi u blizini šuma u kojima je po jednoj biljci smilja starosti 1 godine pronađeno i po desetak jedinki (Beljo i sur., 2016). Tijekom cijelog vegetacijskog razdoblja smilje je izloženo napadu štetnika. Pri proizvodnji sadnica najčešće se javljaju šampinjonska mušica (*Sciaridae*), podgrizajuće sovica (*Agrotis* sp.) i gusjenice moljaca. Isti se štetnici mogu naći i na sadnicama posađenim u polju. Osim navedenih štetnika smilje napadaju lisne uši (*Aphididae*), štītaste uši (*Coccidae*), kalifornijski trips (*F. occidentalis*), lisni mineri (*Liriomyza* spp.) i gusjenice iz porodice *Nymphalidae*. Na području Hercegovine determinirana je gusjenica stričkova šarenjaka (*Vanessa cardui*) (Džubur 2017).

U istraživanjima štetnika smilja (*H. italicum*) na području Hercegovine (Ostojić i sur., 2016; Zovko i sur., 2016) navedeno je desetak vrsta štetnika smilja: gusjenice sovica pozemljuša, lisne uši, kalifornijski trips, srebrni i smeđi listojed, gusjenice stričkova šarenjaka.

MATERIJALI I METODE RADA

Istraživanje štetne entomofaune smilja (*H. italicum*) na području Hercegovine provedeno je tijekom 2015. i 2016. godine na 19 lokaliteta u sedam Općina, odnosno dvije Županije. Na području općine Čapljina istraživanje je provedeno na lokalitetima Tasovčići (43°06.373'N; 17°43.414'E) i Zvirovići (43°09.146'N; 17°40.208'E). U općini Čitluk istraživanje je provedeno na četirima lokalitetima: Potpolje (43°13.442'N; 17°40.546'E), Blizanci (43°13.089'N; 17°43.558'E), Bašaga (43°13.375'N; 17°40.596'E) i Općuš (43°13.206'N; 17°40.837'E). Lokaliteti s područja općine Ljubuški na kojima je provedeno istraživanje jesu: Mostarska Vrata (43°12.847'N; 17°34.564'E), Cerno (43°11.904'N; 17°36.348'E), Crnopod (43°11.046'N; 17°37.229'E) i Kravice (43°10.562'N; 17°35.580'E). Na području općine Široki Brijeg istraživanje je provedeno na lokalitetima: Uzarići (43°19.322'N; 17°38.289'E), Međine (43°20.444'N; 17°42.580'E), Donji Gradac (43°22.869'N; 17°38.570'E) i Gornji Gradac (43°23.499'N 17°38.136'E). Na području općine Grude istraživanje je provedeno na trima lokalitetima: Višnjica (43°22.393'N; 17°25.818'E), Dužice (43°21.393'N; 17°25.818'E) i Pogana Vlaka (43°20.055'N; 17°26.683'E). Na području Mostara istraživanje je provedeno na lokalitetu Sretnice (43°16.550'N; 17°43.142'E), a na području općine Posušje na lokalitetu Batin (43°27.315'N; 17°20.537'E). Istraživanjima su obuhvaćeni nasadi smilja koji su podignuti na terenima nastalim kultiviranjem krša, ali i oni nasadi podignuti na obradivim površinama na kojima su se u prošlosti uzgajale različite poljoprivredne kulture. Istraživanja su trajala tijekom vegetacije (travanj - studeni), a u istraživanjima se koristila vizualna metoda pregleda. Nasadi su

smilja pregledavani dva puta mjesečno. U nasadima smilja površine do 1 hektara pri svakom pregledu nasumično je pregledano minimalno 300 biljaka iz svih dijelova nasada. U nasadima smilja površine više od 1 hektara pregledano je minimalno 500 biljaka. Kod odabranih biljaka detaljno su pregledani listovi i izdanci. Prikupljeni kukci (imaga) spremljeni su u bočice s etanolom, a ličinke su stavljene u entomološke kaveze na daljnji uzgoj do imaga kako bi se determinirale vrste. Determinacija je provedena na Zavodu za zaštitu bilja Agronomskog i prehrambeno-tehnološkog fakulteta, Sveučilišta u Mostaru, pregledom odraslih jedinki pod binokularom na osnovi morfoloških karakteristika imaga.

REZULTATI I RASPRAVA

Tijekom istraživanja pronađen je veći broj štetnika smilja koji su na pojedinim lokalitetima pričinili i veće štete. Rezultati taksonomske obrade prikupljene štetne entomofaune sa smilja pokazuju kako je nađeno 9 vrsta štetnih kukaca. Udjel vrsta po redovima kukaca prikazan je u tablici 1.

Tablica 1. Udjel pronađene štetne entomofaune po redovima
Table 1 Share of harmful entomofauna found by orders

Red Order	Broj vrsta Number of species
Thysanoptera	1
Hemiptera	2
Coleoptera	2
Lepidoptera	3
Diptera	1
Ukupno	9

Prema Matošević (2004) kategorije štetnosti određene su prema važnosti štetnika za biljke u plantažnom uzgoju u vrijeme istraživanja:

1 – slabi intenzitet štete (do 30 %): štetnik je prisutan, ali biljci ne nanosi znatnije štete niti je znatno fiziološki oslabljuje

2 – srednji intenzitet štete (do 60 %): štetnik može uništiti i do 50 % lisne mase, kategorija umjerenog štetnika, znatno fiziološko oštećenje biljke

3 – jak intenzitet štete, štetnik može izazvati potpunu defolijaciju biljke, jako fiziološki oslabljuje biljku i može uzrokovati njeno ugibanje, izraziti štetnik

U tablici 2. prikazani su ustanovljeni štetnici i lokaliteti te kategorije štetnosti.

Tablica 2. Štetnici smilja (*Helichrysum italicum*) ustanovljeni na području Hercegovine tijekom 2015. i 2016. godine.

Table 2 Insect pests of immortelle (*Helichrysum italicum*) determined in area of Herzegovina during 2015 and 2016.

Red Order	Porodica Family	Vrsta štetnika i godina prikupljanja/ Pest species and the year of collecting	Lokaliteti/ Sites	Štetnost kategorija Category of damage	
Thysanoptera	Thripidae	<i>Frankliniella occidentalis</i> Perg. (2015; 2016)	Tasovčići (Čapljina)	1	
			Zvirovići (Čapljina)	1	
			Potpolje (Čitluk)	1	
Hemiptera	Aphididae	<i>Brachycaudus helichrysi</i> Kltb. (2015)	Potpolje (Čitluk)	1	
			<i>Macrosiphoniella sp.</i> (2015; 2016)	Zvirovići (Čapljina)	1
				Mostarska Vrata (Ljubuški)	1
				Cerno (Ljubuški)	1
				Crnopod (Ljubuški)	1
				Kravice (Ljubuški)	1
				Blizanci (Čitluk)	1
				Potpolje (Čitluk)	1
				Bašaga (Čitluk)	1
				Uzarići (Široki Brijeg)	1
				Međine (Široki Brijeg)	1
				Sretnice (Mostar)	1
				Višnjica (Grude)	1
				Dužice (Grude)	1
Posušje (Batin)	1				
Coleoptera	Curculioni dae	<i>Phyllobius argentatus</i> L. (2016)	Uzarići (Široki Brijeg)	2	
			Donji Gradac (Široki Brijeg)	2	
			Gornji Gradac (Široki Brijeg)	2	
		<i>Phyllobius oblongus</i> L. (2016)	Uzarići (Široki Brijeg)	1	

Lepidoptera	Nymphalidae	<i>Vannesa cardui</i> L. (2015; 2016)	Uzarići (Široki Brijeg)	3
			Međine (Široki Brijeg)	2
			Zvirovići (Čapljina)	3
			Cerno (Ljubuški)	2
			Kravice (Ljubuški)	2
			Crnopod (Ljubuški)	3
			Mostarska Vrata (Ljubuški)	3
			Potpolje (Čitluk)	1
			Bašaga (Čitluk)	1
			Blizanci (Čitluk)	2
			Općuš (Čitluk)	2
			Sretnice (Mostar)	1
			Dužice (Grude)	3
	Pogana Vlaka (Grude)	2		
	Noctuidae	<i>Acronicta rumicis</i> L. (2015)	Zvirovići (Čapljina)	1
Blizanci (Čitluk)			1	
Cerno (Ljubuški)			2	
Crnopod (Ljubuški)			1	
Gelechiidae	<i>Aristotelia</i> sp. (2016)	Zvirovići (Čapljina)	1	
		Potpolje (Čitluk)	1	
		Crnopod (Ljubuški)	1	
Diptera	Agromyzidae	<i>Chromatomyia horticola</i> Gour. (2015; 2016)	Tasovčići (Čapljina)	1
			Zvirovići (Čapljina)	1
			Potpolje (Čitluk)	1
			Bašaga (Čitluk)	1

Rezultati istraživanja prikazani u Tablici 2. pokazuju da je stričkov šarenjak u istraživanom razdoblju prouzročio najveće štete na većini lokaliteta. Potpuno uništenje jednogodišnjih sadnica stričkov šarenjak uzrokovao je na lokalitetima Mostarska Vrata, Crnopod, Zvirovići i Dužice. Na lokalitetu Uzarići u nasadu smilja starosti četiri godine štetnik je također prouzročio velike štete.

Od ostalih štetnika smilja treba izdvojiti srebrnog listojeda (*P. argentatus*) koji je na lokalitetima Uzarići, Donji Gradac i Gornji Gradac prouzročio veće štete te vrstu *Acronicta rumicis* koja je na lokalitetu Cerno prouzročila znatnije štete.



Slika 1. Potpuno uništena biljka smilja od gusjenica stričkova šarenjaka – *V. cardui*
(foto: Ostojić, I.)

Fig. 1 Immortelle plant total damage caused by painted lady caterpillars – *V. cardui*
(photo: Ostojić, I.)



Slika 2. Znatna oštećenja lista od srebrnog listojeda – *Phyllobius argentatus*
(foto: Zovko, M.)

Fig. 2 Severe leaf damage caused by silver-green weevil, *Phyllobius argentatus*
(photo: Zovko, M.)



Slika 3. Smilje napadnuto lisnim ušima iz roda *Macrosiphoniella* (foto: Zovko, M.)
Fig. 3 Immortelle plant infested with aphids from the genus *Macrosiphoniella*
 (photo: Zovko, M.)

ZAKLJUČCI

Na osnovi dvogodišnjih istraživanja štetne entomofaune smilja na području Hercegovine može se zaključiti sljedeće:

- Tijekom istraživanja ustanovljeno je devet štetnika smilja koji sistematski pripadaju u pet redova.
- Među ustanovljenim štetnicima smilja najveće značenje ima vrsta stričkov šarenjak (*V. cardui*) koji pričinjava intenzivne štete 3. kategorije štetnosti.
- Znatnije štete (2. druga kategorija intenziteta štetnosti) na pojedinim lokalitetima ustanovljene su i od vrsta *P. argentatus* i *A. rumicis*.
- Vrsta *Macrosiphoniella* sp., koja je ustanovljena na 14 lokaliteta, nije pričinila ozbiljnije štete iako je njena populacija na pojedinim lokalitetima bila izuzetno velika.
- Ostali štetnici (*F. occidentalis*, *B. helichrysi*, *P. oblongus*, *A. rumicis*, *Aristotelia* sp. i *C. horticola*) nisu pričinjavali znatnije štete.
- Samo daljnja istraživanja štetne entomofaune smilja mogu dati potpuniju sliku problematike štetnika ove za Hercegovinu vrlo bitne aromatične i ljekovite biljne vrste.

LITERATURA

BARBAGALLO, S., MASSIMINO COCUZZA, G. E. (2014). A survey of the Aphid fauna in the Italian regions of Latium and Campania, Redia, XCVII, 19-47.

BELJO, J., BARBARIĆ, M., ČAGALJ, M., DURANOVIĆ, A., FILIPOVIĆ, A., IVANKOVIĆ, M., KOHNIĆ, A., MANDIĆ, A., LEKO, M., PRLIĆ, M., RAIČ, M., OSTOJIĆ, I., TRKULJA, V. (2016). Ekološka proizvodnja smilja i eteričnog ulja-dosadašnje spoznaje, Algoritam Zagreb.

DŽUBUR, A. (2017). Smilje *Helichrysum italicum* (Rot) G. Don., Univerzitet „Džemal Bijedić“, Agromediteranski fakultet, Mostar.

MATOŠEVIĆ, D. (2004). Štetni kukci drvenastih biljnih vrsta zelenila Zagreba. Šumar. inst. 39 (1): 37–50, Jastrebarsko.

OSTOJIĆ, I., ZOVKO, M., PETROVIĆ, D. (2016). Štetnici smilja (*Helichrysum italicum*) u plantažnim zasadima na području Hercegovine. Zbornik sažetaka 13. Simpozij o zaštiti bilja u BiH, Teslić, 15-17. 11. 2016., pp. 37-38.

WRZESIŃSKA, D., SAWILSKA, A, K. (2009). Occurrence of *Macrosiphoniella janckei* Börner on dwarf everlast [*Helichrysum arenarium* (L.) Moench], Prog. Plant Prot., Vol. 49, 1: 161-165.

WRZESIŃSKA, D., SAWILSKA, A, K. (2010). Butterflies infesting dwarf everlast [*Helichrysum arenarium* (L.) Moench]. Prog. Plant Prot., Vol. 50, 3: 1322-1326.

ZOVKO, M., OSTOJIĆ, I., PETROVIĆ, D. (2016). Važniji štetnici smilja (*Helichrysum italicum*) kod plantažnog uzgoja na području Hercegovine. Zbornik rezimea radova 15. Simpozijum o zaštiti bilja, Zlatibor, 28.11-02.12. 2016., pp. 30-31.

PRVI NALAZ INDIJSKE ŠTITASTE VOŠTANE UŠI - *Ceroplastes ceriferus* (Fabricius, 1798) (Hemiptera, Coccoomorpha: Coccidae) U HRVATSKOJ

Tatjana MASTEN MILEK, Adrijana NOVAK, Mladen ŠIMALA, Maja PINTAR
Zavod za zaštitu bilja HCPHS, 10000 Zagreb
tatjana.masten@hcphs.hr
Prihvaćeno: 2017-12-15

Indijska voštana štitasta uš *Ceroplastes ceriferus* (Fabricius, 1789) prvi je put u Hrvatskoj pronađena u kolovozu 2017. na lovoru (*Laurus nobilis* L.) u Crikvenici. Prema DAISE strana je vrsta za Europu. Iz roda *Ceroplastes* Gray, 1828 prije toga u Hrvatskoj registrirane su vrste *Ceroplastes japonicus*, *Ceroplastes rusci* i *Ceroplastes sinensis*. Sve spomenute vrste imaju status polifagnih štetnika i napadaju brojno ukrasno drveće i grmlje te voćne vrste. *C. Ceriferus* i *C. Japonicus* preferiraju kao biljku domaćina lovor, *C. rusci* smokvu, a *C. sinensis* je nađena samo u dva navrata na agrumima. *C. japonicus* i *C. rusci* prošireni su u čitavom obalnom području. *C. ceriferus* i sve vrste iz istog roda karakterizira izuzetno debeli sloj voska te obilno lučenje medne rose na koju se naseljavaju gljive čađavice. Upravo one uzrokuju najveće štete na napadnutim dijelovima biljaka.

Ključne riječi: *Ceroplastes ceriferus*, indijska voštana štitasta uš, Hrvatska, prvi nalaz

**FIRST RECORD OF INDIAN WAX SCALE - *Ceroplastes ceriferus* (Fabricius, 1798) (Hemiptera, Coccoomorpha: Coccidae) IN CROATIA
SUMMARY**

Indian wax scale *Ceroplastes ceriferus* (Fabricius, 1798) was found for the first time in Croatia in August 2017 on laurel plants (*Laurus nobilis* L.) in Crikvenica. According to DAISIE, this species is alien to Europe. Prior to this finding, the following species from the genus *Ceroplastes* Gray 1828 have been recorded in Croatia: *Ceroplastes japonicus*, *Ceroplastes rusci* and *Ceroplastes sinensis*. All recorded species are polyphagous pests that feed on numerous ornamental trees and shrubs as well as fruit species. Both *C. ceriferus* and *C. japonicus* feed primarily on laurel, *C. rusci* prefers feeding on fig plants, while *C. sinensis* has so far been recorded twice on citrus plants. Both *C. japonicus* and *C. rusci* are widespread along the entire Croatian Adriatic coast. Like other species from this genus, *C. ceriferus* is characterised by a very thick wax layer and abundant excretion of honeydew that is subsequently covered in sooty mould. Occurrence of sooty mould causes the most significant damage to the infested host plants.

Key words: *Ceroplastes ceriferus*, Indian wax scale, Croatia, first record

UVOD

Rod *Ceroplastes* Gray, 1828 danas obuhvaća 144 vrste. Većina vrsta iz ovog roda južnoameričkog je ili afrotropskog podrijetla. Na području Europe do sada se udomaćilo samo 5 vrsta, iako je zabilježena pojava 10 vrsta. Vrste koje su se udomaćile i raširile u prirodi u Europi jesu: *Ceroplastes ceriferus* (Fabricius, 1789), *Ceroplastes floridensis* (Comstock, 1881), *Ceroplastes japonicus* (Green, 1921), *Ceroplastes rusci* (Linnaeus, 1758) i *Ceroplastes sinensis* Del Guericco, 1900 (Garcia Morales i sur., 2017).

Iako se *C. ceriferus* pojavio u Nizozemskoj kao pojedinačni slučaj 1999. i 2000. u uvoznim pošiljkama, prvim nalazom na području Europe smatra se pojava ove vrste u Italiji 2011., kada je nađena u Lombardiji i Venetu na različitom ukrasnom bilju (Pellizzari i sur., 2004). Do sada je ta vrsta na području Europe, osim u Italiji, registrirana u sljedećim zemljama: Bugarskoj, Španjolskoj (Kanarski otoci), Velikoj Britaniji, Nizozemskoj, Turskoj i Hrvatskoj. Ona je također široko rasprostranjena i u Aziji, Africi, Australiji, Sjevernoj, Srednjoj i Južnoj Americi.

C. ceriferus vjerojatno potječe iz Azije jer ju je prvi put opisao Fabricius 1798. u uzorku prikupljenom u Indiji. Faunističkim istraživanjima u Hrvatskoj bila je namjera ustanoviti koje su vrste iz roda *Ceroplastes* prisutne u Hrvatskoj.

MATERIJALI I METODE RADA

Faunistička istraživanja svih štastih uši u Hrvatskoj provode se od 2005. na području čitave Republike Hrvatske. Istraživanje vrsta iz roda *Ceroplastes* bilo je usmjereno na sve potencijalne biljke domaćine u obalnim županijama Republike Hrvatske. Provodili su se vizualni pregledi uz pomoć povećala (povećanje 10x) na otvorenom i u zaštićenim prostorima u rasadnicima, vrtnim centrima, vrtovima, parkovima i arboretumima. Materijali i metode koje su upotrebljavane u sklopu faunističkih istraživanja jesu: skupljanje biljnog materijala (napadnuti listovi, plodovi i grančice) u plastične vrećice, označavanje uzoraka, obrada uzoraka pod binokularom, priprema mikroskopskih preparata i determinacija. Biljke domaćini determinirane su prema ključevima Domac (1973, 1994).

Obrada prikupljenih uzoraka napravljena je pod binokularom Olympus SZ 51 s pripadajućom digitalnom kamerom Olympus model 510UZ. Izrada trajnih mikroskopskih preparata obavljena je prema metodama Gill (1988) i Kosztarab i Kozar (1988). Determinacije vrsta iz roda *Ceroplastes* napravljene su prema ključevima Pellizzari-Scaltriti i Camporese (1994), Camporese i Pellizzari-Scaltriti (1994), Tang (1986) i Fetyko i Kozar (2012). Pri determinaciji vrsta upotrebljavan je svjetlosni mikroskop OLYMPUS BX 51 s digitalnom kamerom

OLYMPUS model DP25. Trajni mikroskopski preparati označeni su sa svim relevantnim podacima (lokacija, GPS koordinate, biljka domaćin, datum prikupljanja uzorka, ime determinirane vrste, ime osobe koja je prikupila uzorak, ime osobe koja je determinirala vrstu).

REZULTATI I RASPRAVA

Faunistička istraživanja štitastih uši do sada pokazala su da su u Hrvatskoj iz roda *Ceroplastes* Gray, 1828 prisutne vrste *C. japonicus*, *C. rusci* i *C. sinensis* (Schmidt, 1956; Masten Milek, 2007). *C. ceriferus* nova je vrsta za Hrvatsku i prvi je put registrirana u kolovozu 2017. na lovoru (*Laurus nobilis* L.) u Crikvenici te dva mjeseca kasnije u Zadru također na lovoru (Tablica 1.).

Tablica 1. Rezultati faunističkog istraživanja *Ceroplastes ceriferus* (Fabricius, 1798) u Hrvatskoj

Table 1 Results of the faunistic research of *Ceroplastes ceriferus* (Fabricius, 1798) in Croatia

Vrsta/ Species	Porodica biljke domaćina/ host plant family	Biljka domaćin/ host plant	Lokalitet/ locality	GPS coordinate GPS coordinates	Datum/ Date
<i>Ceroplastes ceriferus</i> (Fabricius, 1798)	Laureaceae	<i>Laurus nobilis</i> L.	Crikvenica	N 45° 10' 32,18'' E 14°41'39,53''	24. 8. 2017.
		<i>Laurus nobilis</i> L.	Zadar	N 44° 6' 32,34'' E 15° 13' 49,05''	12. 10. 2017.

C. ceriferus, *C. japonicus*, *C. rusci* i *C. sinensis* imaju status polifagnih štetnika i napadaju brojno ukrasno drveće i grmlje te voćne vrste. Istraživanja su pokazala da *C. ceriferus* i *C. japonicus* preferiraju kao biljku domaćina lovor, *C. rusci* smokvu, a *C. sinensis* je nađen samo u dva navrata na agrumima u Dubrovniku. *C. japonicus* i *C. rusci* prošireni su u čitavom obalnom području (Schmidt, 1956; Masten Milek, 2007). Ove su se vrste udomaćile i raširile u prirodi.

C. ceriferus izrazito je polifagna vrsta koja napada brojne biljke domaćine iz 52 biljne porodice i čak 80 rodova (Garcia Morales i sur., 2017). Važniji domaćini voćnih biljnih vrsta jesu iz porodica Rosaceae (*Malus sylvestris* Mill., *Prunus armeniaca* L., *Prunus domestica* L., *Prunus persica* L. Batsch) i Rutaceae (rod *Citrus* L.). Što se tiče ukrasnog bilja *C. ceriferus* najčešće napada *Laurus*

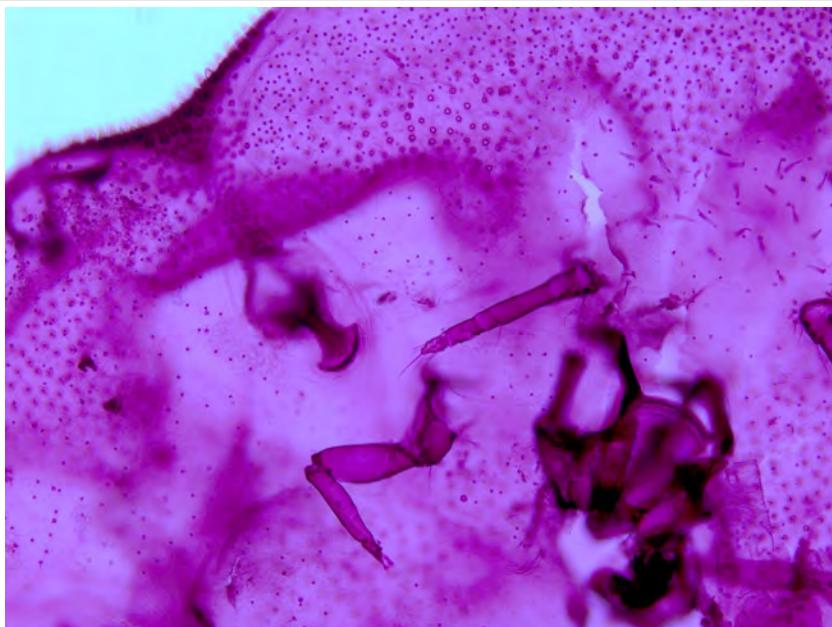
nobilis L. iz porodice Laureaceae (Pellizzari i sur., 2004, Garcia Morales i sur., 2017).

Vrsta ima jednu generaciju godišnje i prezimljuje kao odrasla ženka. Razmnožava se partenogenetski. Prezimjela ženka odlaže jaja od travnja do sredine lipnja. Nakon 2 do 3 tjedna iz jaja se izliježu ličinke prvog stadija. Ženske jedinke imaju 3 stadija ličinki i odrasli oblik, koji se pojavljuje potkraj ljeta i početkom jeseni (Kostarab, 1996). Pokretne su samo ličinke prvog stadija i u vrijeme njihove pojave najbolje je provesti suzbijanje. Najviše vole prebivati na dvogodišnjim granama, iako se mogu naći i na jednogodišnjim i trogodišnjim (Itioka i Inoue, 1991).

Odrasla ženka vrste *C. ceriferus* prekrivena je debelim slojem bijelog do lagano ružičastog amornog voska. Polukuglastog je oblika i često ima na prednjem dijelu izbočinu od voska poput roga (slika 1.) (Hodgson i Henderson, 2000). Tijelo je eliptično ili okruglo, crvenkastosmeđe boje. Makroskopski gledano, ovu je vrstu lako zamijeniti s nekom od već nađenih vrsta iz roda *Ceroplastes* u Hrvatskoj i zato je determinaciju nužno obavljati na temelju morfoloških karakteristika prepariranih primjeraka vrste u obliku mikroskopskih preparata (slika 2.).



Slika 1. Odrasle ženke *C. ceriferus* na lovoru (foto Masten Milek, T.)
Fig. 1 Adult females of *C. ceriferus* on laurus (photo: Masten Milek, T.)



Slika 2. Mikroskopski preparat *C. ceriferus* – dio glave (foto: Masten Milek, T.)
Fig. 2 Microscopic slide of *C. ceriferus* – part of the head (photo: Masten Milek, T.)

Kao i druge štitaste uši iz porodice Coccidae, *C. ceriferus* pričinja dvojake štete: izravne i neizravne. Izravne štete izaziva svojim sisanjem koje može rezultirati žućenjem listova, gubljenjem pigmentacije na plodovima, venućem i odumiranjem listova i izboja te preuranjenim otpadanjem listova, cvjetova i plodova, a u ekstremnim slučajevima i odumiranjem čitave biljke domaćina. Pod neizravnim štetama podrazumijevamo obilno izlučivanje medne rose, na koju se naseljavaju gljive čađavice, zbog čega dolazi do smanjenja asimilacijske aktivnosti lišća, smanjenja šećera u plodovima, zaprljani plodovi mednom rosom gube na tržišnoj vrijednosti, a ukrasno drveće i grmlje u urbanim sredinama gubi na estetskoj vrijednosti.

S obzirom na registrirane brojne biljke domaćine i njeno širenje u Italiji i drugim zemljama (Pellizzari i sur., 2004), možemo očekivati proširenje *C. ceriferus* u Hrvatskoj u svim obalnim županijama.

ZAKLJUČAK

Iz roda *Ceroplastes* u Hrvatskoj su prisutne četiri vrste: *Ceroplastes ceriferus*, *C. japonicus*, *C. rusci* i *C. sinensis*. *C. Ceriferus* je prvi put registriran u kolovozu 2017. na lovoru u Crikvenici. Dva mjeseca kasnije i u Zadru, također na lovoru. Za sve vrste roda *Ceroplastes* koje su nađene u Hrvatskoj, osim za *C. Sinensis*, možemo reći da su se udomaćile i raširile po Hrvatskoj. S obzirom na literaturne podatke o širenju ove vrste u Italiji, kao i arealu rasprostranjenosti drugih *Ceroplastes* vrsta u Hrvatskoj, može se očekivati širenje i udomaćenje

uši *C. ceriferus*. Zbog obilnog lučenja medne rose na koju se naseljavaju gljive čađavice može doći do znatnog slabljenja biljke, pa čak i njenog ugibanje. Stoga možemo zaključiti da ova vrsta potencijalno predstavlja gospodarski važnog štetnika ukrasnog bilja i nekih voćnih vrsta u Hrvatskoj.

LITERATURA

CAMPORSE, P., PELLIZZARI-SCALTRITI, G. (1994). Description of immature stages of *Ceroplastes japonicus* Green (Homoptera Coccoidea). Boll. Zool. Agr. Bachicoltura. Milano, Ser.II, 26 (1): 303-334.

DAISIE (Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe) (2009). Handbook of Alien Species in Europe. *Invading Nature - Springer Series in Invasion Ecology*, 3. Springer, 399 pp.

DOMAC, R. (1973). Mala flora Hrvatske i susjednih područja. Školska knjiga, Zagreb: 543 pp.

DOMAC, R. (1994). Flora Hrvatske. Priručnik za određivanje bilja. Školska knjiga, Zagreb: 504 pp.

FETYKÓ, K., KOZÁR, F. (2012). Records of *Ceroplastes* Gray 1828 in Europe, with an identification key to species in the Palaearctic Region, Bulletin of Insectology 65 (2): 291-295.

GARCÍA MORALES, M., DENNO, B. D., MILLER, D. R., MILLER, G. L., BEN-DOV, Y., HARDY, N. B. (2017). ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics. Database. doi: 10.1093/database/bav118. <http://scalenet.info>.

GILL, R. J. (1988). The Scale Insects of California, Part I. The Soft Scales (Homoptera: Coccoidea: Coccidae). California Department of Food and Agriculture, Sacramento: 132 pp.

HODGSON, C. J., HENDERSON, R. C. (2000). Coccidae (Insecta: Hemiptera: Coccoidea). Fauna of New Zealand, Number 41: 264 pp.

ITIOKA, T., INOUE, T. (1991). Settling sideselection and survival of two scale insects. *Ceroplastes rubens* and *C. ceriferus*, on citrus trees, Researches on Population Ecology, 33 (1): 69-85.

KOSZTARAB, M. (1996). Scale insects of Northeastern North America, Identification, biology, and distribution, Virginia Museum of Natural History, Martinsburg, Virginia: 650 pp.

KOSZTARAB, M., KOZÁR, F. (1988). Scale Insects of Central Europe. *Series Entomologica*, Vol. 41, Akademiai Kiado, Budapest: 456 pp.

LINDINGER, L. (1912). Die Schildläuse (Coccidae) Europas, Nordafrikas und Vorder-Asiens, einschliesslich der Azoren, der Kanaren und Madeiras, Stuttgart: 388 pp.

MASTEN MILEK, T. (2007). Fauna štitastih uši (Insecta: Coccoidea) u Republici Hrvatskoj. Doktorska disertacija. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku: 242 pp.

PELLIZZARI, G., GALBERO, G., MORI, N., ANTONUCCI, C. (2004). Biologija di *Ceroplastes ceriferus* (Fabricius) (Heiptera, Coccoidea) e possibilita di lotta. *Informatore fitopatologico*, 9: 39 – 46.

PELLIZZARI-SCALTRITI, G., CAMPORSE, P. (1994). The *Ceroplastes* species (Homoptera: Coccoidea) of the Mediterranean basin with emphasis on *C. japonicus* Green. *Ann. Soc. Entomol. Fr. (ns)*, 30 (2): 175-192.

SCHMIDT, L. (1956). Štitaste uši Hrvatske., Zaštita bilja, 36: 5-11.

TANG, F. T. (1986). The scale insects of horticulture and forest of China. Liaoning, China. The Institute of Gardening Vol. 3, 305 pp.

RASPROSTRANJENOST CRNE TRULEŽI BOBE [*Phyllosticta ampellicida* (Engelm.) Aa] NA VINOVOJ LOZI U HRVATSKOJ

Bogdan CVJETKOVIĆ

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju,
Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

bogdan.cvjetkovic@zg.t-com.hr

Prihvaćeno: 2017-11-20

Članak donosi podatke o rasprostranjenosti crne truleži bobe [*Phyllosticta ampellicida* (Engelm.) Aa] na vinovoj lozi u Hrvatskoj. Uzročnik je prvi put opisan 1927. godine u okolici Splita. Bolest se 1934. godine pojavila na otoku Krku uzrokujući vrlo visoke gubitke u prinosu. Na tom području parazit je i danas prisutan, iako to ne uzrokuje velike štete zbog zaštite koja se provodi protiv dugih bolesti, napose protiv crne pjegavosti. Osim otoka Krka, bolest se također proširila na obližnjem otoku Cresu i na kontinentalnom području u okolici Rijeke, Sušaka, Crikvenice i Novog Vinodolskog. Bolest je povremeno je zabilježena na otoku Korčuli i u zaleđu Dubrovnika. Opisani su simptomi, biologija te dane preporuke za zaštitu.

Ključne riječi: crna trulež bobe, prisutnost u Hrvatskoj, simptomi, biologija, zaštita

**DISTRIBUTION OF BLACK ROT [*Phyllosticta ampellicida* (Engelm.) Aa] OF GRAPEVINE IN CROATIA
SUMMARY**

The article gives and overview on grapevine black rot disease [*Phyllosticta ampellicida* (Engelm.) Aa] in Croatia. Black rot was described in Croatia for the first time in 1927 in Split area. In the year 1934 it spread in vineyards on the island of Krk, causing very high yield losses. The parasite is still present in this area today, although it does not cause much damage, mostly because of chemical control of other grapevine diseases. Beside the island Krk, the disease has also spread to the nearby island Cres and to the continental surroundings of Rijeka, Sušak, Crikvenica and Novi Vinodolski. Black rot has been occasionally recorded on the island of Korčula and in the hinterland of Dubrovnik. Symptoms and biology are described in the article, and recommendations for black rot control are given.

Key words: black rot disease, presence in Croatia, symptoms, biology, control

UVOD

Crnu trulež bobbe na vinovoj lozi uzrokuje gljivica *Phyllosticta ampelicida* (Engelm.) Aa, poznatija pod nazivom savršenog stadija *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala & Ravaz. Gljivica je podrijetlom je iz Sjeverne Amerike, a i danas je učestala bolest u Sjevernoj Americi (Mississippi, Sjeverna Karolina, Velika jezera i uz rijeku Hudson), ali je zabilježena i na južnim dijelovima Floride i na obalama Meksičkog zaljeva (Farr et al., 2017). Nakon uzročnika pepelnice (*Erysiphe necator*) i plamenjače (*Plasmopara viticola*), *Phyllosticta ampelicida* treći je parazit vinove loze unesen iz Amerike u Europu. Pretpostavlja se da je bolest unesena podlogama otpornima na trsovog ušenca [*Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch 1855)] koje su se uvozile iz Amerike. Prva pojava bolesti u Europi zabilježena je u Francuskoj, a Viala i Ravaz su 1885. godine opisali simptome i uzročnika pod nazivom *Guignardia bidwellii*. Nakon toga bilo je izvješća o pojavi te tada karantenske bolesti u mnogim europskim zemljama. Za razliku od pepelnice i plamenjače, koje su se brzo proširile na vinovoj lozi u Europi, crna trulež bobbe vrlo sporo se širila. Danas je rasprostranjena u mnogim europskim zemljama, a i na drugim kontinentima (CAB 1991).

Štete koje ovaj parazit može nanijeti kreću se od 5 – 80 %, što ovisi o osjetljivosti kultivara i o vremenskim uvjetima (Kong, 2017). U Italiji su zabilježene zaraze na 70 % grozdova u godini povoljnijoj za razvoj parazita (Burroni i Pierucci, 2014).

RASPROSTRANJENOST U HRVATSKOJ

Na području Hrvatske crna trulež bobbe prvi je put zabilježena 1929. godine (Picbauer, 1929 legit Pejanović) u okolici Splita. Čini se da je to bila sporadična pojava jer je gotovo nestala na tom mjestu. "Distribution map. 83" (CAB 1991) navodi kao prvi nalaz u Hrvatskoj nalaz na otoku Krku 1934., premda Josipović (1964) navodi 1933. godinu kao prvi nalaz na Krku. Te je godine crna trulež uništila gotovo svu proizvodnju, a vinogradari su zatražili pomoć od talijanskih istraživača, posebice onih iz Conegliana Veneta koji su determinirali uzročnika (Ferraris, 1936). U Hrvatskoj su se dogodile i kasnije sporadične epifitocije. Bolest je ponovno zahvatila 1935. i 1936. godine mnoge vinograde na svim kvarnerskim otocima i na kopnenom dijelu Kvarnera. Tada je crna trulež zabilježena u okolici Rijeke, Sušaka, Crikvenice i Novog Vinodolskog (Borjan, 1938). Čini se da su ova područja osobito povoljna za razvoj te bolesti pa se bolest pojavila nekoliko puta na otocima Cresu i Lošinju (Lušin, 1968). U Istri nije zabilježena njena pojava (Cvjetković i Peršurić, 1991). Posljednjih godina u području Rijeke i na kvarnerskim otocima ne predstavlja problem. Povremeno se javlja u nekim mjestima južne Dalmacije, u zaleđu Dubrovnika i na Korčuli (slika 1.)



Slika 1. Područja na kojima je identificirana *Phyllosticta ampelicida*, uzročnik crne truleži bobna vinove loze

Fig. 1 Distribution map of grapevine black rot (*Phyllosticta ampelicida*) in Croatia

SIMPTOMI

Simptomi crne truleži mogu se manifestirati na listovima, izbojcima i bobama vinove loze. Neizravne štete nastaju kod jake defolijacije, a izravne kod zaraze bobna.

Listovi su prvi organi na kojima se pojavljuju simptomi. Na plojci najprije nastaju nejasne blijedozelene zone u početku promjera nekoliko milimetara, da bi u kratkom vremenu promjer bio 2-3 centimetra. Uskoro pjege poprimaju crvenkastu boju s tamnosmeđim obodom. Unutar crvenkastih pjega na licu plojke nastaju plodna tijela gljive, piknidi, koji se golim okom ili povećalom mogu vidjeti kao male sjajne crne kuglice (slika 2.).



Slika 2. Zaraženi list (foto: Cvjetković, B.)

Fig. 2 Symptoms on a leaf (photo: Cvjetković, B.)

Rjeđe se pjege spajaju pa mogu prekriti cijelu plojku. Kod takve zaraze listovi otpadaju. Na mjestima infekcije na bobama u početku nastaje mala crna nekroza, a zatim dio oko pjege postaje tamniji od boje kože pa nekroze podsjećaju na ožegline od sunca. Kasnije se bobice počinju sušiti i poprimaju tamnocrvenu boju, a na pokožici se javljaju brojni piknidi. Izbojci također mogu biti zaraženi, ali jaki napadi nisu učestali. Na izbojcima nastaje eliptična tamno obojena depresija u kojoj se pojavljuju piknidi.

BIOLOŠKI CIKLUS

Parazit može prezimiti na nekoliko načina. Na zaraženim bobama koje ostaju na trsu i onim bobama koje padnu na tlo mogu se stvoriti sklerociji, a na njima mogu nastati pseudoteciji tijekom jeseni ili u proljeće. Na bobama mogu nastati pseudoteciji i bez pojave sklerocija. U proljeće već kod malih oborina (više od 0,3 mm/m²) iz pseudotecija se oslobađaju askospore. One se oslobađaju 2 - 3 tjedna nakon stadija B - C prema Baggioliniju, a kiša i vjetar raznose askospore na organe domaćina. Spore kličaju pri temperaturama od 10 °C do 32 °C, uz obvezatno vlaženje biljnih organa (tablica 1.).

Tablica 1. Razdoblje vlaženja biljnih organa potrebno za zarazu vinove loze gljivicom *Phyllosticta ampellicida* ovisno o temperaturi (Spotts, 1977)

Table 1 Correlations between temperature and wetting period of leaf necessary for the infections with fungus *Phyllosticta ampellicida* (Spotts, 1977)

Temp. °C	7	10,0	13,0	15,5	18,5	21,0	24,0	26,4	29,0	32
Razdoblje vlaženja u satima	nema infekcija	24	12	9	8	7	7	6	9	12

Na zaraženim bobama i rozgvi parazit može prezimiti i u obliku piknida, a konidije (piknospore) u proljeće inficiraju vinovu lozu. Na rozgvi piknidi mogu biti izvor infekcija do dvije godine. Bez obzira na to potječu li primarne infekcije od konidija ili askospora, nakon inkubacije od 16 do 20 dana pojaviti će se piknidi, najčešće na listovima. Bobe su najosjetljivije u razdoblju od dva tjedna nakon cvatnje, inkubacija traje najmanje tri tjedna, a najčešće bobice počnu trunuti četiri do pet tjedana nakon infekcije (Kong, 2017).

Zreli piknidi predstavljaju ljetne reproduktivne organe. Jedan sat nakon kiše (više od 3 mm/m²) iz piknida se počinju oslobađati konidije, a emisija konidija traje oko 8 sati nakon prestanka kiše (Ferrin i Ramsdell, 1978). Oslobođene su konidije odgovorne za sekundarne infekcije tijekom vegetacije. Kod sekundarnih infekcija optimalne temperature variraju od 15 °C u svibnju, 18 °C u lipnju i 20 °C u srpnju. Širenju zaraze, uz optimalne temperature, pogoduju kiše i dugotrajne rose.

ZAŠTITA

U područjima u kojima se učestalo javlja poželjno je odabrati i saditi sorte koje su manje osjetljive na crnu trulež. Pri rezidbi treba odstraniti zaraženu rozgvu. U berbi, a i ranije, treba pobrati zaražene grozdove. Zaraženu rozgvu i grozdove treba iznijeti iz vinograda, a najbolje ih je spaliti.

Kemijsku zaštitu treba početi rano. Prvo prskanje obavlja se u stadiju E (pojava prvih listova) - F (tri lista). U Hrvatskoj za suzbijanje crne truleži boba imaju dozvolu fungicidi na osnovi bakra te neka

te sredstva na osnovi ditiokarbamata, kaptana, tebukonazola, difenkonazola, fenbukonazola i kombinacija propineba i fluopikolida. Crna trulež boba u Hrvatskoj pojavljuje se sporadično samo u područjima i u godinama povoljnima za razvoj patogena i tada obično iznenadi vinogradare. Posljednjih godina ne uzrokuje veće gospodarske štete. Tome je pridonijela gotovo obvezatna zaštita od crne pjegavosti (*Phomopsis viticola*) jer se prvi rokovi za zaštitu protiv crne pjegavosti i crne truleži bobe podudaraju, a većina fungicida koji se primjenjuju u prvim rokovima suzbijaju obje bolesti.

LITERATURA

BORJAN, B. (1938). Pojava Black-rot na vinovoj lozi u Hrvatskom primorju i na otocima. IPOKS - Topčider 3, 277-282.

BURRONI, F., PIERUCCI, M. (2014). Marciume nero o black rot della vite. Viticoltura, 16-18.

CAB International (1991). Distribution Maps of Plant Diseases, 1991, April (Edition 4), Map 81.

CVJETKOVIĆ, B., PERŠURIĆ, Đ. (1991). Informazioni sul marciume nero della vite (*Guignardia bidwellii*) in Croazia. International Congress Gorizia 1891-1991. Gorizia, 28. studeni - 1. prosinca 1991, 22.

FARR, D. F., ROSSMAN, A.Y. (2017). Fungal Databases, U. S. National Fungus Collections, ARS, USDA. /<https://nt.ars-grin.gov/fungalDATABASES/> pristupljeno 18. studenog 2017.

FERRARIS, T. (1936). Notizie fitopatologiche. Il Black-rot della vite in Jugoslavia. Pathological notes, Riv. agric. Roma XXXI 701, 52.

FERRIN, D. M., RAMSDELL, D. C. (1978). Influence of conidia dispersal and environment on infection of grape by *Guignardia bidwellii*. Phytopathology 68, 892-895.

JOSIPOVIĆ, M. (1964). *Guignardia bidwellii* : Poljoprivredna fitopatologija. Naučna knjiga, Beograd.

KONG, G. (2017). Diagnostic Methods for Black Rot of Grapes *Guignardia bidwellii*. <http://www.padil.gov.au/pbt/> pristupljeno 2. studenog 2017.

LUŠIN, V. (1968). Biljne bolesti na području Rijeke. Granična karantenska služba za zaštitu bilja SR Hrvatske, Vol. 1., No. 3, 23-45.

PICBAUER, R. (1929). Additamentum ad floram Jugoslaviae mycologorum II – Opera Instituti phytopathologici Brunae - Brno No. 105. 134

SPOTTS, R. A. (1977). Effect of leaf wetness duration and temperature on the infectivity of *Guignardia bidwellii* on grape leaves. Phytopathology 67, 1378-1381.

FITOPATOGENE GLJIVE UZROČNICI SUŠENJA MASLINE (*Olea europaea* L.) NA PODRUČJU ISTRESara GODENA¹, Dario IVIĆ², Ivana DMINIĆ ROJNIĆ³, Bernardina HLEVNJAK PASTROVICCHIO⁴¹Zavod za poljoprivredu i prehranu, Institut za poljoprivredu i turizam, Karla Huguesa 8, 52 440 Poreč²Zavod za zaštitu bilja, Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Gorice 68 b, 10 000 Zagreb³Poljoprivredni odjel u Poreču, Veleučilište u Rijeci, Karla Huguesa 6, 52 440 Poreč⁴Udruga Agroturist Vodnjan, Trg slobode 2, 52 215 Vodnjan
sara@iptpo.hr

Prihvaćeno: 2017-11-23

Istraživanje pojave sušenja stabala maslina u Istri provedeno je tijekom 2016. i 2017. godine. Zbog određivanja uzročnika koji bi mogli biti odgovorni za navedenu pojavu obavljani su vizualni pregledi stabala i uzorkovanje biljnoga materijala. Uzorci biljnog materijala prikupljeni su na 23 lokacije unutar četiri maslinarska uzgojna područja: bujsko-umaškom, porečko-vrsarskom, rovinjskom i vodnjansko-pulskom. Navedena uzgojna područja razlikovala su se po mikroklimatskim obilježjima, sortimentu, starosti stabala te svojstvima tla. Identifikacija pojedinih uzročnika bolesti obavljena je u specijaliziranom mikološkom laboratoriju. U simptomatičnim uzorcima ustanovljeno je nekoliko vrsta, rodova i porodica fitopatogenih gljiva. Za identifikaciju vrsta korištene su klasične (uzgoj na hranjivim podlogama i analiza morfologije izolata) i molekularne (PCR i sekvenciranje) metode dijagnostike. Ukupno je sakupljeno 78 izolata. Najčešće izolirana vrsta fitopatogene gljive, a koja bi mogla biti uzročnik djelomičnog ili potpunog sušenja, slabijeg rasta i slabijeg vigora maslina, bila je vrsta *Verticillium dahliae* Kleb. Osim te u simptomatičnim uzorcima ustanovljene su i *Diplodia seriata*, gljiva iz porodice Botryosphaeriaceae, te *Armillaria mellea*, uzročnik bijele truleži korijena. Prisutnost vrsta *V. dahliae* (na 57 % lokacija) i *A. mellea* (na 17 %) potvrđena je u svim maslinarskim uzgojnim područjima obuhvaćenim ovim istraživanjem, dok je prisutnost vrste *D. seriata* (na 13 % lokacija) ustanovljena samo u maslinicima u okolici Rovinja i Bala.

Ključne riječi: *Armillaria mellea*, Botryosphaeriaceae, *Diplodia seriata*, maslina, *Verticillium dahliae*

PHYTOPATHOGENIC FUNGI CAUSATIVE AGENTS OF OLIVE (*Olea europaea* L.) DECLINE IN THE AREA OF ISTRIA

SUMMARY

The appearance of decline of olive trees in Istria during the years 2016 and 2017 was investigated. To determine the possible causative agents that could be related to that phenomenon, visual examinations of trees and collection of samples of plant material were carried out. Samples of plant material were collected on 23 locations, within four olive growing areas: Buje-Umag, Poreč-Vrsar, Rovinj and Vodnjan-Pula. Surveyed olive growing areas differed by microclimatic features, varieties, age of trees and soil properties. Identification of particular causative agents of diseases was performed in a specialized mycological laboratory. Several species, genera and families of phytopathogenic fungi has been identified in symptomatic samples. For the identification of species, classical (cultivation and analysis of isolate morphology) and molecular methods (PCR and sequencing) has been used. A total of 78 isolates were collected. The most common isolated species of phytopathogenic fungi, which could be the causative agent of partial or total decline, weaker growth and lower vigor of olives was the species *Verticillium dahliae* Kleb. Beside that, in symptomatic samples, *Diplodia seriata*, fungal species of the family Botryosphaeriaceae and *Armillaria mellea*, the causative agent of white root rot, were found. The presence of *Verticillium dahliae* (on 57% of locations) and *Armillaria mellea* (on 17%) have been determined in all olive growing areas covered by this work, while the presence of *D. seriata* (on 13% of locations) have been determined only in olive groves in the area of Rovinj and Bale.

Key words: *Armillaria mellea*, Botryosphaeriaceae, *Diplodia seriata*, olive, *Verticillium dahliae*

UVOD

Maslinarstvo predstavlja važnu gospodarsku granu u poljoprivredi Republike Hrvatske. Prema podatcima Državnog zavoda za statistiku (2016) u 2015. godini ukupna površina pod maslinama u Hrvatskoj iznosila je 19 100 ha. Istra je hrvatska najsjevernija podregija uzgoja maslina na kojoj se prostire oko 4 400 ha maslinika. Prema nekim podatcima danas u Istri ima više od milijun stabala maslina, što čini oko 20 % ukupnog broja stabala maslina u cijeloj zemlji (Gašparec-Skočić i Milat, 2011).

S obzirom na gospodarsku važnost masline kao poljoprivredne kulture u Hrvatskoj, bitno je istaknuti da su uzročnici bolesti maslina do sada vrlo malo istraživani. U Istri je tijekom posljednjih nekoliko godina zabilježen sve veći broj slučajeva djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina, no uzrok ove pojave nije sustavno istraživani. Uzrok sušenja stabala maslina može biti

parazitske prirode, a mogu ga uzrokovati fitopatogene gljive i bakterije. Bolesti koje se danas u svijetu opisuju kao najvažnije bolesti masline, u Hrvatskoj ili su slabo poznate ili zbog njihove pojave, do sada, nisu zabilježene veće štete. Primjeri za to su verticilijsko venuće čiji je uzročnik gljiva *Verticillium dahliae*, antraknoza koju uzrokuju *Colletotrichum* spp. te gljivični rak uzrokovan vrstama iz porodice Botryosphaeriaceae. Zbog negativnog djelovanja klimatskih promjena, intenzivne trgovine biljnim materijalom te promjena tehnologije uzgoja s vremenom se sve više javljaju, razvijaju i šire novi uzročnici bolesti masline u Hrvatskoj poput nedavno ustanovljenih gljiva *Phoma incompta* (Ivić i sur., 2010) i *Diplodia seriata* (Kaliterna i sur., 2012). U posljednje vrijeme Hrvatskoj prijete i pojava karantenske bakterije *Xylella fastidiosa* koja je devastirala maslinike u susjednoj Apuliji (Italija). Poznato je da je u svijetu vrlo čest uzročnik sušenja maslina gljiva *Verticillium dahliae* (López-Escudero i Mercado-Blanco, 2011; García-Ruiz i sur., 2015; Bjeliš, 2009). Bolest koju uzrokuje navedena gljiva postala je, tijekom posljednja dva desetljeća, glavna prijetnja uzgoju u područjima u kojima se već tradicionalno, dugi niz godina, uzgaja maslina. Štete koje uzrokuje *V. dahliae* ogledaju se u smanjenju uroda kod starijih stabala, dok kod mlađih stabala može doći i do potpunog venuća. Osim bakterije *X. fastidiosa* i gljive *V. dahliae*, sušenje maslina mogu izazvati i fitopatogene gljive koje napadaju korijen poput vrste *Armillaria mellea* (Loreto i sur., 1993; Singleton i sur., 1992) ili pseudogljiva iz roda *Phytophthora*. Pretpostavlja se da bi uvođenje intenzivnog navodnjavanja u nasade maslina moglo rezultirati porastom broja bolesti korijena uzrokovanih navedenim patogenima. Osim navedenih, u posljednjih desetak godina intenzivno se istražuju i gljive iz porodice Botryosphaeriaceae (Úrbez-Torres i sur., 2013; Moral i sur., 2010; Kaliterna i Miličević, 2012). Tako je u svijetu do danas ustanovljen veći broj vrsta rodova *Diplodia*, *Neofusicoccum* ili *Botryosphaeria*, koje su potvrđene kao patogeni masline (Moral i sur., 2010), međutim o njihovom se kompleksnom djelovanju još uvijek vrlo malo zna.

Cilj ovog istraživanja bio je ustanoviti uzročnike djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina na području istarskog poluotoka.

MATERIJALI I METODE RADA

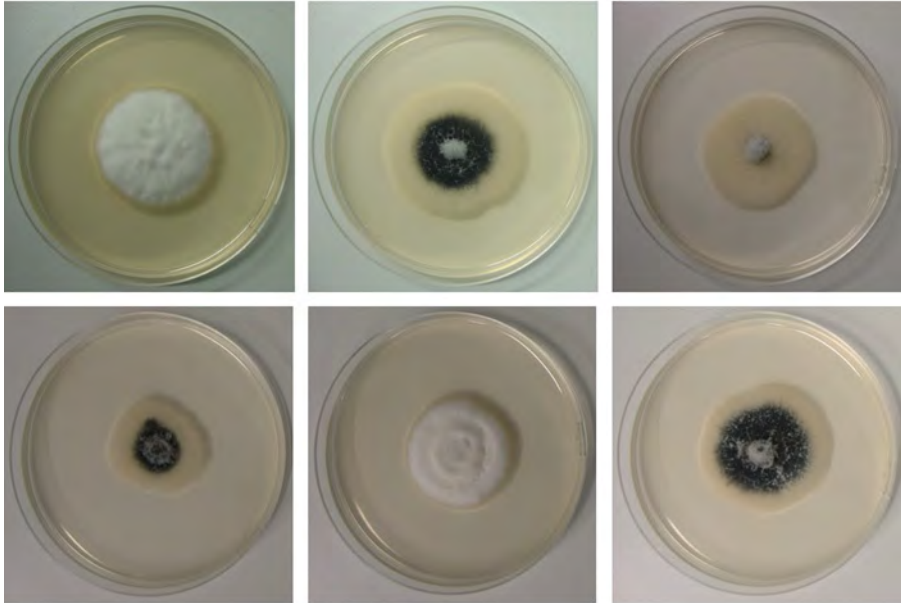
Istraživanje djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina provedeno je na području istarskog poluotoka unutar četiriju maslinarskih uzgojnih područja (bujsko-umaško, porečko-vrsarsko, rovinjsko i vodnjansko-pulsko). Vizualnim pregledima stabala pratili su se simptomi poput promjene boje listova, djelomičnog ili potpunog sušenja stabala, pojave rak-rana na izbojima, promjene boje ksilema ili floema, nekroze kambija ili patoloških promjena na korijenovom vratu. Sa stabala na kojima su uočeni navedeni simptomi prikupljeni su uzorci biljnog materijala radi laboratorijskih analiza. Uzorkovanje je provedeno u maslinicima na ukupno 23 lokacije. Tijekom dvogodišnjeg

istraživanja ustanovljen je veći broj fitopatogenih gljiva za koje se u literaturi navodi da su povezane s djelomičnim ili potpunim sušenjem stabala masline (Úrbez-Torres i sur. 2013; Jiménez-Díaz i sur., 2012; López-Escudero i Mercado-Blanco, 2011). U bujsko-umaškom i porečko-vrsarskom maslinarskom uzgojnom području uzorkovanje je provedeno na tri, u rovinjskom na devet, a u vodnjansko-pulskom na osam lokacija. Uzorci biljnog materijala, različitog sortimenta i starosti, prikupljeni su, (ujedno su se obavili i vizualni pregledi), od rujna do prosinca 2016. i u srpnju 2017., a uzorci su analizirani u mikološkom laboratoriju Zavoda za zaštitu bilja (HCPHS) u Zagrebu. Simptomatični dijelovi korijena, kore korijenovog vrata, grana ili dijelova debla izrezani su i površinski sterilizirani potapanjem u 70 %-tni etanol te inokulirani na krumpir-dekstrozni agar (KDA) i agar s mrkvom. Nakon inkubacije od 10 do 30 dana na 25 °C, analizirana je morfologija kolonija dobivenih inokulacijom. Odabrani su izolati izolirani kao čiste kulture na KDA te im je nakon inkubacije, identične prethodno opisanoj, analizirana morfologija kolonija i spora. Na temelju morfologije kolonija u čistoj kulturi te izgleda, veličine i boje spora provedena je identifikacija gljiva do razine roda ili vrste. Za identifikaciju su korišteni opisi Phillipsa i sur. (2013), Jiménez-Díaza i sur. (2012) te OEPP/EPPO-a (2007). Za lančanu reakciju polimerazom (PCR) korištene su početnice ITS1/ITS4 (White i sur., 1990) ili EF728F/EF986R (Úrbez-Torres i sur., 2013). Ukupna DNA iz izolata ekstrahirana je kompletno DNEasy Plant Mini Kit® (Quiagen Inc., SAD) prema uputama proizvođača, a PCR reakcije provedene su prema parametrima umnožavanja kako opisuju Úrbez-Torres i sur. (2013) te White i sur. (1990). Sekvence su uređene u programu Sequencher® (Gene Codes Corporation, SAD) i uspoređene sa sekvencama iz GenBank® baze podataka. Nakon provedene dijagnostike, kod stabala kod kojih su ustanovljeni patogeni koji napadaju korijen masline, prikupljeni su i uzorci tla sondom s dubine od 30 cm radi određivanja nekih kemijskih svojstava u Pedološkom laboratoriju Instituta za poljoprivredu i turizam. Uzorci tla za kemijske analize prikupljeni su na 12 lokacija, a ustanovljena im je pH reakcija (elektrometrijski) te količina makroelemenata N (modificirana metoda po Kjeldahlu), P i K (AL metoda) i količina organske tvari (metoda po Tjurinu). Uzorkovanje je provedeno na pet lokacija u rovinjskom, četiri u vodnjansko-pulskom, dvije u bujsko-umaškom i na jednoj u porečko-vrsarskom maslinarskom uzgojnom području.

REZULTATI I RASPRAVA

Na 23 lokacije ukupno je sakupljeno 78 izolata (103 uzoraka), među kojima je najčešća vrsta bila *Verticillium dahliae* (Slika 1.). Gljiva *V. dahliae* redovito je izolirana iz grana stabala sa simptomima djelomičnog ili potpunog sušenja, slabijeg rasta ili slabijeg vigora. Ista se drži najvažnijim uzročnikom bolesti masline u svijetu (Jiménez-Díaz i sur., 2012; López-Escudero i Mercado-Blanco, 2011). U Hrvatskoj je prvi put potvrđena na maslini tek nedavno (Kaliterna i

sur., 2016a), a rezultati ovog istraživanja potvrđuju da je raširena i na istarskom poluotoku. Ustanovljena je u maslinicima na 13 istraživanih lokacija (što čini 57 % od ukupnog broja lokacija), pri čemu je izolirana iz 28 simptomatičnih stabala. Gljiva *V. dahliae* pronađena je u maslinicima u okolici Rovinja, Bala, Baredina, Vodnjana, Labina i Marčane.



Slika 1. *Verticillium dahliae*, izolati Ver/Sg4, Ver/Sg7, Ver/SG8, Ver/SG9, Ver/SG21 i Ver/SG26 na KDA nakon 7 dana inkubacije

Fig. 1 *Verticillium dahliae*, Ver/Sg4, Ver/Sg7, Ver/SG8, Ver/SG9, Ver/SG21 and Ver/SG26 isolates on PDA 7 days after incubation

Gljiva *Armillaria mellea* sensu lato ustanovljena je u maslinicima u okolici Bala, Višnjana, Vodnjana i Butonige, na četiri istraživane lokacije (odnosno 17 %). Stabla zahvaćena ovom gljivom bila su ili potpuno osušena ili su na njima bili vidljivi simptomi sušenja i propadanja te simptomi truljenja na korijenovom vratu (Slika 2.).



Slika 2. Simptomi na korijenovom vratu uzrokovani vrstom *Armillaria mellea*, 27. 10. 2016.

Fig. 2 Symptoms on root neck caused by species *Armillaria mellea*, October 27th 2016.

Iz nekrotičnih lezija i rak-rana na simptomatičnim stablima izolirano je nekoliko izolata za koje je analizom morfologije ustanovljeno da pripadaju porodici Botryosphaeriaceae. Izolate, koji su pripadali rodu *Diplodia*, nije bilo moguće identificirati do razine vrste pa su analizirani sekvenciranjem dijela ITS1-5.8S-ITS2 ribosomske DNA ili dijela gena translacijskog elongacijskog faktora 1 α . Sakupljena su četiri izolata, od kojih su tri identificirana kao *Diplodia seriata*. Vrsta *D. seriata* ustanovljena je na trima lokacijama (13 %), a već je zabilježena kao uzročnik sušenja masline u Hrvatskoj (Kaliterna i sur., 2012). U okviru ovog istraživanja, osim spomenutih, nađene su i druge vrste gljiva o čijoj se ulozi uzročnika bolesti na maslini još uvijek malo zna.

Najveći broj dijagnosticiranih fitopatogenih gljiva izoliran je iz stabala istarske sorte Buža, različite starosti. Prema geografskoj raširenosti, vrsta *V. dahliae* ustanovljena je u svim maslinarskim uzgojnim područjima obuhvaćenim ovim istraživanjem. Rezultati istraživanja pokazuju kako je najzastupljenija u rovinjskom maslinarskom uzgojnom području. Prisutnost *A. mellea* također je ustanovljena u svim maslinarskim uzgojnim područjima, dok je vrsta *D. seriata* zabilježena samo u maslinicima u okolici Rovinja i Bala. Prema istraživanju López-Escudera i Mercado-Blanca (2011), sorta Leccino osjetljiva je, dok je sorta Frantoio otporna na verticilijsko venuće. Osim verticilijskog venuća, ekonomski štetnom bolesti masline u Istri može se smatrati i trulež korijena uzrokovana gljivom *Armillaria mellea* (Ivić i Godena, 2017).

Prema autorima López-Escudera i Mercado-Blancu (2011), tla kisele reakcije (< pH 5,5) inhibiraju rast vrste *V. dahliae* te stvaranje i opstanak mikrosklerocija. Isti autori navode da se ovaj patogen obično razvija u tlu

neutralne do alkalne reakcije tla (pH 6-9), dok povećanje kalija u tlu dovodi do ublažavanja bolesti koje uzrokuje. Rezultati ovog istraživanja podudaraju se s rezultatima navedenih autora. Uzorci tla prikupljeni u maslinicima u kojima je dijagnosticirana spomenuta fitopatogena gljiva bili su slabo kisele do alkalne reakcije (pH 6,40-8,10), najniži pH zabilježen je u rovinjskom, a najviši u bujsko-umaškom uzgojnom području. S obzirom na biljci pristupačan kalij, navedena su tla većinom bila dobro ili bogato opskrbljena tim makroelementom (17,0 - 35,0 K₂O/100 g tla), dok je jedan uzorak kod kojeg je ustanovljena gljiva *A. mellea* imao izraziti višak toga elementa (>45,0 K₂O/100 g tla). Najniža količina kalija ustanovljena je u bujsko-umaškom, a najviša u rovinjskom i vodnjansko-pulskom uzgojnom području. Isto tako, tla su bila dobro opskrbljena dušikom (0,11 - 0,19 %), dok su količine fosfora u tlu najviše varirale (2,84 - 37,17 mg P₂O₅/ 100 g tla), od vrlo slabo u bujsko-umaškom do bogato opskrbljenog tla u vodnjansko-pulskom uzgojnom području. Količina organske tvari kretala se od 1,86 % (slabo humusno tlo) do 4,46 % (humusno tlo).

ZAKLJUČAK

Ovim istraživanjem potvrđeno je da su gljivične bolesti uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina na istarskom poluotoku. Većina biljnih bolesti obuhvaćenih ovim istraživanjem u Hrvatskoj još nije sustavno opisana niti je njihova raširenost i štetnost zasad istraživana. Prema simptomima uočenima u maslinicima te vrstama gljiva izoliranim iz simptomatičnih stabala, nameće se zaključak kako su bolesti, opisane u drugim područjima svijeta, prisutne i na području Istre. Riječ je o verticilijskom venuću čiji je uzročnik gljiva *Verticillium dahliae*, bortriosferijskom raku koji uzrokuje gljiva *Diplodia seriata* i truleži korijena koju uzrokuje gljiva *Armillaria mellea*. U okviru ovog istraživanja osim spomenutih nađene su i druge vrste gljiva, čija je uloga uzročnika bolesti na maslini malo poznata.

Među identificiranim gljivama u ovom istraživanju najvažnija je *V. dahliae*. Prisutnost i raširenost ovog patogena masline u Istri može predstavljati ozbiljan problem. Mjere zaštite protiv verticilijskog venuća masline ograničene su, a bolest može biti vrlo štetna. Osjetljivost najvažnijih istarskih sorti masline na tu bolest nije poznata, a mjere poput korištenja certificiranog sadnog materijala, solarizacije tla ili primjena bioloških pripravaka za zaštitu korijena od fitopatogenih gljiva još nisu prihvaćene u lokalnoj maslinarskoj praksi.

Ustanovljivanje uzročnika bolesti djelomičnog ili potpunog sušenja masline prvi je korak u izradi strategije zaštite u okviru održive i tehnološki napredne proizvodnje maslina u Istri. Navedena bi strategija u budućnosti, uz učinkovite mjere zaštite, doprinijela povećanju kakvoće i količine proizvodnje maslina te smanjenju rizika u proizvodnji, a proizvođače bi upoznala s novim problemima i mogućnostima njihovog suzbijanja.

LITERATURA

- BJELIŠ, M. (2009). Zaštita masline u ekološkoj proizvodnji, Solin, vlastita naklada.
- DRŽAVNI ZAVOD ZA STATISTIKU (2016). Statistički ljetopis Republike Hrvatske 2016., Zagreb, 271., https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/ljetopis/2016/sljh2016.pdf (pristupljeno: 23.10.2017.)
- GARCÍA-RUIZ; G. M., TRAPERO; C., VARO-SUAREZ A., TRAPERO, A., LÓPEZ-ESCUADERO, F. J. (2015). Identifying resistance to *Verticillium* wilt in local Spanish olive cultivars. *Phytopathol. Mediterr.*, Vol. 54, 3: 453-460.
- GAŠPAREC-SKOČIĆ, L.J., MILAT, V. (2011.) Maslinarstvo i uljarstvo u RH: Maslina, najvažnija voćka hrvatskog uzorja. U: Maslina i maslinovo ulje: Božji dar u Hrvata (Lj. Gašparec-Skočić i V. Milat ur.). Zagreb. Mavi d.o.o., pp 58-68.
- IVIĆ, D., GODENA, S. (2017). *Armillaria mellea* na maslini i nove perspektive u zaštiti od truleži korijena. *Glasilo biljne zaštite*, Vol. 17, 4: 378-383.
- IVIĆ, D., IVANOVIĆ, A., MILIČEVIĆ, T., CVJETKOVIĆ, B. (2010). Shoot necrosis of olive caused by *Phoma incompta*, a new disease of olive in Croatia. *Phytopathol. Mediterr.*, Vol. 49, 3: 414-416.
- JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., CIRULLI, M., BUBICI, G., JÍMENEZ-GASCO, M. DEL M., ANTONIOU, P. P., TJAMOS, E. C. (2012). *Verticillium* wilt, a major threat to olive production: Current status and future prospects for its management. *Plant. Dis.*, 96: 304-329.
- KALITERNA, J., MILIČEVIĆ, T. (2012). Bolesti maslina uzrokovane fitopatogenim gljivama iz porodice *Botryosphaeriaceae*. *Glasilo biljne zaštite*, Vol. 12, 4: 361-366.
- KALITERNA, J., MILIČEVIĆ, T., BENČIĆ, Đ., MEŠIĆ, A. (2016a). First Report of *Verticillium* Wilt Caused by *Verticillium dahliae* on Olive Trees in Croatia. *Plant. Dis.*, Vol. 100, 12: 2526.
- KALITERNA, J., MILIČEVIĆ, T., BENČIĆ, Đ., MEŠIĆ, A. (2016b). Sušenje masline uzrokovano gljivom *Verticillium dahliae* Kleb. u Istri. *Glasilo biljne zaštite*, Vol. 16, 6: 557-562.
- KALITERNA, J., MILIČEVIĆ, T., IVIĆ, D., BENČIĆ, Đ., MEŠIĆ, A. (2012). First report of *Diplodia seriata* as causal agent of olive dieback in Croatia. *Plant. Dis.*, Vol. 96, 2: 290-290.
- LÓPEZ-ESCUADERO, F. J.; MERCADO-BLANCO, J. (2011). *Verticillium* wilt of olive: a case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen. *Plant Soil*, 344: 1-50.
- LORETO, F., BURDSALL, JR. H. H., TIRRO', A. (1993). *Armillaria* Infection and Water Stress Influence Gas-exchange Properties of Mediterranean Trees. *Hortic. Sci.*, Vol. 28, 3: 222-224.
- MORAL, J., MUÑOZ-DÍEZ, C., GONZÁLEZ, N., TRAPERO, A., MICHAILIDES, T. J. (2010). Characterization and Pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* Species Collected from Olive and Other Hosts in Spain and California. *Phytopathology*, Vol. 100, 12: 1340-1351.
- OEPP/EPPO (2007). EPPO Standard PM 7/78 (1) *Verticillium albo-atrum* and *V. dahliae* on hop. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 37: 528-535.
- PHILLIPS, A. J. L., ALVES, A., ABDOLLAHZADEH, J., SLIPPERS, B., WINGFIELD, M. J., GROENEWALD, J. Z., CROUS, P. W. (2013). The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. *Studies in Mycology*, 76: 51-167.

SINGLETON, L. J., MIHAIL, J. D., RUSH, C. M. (1992). *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*, St. Paul, Minnesota, APS.

ÚRBEZ-TORRES, J.R., PEDUTO, F., VOSSEN, P. M., KRUEGER, W. H., GUBLER, W. D. (2013). Olive twig and branch dieback: etiology, incidence and distribution in California. *Plant Dis* 97: 231-244.

WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S., TAYLOR, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. U: *PCR protocols: A guide to methods and applications* (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ ur.). New York. Academic Press Inc., pp. 315-322.

UPUTE ZA PRIPREMA RUKOPISA

Tematsko područje časopisa

Časopis objavljuje aktualne i inovativne izvorne znanstvene radove (Original Scientific Paper), pregledne radove (Review), prethodna priopćenja (Preliminary Communication) koji donose nove spoznaje iz područja zaštite bilja (biologija, ekologija i suzbijanje štetnih organizama, fitofarmacija, aplikacija sredstava za zaštitu bilja, invazivne vrste i sl.).

Vrste radova

Izvorni znanstveni rad (Original Scientific Paper) predstavlja djelo koje je rezultat znanstvenog istraživanja primjenom znanstvenih metoda. Otkriva nepoznate činjenice i odnose te objašnjava zakonitosti među pojavama. Prodonosi povećanju znanstvenih spoznaja. Opseg rada treba iznositi 10-15 stranica. Sastavnice i redoslijed rada su:

NASLOV RADA na jeziku rada. Treba biti kratak i informativan. Treba izbjegavati suviše riječi.

SAŽETAK rada na jeziku rada. Može sadržavati do 250 riječi i piše se u jednom pasusu. Treba sadržavati kratki opis istraživanja, materijala i metoda i važnije rezultate rada.

Nomenklatura nije obvezni dio rada. Navedeni nomenklaturni podaci mogu biti korisni kod pretraživanja radova i omogućuju veću citiranost rada. Ukoliko autor želi, unosi sljedeće podatke: narodni naziv (common name) istraživane vrste (kulturne i divlje), znanstveni naziv (latinski) s naznakom autora naziva, nazive istraživanih kemijskih supstanci i eventualno važnu kraticu pojma (ovisno o vrsti rada). Piše se iznad Ključnih riječi.

Ključne riječi (3-5) na jeziku rada poredane abecednim redom. Ako je moguće, treba izbjegavati riječi iz naslova rada.

NASLOV RADA na engleskom jeziku. Ako je rad pisan na engleskom jeziku, naslov rada na hrvatskom jeziku.

SUMMARY na engleskom jeziku ili **SAŽETAK** na hrvatskom jeziku ako je rad pisan na engleskom jeziku.

Nomenclature: ukoliko se piše nomenklatura na hrvatskom, obvezno je pisanje i na engleskom jeziku.

Key words na engleskom jeziku ili **Ključne riječi** ako je rad pisan na engleskom jeziku.

UVOD treba ukratko iznijeti ideju i cilj istraživanja. U uvodu objasniti konkretni problem, opisati ga te razjasniti što je do sada istraženo i s kakvim uspjehom. Završava ciljem i svrhom istraživanja.

MATERIJALE I METODE RADA treba kratko i dovoljno informativno izložiti. Detaljnije se opisuju samo nove originalne ili modificirane metode. Za poznate metode i tehniku istraživanja navodi se samo izvor (autor i godina objave).

REZULTATI RADA I RASPRAVA mogu biti u jednom ili razdvojenim poglavljima. Važno je ne iznositi iste podatke (rezultate) na različite načine (tablično, grafikonom i tekstualno).

ZAKLJUČCI trebaju pružiti kratku i jasnu sliku istraživanja. Navesti samo što je postignuto istraživanjem u skladu s ciljem istraživanja.

Zahvala, ev. zahvala za pomoć u radu osobama koje nisu autori rada ili za financijsku podršku istraživanju. Piše se nakon Zaključaka a prije Popisa literature.

LITERATURA treba biti popisana (samo ona citirana u radu) prema harvardskom sustavu. Autore treba poredati abecednim redom, bez numeriranja. Više radova istog autora navode se kronološkim redom. Više radova istog autora u istoj godini označavaju se uz godinu slovima, a redosljed radova se navodi abecednim redom po nazivu rada. Nazive časopisa treba skraćivati prema pravilima (npr. link http://images.webofknowledge.com/images/help/WOS/G_abrvjt.html), a nazive za koje nije definirana skraćenica treba pisati u punom nazivu.

Ovisno o izvoru (članak iz časopisa, knjiga, poglavlje u knjizi, online izvor i dr.), literaturu treba pravilno popisati i citirati u tekstu rada. Budući da je danas dostupno sve više online izvora literature, nužno je nazglasiti da je online izvor a nakon navođenja URL adrese navesti datum pristupanja izvoru.

Treba izbjegavati sekundarno citiranje i citiranje online radova kojima nije poznat autor.

Kod citiranja izvora literature u tekstu rada, obvezno je pravilno citiranje izvora ovisno o broju autora (jedan, dva ili više od dva autora). Autori se navede bez imena i titule.

Broj autora treba biti umjeren i u skladu s opsegom rada.

Primjeri popisivanja literature:

- **članak u časopisu:** LEMIĆ, D., BAŽOK, R. (2011). Prednosti i nedostaci insekticida iz skupine regulatora rasta i razvoja kukaca za za primjenu u integriranoj zaštiti bilja. *Fragm. Phytomed. Herbolog.*, Vol. 31, 1-2: 82-99.

- **elektronički oblik članka u časopisu:** isto kao prethodno a iza broja stranice, dodati mrežnu stranicu i (pristupljeno: datum)

- **knjige:** ORAIĆ TOLIĆ, D. (2011). *Akademsko pismo: Strategije i tehnike klasične retorike za suvremene studentice i studente*, Zagreb, Naklada Ljevak d.o.o.

(kad knjiga ima dva naslova piše se na prikazani način, glavni naslov se odvaja dvotočkom ispred drugog naslova)

- **knjige dostupne online:** sve isto kao prethodno i: iza naslova dodati (e-knjiga ili online); iza izdavača dodati mrežnu stranicu i (pristupljeno: datum).

- **poglavlje u knjizi:** IVIĆ, D., KRISTEK, A. (2015). *Gljivične bolesti šećerne repe*. U: *Šećerna repa: Zaštita od štetnih organizama u sustavu integrirane biljne*

proizvodnje (R. Bažok ur.). Zagreb. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, pp 66-95.

- znanstveni i stručni rad/sažetak u konferencijskom zborniku:

GALZINA, N., ŠĆEPANOVIĆ, M., GORŠIĆ, M., BARIĆ, K., OSTOJIĆ, Z. (2007). Učinak reduciranih doza herbicida na broj i masu korova u kukuruzu. ed. Pospišil Milan, Zbornik radova 42. Hrvatski i 2. međunarodni simpozij agronoma, Opatija, 13-16. 2. 2007., pp. 641-645.

- diplomski rad/ magistarski rad/disertacija:

LIPOVSKI, A. (2015). Peterojezični rječnik najvažnijih korovnih vrsta. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

- publikacije nacionalnih i internacionalnih

organizacija/institucija/asocijacija (najčešće dostupno online):

- poznat autor i datum.: STREIBIG, J. C. (2003). Assessment of herbicide effects. European Weed Research Society,

http://www.ewrs.org/et/docs/herbicide_interaction.pdf (pristupljeno: 21. 1. 2017.)

- nije poznat autor i datum: European Weed Research Society (n.d.). Crop-weed interactions working group, http://www.ewrs.org/crop-weed_interactions.asp, (pristupljeno: datum)

- nije poznat autor: Anonymous (godina/ili n.d.). Naslov. mrežna stranica (pristupljeno: datum)

Primjeri citiranja izvora u tekstu:

- dva autora: (Ivić i Kristek, 2015) ili u engl. verziji rada (Ivić & Kristek, 2015)

- više od dva autora: Bažok i sur., 2015 ili u engl. verziji rada (Bažok et al., 2015)
Upute za popis i citiranje literature su jedinstvene za sve oblike radova.

Pregledni rad (Review) sadrži cjelovit prikaz problema. Sastoji se od analiziranih i sintetiziranih prikupljenih već objavljenih znanstvenih spoznaja i informacija. Treba sadržavati: Naslov, Sažetak, Summary, Uvod i Zaključke prema navedenim uputama. Sadržajna organizacija rada primjerena je temi rukopisa koju određuje autor. Opseg rada nije ograničen.

Prethodno priopćenje (Preliminary Communication) ili znanstvena bilješka je oblik znanstvenog rada koji sadrži znanstvene spoznaje i rezultate koji su vrijedni objave. Organizacija rada ne mora sadržavati sva poglavlja izvornog znanstvenog rada.

Tehnička priprema rukopisa

Tekstovi trebaju biti napisani na hrvatskom ili engleskom jeziku. Tekst rada treba pisati u MS Wordu dvostrukim proredom. Sve margine trebaju iznositi 2,5 cm. Potrebna je kontinuirana numeracija redova rada. Tip slova Times New Roman veličine fonta 11.

Naslov rada, imena autora i naslovi poglavlja trebaju biti centrirani.

Ispod naslova, navesti puno ime i prezime (prezime velikim tiskanim slovima) autora i instituciju gdje je autor/i zaposlen. Ispod institucije navesti adresu elektronske pošte autora zaduženog za komunikaciju s Uredništvom. Sve navedeno (naslov i ostali podaci) treba biti centrirano.

Naslovi, zaglavlje i opis tablica, crteža, grafikona, slika i shema u radu pisanom na hrvatskom jeziku trebaju biti prevedeni i na engleski jezik, i obrnuto.

Tablice, grafikoni ili slike šalju se kao zasebne datoteke te se izostavljaju iz glavnog rukopisa. U rukopisu naznačuju se samo naslovi (legende) tablica, grafikona ili slika na mjestu u tekstu gdje bi trebale stajati.

Nazive tablica treba pisati u novi pasus iznad tablice. Tablice trebaju sadržavati samo najvažnije podatke, koji nisu prikazani, grafički i tekstem.

Nazivi grafikona, crteža i slika pišu se ispod objekata. I objekti i nazivi trebaju biti centrirani. Boldirati samo riječi tablica, grafikon, crtež, slika, naziv ne. Poželjno je koristiti vlastite originalne slike.

Grafikoni se dodatno predaju u Excel formatu, a crteži i slike kao JPEG ili TIFF formatu s minimalnom rezolucijom od 400 dpi.

Tablice, grafikoni, crteži i slike označavaju se arapskim brojevima.

Kratice u rukopisu trebaju biti međunarodno prihvaćene. Koristiti Međunarodni sustav jedinica (SI sustav). Složene jedinice odvajaju se kosom crtom (kg/ha, m/s i sl.). Biološki pojmovi trebaju biti međunarodno prihvaćeni. Latinske nazive vrsta i rodova pisati u kurzivu (italic) a pri prvom navođenju imena vrste obavezno je navođenje autora. Kasnije u tekstu naziv roda može se kratiti na početno slovo.

Predložak rada može se vidjeti na mrežnoj stranici Hrvatskog društva biljne zaštite (<http://hdbz.hr/fragmenta/>).

Procedura objave rada

Uredništvo preliminarno procjenjuje tematsku prikladnost i tehničko udovoljavanje rukopisa za časopis. Uredništvo odabire dva recenzenta i upućuje im rukopis i obrazac za recenziju. Autor e-poštom dobiva obavijest da je rad prihvaćen i poslan na recenziju. Recenzenti će biti zamoljeni da u roku od 14 (max. 30) dana recenziraju rad. Ukoliko bude znatnih odstupanja u recenzijama, rad će biti na isti način proslijeđen trećem recenzentu. Recenzenti predlažu jednu od četiri mogućnosti: *rad se prihvaća*; *rad se prihvaća uz manje izmjene*, *rad se prihvaća uz veće izmjene* i *rad se ne prihvaća* za objavu. Kad su uvjetovane veće izmjene rukopisa, ispravljeni rad ponovno se šalje recenzentu na provjeru. Nakon recenziranja i korekcija (autor ih treba obaviti u roku od 14 dana) rad se upućuje tehničkom uredniku a on lektoru. Nakon lekture rad se šalje autoru na ev. korekcije

VAŽNO! Autor/i preuzimaju odgovornost za akademsku čestitost (znanstvenu etiku, plagiranje i prava o intelektualnom vlasništvu).

Rukopis dostaviti e-poštom na adresu: apintar@agr.hr