

Zaštita bilja
Vol. 55 (1-4), No 247-250, 5-18, 2004
Beograd

UDK 634.25
Naučni rad

EKOLOŠKE I EPIDEMIOLOŠKE OSOBINE I MOGUĆNOST SUZBIJANJA *COLLETOTRICHUM* *GLOEOSPORIOIDES* (PENZ.) PENZ. ET SACC. PROUZROKOVAČA ANTRAKNOZE MASLINE

JELENA LATINOVIĆ, ZORA VUČINIĆ
Univerzitet Crne Gore, Biotehnički institut, Podgorica

U radu su prikazani rezultati trogodišnjih istraživanja ekologije i epidemiologije parazitne gljive *Colletotrichum gloeosporioides* na maslini u uslovima Crnogorskog primorja u cilju utvrđivanju uslova za širenje bolesti i sagledavanje mogućih mjera suzbijanja.

Ključne riječi: maslina, antraknoza, *Colletotrichum gloeosporioides*, Crna Gora, ekološke i epidemiološke osobine

UVOD

Antraknoza masline prisutna je, u većem ili manjem obimu, poslednjih godina u maslinjacima duž Crnogorskog primorja. U Crnoj Gori konstatovana je prvi put u jesen 1995. godine (Vučinić i Latinović, 1999). Prouzrokovač ove bolesti je gljiva *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., ranije poznata pod nazivom *Gloeosporium olivarum* Alm.

Unapređenje maslinarstva je jedan od prioritetnih ciljeva u razvoju crnogorske poljoprivrede, u kome se zaštiti masline poklanja posebna pažnja. Stoga je od važnosti činjenica da antraknoza masline može dovesti do značajnih ekonomskih gubitaka. Tržišna vrijednost zaraženih plodova je u velikoj mjeri smanjena, što je posebno bitno kod sorti za stonu upotrebu. Smanjeni su, takođe, kvantitet i kvalitet ulja dobijenog od obolelih plodova. Prema Smith et al. (1988), značaj nastalih šteta varira iz godine u godinu i razlikuje se od jedne do druge oblasti gajenja. U

Portugaliji su 1965. godine, na primjer, gubici izazvani ovom bolešću masline iznosili više od tri miliona dolara. Krajem 1970-ih zabilježene su, takođe, ozbiljne štete kada je bilo preko 50 % oboljelih plodova u oblastima sa visokom relativnom vlažnošću. Znatne štete konstatovane su i u Grčkoj i Italiji. Iannotta et al. (1997) navode da ulje masline ne može biti svrstano u kategoriju "extra virgin" (ekstra djevičansko) pri zarazi ploda > 30%.

Antraknoza masline rasprostranjena je u mnogim oblastima gajenja masline u Italiji, Argentini, Australiji, Brazilu, Francuskoj, Grčkoj, Japanu, Rusiji, Španiji, Južnoj Africi, Urugvaju (Baldini et Scaramuzzi, 1981), Tunisu (Boulila et Mahjoub, 1994), Turskoj (Delen et Saribay, 1972), Gruziji (Kechakmadze et Kikvadze, 1972), Kini (Shih et Zheng, 1983), kao i u Kaliforniji (Smith et al., 1988). Imajući u vidu rasprostranjenost bolesti, moguće štete, kao i polifagnost vrste, pristupili smo detaljnijem proučavanju pojedinih ekoloških i epidemioloških osobina ove patogene gljive masline sa ciljem sagledavanja najboljih rješenja u suzbijanju bolesti.

MATERIJAL I METODE

Ekološka i epidemiološka proučavanja sprovedena su u periodu 1997.-1999. godine. Oboleli plodovi masline, koji su u našim istraživanjima bili jedini organi biljke na kojima je konstatovano prisustvo patogena, sakupljeni su iz svih većih zasada masline na području od Ulcinja do Budve. Uobičajenim fitopatološkim metodama dobijeni su izolati gljive *C. gloeosporioides* odgajeni na podlozi od krompira i dekstroze (KDA).

Od ekoloških odlika ispitivan je uticaj temperature i svjetlosti na porast, izgled kolonija i intenzitet sporulacije patogena. Epidemiološka proučavanja obuhvatila su određivanje vitalnosti patogena u plodovima i zemljištu i uticaj klimatskih faktora na vrijeme i intenzitet pojave *C. gloeosporioides*.

Ekološka ispitivanja

Uticaj temperature. Petri kutije sa 20 ml KDA zasijavane su nanošenjem u centar fragmenta kolonije prečnika 7 mm sa kulture *C. gloeosporioides* stare 7 dana, a odgajene na KDA pri 25 °C. Zasijane Petri kutije inkubirane su pri temperaturama 3, 8, 15, 20, 25, 28, 31 i 34 °C. Ogled je postavljen u četiri ponavljanja. Svakodnevnim osmatranjima utvrđivan je prečnik i morfologija kolonije i intenzitet sporulacije ispitivanih izolata gljive.

Uticaj svjetlosti. Kulture izolata patogena, spremljene po opisanom postupku, inkubirane su na sobnoj temperaturi u uslovima (a) mraka (petrijevke zatvorene u kutije radi sprečavanja prodiranja svjetlosti), (b) neprekidne svjetlosti UV lampe i (c) naizmjeničnog smjenjivanja svjetlosti i mraka (15/9 h).

Epidemiloška ispitivanja

Vitalnost patogena. U cilju utvrđivanja načina održavanja inokuluma iz godine u godinu ispitivana je vitalnost parazita u (a) obolelim plodovima i (b) zemljištu, po modifikovanim metodama koje su koristili Zachos et Makris (1963 b).

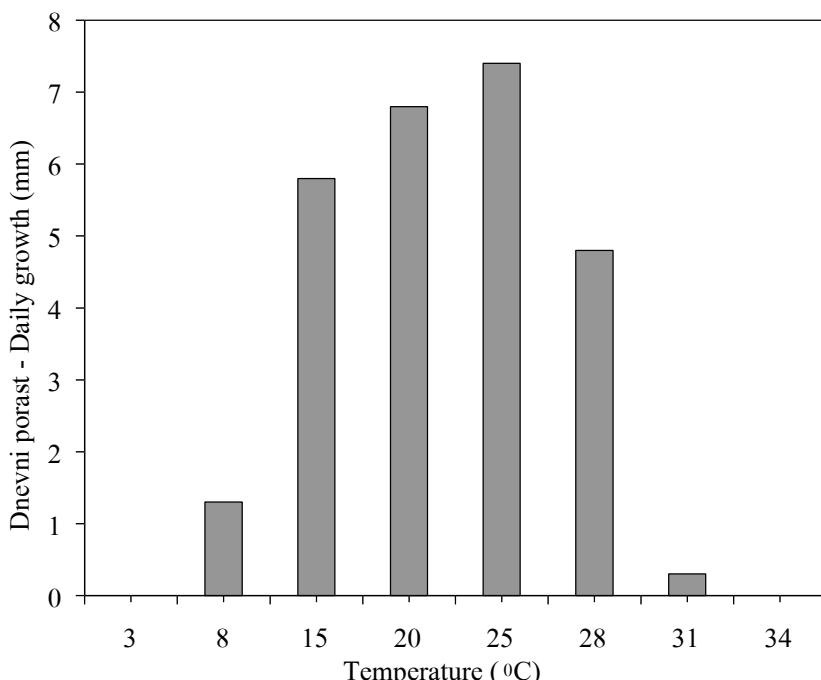
Vitalnost patogena u plodovima. Oboleli plodovi ubrani su sredinom novembra, postavljeni u plastičnu mrežicu i čuvani u prirodnim uslovima (a) na visini od 2 m iznad površine zemljišta, (b) na površini zemljišta i (c) u zemljištu na dubini od 10-15 cm. Patogenost je provjeravana veštačkim inokulacijama zdravih plodova masline u mesečnim intervalima od 01. jula do 01. novembra. Oboleli plodovi su, nakon odstranjivanja koštice, usitnjeni i homogenizovani u laboratorijskoj časi sa 50 ml destilovane vode u trajanju od 30 minuta, uz povremeno mućkanje i mješanje staklenim štapićem u cilju oslobađanja konidija parazita. Nakon filtriranja macerata kroz pamučnu gazu, dobijenom suspenzijom inokulisani su zdravi plodovi masline domaće sorte žutica. Inokulisani plodovi postavljeni su na navlažen filter papir u Petri kutije i čuvani u termostatu na 25 °C. Promjene na plodovima osmatrane su u periodu 10-14 dana.

Vitalnost patogena u zemljištu. Kultura gljive, sa podlogom koja je počela da se suši, je sastrugana, pomješana sa sterilnom zemljom i pijeskom (2:1), smješa postavljena u posude pod prirodnim uslovima. Provjera vitalnosti i infekcione sposobnosti parazita obavljena je nakon godinu dana. Smješa substrata i micelijske patogena postavljena u Petri kutije, a preko nje zdravi plodovi masline. Petri kutije su postavljene u posude sa vodom, pokriveni staklenim zvonom i držane pri temperaturi od 25 °C, kako bi se obezbijedili povoljnu uslovi temperature i vlažnosti za razvoj patogena. Ocjena nastalih promjena na plodovima vršena je nakon 10-14 dana.

Klimatski faktori. Uticaj klimatskih činilaca na pojavu *C. gloeosporioides* na plodovima masline praćen je u okolini Ulcinja, Bara i Budve. Meteorološki podaci dobijeni su od Republičkog hidrometeorološkog zavoda i sastojali su se od prosjeka srednjih dnevnih temperatura i broja kišnih dana prikazanih mjesечно.

REZULTATI

Uticaj temperature. Patogen se razvija u temperaturnom inetrvalu 8-31°C. Optimalna temperatura za porast ispitivanih izolata *C. gloeosporioides* je 25°C, suboptimalna 20°C, minimalna 8-9°C i maksimalna 31-34°C (Graf. 1). Kolonije gljive prekrivaju podlogu u Petri kutijama pri optimalnoj temperaturi nakon 12 dana od dana zasijavanja. Pri ovoj temperaturi, formira se u početku razvoja gljive micelija snježno-bijele boje, koja vrijemenom prelazi u svijetlu, a potom u tamnu sivomaslinastu. Rub kolonije je blago talasast, bez usijeka. Jedino se, sa razvojem kulture, bijela micelija zadržava na rubu, koji odgovara najmlađem dijelu kulture. Izražena je zoniranost formiranjem koncentričnih krugova micelije tamnosmeđe i gotovo crne boje, što je naročito uočljivo na substratnom dijelu kolonije. U starijim kulturama obrazuje se sitna stromatiča zadebljanja crne boje. Oko inokulacionih fragmenata veoma je obilno formiranje konidija u matriksu narandžaste boje. Pri maksimalnoj temperaturi menja se uobičajeni izgled kolonija. Nakon zasijavanja ne dolazi do razvoja bijele micelije, već je kolonija grudvasta, intenzivno sive boje oivičena zonom svetlo žutosmeđe boje, sa talasastim obodom.



Graf. 1 – Porast kolonija izolata *C. gloeosporioides* na različitim temperaturama
Colonies growth of the *C. gloeosporioides* isolates at different temperatures

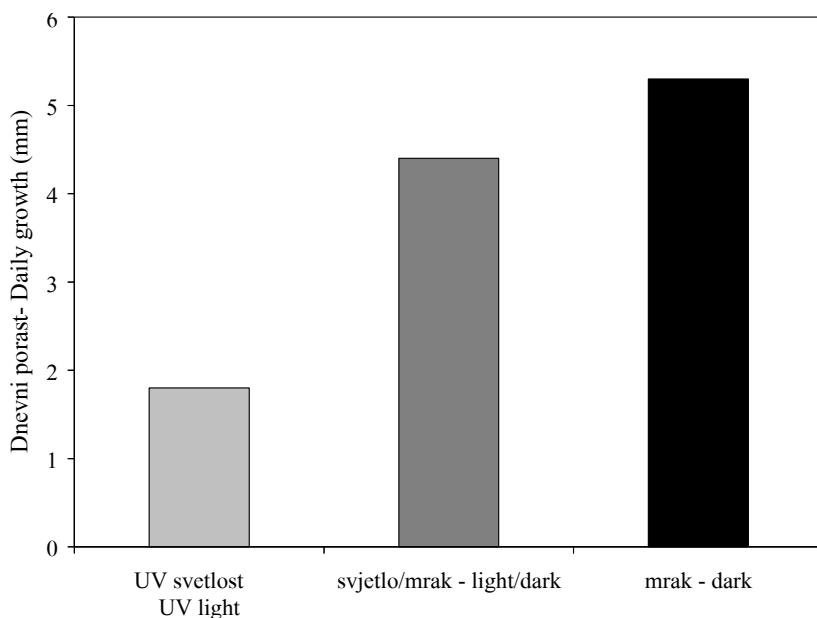
Uticaj svjetlosti. Najveći porast svih izolata ostvaren je u uslovima stalnog mraka. Pri naizmjeničnom smjenjivanju svjetlosti i mraka (15/9 h) porast je nešto slabiji, dok je stalna UV svjetlost značajno redukuje razvoj patogena (Graf. 2). Morfologija patogena zavisi od svetlosnog režima kojem su kolonija izložene (Sl. 1). Izgled kolonija u uslovima konstantne UV svjetlosti je drugačiji u odnosu na ostala dva tretmana svjetlosti. Ta razlika se ogledala u znatno više izdiferenciranim zonama u okviru koncentričnih krugova i u drugačijoj boji. Oko zasijanog fragmenta uočava se kružna zona sive micelije, koju od druge zone ispušćene sive micelije odvaja crni pojas. Sljedeća zona je ljubičasto-smeđe boje i okružena je narandžastim pojasom obilne fruktifikacije, koja se ponovo nadovezuje na zonu micelije sive boje. Na periferiji se nalazi rub bijele boje, koji odgovara najmlađem dijelu kulture.

Ispitivani izolati gljive sporulisali su pri sva tri uslova osvjetljenja, ali najintenzivnija fruktifikacija ostvarena je izlaganjem izolata uticaju stalne UV svjetlosti.

Vitalnost patogena. Oboljeli plodovi masline zadržavaju infektivnost nakon 11, odnosno 10 mjeseci, ukoliko su čuvani na visini od 2 m iznad površine zemljишta, odnosno na površini zemljишta. Ovi rezultati ukazuju da patogen u mumificiranim plodovima koji ostaju da vise na granama kao i u otpalim obolenim plodovima zadržava vitalnost dovoljno dugo da može obnoviti zarazu naredne godine. Stoga oboleni plodovi predstavljaju izvor zaraze tokom naredne vegetacije, pogotovo ukoliko su povoljni uslovi spoljne sredine. Oboljeli plodovi masline ukopani u zemljишte na 10-15 cm dubine ne predstavljaju primarni izvor zaraze, jer patogen u takvim uslovima gubi vitalnost nakon osam mjeseci, te se stoga ne može ostvariti povezivanje infekcije iz jedne u drugu godinu. Infekcija zdravih plodova masline, koji su postavljeni na smješu zemlje, pijeska i kulture gljive u prirodnim uslovima, nije ostvarena nakon godinu dana.

Uticaj klimatskih faktora na pojavu bolesti. Intenzitet zaraze plodova je neznatno varirao iz godine u godinu i kretao se oko 10-20 % tokom 1997., odnosno 20-30% tokom 1998. i 1999. godine. Može se reći da je intenzitet bolesti bio srednji do slab u ispitivanom periodu.

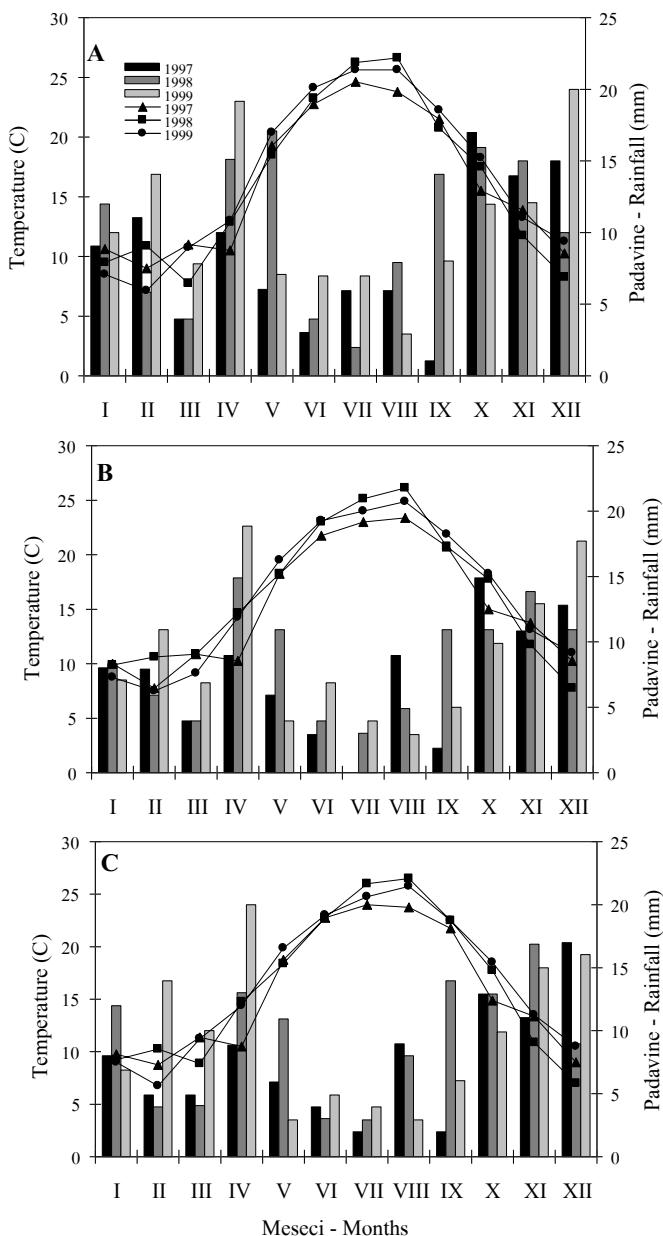
Prisustvo oboljenja na plodovima masline u okolini Ulcinja, Bara i Budve konstatovano je uglavnom u jesenjem periodu, od početka oktobra do kraja novembra. Analizirajući meteorološke podatke za 1997., 1998. i 1999. godinu (Graf. 3), prisustvo patogena u ovom periodu može se tumačiti time da je u ova dva mjeseca količina padavina prilično velika, kao i da su temperature za razvoj gljive povoljne. Pored toga, zrelost plodova je još jedan faktor koji utiče da intenzitet bolesti u tom periodu bude najveći. Izuzetak je konstatovan u julu 1999. godine,



Graf. 2 – Porast kolonija izolata *C. gloeosporioides* pri različitim uslovima osvjetljenja
 Colonies growth of the *C. gloeosporioides* isolates at different light conditions



Sl. 1 – *C. gloeosporioides*. Uticaj različitih uslova osvjetljenja na razvoj kolonije izolata gljive (gore lijevo: varijanta svjetlo-mrak; gore desno: varijanta mrak i dolje: varijanta UV svjetlo).
C. gloeosporioides. Influence of different light conditions on colony growth of the fungus isolate (up left: variant light-dark; up right: variant dark and down: variant UV light).



Graf. 3. – Srednje mesečne temperature i suma mesečnih padavina u Budvi (A), Baru (B) i Ulcinju (C) za period 1997-1999. godine.

Average month temperatures and total month rainfalls in Budva (A), Bar (B), and Ulcinj (C) in 1997-1999.

kada je na području Budve na manjem broju zelenih plodova utvrđeno prisustvo parazita. Ovo se može objasniti time što je u ovom lokalitetu tokom jula mjeseca količina padavina bila nešto veća nego što je to uobičajeno za ovaj ljetnji mjesec, dok je srednja mjesecna temperatura iznosila $25,5^{\circ}\text{C}$. Moguće je da je i napad muve masline (*Bactrocera oleae*), koji je u toku 1999. godine bio izrazito veliki, takođe doprinio ranijoj pojavi parazita.

DISKUSIJA

Izolati *Colletotrichum gloeosporioide*, prouzrokovica antraknoze masline u Crnoj Gori, razvijaju se u temperaturnom intervalu $8\text{-}31^{\circ}\text{C}$, sa optimumom pri 25°C . Naši rezultati su slični rezultatima Zachos et Makris (1959), koji su ustavili da je 25°C optimalna temperatura i da na 0°C nema porasta *Gloeosporium olivarum*. Međutim, ovi autori nisu utvrdili porast gljive na temperaturi većoj od 29°C . Prema Cabral (1941), optimalna temperatura za razvoj ovog patogena je 26°C , a za obilnu sporulaciju $22^{\circ}, 24^{\circ}, 26^{\circ}$ i 27°C . Hemmi et Kurata (1935) su utvrdili da je za porast *G. olivarum* optimalna temperatura 28°C , a da je porast moguć u intervalu od 5 do 40°C .

Direktna sunčeva svjetlost, kao i fluorescentna i ultraljubičasta svjetlost smanjuju porast kolonija u odnosu na kulture gajene u tami, ali stimulativno djeluju na sporulaciju *C. gloeosporioides* – superparazita stroma *Polystigma rubrum* (Stojanović, 1997). Promjene u izgledu kolonija *C. gloeosporioides* sa masline pod uticajem UV svjetla opisali su Margarita et al. (1986).

Mada su u našim istraživanjima plodovi jedini organi biljke na kojima je konstatovano prisustvo patogena, nije isključena mogućnost njegovog prisustva i na drugim biljnim organima, kao što su pojedini autori konstatovali u drugim zemljama (Nagorny et Eristavi, 1929; Saponaro, 1953; Martelli, 1960, 1961; Zachos et Makris, 1963a; Sagasta-Azpeitia, 1967/68). Tako, Zachos et Makris (1963b) smatraju da primarne infekcije nastaju kao rezultat klijanja spora iz acervula sa plodova ili lišća, a prema Martelli-ju (1960) i sa jednogodišnjih grančica.

Kako navodi Martelli (1960), *G. olivarum* može inficirati direktno staro lišće i plodove tokom jeseni i mlado lišće koje se razvija od februara pa na dalje. Lisne infekcije nastaju pri povoljnim klimatskim uslovima za ostvarenje zaraze i kad ima dovoljno inokuluma, a prestaju krajem aprila. Na zaraženom lišću, palom na zemlju, micelija ostaje živa oko 3-4 mjeseca. Male 2-3 godišnje grančice i starije grančice od 4-5 cm u prečniku mogu biti inficirane direktno ili preko peteljki od zaraženih plodova ili zaraženih listova. Infekcija plodova se ostvaruje najčešće direktno, rjeđe kada micelija prodire kroz peteljku. Patogen može živjeti tokom cijele godine, u malim 2-3 godišnjim grančicama (prečnika manjeg ili jednakog

4-5 cm). *G. olivarum* prezivljava vrlo dugo u mumificiranim neotpalim plodovima. Nove infekcije obično nastaju od ovih mumificiranih plodova naredne jeseni. Patogen prezivljava takođe i u zaraženim plodovima palim na zemljишte.

Naši rezultati su slični rezultatima Zachos-a i Makris-a (1963b), koji su ustavili da konidije u unutrašnjosti acervula na plodovima držanim u prirodnim uslovima (bilo u visini krune, na zemljisu ili na drugim mjestima u maslinjaku) zadržavaju sposobnost klijanja oko 9 mjeseci, odnosno dovoljno dugo da povežu epidemiju iz jedne sa onom iz sljedeće godine. Osim toga, prema ovim autorima, i zaraženi listovi masline, bilo da su ostali na granama ili otpali na zemljisu, predstavljaju izvor inokuluma kojim se ostvaruju primarne infekcije naredne godine. Naime, oni su ustanovili da acervule gljive na listovima čuvanim 11 mjeseci u prirodnim uslovima obrazuju konidije poslije 2-3 dana držanja u uslovima povećane vlažnosti.

Smanjena vitalnost parazita u zaraženim biljnim ostacima u zemljisu je savsim očekivana zbog intenzivnih mikrobioloških procesa i specifičnih ekoloških uslova, zbog čega se oni brzo razgrađuju. Dakle, radi sprečavanja prenošenja infekcije iz jedne u drugu godinu, može se preporučiti redovno sprovodenje agrotehničkih mjera u maslinjaku koje imaju za cilj uklanjanje i uništavanje zaraženih biljnih organa ili njihovo zaoravanje na određenu dubinu.

Dobijeni rezultati koji se tiču mogućnosti održavanja parazita u zemljisu u vidu micelije u periodu od godinu dana, ukazali su da ova mogućnost ne postoji i idu u prilog potvrdi rezultata do kojih su došli Zachos-a i Makris-a (1963b).

Graniti (1956) je zaključio da vrijeme ostvarenja infekcije zavisi od klimatskih faktora, posebno vlažnosti i temperature. Prema ovom autoru, na Siciliji infekcije počinju kada plodovi sazru, u drugoj polovini oktobra i nastavljaju se u jesen, postajući od mnogo manjeg značaja kada minimalna dnevna temperatura padne ispod 10 °C. U godinama kada su kasno ljeto i rana jesen blagi i vlažni, može doći do infekcije još uvijek zelenih plodova.

Značajne štete nastaju kada je razvoj patogena favorizovan vlažnom jeseni i zimom, posebno kod poznih sorti. Škarica i sar. (1997) napominju da se bolest širi pri temperaturama od 10° do 25° C, kada inkubacija traje 4-6 dana.

Prema Cabral-u (1949), u Portugaliji bolest se obično javlja nakon prvih oktobarskih kiša, dostižući maksimum tokom ovog mjeseca i u novembru, produžavajući se do kraja decembra ili čak u januaru mjesecu. Kako navodi isti autor, ova gljiva parazitira uglavnom plodove u donjem dijelu krune.

Graniti (1954) je ustanovio visok stepen zaraze u maslinjacima na strmim rječnim dolinama i na onima okrenutim sjeveru, dok je najveća šteta (do 100% zaraženih plodova) pričinjena u maslinjacima podignutim na niskim, sjenovitim, vlažnim terenima i na stablima sa prekomjerno debelim listovima.

U skladu sa konstatacijama Zachos-a i Makris-a (1963b), možemo zaključiti da, poslije ostvarenih primarnih zaraza, evolucija epidemije zavisi ne samo od

klimatskih, već i nekih drugih faktora. Razvoj gljive *C. gloeosporioides* je u pozitivnoj korelaciji sa zrelošću plodova masline (Nagorny i Eristavi, 1929; Graniti, 1956; Loprieno i Tenerini, 1960; Latinović i Vučinić, 2002), što utiče na vrijeme i intenzitet zaraze. Temperatura utiče s jedne strane na klijanje konidija (Latinović i Latinović, 2001), pa time i na infekciju biljke, a s druge strane na razvoj patogena u unutrašnjosti ploda, uslovjavajući trajanje inkubacije. Uloga kiše u širenju bolesti je dvostruka, jer doprinosi s jedne strane, disperziji parazita, a sa druge realizaciji infekcije. Sličnu, svakako znatno manju ulogu, imaju magla i rosa. Iako relativna vlažnost vazduha preko 93% omogućuje klijanje konidija bez kapi vode, u praksi se brzo i obilato klijanje ostvaruje u vodi (Latinović i Latinović, 2001), na osnovu čega možemo zaključiti da kiša predstavlja fundamentalni faktor za razvoj epidemije *C. gloeosporioides*. Naravno, u širenju bolesti bitnu ulogu imaju i vazdušna strujanja. Sastav zemljišta i ekspozicija maslinjaka imaju znatnog uticaja na razvoj bolesti. Glinovita, teško propusna zemljišta, kao i maslinjaci podignuti na ravnim, nedovoljno aeriranim terenima utiču na povećanje intenziteta zaraze. Muva masline značajno doprinosi širenju epidemije, s jedne strane ošteteњem plodova, a sa druge preuranjenom lokalnom zrelošću tkiva ploda.

Imajući u vidu prethodne konstatacije, kao i meteorološke podatke za lokalitete Ulcinj, Bar i Budva, uz sopstvena zapažanja, analiza epidemije u 1997., 1998. i 1999. godini nam govori sljedeće: – stadijum sazrijevanja plodova određuje kritični period zaraze od kraja septembra do početka decembra mjeseca. Temperatura ne predstavlja smetnju razvoju bolesti u tom periodu. Već u decembru, niže temperature značajno usporavaju njeno napredovanje. Raspored padavina u oktobru i novembru mjesecu je u sve tri godine bio povoljan za razvoj bolesti, iznoseći preko 10 kišnih dana mjesečno. U 1998. godini u septembru je bio veći broj kišnih dana nego u istom mjesecu u ostale dvije godine, te se u ovakvim godinama kišni septembar može smatrati kao "pripremni" mjesec za epidemiju koja svoj pun razvoj dostiže u naredna dva mjeseca. Kako su maslinjaci na crnogorskom primorju uglavnom podignuti na lako propusnom zemljištu i nagnutim terenima, ovi faktori ne doprinose širenju bolesti. I na kraju, intenzivan napad muve masline, kakav je bio 1999. godine, favorizovao je razvoj bolesti.

Zaštiti masline od antraknoze, dakle, umnogome doprinose agrotehničke mjerre. Pored sastava zemljišta i ekspozicije, pojedini autori preporučuju korišćenje rezistentnih sorti, kao i primjenu odgovarajuće rezidbe kojom se može smanjiti inokulum i poboljšati aeracija krošnje (Civantos Lopez-Villalta, 1999; Smith et al., 1988). Međutim, u suzbijanju prouzrokovaca antraknoze većina autora navodi da se najbolji rezultati postižu preventivnim tretiranjima preparatima na bazi bakra, prvenstveno bordovskom čorbom (1%) ili bakarnim oksihloridom (0,2%) (Matarese, 1976; Makris i Trimeris-Makris, 1980; Sharma i Kaul, 1990, Pennisi et al., 1993). Prema Sharma i Kaul (1991), iako se preventivnim tretiranjima u

poljskim uslovima postiže zadovoljavajuća zaštita, gubici nastali nakon berbe su neizbjegni, te preporučuju dodatnu zaštitu fungicidima prođuženog dejstva, koji će već ustanovljenu infekciju tokom berbe ili nakon nje uspješno redukovati. Kao veoma dobar fungicid u ove svrhe u istraživanjima ovih autora pokazao se karbendazim, a takođe su efikasni i benomil i tiabendazol (Sharma i Kaul, 1991). U Crnoj Gori, međutim, mogu se izvesti 2-3 tretiranja od početka septembra u razmacima od po 20 dana, koristeći kaptafol, mankozeb ili bakarne preparate, i to ukoliko se ocijeni da je suzbijanje parazita neophodno. Ako se preduzimaju mjere suzbijanja protiv *Spilocaea oleaginea*, prouzrokovaca «paunovog oka» na maslini, nema potrebe da se protiv prouzrokovaca antraknoze vrše posebna tretiranja (Mijušković, 1999).

LITERATURA

- Baldini E., Scaramuzzi F. (1981): L'Olivo-Frutticoltura anni 80. Ramo Editoriale degli Agricoltori.
- Boulila M., Mahjoub M. (1994): Inventaire des maladies de l'olivier en Tunisie. Bulletin OEPP, 24, (4), 817-823. In: Review of Plant Pathology, Vol. 74, No. 8, 5184, 1995.
- Cabral R.V. de G. (1941): Notas sobre o *Gloeosporium olivarum* Alm. Agron. lusit., iii, 1, pp. 49-58. In: Review of Applied Mycology, XXI, 496-497, 1942.
- Cabral R.V. de G. (1949): Notas sobre o *Gloeosporium olivarum* Alm. II. Observaçoes de campo. Bol. Junta Azeite, Lisb., 4, 13-14, pp. 17-27. In: Review of Applied Mycology, XXIX, 267, 1950.
- Civantos Lopez-Villalta M. (1999): Controllo dei Parassiti dell'Olivo. Consiglio Oleicolo Internazionale. Madrid.
- Delen N., Saribay A. (1972): *Gloeosporium olivarum* Alm in Ege region (Turkey). Journal of Turkish Phytopathology, 1, (2), 39-44. In: Review of Plant Pathology, Vol. 52, No. 9, 3003, 1973.
- Graniti A. (1954): «La lebbra» delle Olive in Sicilia. Notiz. Malatt. Piante, 27 (N.S. 6), pp. 27-32. In: Review of Applied Mycology, 33, 739, 1954.
- Graniti A. (1956): Atti del Convegno Nazionale di Fitopatologia, Reggio Calabria, 20-21 Marzo, 1956. Notiz. Malatt. Piante, 37-38 (N.S. 16-17), pp. 1-285. In: Review of Applied Mycology, XXXVI, 108-109, 1957.
- Iannotta N., Perri E., Sirianni R., Tocci C. (1997): Influence of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) and *Camarosporium dalmatica* (Thüm) on olive oil quality. Olea, No 24, p. 173.
- Kechakmadze L. A., Kikvadze I. V. (1972): Nekotorye bolezni masliny i bor'ba s nimi. Subtrop. Kul'tury, No. 2, 119-123 From Referativnyi Zhurnal. In: Review of Plant Pathology, Vol. 52, No. 7, 2334, 1973.

- Latinović Jelena, Latinović N. (2001): Uticaj temperature i relativne vlažnosti na klijanje konidija *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc., prouzrokovala antraknoze masline. Poljoprivreda i šumarstvo, Vol. 47 (3-4): 75-83.
- Latinović Jelena, Vučinić Zora (2002): Cultural characteristics, pathogenicity and host range of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from olive plants in Montenegro. Acta Horticulturae, Number 586, 753-755.
- Loprieno N., Tenerini I. (1960): Indagini sul *Gloeosporium olivarum* Alm., agente della 'lebbra' delle Olive. Phytopath. Z., 39, 3, pp. 262-290.
- Makris S. A., Trimeris-Makris N. G. (1980): Control of the Olive anthracnose in Corfu. Phytopathologia Mediterranea, Vol. XIX, pp. 67-72.
- Margarita, L., Porta-Puglia A., Quacquarelli, A. (1986): *Colletotrichum acutatum* nuovo patogeno dell'olivo in China e confronto con l'agente della «lebbra» dell'olivo. Annali dell'Istituto Sperimentale per la Patologia vegetale, Roma, Vol. XI, 125-133.
- Martelli G. (1960): Primo contributo alla conoscenza della biologia di *Gloeosporium olivarum* Alm. Phytopathologia Mediterranea, Vol. I, N. 1, 31-43.
- Martelli G. (1961): Acervuli di *Gloeosporium olivarum* Alm. su foglie di Olivo. Phytopathologia Mediterranea, 1, 3, pp. 125-128.
- Matarese M. (1976): La Difesa dell'Olivo dai Parassiti Vegetali e Animali. Universale Ed agricole, Bologna.
- Mijušković M. (1999): Bolesti i štetočine suptropskih voćaka. Univerzitet Crne Gore, Biotehnički institut – Podgorica.
- Nagorny P. I., Eristavi E. M. (1929): A brief survey of plant diseases in Abkhasia in 1928. Publications Agric. Exper. Stat. of Abkhasia 38, 28 pp. In: Review of Applied Mycology, 9: 226-227, 1930.
- Pennisi A. M., Agosteo G. E., Grasso S. (1993): Chemical control of the olive rot caused by *Glomerella cingulata*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 23, 467-472.
- Sagasta-Azpeitia E. M. (1967/68): I. Estudios basicos sobre *Gloeosporium olivarum* Alm. (Deuteromiceto Melanconial.) II. Estudios de laboratorio. III. Ensayos de tratamientos y observaciones de campo. Boln Patol. veg. Ent. agric., 30: 31-39; 41-61; 63-135. In: Review of Applied Mycology, Vol. 48, No. 10, 3078, 1969.
- Saponaro A. (1953): Presenza di *Gloeosporium olivarum* Alm. sugli organi vegetativi dall'Olivo nel Leccese e nel Brindisino. Ann. Sper. agr., N.S., 7, 2, pp. 609-619. In: Review of Applied Mycology, 34, 380, 1955.
- Sharma R. L., Kaul J. L. (1990): Field Evaluation of Fungicides for Control of Olive Anthracnose. Indian J. Mycol. Pl. Pathol. Vol. 20, No. 2, 185-187.
- Sharma R. L., Kaul J. L. (1991): Effect of post-harvest fungicidal treatments in controlling olive anthracnose. Indian Phytopathology, 128-130.
- Shih C. C., Zheng W. F. (1983): Studies on *Colletotrichum gloeosporioides* of olive anthracnose and its control. Scientia Silvae Sinicae, Vol. 19, No. 1, 50-56.

- Smith I. M., Dunez J., Lelliot R. A., Phillips D. H., Archer S.A. (1988): European Handbook of Plant Diseases. Blackwell Scientific Publications.
- Stojanović S. (1997): Epidemiološka i ekološka proučavanja *Colletotrichum gloeosporioides*, superparazita stroma *Polystigma rubrum*. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Škarica B., Žužić I., Bonifačić M. (1997): Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj. Sveučilišna knjižnica Rijeka.
- Vučinić Zora, Latinović Jelena (1999): *Colletotrichum gloeosporioides*, a new olive (*Olea europaea* L.) parasite in Yugoslavia. Acta Horticulturae, Number 474, 577-579.
- Zachos D. G., Makris S. A. (1959): Recherches sur le *Gloeosporium olivarum* Alm. en Grece. I. Biologie du champignon. Ann. Inst. Phytopath. Benaki, Volume 2, No I: 24-42.
- Zachos D. G., Makris S. A. (1963a): Recherches sur le *Gloeosporium olivarum* Alm. en Grece. II. Symptomatologie de la maladie. Ann. Inst. Phytopath. Benaki, Volume 5, No 2: 128-130.
- Zachos D. G., Makris S. A. (1963b): Recherches sur le *Gloeosporium olivarum* Alm. en Grece. III. Epidemiologie de la maladie. Ann. Inst. Phytopath. Benaki, Volume 5, No 3: 238-259.

(Primljeno: 15.02.2006.)
(Prihvaćeno: 08.08.2007)

**ECOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES
AND CONTROL POSSIBILITIES OF *COLLETOTRICHUM
GLOEOSPORIOIDES* (PENZ.) PENZ. ET SACC. CAUSAL
AGENT OF OLIVE ANTHRACNOSE**

JELENA LATINOVIĆ, ZORA VUČINIĆ

University of Montenegro, Biotechnical Institute, Podgorica

Summary

Olive anthracnose, caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., has been established in Montenegro several years ago. The results of ecological and epidemiological examinations are presented and control possibilities of the disease were discussed in this paper.

Optimal temperature for growth of the fungus isolates is 25 °C, while there is no fungal growth at 3° and 34 °C. The growth of the isolates was the most intensive on constant darkness, but the sporulation of the fungus was the most abundant in conditions of UV light.

Mummified infected olive fruits, which are left to hang on branches, as well as infected fruits dropped on the soil surface, represent the permanent source of inoculum. Infected fruits dug into soil on depth of 10-15 cm cannot serve as inoculum for realization of infections in the following year. Contaminated soil cannot be the source of inoculum in the next year, because the parasite is not sustainable in the form of mycelium throughout 12 months.

Since the olive fruits are in stage of maturity in October and November in overall conditions in Montenegro, these two months could be considered as critical period for appearance and spreading of the disease, if the climatic factors, primarily rainfall and temperature are convenient for realization of infection, which was the case during 1997, 1998 and 1999.

Considering these results, in control of the disease the agrotechnical measures are very valuable, primarily plowing into the soil or destroying of infected plant material, as well as adequate pruning.

Key words: olive, anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides*, Montenegro, ecology and epidemiology

(Received: 15.02.2006.)

(Accepted: 08.08.2007)

Zaštita bilja
Vol. 55 (1-4), No 247-250, 19-26, 2004
Beograd

UDK 630*176.382:630*443
Naučni rad

DEJSTVO RAZNIH TEMPERATURA I INTENZITETA PADAVINA NA STEPEN ZARAZE PLATANA PROUZROKOVANE GLJIVOM APIOGNOMONIA VENETA

MOMČILO ARSENJEVIĆ, JELICA BALAŽ, TATJANA POPOVIĆ
Poljoprivredni fakultet, Departman za zaštitu bilja, Novi Sad
E-mail: marsa@neobee.net

U radu su izneti podaci o uticaju temperature i padavina na intenzitet zaraze platana gljivom *Apiognomonia veneta* (Sacc. & Speg.) Höhn., prouzrokovala sušenja grančica i grana platana. Ispostavilo se da je tokom 1985. godine, kad su krajem aprila i početkom maja temperature bile relativno niske, a padavine obilate, stepen zaraze bio veoma jak. I obrnuto, u 1986. godini zaraze platana gotovo da nije ni bilo, jer ove godine krajem aprila i početkom maja temperature su bile više u odnosu na prethodnu 1985. godinu, a padavine oskudne.

Ključne reči: platan, *Platanus acerifolia*, *Apiognomonia veneta*, zaraza, temperature, intenzitet padavina.

UVOD

Proučavajući uzroke sušenja obolelih grana platana, česte pojave u Novom Sadu, utvrđeno je da ovu bolest ispoljenu u vidu plamenjače lišća i mladara, kao i izumiranja grančica i grana prouzrokuje gljiva *Apiognomonia veneta* (Arsenijević i sar., 1986; 2006).

Međutim, nasuprot veoma jakog stepena zaraze kad se uočava masovna pojava sušenja grančica i grana, bolest se nekih godina teško može uočiti ili je gotovo i nema. Zainteresovani za ovako nejednako ponašanje platana žeeli smo da po mogućству objasnimo toliko različit intenzitet infekcije utvrđen pojedinim

godina. Odgovor na ovo pitanje potražili smo analizom meteoroloških uslova, pretpostavljajući da su temperature i padavine osnovni uzroci toliko različite pojave bolesti. Jer, dugogodišnjim iskustvom došli smo do saznanja da se ova mikroza kod nas pretežno pojavljuje rano u proleće za vreme prohladnog i kišovitog vremena početkom maja. Zbog toga smo pristupili analizi spomenutih ekoloških činilaca, evidentiranjem padavina i temperaturu s jedne strane i stepena zaraze s druge (Graf. 1). Dobijene rezultate iznosimo u daljem tekstu.

MATERIJAL I METODE

Zdravstveno stanje platana proveravano je višegodišnjim praćenjem zaraze ispoljene na drvoređima platana u Novom Sadu. Ocena je vršena češćim okularnim posmatranjem ispoljenih simptoma bolesti ili utvrđivanjem odsustva ovog oboljenja platana tokom vegetacije. To se naročito ispoljilo tokom dve ekstremne sezone, 1985. i 1986. godine, kada su uslovi za zarazu bili različiti (Graf. 1, Tab. 1). Korišćeni su meteorološki podaci o temperaturi i padavinama datim za Novi Sad (Tab. 1).

Tabela 1 – Srednje dnevne temperature i suma padavina u Novom Sadu u periodu aprila-juna tokom 1985. i 1986. godine
Mean daily temperatures and total rainfall at Novi Sad during April-June in 1985 and 1986

Godina Year	Dekada Decades	Temperatura – Temperatures (°C)			Padavine – Rainfalls (mm)		
		April April	Maj May	Jun June	April April	Maj May	Jun June
1985	I	14,9	13,8	19,9	0,4	17,2	17,1
	II	10,5	19,9	15,5	20,8	35,4	28,6
	III	10,2	20,3	16,4	19,5	39,2	28,0
1986	I	16,4	17,2	14,6	3,9	12,7	24,0
	II	7,3	18,8	21,4	41,8	0,8	18,5
	III	16,8	20,1	20,5	8,1	37,7	7,9

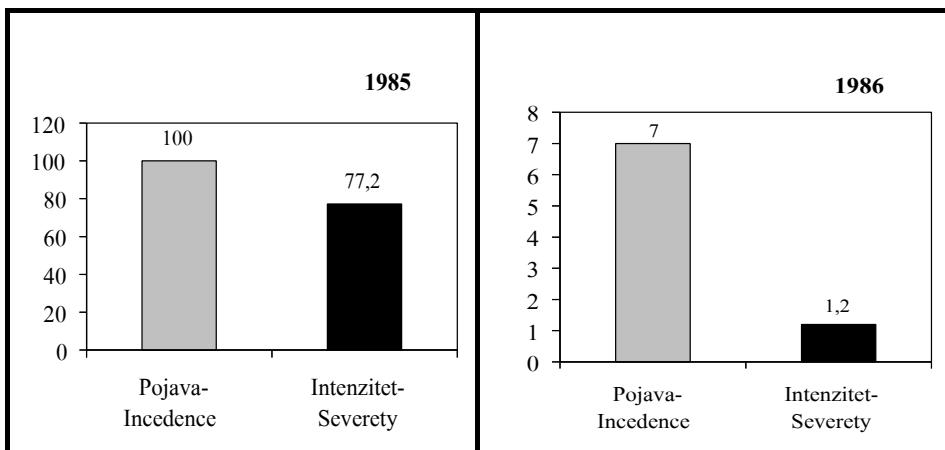
Identitet proučavane gljive proveravan je u laboratoriji izolovanjem na hranljivoj podlozi i posmatranjem razvoja kolonija i reproduktivnih struktura parazita.

Paralelno su mikroskopirane i obolele grančice i grane na kojima su se stvarale konidiomate anamorfa ili su delovi obolelih grančica s konidiomatama postavljane u vlažne Petri kutije radi oslobođanja konidija u vidu kapi eksudata i njihovog mikroskopiranja.

Konačna ocena stepena zaraze obolelog platana izvršena je krajem juna meseca kad su simptomi i posledice bolesti najizrazitiji. Ukupno je ocenjeno 100 stabala u drvoređima platana u Novom Sadu. Određivana je pojava (procenat obolelih biljaka) i intenzitet bolesti koristeći skalu: 0 - odsustvo zaraze, 1 - sporadična, 2 - slaba, 3 - srednja, 4 - jaka i 5 - veoma jaka zaraza.

REZULTATI

Kako se ispostavilo, intenzitet pojave bolesti tokom 1985. i 1986. godine bio je izrazito različit: veoma jak tokom 1985. i neobično slab, kad se bolest jedva mogla uočiti 1986. godine (Graf. 1).



Graf. 1 – Pojava i intenzitet oboljenja platana prouzrokovano gljivom *Apiognomonia veneta* tokom 1985. i 1986. godine.

Disease incidence and severity on plane tree caused by *Apiognomonia veneta* in 1985 and 1986.

Tako, tokom 1985. godine od 100 ocenjenih stabala samo su dva bila sa slabim simptomima bolesti, 11 osrednje obolelih, devet jače, a ostalih 78 vrlo jakog stepena zaraze sa pojavom masovnog sušenja lišća, mladara, grančica i grana (Graf.1, Sl.1-3).



Sl. 1-4 – *Apiognomonia veneta*. - Izgled jače obolele krošnje platana inficirane u povoljnim ekološkim uslovima tokom 1985. godine (Sl. 1); plamenjača lišća i mladara i izumiranje grančica i grana (detalj) (Sl. 2); potpuno sušenje celokupne krošnje kao posledica vrlo jake zaraze u 1985. godini (Sl. 3); izgled zdravog, neobolelog stabla platana za vreme neodgovarajućih uslova zaraze tokom 1986. godine (Sl. 4)(Orig.).
Apiognomonia veneta. - View of strong crown plane tree diseased infected under the favourable ecological conditions during 1985 (Fig.1); - leaves and shoots blight and dieback of twigs and branches (detail) (Fig.2); - full drying of the whole crown as consequence of very strong infection in 1985 (Fig.3); - view of healthy undiseased plane tree during unfavourable conditions for infection during 1986 (Fig.4) (Orig.).

Tokom 1986. godine situacija je bila obrnuta: čak 93 stabla su bila bez zaraze i svega sedam sa sporadično ispoljenim simptomima bolesti (Graf.1).

Analizirajući meteorološke uslove (temperaturu i padavine) za mesece april, maj i juni za obe ove godine vidi se da su ova ova činioca imala uticaja na intenzitet pojave bolesti. U trećoj dekadi aprila i prvoj dekadi maja meseca 1985. i 1986. godine srednje vrednosti dekadnih temperatura i sume padavina bitno se razlikuju (tab. 1).

Kako se iz tab.1 i vidi, suma srednjih vrednosti dekadnih temperatura za treću dekadu aprila u 1985. godini iznosi 10.2°C , a za isti period u 1986. godini 16.8°C . U 1985. godini suma padavina u trećoj dekadi aprila bila je 19.5 mm, a u 1986. godini 8.1 mm. U prvoj dekadi meseca maja 1985. godine srednja dekadna temperatura iznosila je 13.8°C , a tokom prve dekade maja 1986. godine: 17.2°C . Suma padavina za prvu dekadu maja 1985. iznosila je 17.2 mm, a maja 1986: 12.7 mm (tab. 1).

S obzirom na to da su i prema literaturnim podacima (Cellerino i Anselmi, 1978; Spies i sar., 1985; Wulf i Butin, 1987; Chauvel, 1991; Karadžić, 1992; Jurc, 2006 i dr.), temperature i padavine od odlučujućeg značaja u pogledu jačine zaraže platana koja nastaje u proleće, to se ovaj nejednak intenzitet bolesti ispoljen tokom 1985. i 1986. godine kod nas tako može i objasniti.

Jer, i krajem aprila i početkom maja 1985. godine srednje dnevne temperature bile su ispod 15°C (10.2°C i 13.8°C). A padavina je u ovom periodu bilo 19.5 mm i 17.2 mm.

U 1986. godini (kad bolesti skoro nije ni bilo) meteorološka situacija je drugačija: krajem aprila vrednost srednje dnevne temperature iznosile su 16.8°C , a tokom prve dekade maja 17.2°C , odnosno padavina je bilo 8.1 mm i 12.7 mm (tab.1).

Kako se iz ovih podataka i vidi, temperature tokom 1986. godine veće su od 15°C , a padavine manje nego u epifitotičnoj 1985. godini (tab.1). A poznato je, npr. u SAD, da srednje dnevne temperature iznad 15°C sprečavaju razvoj bolesti, odnosno do pojave bolesti dolazi samo u godinama kad je tokom prve dve nedelje za vreme listanja platana srednja dnevna temperatura ispod 15°C . Veće temperature onemogućavaju infekciju (Neely i Himelick, 1963; Arsenijević i sar., 1986; Karadžić, 1992; Jurc, 2006 i dr.).

DISKUSIJA

Sudeći na osnovu rezultata dobijenih tokom istraživanja izvršenih u Novom Sadu proizlazi činjenica da temperature i padavine znatno utiču na stepen zaraze i ispoljavanje simptoma apionomoniozne plamenjače lišća i mladara i izumiranja

grančica i grana obolelog platana (Graf.1, Tab. 1). Tako se tokom prohladnog i vlažnog proleća 1985. godine bolest pojavila u vrlo jakom intenzitetu prouzrokujući veoma izrazite promene ispoljene u vidu vrlo jakog sušenja grana. Nasuprot ovome, u proleće 1986. godine, kada su temperaturni uslovi i vlažnost bili nepovoljni (toplo i suvo vreme), bolesti gotovo da nije ni bilo.

Prema Cellerino-u i Anselmi-u (1978) obilne padavine i/ili visoka vlažnost u proleće od početka bubrenja pupoljaka i temperatura od 9-12°C favorizuju infekciju koja se širi na mlade mладare sve dok temperatura ne pređe granicu od 14-16°C. Spore patogena klijaju već pri 8°C (Chauvel, 1991), odnosno za 6 sati pri 20°C prema Jurcu (2006). Karadžić (1992) navodi literaturne podatke koji ukazuju na ostvarenje infekcije za vreme listanja platana ako je temperatura tada tokom dve nedelje niža od 12.8°C. Razvoja bolesti nema ako je temperatura u to vreme veća od 15.5°C. Za ostvarenje infekcije nisu neophodne kapi kiše - dovoljna je i visoka vlažnost.

Dakle, naši rezultati i oni iz literature u potpunom su skladu. I jedni i drugi ukazuju na to da je pojava bolesti povezana sa ekološkim činiocima. Prohladno i kišovito proleće početkom vegetacije omogućava jak stepen zaraze i jaku pojavu bolesti. I obrnuto, toplice i suvo proleće onemogućava razvoj parazita i ispoljavanje simptoma bolesti.

Imajući ovo u vidu, jača ili slabija pojava bolesti može se predvideti na osnovu temperaturnih uslova i uslova vlažnosti, što može biti od praktičnog značaja. Jer, poznavanjem ovih ekoloških činilaca stepen zaraze može se prognozirati, a time i tretiranja platana fungicidima primeniti ili ih izostaviti ako se predviđa pojava nepovoljnih uslova za razvoj *Apiognomonia veneta*, čestog i značajnog parazita platana u našoj zemlji.

LITERATURA

- Arsenijević M., Balaž Jelica, Popović L., Šikoparija Doprila (1986): Istraživanje uzroka izumiranja platana u cilju njegove zaštite. Samoupravna interesna zajednica za naučni rad Vojvodine, Novi Sad; Poljoprivredni fakultet, Institut za zaštitu bilja, Novi Sad; Gradsko zelenilo, OOUR „Parkovi“, Novi Sad. Elaborat: 1-21, Novi Sad. Rezultati istraživanja na Projektu obavljenih u Novom Sadu tokom 1985. i 1986. godine.
- Arsenijević M., Balaž Jelica, Popović Tatjana (2006): *Apiognomonia veneta* – čest i značajan parazit platana u Vojvodini. Biljni lekar, 6, 486-489.
- Cellerino G.P., Anselmi N. (1978): Distribution of *Gnomonia platani* Kleb. and notes about host susceptibility, epiphytology and control. Informatore Fitopatologico 11/12 (XXVIII), Anno XXVIII: 53-64 (in Italian).

- Chauvel G. (1991): Antraknoz platana. L'anthracnose du platane. Phytoma, 1991, No. 434, C. 57-58: 60-61. Kraći prikaz iz Referativnog žurnala 5, 1992.
- Jurc D. (2006): *Apiognomonia veneta* na platani. www.fito-info.bf.uni-lj.si
- Karadžić D. (1992): *Gnomonia veneta* (Sacc. & Speg.) Kleb. Zaštita šuma (Šumska fitopatologija). Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd; Zavod za udžbenike, Novi Sad; Zavod za školstvo, Podgorica, pp. 131.
- Neely D., Himelick, E.B. (1963): Temperature and Sycamore Anthracnose Severity. Plant Disease Reporter 47: 171-175.
- Spies J. I., Knösel D., Meier D. (1985): Anthracnose und Hitzeschäden an Platanen im Stadtgebiet von Hamburg. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 32(2): 17-21, Stuttgart.
- Wulf A., Butin H. (1987): Krankheiten und Schädlinge der Platane. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 39(10): 145-148, Stuttgart.

(Primljeno: 05.02.2007.)

(Prihvaćeno: 08.08.2007.)

**THE EFFECT OF VARIOUS TEMPERATURE AND RAINFALL
INTENSITY ON PLANE TREES INFECTION BY APIOGNOMONIA
VENETA FUNGUS**

ARSENIEVIĆ M., BALAŽ JELICA, POPOVIĆ TATJANA

Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Novi Sad

E-mail: marsa@neobee.net

Summary

The temperatures and rainfall intensity significant influence on the intensity appearance of *Apiognomonia veneta* (Sacc. & Speg.) Höhn., the plane trees pathogen.

In Spring, during 1985. the disease degree was very strong causing leaves and shoots blight and twigs and branches dieback. Because at the end of April and the begining of May the temperatures were relatively low followed by the cool weather and/or high humidity (Graph. 1, Table 1).

On the contrary, during 1986., when the environmental conditions in Spring were opposite with warm and dry weather in this period, the disease was practicaly absent (Graph 1).

Therefore, on the basis of the temperatures and humidity degree in Spring it could be forecast the disease appearance what is of practical importance for control measures for recommendation or not of plane trees treatments by adequateous fungicides.

Key words: plane trees, *Platanus acerifolia*, *Apiognomonia veneta*, infection, temperatures, rainfall intensity.

(Received: 05.02.2007.)

(Accepted: 08.08.2007.)

Plant Protection: Vol. 55 (1-4), No 247-250, 19-26, 2004, Belgrade

Zaštita bilja
Vol. 55 (1-4), No 247-250, 27-37, 2004
Beograd

UDK 630*176.382:630*443
Naučni rad

**UTICAJ HRANLJIVE PODLOGE I TEMPERATURE
NA RAZVOJ ANAMORFA IN-VITRO GLJIVE
APIOGNOMONIA VENETA – PATOGENA PLATANA**

JELICA BALAŽ, MOMČILO ARSENJEVIĆ, TATJANA POPOVIĆ
Poljoprivredni fakultet, Departman za zaštitu bilja, Novi Sad
E-mail: marsa@neobee.net

U radu su dati rezultati istraživanja uticaja hranljivih podloga i temperatura na razvoj *in-vitro* četiri izolata anamorfa vrste *Apiognomonia veneta* (Sacc. & Speg.) Höhnel, parazita platana kod nas.

Izolati Pl-61 i Pl-62 bržeg su porasta od Pl-57 i Pl-58, što je u zavisnosti od podloge, dok se na krompir glukoznoj podlozi svi izolati manje-više slično ponašaju.

Podloge od crnog luka i slada su najpovoljnije za razvoj konidiomata, a od slada za stvaranje konidija. Na podlogama od suvih šljiva i kiselo sintetičkoj nema fruktifikacije.

Temperature od 20° i 25°C imaju najveće dejstvo na porast kolonija. Njihov prečnik iznosi 9 cm nakon 15 dana razvoja pri ovim temperaturama. Stvaranje konidiomata pri ovim temperaturama uočava se tek posle 10 – 15 dana, što se kasnije intenzivira kada se i konidije uočavaju. Pri 10°C fruktifikacija proučavanih izolata je neujednačena, pri 5°C je slaba, a pri 30°C izolati ove gljive se ne razvijaju.

Stvaranje askomata teleomorfa *A. veneta* nije uočeno ni kod jednog izolata ni posle 38 dana gajenja na raznim podlogama i pri različitim temperaturama.

Ključne reči: *Apiognomonia veneta*, platan, izolati, hranljive podloge, temperatura, anamorf, teleomorf, plodonosna telašaca, konidije.

UVOD

Apiognomonia veneta je veoma čest i značajan parazit platana. Rasprostranjen je gotovo u čitavom svetu gde se platan gaji, pa i kod nas. Zbog toga je ova gljiva relativno dosta proučavana (Cellerino et Anselmi, 1978; Rathke, 1978; Spies et al.,

1985; Wulf et Butin, 1987; Chauvel, 1991; Aloj et al., 1993; Tello et al., 2000). I kod nas je skrenula pažnju istraživača zbog njene učestalosti i destruktivnog dejstva koji se ispoljava na obolelom platanu (Arsenijević i sar., 1986). Međutim, malo je podataka u dostupnoj nam literaturi što se tiče ponašanja ove parazitne gljive gajene *in-vitro*, kako bi se njena priroda i na taj način upoznala. Ova saznanja bi doprinela kompleksnijem poznavanju patogena i eventualno omogućila dopunsko sagledavanje njegove pojave i rasprostranjenosti u prirodi, što bi možda moglo biti od praktične koristi. To nam je bio osnovni cilj: da se gljiva *A. veneta* prouči u uslovima korišćenja raznih izvora ishrane i pri različitim temperaturama. Rezultate dobijene tokom ovih proučavanja prikazujemo u daljem tekstu.

MATERIJAL I METODE

Hranljive podloge. Pri proučavanju uticaja hranljivog supstrata na porast kolonija i fruktifikaciju *A. veneta* korišćeno je pet podloga: kiselo sintetička, od lukovica crnog luka, od krompira i glukoze, od ekstrakta slada i od suvih šljiva. Sve su pripremane na uobičajen način, uz dodatak određenih supstanci i sterilizacije u autoklavu (Johnston et Booth, 1983; Dhingra et Sinclair, 1986). Podloge razlive u Petri kutijma su zasejavane fragmentima kolonija gljive četiri izolata (Pl-57, Pl-58, Pl-61 i Pl-62) postavljenih u centar podloge. Svaki izolat zasejan je u po tri Petri kutije. Tako zasejane Petri kutije postavljene su u termostat pri 25°C. Evidencija nastalih promena vršena je posle 3, 5, 7, 10 i 14 dana (tab. 1), merenjem prečnika kolonija u dva pravca poput krsta (Arsenijević i Veselić, 1995; Arsenijević i sar., 1997). Intenzitet formiranja konidiomata i stvaranja konidija određivani su plusevima od + (slab) do ++++ (vrlo jak), nakon 26 i 38 dana razvoja kolonija gljive (tab. 2).

Temperatura.— Uticaj temperature na porast kolonija i stvaranje konidiomata parazita proučavan je na sličan način primjenjen i kod dejstva hranljive podloge (Arsenijević i Veselić, 1995; Arsenijević i sar., 1997). Korišćena je krompir-glukozna podloga zasejana u po tri ponavljanja česticama kolonija sva četiri izolata. Zasejane Petri kutije s podlogom postavljene su u termostat i izložene dejству temperaturu od 5°, 10°, 15°, 20°, 25° i 30°C.

I ovde je ocenjivan porast kolonija izražen u cm (tab. 3) i stepen fruktifikacije (tab. 4). Porast kolonija evidentiran je posle 3, 5, 7, 10 i 15 dana, a intenzitet stvaranja konidiomata posle 30 dana razvoja kolonija.

U oba slučaja zasejavanje Petri kutija vršeno je u tri ponavljanja: 1, 2, 3 (tab.4), s tim što je pri merenju porasta kolonija u tab. 3 naveden prosek za tri ponavljanja, a kod fruktifikacije svako ponavljanje ocenjivano je posebno (tab.4).

REZULTATI

Uticaj hranljive podloge na razvoj gljive. Sva četiri naša proučavana izolata (Pl-57, Pl-58, Pl-61 i Pl-62) nejednako se ponašaju u pogledu izvora ishrane (tab.1). Samo kolonije izolata Pl-61 i Pl-62 ispunjavaju Petri kutije posle 14 dana razvoja na podlozi od slada. Ostala dva izolata, Pl-57 i Pl-58, nešto su slabijeg razvoja. Prečnik njihovih kolonija posle 14 dana razvoja na podlozi od slada iznosi 7.8 cm. Na krompir-glukoznoj podlozi, sva četiri izolata približno se isto razvijaju. Na podlozi od lukovica crnog luka i kiselo-sintetičkoj ponašanje izolata je slično kao i na podlozi od slada. I ovde se izolati Pl-61 i Pl-62 brže razvijaju. Na svim podlogama kolonije su beličaste.

Nejednak razvoj proučavanih izolata ispoljen je naročito na podlozi od suvih šljiva, na kojoj posle 14 dana razvoja kolonije prva dva izolata (Pl-57 i Pl-58) dostižu svega 1.5 cm u prečniku, a ostala dva (Pl-61 i Pl-62) znatno više: 5.5 cm u oba slučaja (tab.1). Ali njihove kolonije nisu kompaktne, već rastresite, toliko beličastog i slabog razvoja da se jedva uočavaju.

Očito je da sadržaj podloge od suvih šljiva ne odgovara razvoju parazita. Na njoj se izolati Pl-57 i Pl-58 izrazito slabo razvijaju. Jer na zasejanim Petri kutijama oko naneth fragmenata razvijaju se kolonije prečnika 0.6-1.3 cm u vremenu od 3-10 dana, odnosno oko 4.0 cm izolata Pl-61 i Pl-62, posle 10 dana razvoja (tab. 1).

A što se tiče krompir-glukozne i kiselo-sintetičke podloge i njihovog uticaja na opšti razvoj proučavanih izolata, može se konstatovati da one manje-više ispoljavaju sličan uticaj. Na njima kolonije sva četiri izolata imaju približno sličnu veličinu i izgled pri pregledu izvršenom posle 3, 5, 7, 10 i 14 dana od zasejavanja (tab. 1).

Na kiselosintetičkoj podlozi pri pregledu posle 14 dana u okviru razvijenih kolonija uočavaju se koncentrični krugovi. Obod kolonija ima blago talasaste ivice. Vazdušni deo kolonije je beo i dobro razvijen, dok je supstratni ružičasto oker, tamniji u centru, a svetlij na periferiji kolonija.

Na podlozi od lukovica crnog luka vazdušni deo kolonije posle 14 dana ima najbolji razvoj. Kolonije su snežnobele. Koncentrični krugovi su nepravilni i slabu se uočavaju, a ivice kolonija su nepravilne i režnjevite. Supstratni deo kolonija je oker boje s mnoštvom crnkastih spojenih telašaca.

Posle 14 dana razvoja kolonije na krompir-glukoznoj podlozi su krembeličaste. Vazdušni deo kolonije je rastresitiji. U okviru kolonija uočavaju se jasno izraženi koncentrični krugovi. Ivice kolonija su blago talasaste. Supstratni deo kolonije je izrazito svetlooker boje.

Tab. 1 – Uticaj hranljive podloge na porast kolonija u cm četiri izolata *A. veneta*
 Influence of nutrient medium on colony growth in cm
 of four isolates of *A. veneta*

Izolati Isolates	Dani Days ^a	Podloge – Media ^b				
		KSA	CLA	KDA	SEA	SŠA
Pl-57	3	1,8	1,8	2,2	1,8	0,6
	5	3,0	2,8	3,1	3,1	1,0
	7	3,9	3,6	4,1	4,3	1,0
	10	5,6	5,0	5,8	6,1	1,3
	14	7,1	6,0	7,0	7,8	1,5
Pl-58	3	1,9	1,8	1,9	1,8	0,0
	5	3,0	2,8	3,1	3,0	0,6
	7	4,3	3,4	4,1	4,0	0,7
	10	5,8	4,4	5,6	5,8	1,0
	14	7,5	5,2	7,5	7,8	1,5
Pl-61	3	2,0	1,8	1,9	2,0	0,8
	5	3,5	3,1	3,2	3,5	2,0
	7	4,8	4,0	4,5	4,7	2,6
	10	6,9	5,8	6,2	6,9	4,0
	14	8,1	7,8	8,0	9,0	5,5
Pl-62	3	1,9	2,0	2,1	1,9	1,0
	5	3,3	3,1	3,4	3,5	2,1
	7	4,6	4,0	4,5	4,8	2,8
	10	7,1	5,0	6,4	7,0	4,0
	14	8,5	6,8	7,9	9,0	5,5

a Porast kolonija 3, 5, 7, 10 i 14 dana nakon inkubiranja u tamni pri 25°C
 Radial colony growth 3, 5, 7, 10, and 14 days after incubation in dark at 25°C

b KSA – kiselosintetička podloga; CLA – podloga od lukovica crnog luka; KDA – krompir-glukoza podloga; SEA – podloga sa ekstraktom od slada; SŠA – podloga od suvih šljiva
 KSA – sour synthetic agar; CLA – onion agar; KDA – potato dextrose agar ; SEA – malt extract agar;
 SŠA – prune agar

Na podlozi od slada kolonije su bele sa izraženim koncentričnim krugovima i brojnim tačkasto-crnim telašcima u vazdušnom i sporadičnim u supstratnom delu posle 14 dana razvoja kolonija. Supstratni deo kolonija izolata Pl-61 i Pl-62 je beo, a Pl-57 i Pl-58 žućkastomr.

Na kiselosintetičkoj podlozi i podlozi od suvih šljiva ni posle 38 dana razvoja kolonija nema pojave plodonosnih telašaca ni konidija. Ali u ovom pogledu podloge od slada i lukovica crnog luka ispoljile su najveći uticaj (tab.2). Na njima

je formiranje plodonosnih tela naročito izraženo i to vrlo jakog intenziteta, dok je stepen stvaranja konidija slabiji, izuzev izolata Pl-62 kod koga je stvaranje konidija osrednjeg do jakog stepena (tab.2).

Tab. 2 – Uticaj hranljive podloge na stepen fruktifikacije *A. veneta*
Effect of nutrient media on fructification of *A. veneta*

Izolati Isolates	Dani Days ^a	Podloge – Media ^b									
		KSA		CLP		KDA		SEA		SŠA	
		(1) ^c	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
Pl-57	26	-	-	+++	-	-	-/+	++/+++	-	-	-
	38	-	-	++++	-/+	-	-	++++/+++	-	-	-
Pl-58	26	-	-	+++	-	-	-	++/+	-	-	-
	38	-	-	++++	+/-	-	-	+++/++	-	-	-
Pl-61	26	-	-	++++	+	-	+	++++	+	-	-
	38	-	-	++++	+	+	+	++++	+	-	-
Pl-62	26	-	-	++++	+	-	+	++++	+/++	-	-
	38	-	-	++++	+	+	+	++++	++/++++	-	-

a Fruktifikacija parazita nakon 26 i 38 dana razvoja kolonija u tami pri 25°C
Fructification of the pathogen after 26 and 38 days of the colonies development in dark at 25°C

b KSA-kiselo-sintetička podloga; CLA-podloga od crnog luka; KDA-krompir-glukoza podloga;
SEA-podloga sa ekstraktom od slada; SŠA– podloga od suvih šljiva
KSA-sour synthetic agar; CLA-onion agar; KDA -potato dextrose agar ; SEA – malt extract agar;
SŠA-prune agar

c Formiranje konidiomata (1) i konidija (2): – nema razvoja, + slabo, ++ osrednje,
+++ jako, ++++ vrlo jako
Formation of conidiomata (1) and conidia (2): – absent, + weak, ++ – middle,
+++ strong, ++++ abundant

Dejstvo temperature *in-vitro* U pogledu uticaja temperature na porast kolonija proučavanih izolata može se konstatovati da temperature od 20° i 25°C ispoljavaju najveće dejstvo. Prema tome, optimalna temperatura za porast kolonija bi se i nalazila u navedenim granicama. Prečnik kolonija posle 15 dana razvoja pri obe ove temperature iznosi 9.0 cm (tab.3). Kolonije su beličastokrem u supstratnom i vazdušnom delu s 5-6 koncentričnih krugova. Izuzev izolata Pl-57 ostala tri izolata formiraju mnogobrojna sitnija ili krupnija svetla do tamnomrka plodonosna telašca u vazdušnom delu kolonija.

Tab. 3 – Uticaj raznih temperatura na porast kolonija u cm četiri izolata *A. veneta*
 Effect of different temperatures on colony growth in cm of four
A. veneta isolates

Izolati Isolates	Dani Days ^a	Temperatura – Temperatures (°C)					
		5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C
Pl-57	3	0,2	1,6	1,6	2,1	2,0	0,1
	5	1,0	2,5	2,6	3,4	3,3	0,1
	7	1,3	3,5	3,5	4,7	4,5	0,1
	10	1,8	4,9	4,1	6,7	6,4	0,1
	15	2,9	6,7	5,7	9,0	9,0	0,1
Pl-58	3	0,2	1,5	1,8	0,2	2,3	0,1
	5	1,0	2,5	2,8	3,5	3,4	0,1
	7	1,3	3,2	3,5	4,6	5,0	0,1
	10	1,8	4,4	4,2	6,6	6,4	0,1
	15	3,0	6,3	5,2	9,0	9,0	0,1
Pl-61	3	0,1	1,4	1,7	2,2	2,2	0,1
	5	0,9	2,5	2,9	3,8	3,4	0,1
	7	1,3	3,4	3,5	5,2	4,7	0,1
	10	2,0	4,6	5,1	7,0	6,3	0,1
	15	2,4	6,5	7,0	9,0	9,0	0,1
Pl-62	3	0,1	1,5	1,4	2,3	2,2	0,1
	5	0,1	3,3	2,6	3,6	3,5	0,1
	7	1,3	4,0	3,2	5,0	4,6	0,1
	10	1,6	5,6	4,2	7,0	6,8	0,1
	15	2,8	7,0	4,5	9,0	9,0	0,1

a Porast kolonija 3, 5, 7, 10 i 15 dana nakon inkubiranja u tami pri raznim temperaturama
 Radial colony growth 3, 5, 7, 10, and 15 days after incubation in dark at various temperatures

U pogledu formiranja plodonosnih telašaca može se konstatovati da se ona uočavaju tek posle 10-ak do 15 dana i to pri temperaturi od 20° i 25°C. Vremenom se intenzitet njihovog formiranja pojačava, kada se uočavaju i konidije. Pri ovim temperaturama intenzitet stvaranja plodonosnih telašaca i konidija veoma je jak, ocenjivan posle 30 dana razvoja kolonija (tab.4). Pri 15°C nije uočena pojava plodonosnih tela ni konidija, iako je razvoj kolonija pri ovoj temperaturi uobičajan (tab.4).

Tab. 4 – Uticaj temperature na formiranje konidiomata i konidija *A. veneta*
 Effect of temperatures on conidiomata and conidia mormation of *A. veneta*

Izolati Isolates	Temperatura – Temperatures (°C)											
	5°C (1) ^a (2)		10°C (1) (2)		15°C (1) (2)		20°C (1) (2)		25°C (1) (2)		30°C (1) (2)	
	+	-	++	+++	-	-	++++	++++	+++	+++	-	-
Pl-57	+	-	++	+++	-	-	++++	++++	+++	+++	-	-
Pl-58	+	-	+/-	-/+++	-	-	++++	++++	+++	+++	-	-
Pl-61	+	-	-/+	-	-	-	++++	++++	++++	++++	-	-
Pl-62	+	-	+	+++/ ++++	-	-	++++	++++	++++	++++	-	-

- a Formiranje konidiomata (1) i konidija (2) pri raznim temperaturama posle 30 dana razvoja kolonija gljive:
 – nema razvoja, + slabo, ++ osrednje, +++ jako, ++++ vrlo jako
 Formation of conidiomata (1) and conidia (2) at various temperatures after 30 days of the fungus colonies development: – absent, + weak, ++ middle, +++ strong, ++++ abundant

Ovo svakako da zahteva novu proveru kako temperature, tako i stvaranja plodonosnih tela i konidija. Pri 10°C fruktifikacija je neujednačena u odnosu na pojedine izolate, a pri 5°C je slaba: ima plodonosnih telašaca ali nema konidija. Odnosno pri 30°C pošto nema razvoja kolonija nema ni obrazovanja plodonosnih telašaca, pa ni konidija (tab.4).

DISKUSIJA

Podaci o razvoju *A. veneta* *in-vitro* oskudni su prema dostupnoj nam literaturi ili gotovo i da ne postoje, izuzev postupka pri izolaciji parazita na hranljivoj podlozi korišćenjem selektivnih podloga pripremljenih upotrebom antibiotika i niskih koncentracija fungicida (Tello i sar., 2006).

Naša proučavanja uticaja hranljive podloge na razvoj *Apiognomonia veneta* pokazala su da se *in-vitro* stvara samo anamorf ovog parazita platana. Prisustvo peritecija nije uočeno ni na jednoj podlozi: kiselo sintetičkoj, od lukovica crnog luka, krompir glukoznoj, slada, kao ni na podlozi od suvih šljiva.

Za porast kolonija najboljim su se pokazale podloge od slada, krompir-gluko-zna i kiselo sintetička. Podloga od suvih šljiva najslabiji je izvor ishrane parazita na kojoj su i kolonije najmanjih dimenzija (tab.1).

Od četiri proučavana izolata sporije se razvijaju Pl-57 i Pl-58 stvarajući manje kolonije na podlogama od slada i crnog luka u odnosu na izolate Pl-61 i Pl-62 (tab.1).

Što se stvaranja plodonosnih struktura anamorfa tiče, podloge od lukovica crnog luka i slada stimulišu razvoj ovih telašaca, a na kiselo sintetičkoj i podlozi od suvih šljiva ova se plodonosna telašca ne razvijaju, pa prema tome ni konidije (tab.2).

Na podlogama od crnog luka, krompira i slada samo izolati Pl-61 i Pl-62 stvaraju konidije i to slabog intenziteta izuzev izolata Pl-62 koji ih na podlozi od slada formira pojačano (tab.2).

Iz izloženog proizilazi da su proučavane podloge povoljnije za porast kolonija nego za fruktifikaciju uopšteno uzev. Ovo bi se verovatno moglo povezati odsustvom supstanci koje nalazeći se u tkivu platana povoljnije deluju na fruktifikaciju anamorfa ovog parazita nego što je to slučaj s raznim izvorima ishrane *in-vitro*. Jer, kako se može i prepostaviti, tkivo platana verovatno sadrži raznovrsnije i bogatije supstance neophodne za razvoj gljive nego što su veštački komponovane podloge.

Iznenadenje donekle, međutim predstavlja uticaj temperatura na razvoj ove gljive *in-vitro*. Naime, optimalna temperatura za porast kolonija i stvaranje plodonosnih telašaca i konidija anamorfa je 20° i 25°C (tab.3 i 4).

Pri 15°C utvrđen je porast kolonija ali fruktifikacija izostaje, a pri 10°C razvijaju se i kolonije i stvaraju konidije i to jakog intenziteta, mada je nastanak konidija u zavisnosti od izolata, jer ih Pl-61 ne stvara (tab.3 i 4).

Pri 5°C slab je razvoj kolonija i plodonosnih struktura uz odsustvo konidija.

I uticaj temperature *in-vitro*, kao i dejstvo raznih izvora ishrane, moglo bi se objasniti različitom prirodnom supstrata u odnosu na tkivo platana u kome se parazit razvija.

Da nije ovakvog ponašanja gljive pri 20° i 25°C možda bi se razvoj njenih kolonija i fruktifikacija pri 10°C mogli pozitivno oceniti. Jer, infekcija platana u proleće otpočinje razvojem prvih populjaka, kad su temperature od 9° - 12°C , šireći se na mladare dok ne pređe granicu od 14° - 16°C . Zaraza razvijenog lišća nastaje kad temperature u proseku dostignu 18° - 20°C , a ponekad i tokom celog proleća kao i posle toga perioda (Cellerino i Anselmi, 1978).

Dakle, to što je stvaranje konidiomata i konidija pri ralativno višoj temperaturi *in-vitro* i ne bi možda bilo toliko iznenađujuće. Jer, pitanje je jedno što se tiče temperaturnih uslova za infekciju i razvoj micelije *in-vivo*, a drugo je: koja to temperatura u prirodi omogućava fruktifikaciju parazita ?

Na kraju, nejednako ponašanje anamorfa naša četiri proučavana izolata *A. veneta* pri raznim izvorima ishrane i uticaja temperatura *in-vitro* (tab.1-4) može ukazati i na heterogenost populacije ove gljive koja u prirodi možda postoji?

LITERATURA

- Aloj, B., Nanni, B., Marziano, F., Noviello, C. (1993): Considerazioni nomenclaturali sull' *Apiognomonia veneta*. Mycologia Italiana 22 (2): 15-18.
- Arsenijević, M., Balaž Jelica, Popović, L., Škoparija, Dobrila (1986): Istraživanje uzroka izumiranja platana u cilju njegove zaštite. Samoupravna interesna zajednica za naučni rad Vojvodine, Novi Sad; Poljoprivredni fakultet, Institut za zaštitu bilja, Novi Sad; Gradsko zelenilo, OOUR „Parkovi“, Novi Sad. Elaborat: 1-21, Novi Sad. Rezultati istraživanja na Projektu obavljenih u Novom Sadu tokom 1985. i 1986. godine.
- Arsenijević, M., Borić, B., Draganić, M., Špica, G., Aleksić, G. (1999): Cultural Characteristics and pathogenicity of *Seimatosporium lichenicola* (Corda) Shoemaker et Müller isolated from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) plants in Yugoslavia. Journal of Plant Diseases and Protection 106 (4): 353-362, Stuttgart.
- Arsenijević, M., Veselić, M., (1997): Development of *Gnomonia rostellata* (Fr.) Wehm. *in vitro*. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 104 (5): 492-500, Stuttgart.
- Cellerino, G.P., Anselmi, N. (1978): Distribution of *Gnomonia platani* Kleb. and notes about host susceptibility, epiphytology and control. Informatore Fitopatologico 11/12 (XXVIII), Anno XXVIII: 53-64 (in Italian).
- Chauvel, G. (1991): Antraknoz platana. L'anthracnose du platane. Phytoma, 1991, No. 434, C. 57-58: 60-61. Kraći prikaz iz Referativnog žurnala 5, 1992.
- Dhingra, D.N., Sinclair, J.B. (1986): Basic Plant Pathology Methods. # CRS Press Juc. Boca Raton, Florida, USA, pp. 1-16.
- Johnston, A.N., Booth, C. (1983): Plant pathologist's pocketbook. Second Edition. Compiled by the Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, pp. 324-342.
- Rathke, S. (1978): Die Blattnervkrankheit der Platane (*Gnomonia veneta* (Sacc. & Speg.) Kleb.). Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR, 12(32): 256.
- Spies, J.I., Knösel, D., Meier, D. (1985): Anthracnose und Hitzeschäden an Platanen im Stadtgebiet von Hamburg. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 32(2): 17-21, Stuttgart.
- Tello, M.L., Gaforio, L., Pastor, S. (2006): Improvements detection and isolation of *Apiognomonia veneta* on plane trees. Proceedings of the 12th Mediterranean phytopathological congress, Rhodes Island, Greece 11-15 June 2006: 347-349.

Tello, M.L., Redondo, C., Sagasta-Mateo, E. (2000): Health status of plane trees (*Platanus spp.*) in Spain. Journal of Arboriculture 26(5): 246-254, Semptember 2000.

Wulf, A., Butin, H. (1987): Krankheiten und Schädlinge der Platane. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 39(10): 145-148, Stuttgart.

(Primljeno: 05.02.2007.)

(Prihváćeno: 08.08.2007.)

INFLUENCE OF NUTRIENT MEDIUM AND TEMPERATURES ON THE ANAMORPH DEVELOPMENT *IN-VITRO* OF THE FUNGUS *APIOGNOMONIA VENETA*, THE PLANE TREES PATHOGEN

BALAŽ JELICA, ARSENJEVIĆ MOMČILO, POPOVIĆ TATJANA

Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 21000 Novi Sad

E-mail: marsa@neobee.net

Summary

The effect of nutrient media and various temperatures on the *Apiognomonia veneta* (Sacc. & Speg.) Höhn. development *in-vitro* has not been investigated in more details, according to available literature.

Results of our investigation were shown that only anamorph of the fungus has been developed *in-vitro*. The best media for colonies growth were malt agar, potato dextrose agar and sour synthetic medium. The prune agar was unfavorable for pathogen development.

From the four isolates investigated (Pl-57, Pl-58, Pl-61 and Pl-62), the colonies of Pl-57 and Pl-58 were the smaller on malt and onion agar than Pl-61 and Pl-62 one (Table 1).

But onion and malt agar stimulated conidiomata production which don't appeared on sour synthetic and dry plum agar (Table 2).

The conidia production of weak degree were only on onion, PDA and malt agar by Pl-61 and Pl-62 isolates except Pl-62 one which conidia formed most intensively (Table 2).

As it was shown nutrient media more influenced on colony growth than conidia production (Tables 1 and 2). That can be probably explained by presence of convenient substances in tissues of plane trees *in-vivo* than in artificial media for pathogen development *in-vitro*.

The optimum temperatures for colonies growth as well as for fructification of the anamorph of the fungus studied were 20° and 25°C (Tables 3 and 4).

At 15°C colonies developed but fructification was absent while at 10°C colonies growth and conidia formation were depending on isolates in question because PI-61 one don't produce them (Tables 3 and 4).

At 5°C colonies growth and fruiting bodies formation were weak but conidia production were absent.

This also may be explain by differences between plane trees tissue and substances content in nutrient agar.

However, this data more or less are in accordance with environmental condition in nature because Cellerino and Anselmi (1978) emphasizes the temperature ranges from 9°-12°C needs for first buds infections at the sprouting in spring spreading on young shoots as long as the temperature does not exceed 14°-16°C.

The infections keep on developing on leaves until the average temperature reaches 18°-20°C and sometimes during the whole spring or further on.

According to these authors the host susceptibility depends on the species of sycamore are in question, on the individual plant and physiological conditions of the plants, on the age of leaves (5-20 days old being most susceptible) and on the inoculum pressures of the pathogen.

Therefore, conidiomata and conidia production at relatively higher temperatures *in-vitro* it could not be so surprising. Because, the temperature conditions for plane tissues infections and mycelium growth in the host tissue represents one question and another is: which temperatures enables the pathogen fructification in nature?

At the end different behavior of our four strains of the fungus *Apiognomonia veneta* investigated on nutrient media and at the various temperature conditions indicate on heterogeneous pathogen population which in nature probably exist (Table 1-4).

Key words: *Apiognomonia veneta*, plane trees, isolates, nutrient media, temperature, anamorph, teleomorph, fruiting bodies, conidia.

(Received: 05.02.2007.)

(Accepted: 08.08.2007.)

Zaštita bilja
Vol. 55 (1-4), No 247-250, 39-48, 2004
Beograd

UDK 634.25-24
Naučni rad

ANATOMSKO-HISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE *LEUCOSTOMA CINCTA* PARAZITA BRESKVE

TATJANA POPOVIĆ, JELICA BALAŽ
Poljoprivredni fakultet, Departman za zaštitu bilja, Novi Sad
E-mail: popovict@eunet.yu

U radu su prikazani rezultati istraživanja morfoloških odlika devet izolata *Cytospora rubescens* Sacc., anamorfa vrste *Leucostoma cincta* (Fr.) Höhn. Izolati su dobiveni sa obolelim jednogodišnjih i dvogodišnjih grana breskve sa simptomima sušenja iz voćnjaka na Fruškoj Gori. Proučavanja su obuhvatila praćenje prisustva reproduktivnih organa, morfologiju konidiomata na anatomskim preseцима i utvrđivanje oblika i dimenzija pikniospora.

Ključne reči: breskva, *Leucostoma cinctum*, anamorf, morfologija.

UVOD

Leucocytospora cincta (Fr.) Höhn (anamorf: *Cytospora rubescens* Sacc.; syn. *Cytospora cincta* Sacc.) je čest i značajan patogen koštičavih vrsta voćaka, prvenstveno breskve i kajsije. Na obolelim biljkama prouzrokuje rak-rane i pre-vremeno sušenje grana i grančica, a ponekad i izumiranje celih stabala.

Patogen je rasprostranjen u celom svetu. U državi Idaho (SAD) prouzrokuje na brskvi rak-rane uz obilno stvaranje smole, koja najčešće zapušava sprovodne sudove, što može dovesti do oštećenja i potpunog uvenuća grana ili celih stabala (Banko and Helton, 1974). U Sloveniji rak stabala breskve i njihovo masovno odumiranje posledica su delovanja gljive *Valsa cincta* (Seljak, 2000). Royse i Ries (1978a,b) opisujući višegodišnji rak u državi Illinois, navode da je ovo oboljenje prouzrokovano gljivama *L. cincta* i *L. persoonii*. Ove dve vrste predstavljaju ograničavajući faktor u proizvodnji breskve (Biggs, 1984, 1986, 1989, 1992, 1997). Slične rezultate o patogenosti gljiva roda *Cytospora*, kao primarnim prouzrokovava-

čima sušenja grana breskve na području Kanade, daju Buck et al. (1998). Prema Tisserat (2003), pomenute gljive su prouzrokovaci višegodišnjeg raka, najrasprostranjenije i najdestruktivnije bolesti na području Kanzasa, koji rezultira postepenim ili naglim izumiranjem grana ili celog stabla.

Gvritishvili (1982, 1983) je na području SSSR-a, izučavajući patogene prouzrokovache bolesti propadanja koštičavog voća, kao najznačajnije izdvojio gljive roda *Cytospora*. Ukupno je opisao 19 vrsta ovog roda.

C. rubescens je svrstana u grupu značajnih prouzrokovaca oboljenja breskve kod nas (Arsenijević et al., 1973, 1975a, 1982; Arsenijević i Balaž, 1982; Balaž et al., 1994, 2000, 2005; Popović, 2004; Popović i Balaž, 2005). S obzirom da je ova vrsta slična vrsti *C. leucostoma*, za pravilnu identifikaciju neophodna su detaljnija proučavanja njenih morfoloških odlika, što u ovom radu prikazujemo.

MATERIJAL I METODE RADA

Piknidiska stroma.

Konidioma. Morfološke odlike piknida su ispitivane u uslovima *in vitro* i *in vivo*. Za ova proučavanja korišćeno je devet izolata *C. rubescens* dobijenih sa obolelih grančica i grana breskve iz voćnjaka na Fruškoj Gori označenih sa C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8 i C-9. Obrazovanje piknida *in vitro* praćeno je na hranljivoj podlozi od krompira (KDA). Ova ispitivanja su vršena prema uobičajenoj laboratorijskoj proceduri koju navodi veći broj autora (Marković, 1970; Arsenijević et al., 1973; Jerotijević, 1980; Muntanola-Cvetković, 1987 i dr.). Obrazovanje piknida *in-vivo* praćeno je na inokulisanim reznicama (u botaničkoj bašti) i granama breskve (u polju). Mereno je po 100 piknida radi utvrđivanja njihove prosečne veličine, kao i minimalnih i maksimalnih dimenzija.

Pravljenje preseka. Anatomički preseci piknida, formiranih na grančicama breskve veštački inokulisanih dobivenim izolatima, pravljeni su prema metodi koju navodi Keserović (1993) za pravljenje anatomičkih preseka tkiva. Fragmenti inokulisanih grančica su održavani u 60% alkoholu u frižideru do momenta pravljenja preseka. Uzdužni i poprečni preseci su pravljeni pomoću žileta. Tanki preseci su zatim stavljani u Petri kutije sa glacijalnom sircetnom kiselinom, prebaćeni u 96% alkohol, da bi se iz tkiva istisnuo vazduh, pa u ksilol, u kojima su držani po 5 minuta. Preseci se stavljeni na predmetno staklo na koje je prethodno nanet Kanada balzam i prekriveni pokrovnom ljuspicom, ostavljeni nekoliko dana da se osuše i posmatrani pod mikroskopom.

Morfologija pikniospora. Oblik i dimenzije pikniospora je utvrđen pomoću mikroskopa prema uobičajenoj laboratorijskoj proceduri (Marković, 1970; Arsenijević et al., 1973; Jerotijević, 1980; Muntaňola-Cvetković, 1987). Morfologija spora ispitivana je na KDA i na inokulisanim reznicama breskve. Biometriške vrednosti pikniospora dobivene su merenjem po 100 jedinki od svakog izolata i iskazane su sa minimalnim, prosečnim i maksimalnim vrednostima.

Obrazovanje peritecija. Formiranje askomata praćeno je kod svih izolata odgajenih na KDA, tokom ispitivanja odgajivačkih odlika patogena, kao i na inokulisanim reznicama i granama breskve.

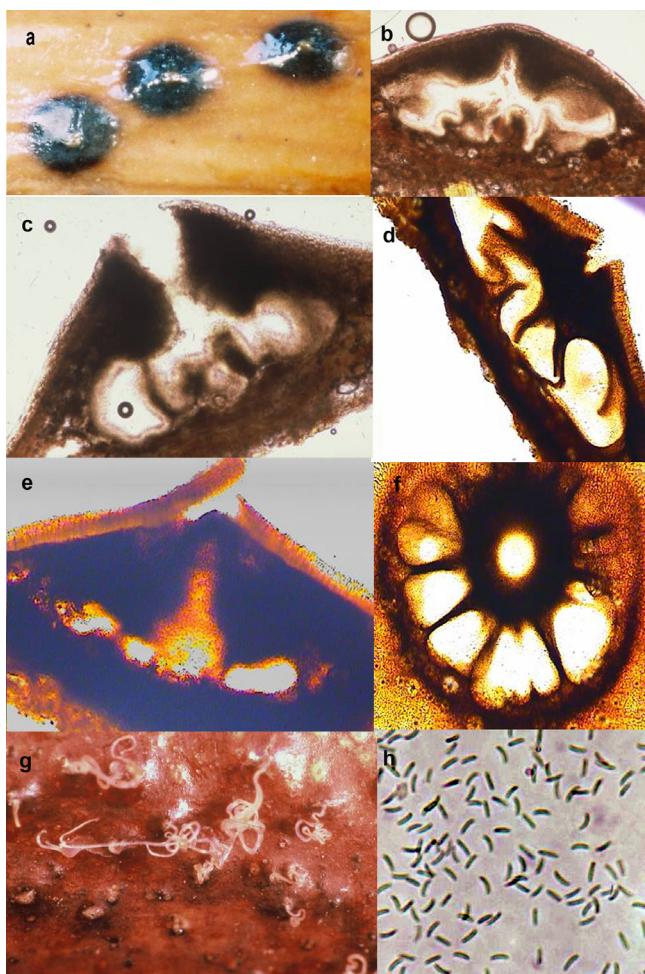
Identifikacija patogena. Identifikacija vrste obavljena je na osnovu karakteristika anamorfa gljive na anatomskim preseцима piknidija po Vajna (1981). Izolati su poslati u Növényvédelmi Kutató Intézet, Budapest, na potvrdu identifikacije.

REZULTATI I DISKUSIJA

Konidioma. Formiranje piknida na KDA počinje 15-20 dana po zasejavanju, a ponekad i kasnije (> 30 dana). Piknidi su sferični, tamne boje, prečnika 0,2-2 mm. Intenzitet obrazovanja piknida je neujednačen, od sporadičnog do jačeg ili vrlo intenzivnog formiranja. Slične rezultate navode Arsenijević et al. (1973) koji su ustanovili da se tamni, relativno krupni piknidi obrazuju na KDA u manjem ili većem intenzitetu tokom 10-15 dana, ali ponekad i znatno duže.

Na inokulisanim reznicama ili granama breskve piknidi se formiraju subkortikularno (ispod kore) nakon dva meseca. Prema literaturnim podacima, obrazovanje piknida na inokulisanim grana je posle 4-6 nedelja (Lukezic et al., 1965), odnosno 2-5 meseca (Rozsnyay et Klement, 1973; Rozsnyay, 1977), što je u skladu sa našim rezultatima. Takođe, rezultati više autora (Lukezic et al., 1965; Rozsnyay et Klement, 1973; Arsenijević et al., 1973, 1975a, 1982; Rozsnyay, 1977; Arsenijević i Balaž, 1982; Biggs, 1997; Tisserat, 2003) pokazuju da se piknidi obrazuju samo ispod kore obolelih grana ili stabla. Piknidska stroma gljive *C. rubescens* se formira u rak-ranama i na mrtvim granama i grančicama iznad zone rak-rana 2-3 nedelje ili do 6 meseci nakon izumiranja kore (Biggs, 1997), dok se prema Luepschen et Rohrbach (1969) piknidi se u prirodi obično mogu naći tokom cele godine u zoni rak-rana na površini grana ili stabala breskve.

Piknidi obrazovani na obolelim granama tokom ovih ispitivanja su sferični, crne i neujednačenog intenziteta formiranja (sl.1). Prečnik piknida je 0,5 – 2 mm, što se uglavnom slaže sa literaturnim podacima: 1,5 – 2,5 mm (Vajna, 1981), 0,5-3 x 0,6-2 mm (Gvritishvili, 1982) i 0,5 do 2 mm (Hayova et Minter, 1998).



Sl. 1 – *Cytospora rubescens*: (a) piknidi obrazovani na kori obolele grane breskve (Orig.), (b) vertikalni presek zatvorenog i (c) otvorenog piknida (foto Balaž), (d-e) vertikalni i (f) horizontalni presek piknida okruženih tankim konceptakulumom sa više delimično odvojenih šupljina, jedanim izlaznim kanalom i jednom ostiolom (Orig.), (g) oslobođanje pikniospora u vidu niti iz piknida na oboleloj grani breskve (foto Balaž) i (h) jednoćelijske, blago povijene i hijalinske pikniospore (Orig.). *Cytospora rubescens*: (a) pycnidia formed on diseased bark of peach twig (Orig.), (b) vertical sections of closed and (c) open pycnidium (photo Balaž), (d-e) vertical and (f) horizontal sections of pycnidia consisted of partly separate chambers which are surrounded by thin conceptacle and are with a single cavity and one ostiola (Orig.), (g) tendrils-like discharging of pycnidiospores from pycnidia on diseased peach twig (photo Balaž), and (h) unicellular, slightly curved and hyaline pycnidiospores (Orig.).

Na presecima piknidijalnine strome uočava se veći broj odvojenih ili delimično odvojenih komora povezanih zajedničkim izlaznim otvorom i jednom ostiolom za oslobođanje pikniospore (sl.1.), što je tipično za vrstu *C. rubescens* (Hayova et Minter, 1998). Prema Gvritishvili (1982) konceptakulum je kod vrste *C. rubescens* debljine do 150 im ili ponekad i odsustvuje, dok je kod slične vrste *C. leucostoma* debljine 50-200 im i tamno-mrke do crne boje.

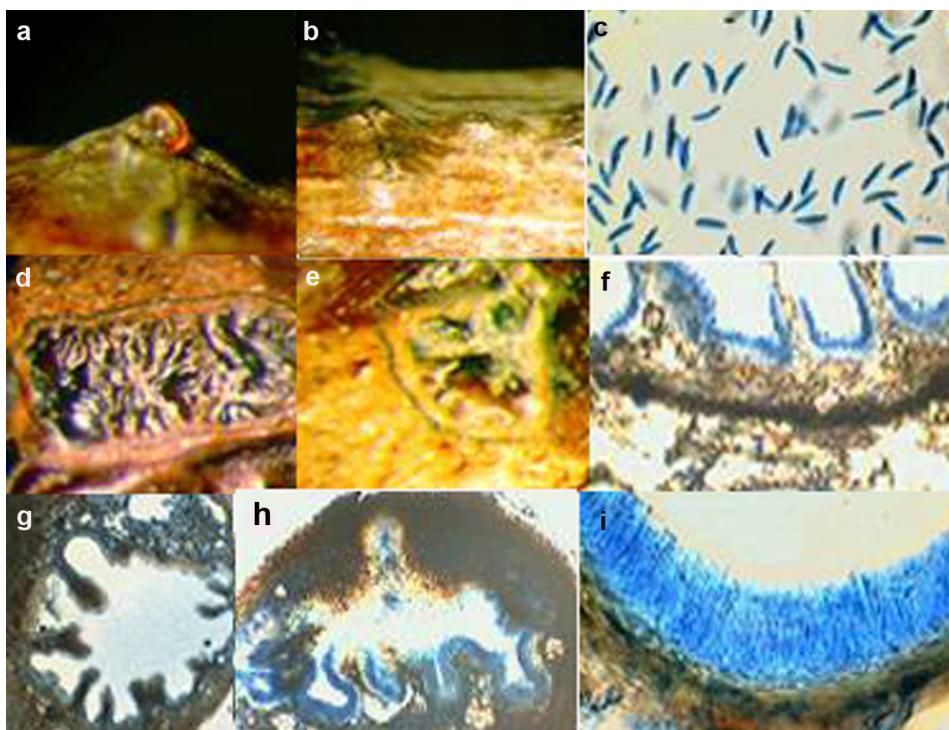
Piknidiospora. Oslobođanje pikniospora iz piknida je u vidu tankih niti, oranž do crvene boje (sl.7) na inokulisanim reznicama i granama breskve, ali je oslobođanje u vidu kapi ili končića retko na KDA. Ovakav način izlučivanja pikniospora je karakteristika vrste (Vajna, 1981; Arsenijević i Balaž, 1982; Gvritishvili, 1982; Biggs, 1997; Hayova et Minter, 1998). Prema navodima Rozsnyay (1977), crvena masa pikniospora se oslobođa i širi preko površine u vidu kapi ukoliko je vreme vlažno, dok je po suvom vremenu izbacivanje spora u vidu niti.

Proces pražnjenja piknida odvijao se po hladnom i vlažnom vremenu tokom naših ogleda. Izbačene pikniospore se često mogu videti posle kiše (Rozsnyay, 1977; Arsenijević i Balaž, 1982; Biggs, 1997; Ivanović i Ivanović, 2001; Tisserat, 2003). S druge strane, Luepschen et Rohrbach (1969) navode da se oslobođanje pikniospora najviše odvija tokom leta, što nije u saglasnosti sa našim zapažanjima.

Formiranje pikniospora je uglavnom tokom proleća i jeseni, a ređe zimi (Ivanović i Ivanović, 2001), mada pikniospore kao osnovni izvor zaraze mogu biti prisutne u voćnjaku praktično tokom cele godine (Rozsnyay, 1977; Arsenijević i Balaž, 1982).

Pikniospore su jednoćelične, blago povijene, tankih zidova, hijalinske (sl.1), što odgovara opisima drugih autora (Hayova et Minter, 1998; Gvritishvili, 1982; Biggs, 1997). Dimenzije pikniospora iz piknida obrazovanih na inokulisanim reznicama su $5,0 - (6,5) - 8,5 \times 1,5 - (1,5) - 2,5 \mu\text{m}$. Ove vrednosti su u granicama citiranih veličina piknidiospora: u kulturi $5,0 - (5,5) - 7,5 \times 1,2 - (1,4) - 1,7 \mu\text{m}$, odnosno $5,0 - (6,9) - 8,7 \times 1,2 - (1,5) - 1,7 \mu\text{m}$ na oboleлом tkivu (Arsenijević, 1973), $4-6,5 \times 1-1,5 \mu\text{m}$ (Vajna, 1981), $5-13 \times 1,5-3 \mu\text{m}$ (Gvritishvili, 1982), $5-10 \times 1-2 \text{ im}$ (Biggs, 1997) i $5-8 (-13) \times 1-3 \mu\text{m}$ (Hayova et Minter, 1998).

Obrazovanje peritecija. Višegodišnjim ispitivanjima (1997.-2002.) obolelih grana breskve nije konstatovano formiranje savršenog stadijuma gljive. Takođe, peritecijske stromate nisu obrazovane *in-vitro* na podlozi. Za obrazovanje peritecija potreban je dug period, često 2-3 godine posle formiranja piknidske strome (Biggs, 1997). Izgleda da telemorf nema veći značaj u biologiji patogena, s obzirom da njegovo odsustvo u ciklusu razvoja gljive navode i drugi istraživači (Kable et al., 1967; Rozsnyay et al., 1972, loc. cit. Rozsnyay, 1977; Rozsnyay et Klement,



Sl. 2 – *Cytospora rubescens*: (a) oranž masa izbačenih pikniospora, (b) na eksostromama koje izranjavaju iz grančice se vidi samo jedan izlazni otvor, (c) alantoidne piknospore, (d) horizontalni presek, površinska slika, stromatične plodonosne tvorevine okružene crnim konceptakulum, e) vertikalni presek, površinska slika, ispod strome se vidi konceptakulum, (f) horizontalni presek dela pinidije na kome se uočava deo konceptakuluma; (g) horizontalni presek piknida sa delimično odvojenim komorama koje imaju jedan zajednički otvor, (h) vertikalni presek na kome se vide komore sa jednim zajedničkim otvodom, i (i) deo zida stromatične konidiome sa konidioforama i fialidičnim konidiogenom celijama (foto Vajna).

Cytospora rubescens: (a) – orange mass of discharged pycnidiospores; (b) only one cavity exostroma lifting the twig periderm, (c) allantoid pycnidiospores, (d) horizontal section, overhead picture, of anamorphic stromata which is encircle with black conceptacle, (e) vertical section of pycnidium, overhead picture, with conceptacle underneath of the stromata, (f) part of conidioma with black conceptacle seen on horizontal section, (g) horizontal section of conidioma with partly separate chambers which have one cumulative cavity, (h) locules with a single central cavity, and (i) part of wall of anamorphic stromata with conidiophores and fialidic conidiogenous cells (photo Vajna).

1973). Prisustvo savršenog stadijuma gljive na izumrlom tkivu breskve konstatovali su Arsenijević i sar. (1973) u klimatskim uslovima Srbije.

Identifikacija ispitivanih izolata je potvrđena u Mađarskoj od strane Vajna László (Növényvédelmi Kutató Intézet, Budapest) na osnovu osobina (sl.2) koje razdvaju *C. rubescens* od slične vrste *C. leucostoma*: delimično odvojene komore sa jednim izlaznim otvorom na konidiomati, tanki crni konceptakulum ispod piknida, masa pikniospora oranž boje, fialidične konidiogene čelije i alantoidne pikniospore.

LITERATURA

- Arsenijević M., Balaž Jelica, (1982): Citosporozno izumiranje i rak-rane voćaka. Glasnik zaštite bilja, br. 2: 38-42, Zagreb.
- Arsenijević M., Jasnić S., Balaž Jelica, Petrov Marija, (1973): Prilog proučavanju *Cytospora cincta* Sacc. kao parazita breskve. Zaštita bilja, br. 126: 337-349, Beograd.
- Arsenijević M., Jasnić S., Balaž Jelica, Petrov Marija, (1975): Early die-back of peach caused by *Cytospora cincta* Sacc. in Yugoslavia. VIII Международный Конгресс по защите растений. Reports and informations section II. Progress in the study of biology of pest organisms and the development of forecast methods, Moskva.
- Arsenijević M., Jasnić S., Balaž Jelica, Petrov Marija (1982): Razvoj *Cytospora cincta* Sacc. kao parazita breskve tokom godine. Zaštita bilja, Vol. 33 (1), br. 159: 73-83, Beograd.
- Balaž Jelica: Poljoprivredni fakultet, Departman za zaštitu bilja i životne sredine, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad
- Balaž Jelica, Grbić R., Pižurica B. (1994): Gljive kao prouzrokovaci sušenja grana breskve i mogućnosti njihovog suzbijanja. Savremena poljoprivreda, Vol. 42 vanredni broj: 43-48, Novi Sad.
- Balaž, Jelica, Popović Tatjana, Bagi F. (2005): *Cytospora cincta* kao prouzrokovac sušenja mladara breskve. Sedmo savetovanje o zaštiti bilja, Soko Banja, 15-18. novembar.
- Balaž, Jelica, Popović Tatjana, Knežević Tatjana (2000): Proučavanje uzročnika sušenja breskve u području Fruške Gore. Zbornik rezimea XI Jugoslovenskog Simpozijuma o zaštiti bilja sa međunarodnim učešćem i Savetovanje o primeni pesticida, Zlatibor.
- Banko T. J., Helton A. W., (1974): *Cytospora*-Induced Changes in Stems of *Prunus persica*. Phytopathology, Vol. 64, No. 6: 899-901.
- Biggs A. R., (1984): Boundary-zone formation in peach bark in response to wounds and *Cytospora leucostoma* infection. Can. J. Bot., Vol. 62: 2814-2821.

- Biggs A. R., (1986): Wound age and infection of peach bark by *Cytospora leucostoma*. Can. J. Bot., Vol. 64: 2319-2321.
- Biggs A. R., (1989): Temporal Changes in the Infection Court After Wounding of Peach Bark and Their Association with Cultivar Variation in Infection by *Leucostoma persoonii*. Phytopathology, Vol. 79, No. 5: 627-630.
- Biggs A. R., (1992): A review of pruning techniques for peach trees in relation to the incidence of dieback and infection by *Leucostoma spp.* Acta Horticulturae, No. 322: 127-134.
- Biggs A. R., (1997): Leucostoma Canker of Stone Fruits, *Leucostoma persoonii* and *L. cincta*. Fruit Disease Focus. West Virginia University, Kearneysville Tree Fruit Research and Education Center.
- Buck J. W., Lachance M. A., Traquair J. A., (1998): Mycoflora of peach bark: population dynamics and composition. Canadian Journal of Botany, Vol. 76, No. 2: 345-354.
- Gvritishvili M. N., (1982): Грибы Рода *Cytospora* Fr. в СССР. Тбилиси: Издательство «Сабчота Сакарствело».
- Gvritishvili M. N., (1983): On Ecology of Decline of Stone Fruits. P. Int. Conf. Integr. Plant Prot., 2: 61-63, Budapest.
- Hayova V. P., Minter D. W., (1998): *Leucostoma cinctum*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria, No. 1361.
- Ivanović M., Ivanović Dragica (2001): Mikroze i pseudomikroze biljaka. Poljoprivredni fakultet, Zemun.
- Jerotijević H. (1980): Praktikum za mikrobiologiju. Privredni pregled, Beograd.
- Kable P. F., Fliegel P., Parker K. G., (1967): *Cytospora* Canker on Sweet Cherry in New York State: Association with Winter Injury and Pathogenicity to Other Species. Plant Disease Reporter, Vol. 51, No. 3: 155-157.
- Keserović Z. (1993): Korelacija između gametogeneze i embriogeneze u nekim sorti trešnje i višnje. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Luepschen N. S., Rohrbach K. G., (1969): *Cytospora* Canker of Peach Trees: Spore Availability and Wound Susceptibility. Plant Disease Reporter, Vol. 53, No. 11: 869-872.
- Lukezic F. L., DeVay J. E., English H. (1965): Comparative Physiology and Pathogenicity of *Leucostoma persoonii* and *Rhodosticta quercina*. Phytopathology, Vol. 55, No. 5: 511-518.
- Marković S. (1970): Osnove fitopatoloških laboratorijskih metoda. Beograd.
- Muntañola-Cvetković Marija (1987): Opšta mikologija. NIRO »Književne novine«, Beograd.
- Popović Tatjana (2004): Etiološka proučavanja sušenja grana breskve na području Fruške Gore. Magistarska teza. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

- Popović Tatjana, Balaž Jelica (2005): Identifikacija prouzrokovaca prevremenog sušenja breskve. Sedmo savetovanje o zaštiti bilja, Soko Banja, 15-18. novembar.
- Royse D. J., Ries S. M. (1978 a): The Influence of Fungi Isolated from Peach Twigs on the Pathogenicity of *Cytospora cincta*. Phytopathology, Vol. 68, No. 4: 603-607.
- Royse D. J., Ries S. M. (1978 b): Detection of *Cytospora* Species in Twig Elements of Peach and its Relation to the Incidence of Perennial Canker. Phytopathology, Vol. 68, No. 4: 663-667.
- Rozsnyay Z. D. (1977): *Cytospora* Canker and Dieback of Apricots. EPPO Bull, 7 (1): 69-80.
- Rozsnyay Z. D., Klement Z., (1973): Apoplexy of apricots. Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae, Vol. 8 (1-2): 57-69.
- Seljak G., (2000): Mass die-back of peach in 1999. SAD, Revija za Sadjarstvo, Vinogradnistvo in Vinarstvo, Vol. 11, No. 4: 12-13.
- Tisserat N. (2003): Perennial Canker of Peach. Kansas State University. College of Agriculture. Department of Plant Pathology.
- Vajna L. (1981): Gyümölcsfajokon Előforduló *Cytospora* Fajok Magyarországon. Növényvédelem, XVII. Évfolyam, 12. szám: 521-526. Növényvédelmi Kutató Intézet, Budapest.
- Vajna L. (1981): Növényvédelmi Kutató Intézet, Budapest, Hungary.

(Primljeno: 20.06.2007.)
(Prihvaćeno: 8.08.2007.)

ANATOMICAL AND HYSTOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *CYTOSPORA RUBESCENS* AS PEACH PATHOGEN

TATJANA POPOVIĆ, JELICA BALAŽ

Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Novi Sad

E-mail: popovict@eunet.yu

Summary

Morphological characteristics of nine *Cytospora rubescens* (teleomorph *Leucostoma cinctum*) isolates obtained on PDA from infected peach branches at the Fruska Gora Mountain region were studied *in vitro* and *in vivo*.

Pycnidia formation on PDA were 15-20 days after isolation, but sometimes after more than 30 days, and two months after inoculation on twigs and branches. Pycnidia are rounded, dark, 0.2-2 mm in diameter. The pycnidia formation varied from sporadic to abundant. The pycnidiospores are extruded in a form of orange to red droplets globules. They are one-celled, smooth, slightly curved with rounded ends, hyaline, 5,0 – (6,6) – 8,5 x 1,5 – (1,7) – 2,5 µm in size.

There are many locules variable in size and shape seen on vertical and horizontal sections of pycnidia. Individual locules are fused into a single central cavity and one ostiolum. Horizontal cuts of pycnidia also show that pycnidium is encircled with black line – conceptacle.

In our investigations, teleomorph of this fungi was not found.

Key words: peach, *Cytospora cincta*, pycnidia, pycnidiospores, perithecia.

(Received: 20.06.2007.)

(Accepted: 8.08.2007.)

Plant Protection: Vol. 55 (1-4), No 247-250, 39-48, 2004, Belgrade

Zaštita bilja
Vol. 55 (1-4), No 247-250, 49-64, 2004
Beograd

UDK 634.25-24
Naučni rad

ODGAJIVAČKE ODLIKE IZOLATA *LEUCOSTOMA CINCTA* DOBIJENIH IZ OBOLELIH GRANA BRESKVE

TATJANA POPOVIĆ, JELICA BALAŽ
Poljoprivredni fakultet, Departman za zaštitu bilja, Novi Sad
E-mail: popovic@eunet.yu

Devet izolata *Leucostoma cincta* (Fr.) Höhn. (anamorf *Cytospora rubescens* Sacc.) do-
biveno je sa obolelih grana breskve sa simptomima sušenja na Fruškoj Gori. Proučavano je
njihovo razviće na raznim podlogama, pH vrednostima podloge i pri raznim temperaturama.

Podloga od ekstrakta slada je najpovoljnija za porast patogena. Kisela sintetička i Ča-
pek-ova podloga pokazale su se kao manje pogodne za razvoj ove gljive. Izolati su fruktificirala
samo na podlozi od krompira. Optimalna pH vrednost podloge za razvoj je u granicama od
5,5 do 7,0. Pri pH 3,5 i 8,5 nije bilo razvoja većine izolata. Optimalna temperatura za razvoj
izolata je 20°C, minimalna 5°C i maksimalna 30°C.

Ključne reči: breskva, *Cytospora rubescens*, razviće, hranljive podloge, pH vrednost,
temperatura

UVOD

Tokom poslednjih tridesetak godina u plantažnim zasadima breskve u Fruškoj Gori zapažana je sve češća i intenzivnija pojava prevremenog sušenja grana i izumiranja celih stabala prouzrokovana gljivom *Leucocytospora cincta* (Sacc.) Höhn. (anamorf *Cytospora rubescens* Sacc. Syn. *C. cincta* Sacc.). Bolest je vrlo destruktivna, naročito u starijim zasadima (Arsenijević i sar., 1973, 1975; 1982; Arsenijević i Balaž, 1982; Balaž i sar., 1994, 2000, 2005; Popović, 2004; Popović i Balaž, 2005)..

Početni simptomi se manifestuju pojmom eliptičnih pega mrke do mrko-ljubičaste boje pri osnovi pupoljaka na mладарима breskve. Pupoljci u okviru pega nekrotiraju i suše se. Pege se vremenom uvećavaju, dobijajući eliptični oblik. Ko-

ra u okviru ovih pega se nabira u vidu koncentričnih krugova, a zatim puca, pri čemu se obrazuju rak-rane uz prisustvo smole. Izdužene, eliptične pege se obično formiraju oko većeg broja pupoljaka, tako da usled njihovog širenja i spajanja dolazi do sušenja celog mladara. Posle 4-6 nedelja, tkivo kore oko mesta infekcije počinje da izbeljava uz obrazovanje okruglastih, crnih piknida iz kojih se oslobađa končast, crvenkasto-narandžast matriks sa blago povijenim, jednoćelijskim, hijalinskim pikniosporama. Kada nekroza prstenasto zahvati grane, vršni delovi izbeljavaju i suše se usled sprečavanja protoka hranljivih materija.

Iz obolelih grana i grančica breskve koje su ispoljavale gore navedene simptome, vršene su izolacije i dobijeni brojni izolati gljive *C. rubescens*. U cilju identifikacije proučen je razvoj patogena na hranljivim podlogama, pri raznim pH vrednostima sredine i temperature.

MATERIJAL I METODE

Izolati gljive. Brojni izolati *C. rubescens* su dobiveni sa obolelih grana i grančica breskve. Za pručavanje fiziologije patogena odabранo je devet izolata, koji su označeni sa C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8 i C-9. Fragmenti micelije sa podlogom (5 x 5 mm) sa kultura starosti oko 20 dana zasejani su u centar Petri kutija sa razlivenom podlogom. Razvoj izolata je praćen svaka 3-4 dana, a konačna ocena morfologije kolonija i fruktifikacije je obavljena je nakon četiri nedelje. Razvoj patogena na raznim temperaturama, podlogama i pH vrednostima podloge obavljeno je po metodama koje navode veći broj autora (Marković, 1970; Arsenijević i sar., 1973; Perišić i sar., 1976; Arsenijević i Veselić, 1997 Lal i Pathak, 1970; Borić, 1985, Bertrand et English, 1976; Kamiri et Laemmle, 1981;). Svi ogledi postaljeni su u tri ponavljanja.

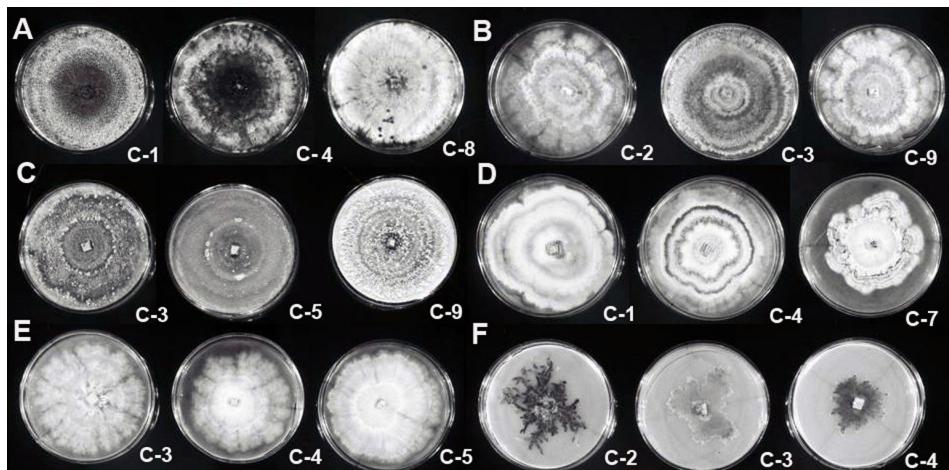
Hranljive podloge. Porast i fruktifikaciju *C. rubescens* praćeni su na podlozi od krompira, crnog luka, pasulja, ovsa, ekstrakta slada, kiseloj sintetičkoj i Czapek-ovojoj podlozi.

pH podloge. Krompir dekstrozna podloga podešena je na pH 3.5, 5.5, 7.0, 8.0 i 8.5 pomoću 10% rastvora HC ili NaOH. Dobivene vrednosti pH podloge proveravane su pomoću lakmus papira (Whatman, Germany).

Temperatura. Ispitivanje uticaja temperature na porast kolonija *C. rubescens* obavljeno na podlozi od krompira pri temperaturama 5°-30°C, sa intervalima od 5°C, tokom 30 dana.

REZULTATI I DISKUSIJA

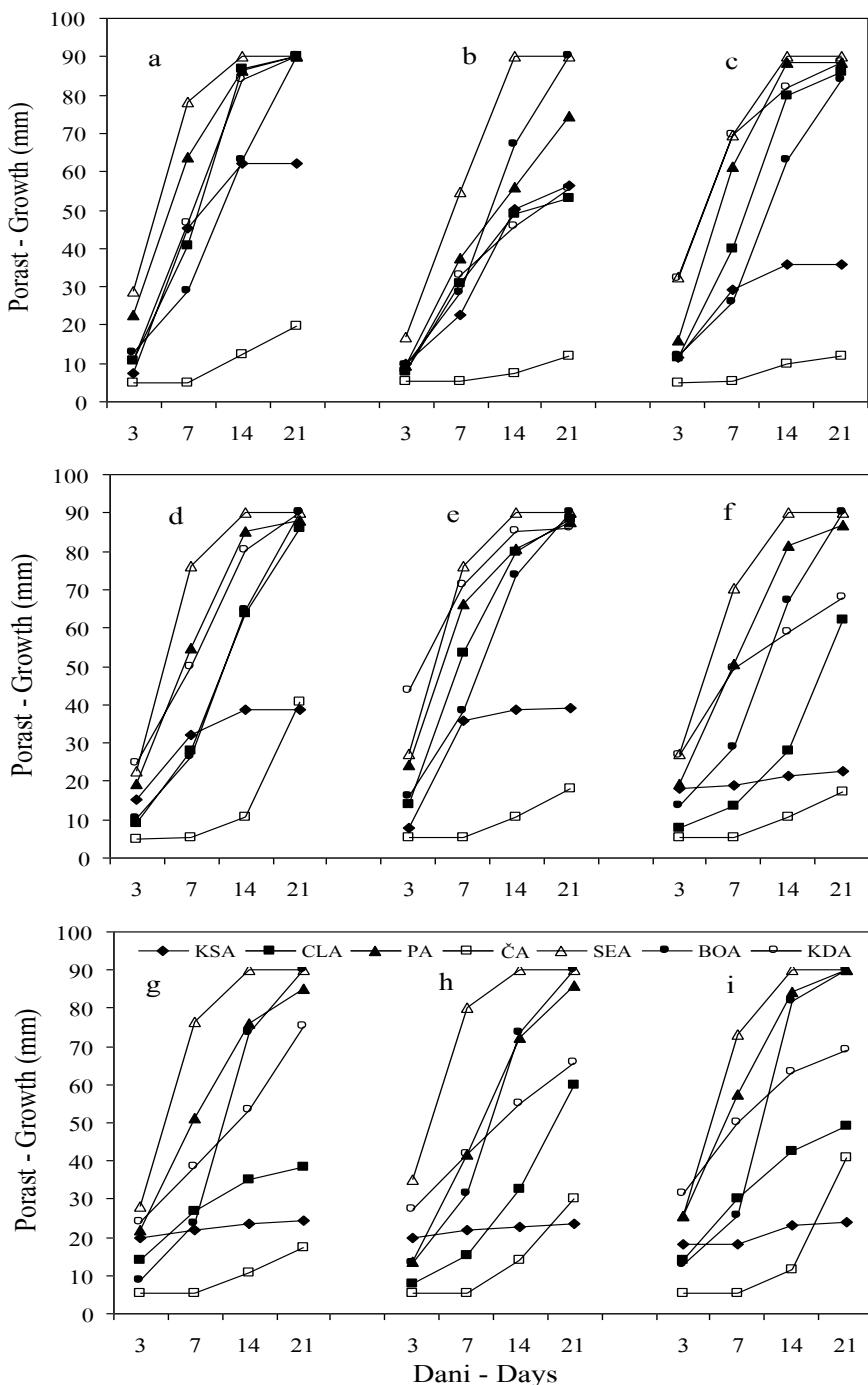
Uticaj hranljive podloge. Hranljive podloge imaju vrlo bitan uticaj na razvoj i izgled kolonija izolata gljive *C. rubescens* (Sl. 1, Graf.1). Podloga od slada je najpovoljnija za porast kolonija svih ispitivanih izolata, osim izolata C-5 koji podjednako dobro uspeva i na podlozi od krompira. Na ovoj podlozi kolonije izolata su dostigle maksimalni porast već nakon 10 dana. Vazdušna micelija je srednje bujna, bledo siva, zonirana, substratna tamnija (Sl. 1). Obrazovanje beličastih hrpica micelije, što uglavnom prethodi obrazovanju piknidija, uočavaju se nakon 30 dana.



Sl. 1 – Kolonije izolata *C. rubescens* gajene 21 dan na podlozi od ekstrakta slada (A), pasulja (B), ovsa (C), krompira (D), crnog luka (E) i na kiselo – sintetičkoj podlozi (F).

Colonies of *C. rubescens* isolates grown for 21 days on malt agar (A), bean agar (B), oat meal agar (C), potato dextrose agar (D), onion agar (E), and sour synthetic agar (F).

Podloge od pasulja, brašna ovsa i krompira su se pokazale kao ponovlje za razvoj patogena. Na podlozi od pasulja dobro su se razvijali izolati C-1, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8 i C-9. Ovi izolati su dostigli maksimalan prečnik 17 dana nakon zasejavanja. Slabiji porast je imao samo izolat C-2 (oko 7,5 cm). Na ovoj podlozi izolati obrazuju srednje bujnu, beličasto-sivkastu vazdušnu miceliju sa jasno izraženim koncentričnim krugovima i supstratnu koja je tamnija. Na površini micelije nije zapaženo obrazovanje piknidija.



Graf. 1 – Porast kolonija (mm) izolata *C. rubescens* (a) C-1, (b) C-2, (c) C-3, (d) C-4, (e) C-5, (f) C-6, (g) C-7, (h) C-8 i (i) C-9 na raznim podlogama (KSA – kiselo-sintetička podloga, CLA – podloga od crnog luka, PA – podloga od pasulja sa agarom, ČA – Čapekova podloga, SEA-podloga od ekstrakta slada, OA – podloga od brašna ovsa i KDA– krompir dekstrozna podloga).

Colony growth (mm) of *C. rubescens* isolates (a) C-1, (b) C-2, (c) C-3, (d) C-4, (e) C-5, (f) C-6, (g) C-7, (h) C-8 and (i) C-9 on different media (KSA – sour synthetic agar, CLA – onion agar, PA – bean agar, ČA – Czapek's agar, SEA – malt extract agar, BOA – oat meal agar and KDA – potato dextrose agar).

Kolonije svih izolata dostigle su maksimalan porast na ovsa tek posle 21 dana. Micelija je dobro razvijena, obrazuje nekoliko koncentričnih krugova. Supstratna micelija je mrka, dok je vazdušna kompaktna sa gusto obrazovanim beličastim hrpicama (izolati C-1, C-2, C-4, C-6, C-7, C-8 i C-9). Obrazovanje začetaka konidiomata je slabijeg intenziteta kod izolata C-3 i C-5.

Podloga od krompira predstavlja povoljnu sredinu za razvoj izolata C-1, C-3, C-4 i C-5, koji su maksimalan porast kolonije dostigli posle 21 dana. Nešto slabiji porast na ovoj podlozi registrovan je kod ostalih izolata (oko 7 cm). Vazdušna micelija većine izolata (C-1, C-2, C-6, C-7, C-8 i C-9) je kompaktna, žućkasto maslinasta, zonirana, sa nekoliko koncentričnih krugova, sa talasastim ili nepravilnim, režnjevitim ivicama. Supstratna micelija je mrka. Kolonije izolata C-3, C-4 i C-5 su sa srednje bujunom, zrakastom, izraženo zoniranom, bledo sivom vazdušnom i tamnom supstratnom micelijom. Ivice kolonija su talasaste do blago režnjevite. Svi izolati su fruktificirali na ovoj podlozi, ali je intenzitet obrazovanja piknidija bio neuvedenac.

Izolati C-1, C-3, C-4 i C-5 su dostigli maksimalni porast na podlozi od crnog luka za 17-20 dana. Ostali izolati su u ovom periodu obrazovali kolonije prečnika oko 5 cm. Izgled kolonija je veoma sličan kolonijama na podlozi od krompira, ali bez fruktifikacije.

Kiselo-sintetička podloga je nepovoljna za razvoj patogena. Porast kolonija ostvaren je samo u toku prve dve nedelje po zasejavanju, pri čemu je prečnik dostigao 5-6 cm (kod izolata C-1 i C-2), oko 4 cm (kod izolata C-3, C-4 i C-5) i oko 2,5 cm (kod izolata C-6, C-7, C-8 i C-9). Vazdušna micelija je kompaktna, žućkasto maslinasta do tamnosiva, dok je supstratna micelija mrka. Kolonije izolata su na ovoj podlozi imale neuobičajen izgled, od nepravilno okruglastog sa koncentričnim krugovima (izolati C-1, C-5, C-6, C-7, C-8 i C-9) do razgranato-režnjevitog (izolati C-2, C-3 i C-4). Piknidije se nisu obrazovale na ovoj podlozi.

Podloga Czapek je izrazito nepovoljna za razvoj izolata *C. rubescens*. Prečnik kolonija izolata C-4 i C-8 bio je oko 4,5 cm, a prečnik ostalih svega oko 1-2 cm. Vazdušna micelija je slabo razvijena, beličasto-sivkasta, sa manje ili više izraženim koncentričnim krugovima. Supstratna micelija je tamnija. Piknidije se nisu obrazovali.

Arsenijević i sar. (1973) su izdvojili podloge od slada i krompira kao najpovoljnije za razvoj *C. rubescens*, dok su se podloge od ovsenog brašna i Czapek-ova podloga pokazale kao nepovoljne. Ovi podaci uglavnom se slažu sa našim rezultatima, mada je podloga od ovsa pogodna za porast, ali ne i za fruktifikaciju naših izolata. Prema Dhanvantari (1968) najbolja podloga za fruktifikaciju gljive *C. rubescens* je smeša ječma, meda i peptona na kojoj stvara proređenu miceliju, ali bogato obrazuje piknide na sobnoj temperaturi za 2-3 nedelje.

Uticaj pH sredine. Izrazito kisela sredina (pH 3,5) ne odgovara razvoju patogena, jer nije utvrđen porast kolonija izolata ni posle četiri nedele od zasejavanja. Takođe je nepovoljna blago alkalna sredina (pH 8,5) u kojoj (pH 8,5) su samo izolati C-2 i C-8 pokazali vrlo slab porast (oko 1 cm) nakon 24 dana. Kolonije ostalih izolata nisu se razvijale ni posle 30 dana. Razvoj izolata patogena bio je sličan i pri pH 8,0. Prečnik izolata je 3,5-4 cm (izolat C-2), odnosno 1-2 cm (izolati C-3, C-7, C-8 i C-9). Samo su kolonije izolata C-4 dostigle prečnik od oko 8 cm. Kod ostalih izolata kolonije se nisu razvijale na ovoj pH vrednosti podloge (Sl. 2, Graf. 2).

Optimalan razvoj izolata *C.rubescens* je u pri pH vrednosti sredine od 5,5 do 7,0. Maksimalni porast kolonija izolata C-1, C-3, C-4, C-6 i C-8 ostvaren je pri pH 5,5. Izolat C4 je ispunio micelijom celu površinu Petri kutije nakon dve nedelje, dok su ostali izolati dostigli prečnik od 5 cm (C-6 i C-8) do 8 cm (C-1 i C-3) 24 dana po zasejavanju. Neutralna sredina najpovoljnija je za razvoj izolata izolata C-2, C-5, C-7 i C-9. Maksimalan porast izolata C-5 je ostvaren nakon 18 dana, a porast kod izolata C-2, C-7 i C-9 posle 24 dana.

Najpovoljnija sredina za razvoj naših izolata *C.rubescens* je slabo kisela do neutrlana. Ovi rezultati su u skladu sa navodima Muntañola-Cvetković (1987) po kojima većini gljiva odgovara niža pH vrednost (pH 5,5 – 6,5), mada mnoge vrste gljiva tolerišu širok spektar pH 2,0-9,0.

Uticaj temperature. Maksimalni porast kolonija izolata *C. rubescens* je pri 20°C, sem kod izolata C-1, kod koga se optimum nalazi u rasponu 15-20°C. Minimalna i maksimalna temperatura za razvoj kolonija svih izolata je 5°C, odnosno 30°C (Sl. 3, Graf. 3).

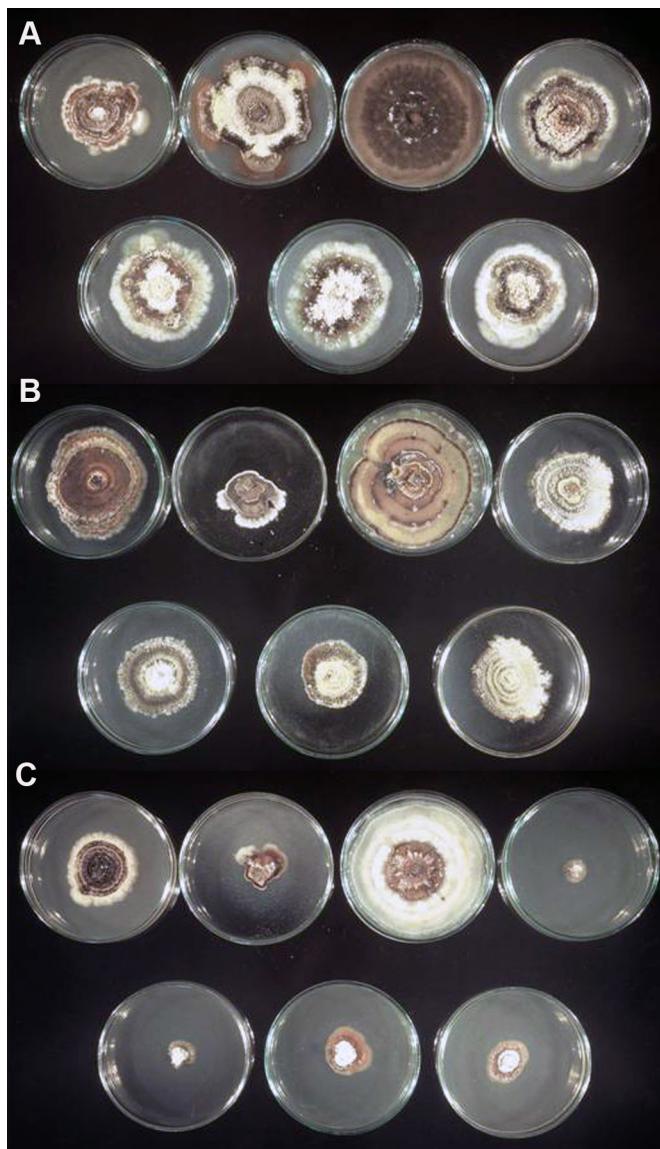
Razvoj kolonija svih izolata je slab (1-2 cm) pri temperaturi od 5°C nakon 21 dana po zasejavanju.

Temperatura 10°C je bila pogodna za razvoj izolata C-1, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8 i C-9. Maksimalan prečnik kod ovih izolata je postignut 24 dana nakon zasejavanja. Prečnik kolonije izolata C-2 je bio oko 4 cm, dok je izolat C-3 imao najslabiji porast i obrazovao je prečnik kolonije samo oko 2,5 cm.

Na temperaturi 15°C najveći porast kolonije (9 cm) je bio kod izolata C-6 i C-7 i to 21-og dana po zasejavanju. Posle 25 dana od zasejavanja i izolati C-4, C-5 i C-9 su dostigli maksimalan prečnik kolonija, a kod izolata C-1, C-2, C-3 i C-8 prečnik je bio oko 8 cm.

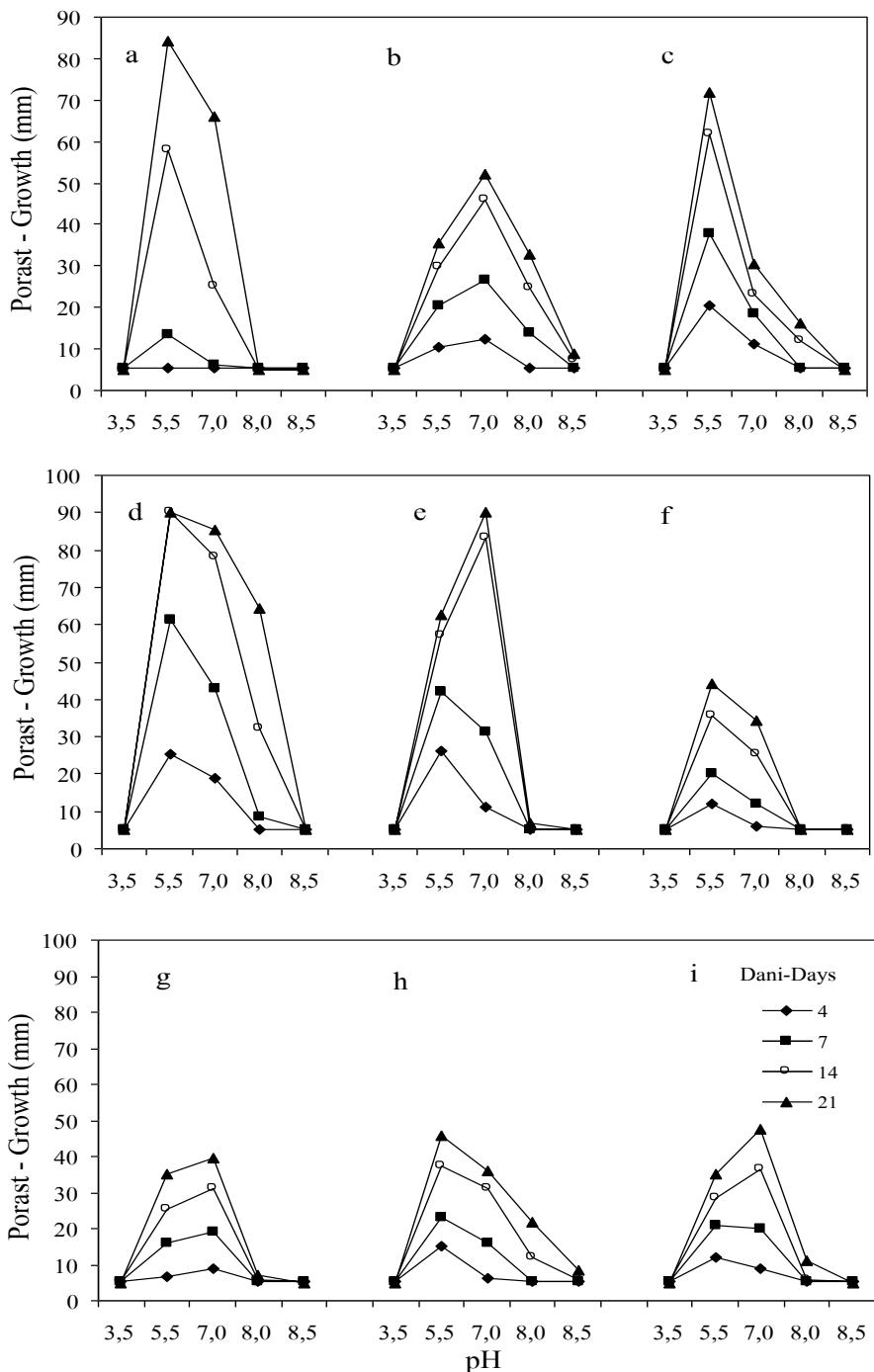
Na temperaturi od 20°C maksimalan prečnik kod izolata C-4 je postignut posle 11 dana, a kod izolata C-5, C-6, C-8 i C-9 posle 14 dana. Kod izolata C-1 i C-7 maksimalan porast je postignut posle 18 dana, a kod izolata C-2 i C-3 nakon 21 dan po zasejavanju.

Temperatura 25°C je posebno pogodovala razvoju izolata C-4 koji je nakon 25 dana dostigao maksimalan prečnik. Kod ostalih izolata pri ovoj temperaturi veličina prečnika se kretala od 5 do 7 cm.



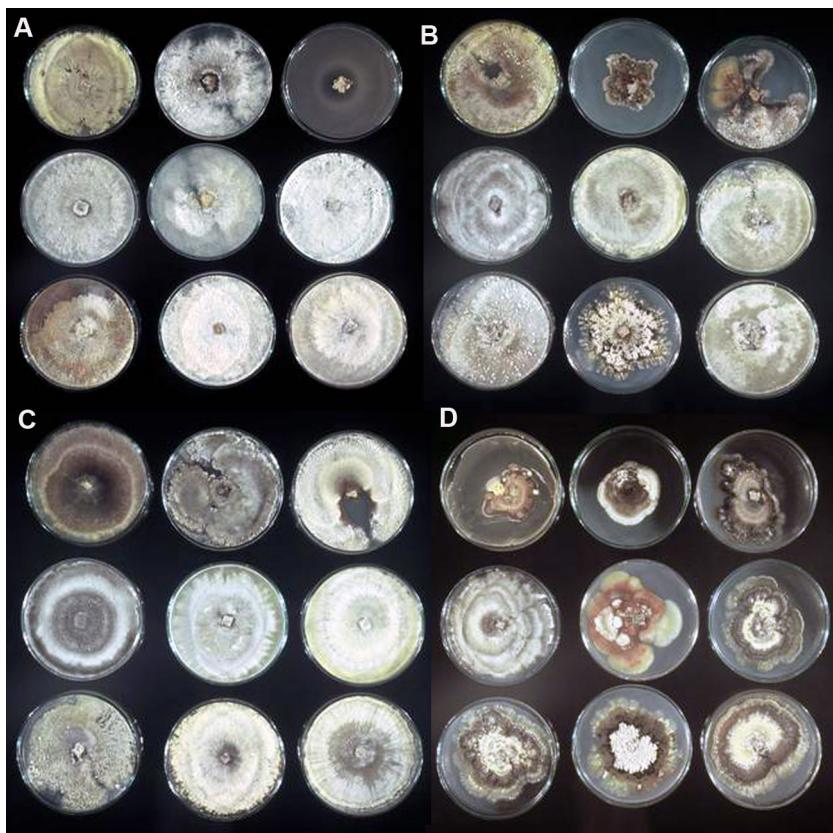
Sl. 2 – Kolonije izolata *C. rubescens* gajene 21 dan na krompir dekstroznoj podlozi pri (A) pH 5.5, (B) pH 7.0 i (C) pH 8.0 (gornji red: C-2, C-3, C-4 i C-6; donji red: C-7, C-8 i C-9).

Colonies of *C. rubescens* isolates grown on PDA for 21 days at (A) pH 5.5, (B) pH 7.0, and (C) pH 8.0 (upper row: C-2, C-3, C-4, and C-6; down row: C-7, C-8, and C-9).



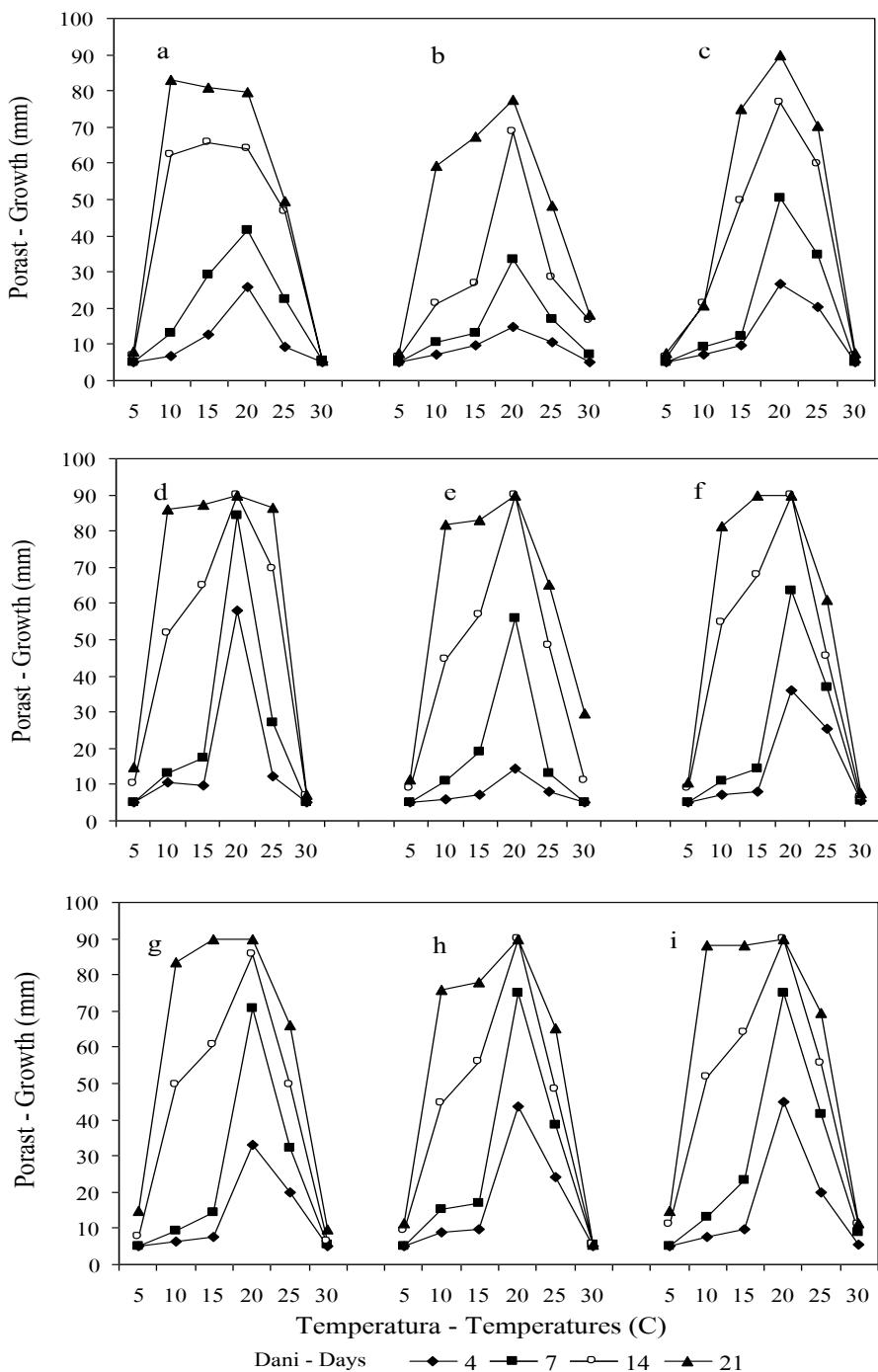
Graf. 2 – Uticaj pH podloge (KDA) na porast kolonija (mm) izolata *C. rubescens* (a) C-1, (b) C-2, (c) C-3, (d) C-4, (e) C-5, (f) C-6, (g) C-7, (h) C-8 i (i) C-9

Effect of medium pH (PDA) on colony growth (mm) of *C. rubescens* isolates (a) C-1, (b) C-2, (c) C-3, (d) C-4, (e) C-5, (f) C-6, (g) C-7, (h) C-8 and (i) C-9.



Sl. 3 – Kolonije izolata *C. rubescens* gajene 21 dan na krompir dekstroznog podlozi pri temperaturi (A) 10°C, (B) 15 °C, (C) 20°C i (D) 25°C (prvi red: C-1, C-2 i C-3; drugi red: C-4, C-5 i C-6; treće red: C-7, C-8 i C-9).

Colonies of *C. rubescens* isolates grown on PDA for 21 days at temperature (A) 10°C, (B) 15 °C, (C) 20°C i (D) 25°C (first row: C-1, C-2 and C-3; second row: C-4, C-5 and C-6; third row: C-7, C-8 and C-9).



Graf. 3 – Uticaj raznih temperatura na porast kolonija (mm) izolata *C. rubescens* (a) C-1, (b) C-2, (c) C-3, (d) C-4, (e) C-5, (f) C-6, (g) C-7, (h) C-8 i (i) C-9

Effect of different temperatures on colony growth (mm) of *C. rubescens* isolates (a) C-1, (b) C-2, (c) C-3, (d) C-4, (e) C-5, (f) C-6, (g) C-7, (h) C-8 and (i) C-9.

Pri temperaturi od 30°C većina izolata ili uopšte nije obrazovala kolonije, ili su kolonije bile vrlo sitne, prečnika do 1 cm. Jedino su izolati C-2 i C-5 formirali kolonije prečnika 2 cm, odnosno 5 cm. Razvoj kolonija na ovoj temperaturi kod gotovo svih izolata je zaustavljen nakon tri nedelje, a kod izolata C-5 je trajao oko mesec dana.

Dobijeni rezultati se uglavnom slažu sa podacima Biggs (1997) koji je utvrdio da se *Leucostoma cincta* razvija i sporuliše pri temperaturama od 4-30°C, sa optimumom od 18-20°C. Slične rezultate navode Smith et al. (1986), ističući da je optimalna temperatura za sporulaciju ove gljive u intervalu od 10 do 15°C pri relativnoj vlažnosti 90-100%. Podaci o kardinalnim temperaturama za razvoj patogena imaju veliki značaj za poznavanje njegove epidemiologije, jer se tako može utvrditi početak razvoja gljive, period njihove intenzivne reprodukcije i širenja, dok maksimalne temperature, koje bi zaustavile dalju evoluciju parazita, retko dolaze do izražaja u našim klimatskim uslovima. Minimalne temperature su različite kod pojedinih patogena i kreću se uglavnom u granicama 0.5-16°C; optimalne u intervalu 8-30°C, dok su kod najvećeg broja parazitnih gljiva maksimalne temperature preko 30°C (Josifović, 1964; Babović, 2003). Prema Ivanović i Ivanović (2001) većina fitopatogenih gljiva razvija se u temperaturnom intervalu od 0 do 30°C, sa optimumom između 20-30°C.

LITERATURA

- Arsenijević, M., Balaž J. (1982): Citosporozno izumiranje i rak-rane voćaka. Glasnik zaštite bilja, br. 2: 38-42, Zagreb.
- Arsenijević, M., Jasnić, S., Balaž J., Petrov M. (1973): Prilog proučavanju *Cytospora cincta* Sacc. kao parazita breskve. Zaštita bilja, br. 126: 337-349, Beograd.
- Arsenijević, M., Jasnić, S., Balaž J., Petrov M. (1975): Early die-back of peach caused by *Cytospora cincta* Sacc. in Yugoslavia. VIII Международный Конгресс по защите растений. Reports and informations section II. Progress in the study of biology of pest organisms and the development of forecast methods, Moskva.
- Arsenijević, M., Jasnić, S., Balaž J., Petrov M. (1982): Razvoj *Cytospora cincta* Sacc. kao parazita breskve tokom godine. Zaštita bilja, Vol. 33 (1), br. 159: 73-83, Beograd.
- Arsenijević, M., Veselić, M. (1997): Development of *Gnomonia rostellata* (Fr.) Wehm. *in vitro*. Z. PflKrankh. PflSchutz. 104 (5): 492-500, Stuttgart.
- Babović, M. V. (2003): Osnovi patologije biljaka. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Balaž J., Grbić R., Pižurica, B. (1994): Gljive kao prouzrokovaci sušenja grana breskve i mogućnosti njihovog suzbijanja. Savremena poljoprivreda, Vol. 42 vanredni broj: 43-48, Novi Sad.

- Balaž, J., Popović, T., Bagi, F. (2005): *Cytospora cincta* kao prouzrokovac sušenja mladara breskve. Sedmo savetovanje o zaštiti bilja, Soko Banja, 15-18. novembar.
- Balaž, J., Popović, T., Knežević, T. (2000): Proučavanje uzročnika sušenja breskve u području Fruške Gore. Zbornik rezimea XI Jugoslovenskog Simpozijuma o zaštiti bilja sa međunarodnim učešćem i Savetovanje o primeni pesticida, Zlatibor.
- Bertrand, P. F., English, H. (1976): Virulence and Seasonal Activity of *Cytospora leucostoma* and *C. cincta* in French Prune Trees in California. Plant Disease Reporter, Vol. 60, No. 2: 106-110.
- Biggs, A. R. (1997): Leucostoma Canker of Stone Fruits, *Leucostoma persoonii* and *L. cincta*. Fruit Disease Focus. West Virginia University, Kearneysville Tree Fruit Research and Education Center.
- Borić, B. (1985): Rast kultura i obrazovanje reproduktivnih organa *Pleospora herbarum* (Pers. ex Fr.) Rabenh. na različitim temperaturama i pH vrednostima. Zaštita bilja, Vol. 36 (4), br. 174: 371-377, Beograd.
- Dhanvantari, B. N. (1968): A Culture Medium for Pycnidial Formation and Conidial Production of *Cytospora cincta*. Phytopathology, Vol. 58, No. 7: 1040.
- Ivanović, M. S., Ivanović, D. M. (2001): Mikoze i pseudomikoze biljaka. Poljoprivredni fakultet, Zemun.
- Josifović, M. (1964): Poljoprivredna fitopatologija. Naučna knjiga, Beograd.
- Kamiri, L. K., Laemmlen, F. F. (1981): Epidemiology of *Cytospora* Canker Caused in Colorado Blue Spruce by *Valsa kunzei*. Phytopathology, Vol. 71, No. 9: 941-947.
- Lal, B. B., Pathak, V. N. (1970): Influence of certain physical factors and carbon sources on the growth and pycnidial formation of *Diplodia natalensis* Pole Evans, isolated from Orange fruits. Ph. mediteranea, Vol. IX, No. 2-3: 87-90.
- Marković, S. (1970): Osnove fitopatoloških laboratorijskih metoda. Beograd.
- Muntañola-Cvetković, M. (1987): Opšta mikologija. NIRO »Književne novine«, Beograd.
- Perišić, M., Marković, S., Babović, M. (1976): Prilog proučavanju uzroka sušenja mladara breskave i višanja u rejonu Fruške Gore. Zaštita bilja, Vol. XXVII/2, br. 136: 141-148, Beograd.
- Popović T. (2004): Etiološka proučavanja sušenja grana breskve na području Fruške Gore. Magistarska teza. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Popović, T., Balaž, J. (2005): Identifikacija prouzrokovaca prevremenog sušenja breskve. Sedmo savetovanje o zaštiti bilja, Soko Banja, 15-18. novembar.
- Smith, I. M., Dunez, J., Lelliott, R. A., Phillips, D. H., Archer, S. A. (1986): European Handbook of Plant Diseases. Blackwell Scientific Publications.

(Primljeno: 20.06.2007.)
(Prihvaćeno: 08.08.2007.)

CULTURAL CHARACTERISTICS OF *LEUCOSTOMA CINCTA* ISOLATES OBTAINED FROM DISEASED PEACH BRANCHES

TATJANA POPOVIĆ, JELICA BALAŽ

Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 21000 Novi Sad
E-mail: popovict@eunet.yu

Summary

Effects of different nutrient media, pH values and temperatures upon colony growth and fructification of nine *Cytospora rubescens* strains obtained from diseased peach branches were studied.

Malt agar was the best medium for growth all isolates. Oat meal, bean, potato dextrose and onion agar were less suitable, and sour synthetic and Czapek's agar were unfavourable for pathogen development. Colonies of all isolates fructified only on potato dextrose agar.

Optimal pH values for colony development were 5.5–7.0. At pH 8.0 isolates realized slightly growth. There were no mycelium formation by most isolates at pH 3.5 and 8.5.

The optimum temperatures for colonies growth was 20°C, except for isolate C-1 (15–20°C). The appropriate temperatures were 10°, 15°C and 25°C. Colonies growth was slightly or absent at 5° and 30°C.

Key words: peach, *Cytospora cincta*, nutrient media, pH value, temperature

(Received: 20.06.2007.)

(Accepted: 08.08.2007.)

Plant Protection: Vol. 55 (1-4), No 247-250, 49-64, 2004, Belgrade

Zaštita bilja
Vol. 55 (1-4), No 247-250, 65-74, 2004
Beograd

UDK 633.1-152.484
Naučni rad

UTICAJ NAČINA ZAŠTITE SEMENA OZIME PŠENICE PROTIV TILETTIA TRITICI NA KOMPONENTE PRINOSA

RADE PROTIĆ, SNEŽANA RAJKOVIĆ, MIRA STAROVIĆ,
DOBRIVOJ POŠTIĆ, SVETLANA ŽIVKOVIĆ
Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

Istraživanja su izvedena u poljskim uslovima, sa tri sorte ozime pšenice i sedam načina zaštite semena. Utvrđeno je da je način zaštite semena faktor koji zнатно utiče na ispitivana svojstva. U okviru istog načina zaštite nema razlika u broju biljaka i klasnova po m², u koeficijentu produktivnog bokorenja i prinosu zrna. Broj biljaka po m² kretao se od 484 kod sorte PKB-Christna do 520 kod sorte Vizija, broj klasova po m² od 721 kod sorte PKB-Christina do 732 kod sorte Pobeda, koeficijenat produktivnog bokorenja od 1.43 kod sorte Vizija do 1.49 kod sorte Pobeda, a prinos zrna od 7.03 t/ha kod sorte Vizija do 7.69 t/ha kod sorte Pobeda. U odnosu na način zaštite broj biljaka po m² kretao se od 487 kod tretmana *Tilletia tritici* + divikonazol, do 517 kod elektronskog načina zaštite, broj klasova od 711 kod kontrole do 746 kod tretmana sa *Tilletia tritici*, koeficijenat produktivnog bokorenja od 1.44 kod kontrole do 1.50 kod tretmana *Tilletia tritici* + divikonazola, a prinos zrna od 7.19 t/ha kod kontrole do 7.56 t/ha kod zaštite sa difenokonazolom.

Ključne reči: pšenica, sorta, seme, fungicid, komponente prinosa, prinos zrna.

UVOD

Intenzivna proizvodnja pšenice (uvodjenje novih sorti veće gustine i primena mineralne ishrane) u cilju postizanja viših prinosa zrna, dovodi do povećanja značaja bolesti, naročito mikoznih, a samim tim i do potrebe suzbijanja njihovih prouzrokovaca. Pojava širokog spektra bolesti direktna je posledica primene tehnologije visokih prinosa zrna pšenice, jer tada bolesti postaju ograničavajući faktor proizvodnje u neadekvatnoj zaštiti.

Jedini način obezbeđenja visokog nivoa proizvodnje je adekvatna zaštita semena. U našoj zemlji se na oko 50% površina pod strnim žitima seje nezaštićeno seme. Ovaj procenat treba da bude znatno niži, na čemu treba intenzivno raditi da bi se dostigao nivo razvijenih zemalja, na primer Danske, u kojoj je približno 85% od ukupno posejanih ozimih žitarica i 90% od ukupno posejanih jarih žitarica posejano zaštićenim i certifikovanim semenom (Nielsen, et al., 1998).

Neadekvatna zaštita semena od prouzroka bolesti, ili njen izostanak, mogle bi izazvati velike probleme koje nastaju u slučaju zaraze sa *Tilletia caries*, *Drechslera graminea*, *Ustilago nuda* i *Urocystis occulta*.

Selekcionisane sorte na povećanu otpornost prema bolestima, mogle bi da se daje bez hemijske zaštite semena, ali za sada, samo uz ustupke na račun prinosa i kvaliteta zrna.

U razvijenim zemljama Evrope smatra se da je certifikованo seme jarih i ozimih žitarica i veliki procenat odloženog semena iz proizvodnje (85 – 90%) tretirano fungicidima (Nielsen i Scheel, 1997).

Tilletia caries na pšenici je izuzetno značajan patogen, jer njeno prisustvo isključuje upotrebu tog semena u ishrani. Glavnica je nekada bila najznačajnija bolest pšenice u našoj zemlji, danas se sasvim uspešno suzbija upotrebom hemijskih sredstava (Ivanović, 1992). Ovaj patogen je čest u Danskoj od 1989 godine uglavnom na površinama gde seme nije bilo tretirano (Nielsen i Jorgensen, 1994).

Kod pšenice 15 specifičnih gena definišu odvojenu otpornost (Bt) na običnu prugavost (*Tilletia caries*) (Gaudet et al., 1993).

Mnogi varijeteti ozimih i jarih pšenica su testirani i rezultati su pokazali različita variranja u otpornosti. Izvestan broj varijeteta je imao punu otpornost, kao na primer švetske sorte Tjelvar i Stava koje su imale otpornost prema sporama gari iz zemljišta (Jonsson et Sevensson, 1990). Međutim, otpornost je bazirana na specifičnim genima za otpornost odakle postoji rizik da se nove virulentne rase razmnože. Prouzrokač gljivične gari umnogome varira (virulente rase), pa uloženi naporci oko ugradnje retko specifične otpornosti nisu uspeli ni u SAD (Hoffmann et Metzger, 1976).

Primena biološke kontrole bolesti je jako pogodna za zaštitu semena, međutim, biološki preparati još nisu standardizovani, pa su neophodna dalja testiranja na efikasnost radi uključivanja u praktičnu primenu. Druge, alternativne mere kontrole, kao što su primena tople vode, toplog vazduha, elektronska zaštita, čišćenje semena od bolesti čiji se reproduktivni organi nalaze na površini, mogu biti primenjene u kombinaciji sa klasičnim metodama zaštite semena hemijskim putem. Primena organskih proizvoda, kao što su sirćetna kiselina, maslac i mlečni proizvodi pokazali su izvesne rezultate u suzbijanju obične gari na pšenici (Borgen et al., 1995; Borgen, 1997).

Postignuti su izvesni rezultati u primeni nekih sojeva bakterija *Pseudomonas cholororaphis* (MA-342) u zaštiti pšenice, ječma i ovsa (Gerhardsona et al., 1998).

Značajno je istaći da je moguće primenjivati i fugnicide folijarno, u situacijama kada je zaštita semena obavljena neadekvatno ili je izostala, ali zaštita semena pšenice utiče na povećanje ukupne biomase, zadržavanje povećane zelene površine, značajno povećanje prinosa zrna pšenice, koje može biti i 0.47 t/ha (Spink et al., 1998)

MATERIJAL I METODE

U ogled su uključene tri sorte ozime pšenice različite po tipu bokora, visini stabljike, položaju listova, dužini vegetacije, genetskom potencijalu za prinos i kvalitetu zrna, i to:

PKB-Christina – srednje kasna, niže visine, dobre otpornosti na bolesti i niske temperature, sa visokim genetskim potencijalom za prinos i kvalitet zrna, zatim,

Pobeda – srednje kasna sorta, dobre otpornosti na zimu, poleganje i pepelnicu, momentalno naša vodeća sorta, poznata po svojoj širokoj adaptabilnosti, visokom potencijalu rodnosti i

Vizija – srednje kasna sorta, sa dobrom kvalitetom zrna, pogodna za gajenje u intenzivnim i manje intenzivnim uslovima proizvodnje. Izuzetno je adaptabilna i ima visok genetički potencijal za prinos zrna.

Ogled je postavljen na Oglednom polju Instituta “Tamiš” (2003/04 – 2005/06. god.) u Pančevu po potpuno slučanom blok sistemu u 5 varijanti plus elektronska zaštita, sa pozitivnom i negativnom kongrolom. Veličina osnovne parcele je 5 m² (1 x 5 m). Setva je obavljena mašinski sredinom oktobra. Gustina setve je 600 klijavih zrna/m² i sa razmakom između redova od 10 cm.

Seme je prethodno veštački zaraženo teleutosporama *Tilletia tritici* (Rajković, 1999). Nankon toga, seme je tretirano sledećim aktivnim materijama: difenokonazolom (30 g/l), divikonazolom (20 g/l), kombinacijom karboksina (200 g/l) i tirana (200 g/l), kombinacijom tebukonazola (20 g/l) i triazoksina (20 g/l), a peta varijanta je elektronska zaštita semena po metodi plazma elektrona, koje je obavljena u Fraunhafer Institut, Dresden, u saradnji sa Schmidt Seeger AG, Beilngries, Germany.

Broj prezimelih biljaka ustanovljen je u proleće, a broj produktivnih klasova pred žetvu. Žetva je obavljena ručno u fazi pune zrelosti, a vršidba sa vršalicom, nakon čega je utvrđen prinos zrna.

Podaci su obrađeni statistički, primenom analize varijanse. U analizi su uzeti kao faktori godina, sorta i način zaštite semena. Rezultati su prikazani kao dvogodišnji prosek za sva ispitivana svojstva.

REZULTATI I DISKUSIJA

Broj prezimelih biljaka. Ispitivane sorte ispoljile su približno isti broj prezimelih biljaka/m², unutar varijanti, što je omogućilo upoređivanje ispitivanih osobina (tab. 1).

Broj prezimelih biljaka po m² kretao se od 484 kod sorte PKB-Christna do 520 kod sorte Vizija. U odnosu na način zaštite, broj prezimelih biljaka po m² kretao se od 487 prilikom primene divikonazola do 517 kod primene elektronskog tretmana zaštite. Ispitivane sorte međusobno nisu ispoljile značajne razlike u broju prezimelih biljaka. Ispoljena je značajna razlika između elektronskog načina zaštite i tretmana kombinacije tebukonazola i triazoksina i visoko značajna između tretmana difenokonazola i divikonazola i kombinovane primene karboksina i tirana u odnosu na kontrolu. Između ostalih ipitivanih tretmana zaštite semena nije ustanovljena značajna razlika u broju prezimelih biljaka po m². Ustanovljena je visoko značajna razlika između godina u kojim je ispitivanje izvedeno (Tab. 1).

Tab. 1 – Broj prezimelih biljaka po m² pri različitom načinu zaštite veštački inokulisanog semena pšenice sa *T.tritici* u periodu 2003/04 – 2005/06¹
 Number of overwintered plants per m² at the different way of the protection of artificial inoculated weat seeds with *T.tritici* in period 2003/04-2005/06¹

Način zaštite Way of the protection	Sorta – Type			Prosek Average
	PKB-Christina	Pobeda	Vizija	
difenokonazol	481	486	504	490
divikonazol	477	483	501	487
karboksin + tiran	484	489	526	500
tebukonazol+triazoksin	502	488	522	504
+Kontrola – + Control	474	540	517	510
Kontrola– Control	505	479	505	497
Elektronsko – Eelectronic	462	520	567	517
Prosek – Average	484	498	520	501
LSD _{0,05}				12,0
LSD _{0,01}				16,0

¹ Podaci u kolonama predstavljaju dvogodišnje proseke
 Data in columns represent two-years averages

Broj klasova. Gustina sklopa direktno utiče na prinos, zbog toga je značajno da se postigne optimalan broj klasova po jedinici površine, odnosno optimalan broj biljaka po jedinici površine za pojedine sorte.

Ispitivane sorte nisu ispoljile statistički značajne razlike u broju klasova po m^2 (od 721 kod sorte PKB-Chistina do 732 kod sorte Pobeda), kao ni medjusobno ispitivane varijante. Ispoljena je statistički vrlo značajna razlika u broju klasova izmedju negativne kontrole (711) i pozitivne kontrole (746), izmedju svih varijanti u kojima su primjenjeni fungicidi u odnosu na kontrolu i ispitivanih godina (tab. 2).

Tab. 2. – Broj klasova po m^2 pri različitom načinu zaštite veštački inokulisanog semena pšenice sa *T.tritici* u periodu 2003/04 – 2005/06¹

Number of the spike per m^2 at the different way of the protection of artificial inoculated wheat seeds with *T.tritici* in period 2003/04-2005/6¹

Način zaštite Way of the protection	Sorta – Type			Prosek Average
	PKB-Christina	Pobeda	Vizija	
difenokonazol	728	737	724	730
divikonazol	743	717	714	725
karboksin + tiran	704	710	758	724
tebukonazol+triazoksin	712	715	760	729
+Kontrola – + Control	753	744	740	746
Kontrola– Control	699	728	707	711
Elektronsko – Eelectronic	704	774	707	728
Prosek – Average	721	732	730	728
LSD _{0,05}				8,0
LSD _{0,01}				12,0

¹ Podaci u kolonama predstavljaju dvogodišnje proseke
Data in columns represent two-years averages

Koefficijenat produktivnog bokorenja. Produktivno bokorenje je svojstvo pšenice koje zavisi od genotipa, mineralne ishrane, vlažnosti zemljišta, temperature, zdravstvenog stanja biljke i gustine setve.

Utvrđena značajna razlika u koeficijentu produktivnog bokorenja izmedju sorte Vizija (1.43) i sorte PKB-Christina (1.51), visoko značajna izmedju kontrole (1.44) i elektronskog načina zaštite semena (1.50) i varijanti u kojoj je seme tretirano divikonazolom. Između ostalih varijanti ispitivanja nije ustanovljena značajna razlika po ovom parametru (tab. 3).

Tab. 3 – Koeficijenat produktivnog bokorenja pri različitom načinu zaštite veštački inokulisanog semena pšenice sa *T.tritici* u periodu 2003/04 – 2005/06¹

Coefficient the productive tillering at the different way of the protection of artificial inoculated wheat seeds with *T.tritici* in period 2003/04-2005/06¹

Način zaštite Way of the protection	Sorta – Type			Prosek Average
	PKB-Christina	Pobeda	Vizija	
difenokonazol	1.52	1.52	1.44	1.49
divikonazol	1.58	1.49	1.44	1.50
karboksin + tiran	1.49	1.46	1.46	1.47
tebukonazol+triazoksin +Kontrola – + Control	1.44 1.60	1.52 1.39	1.49 1.47	1.48 1.49
Kontrola– Control	1.39	1.53	1.42	1.44
Elektronsko – Eelectronic	1.54	1.50	1.27	1.44
Prosek – Average	1.51	1.49	1.43	1.47
LSD _{0,05}				0,02
LSD _{0,01}				0,03

¹ Podaci u kolonama predstavljaju dvogodišnje proseke
Data in columns represent two-years averages

Prinos zrna. Utvrđena je značajna razlika u prinosu izmedju sorti Vizija (7.03 t/ha) i sorte Pobeda (7.69 t/ha). Uporedjujući prinos s aspekta применjenog načina zaštite dokazana je visoko značajna razlika izmedju kontrole (7.19 t/ha) i varijante koja je tretirana difekonazolom (7.56 t/ha). Nije utvrđena značajna razlika izmedju elektronskog načina zaštite i zatite fungicidima (tab. 4).

Kod svih ispitivanih varijanti u kojima je izvšena zaštita semena utvrđena je značajna razlika u prinosu zrna u odnosu na kontrolu. Između različitih tretmana zaštite semena nije utvrđena značajna razlika u prinosu zrna. Utvrđena je visoko značajna razlika između godina u kojim je ispitivanje izvedeno (tab. 4).

Ukratko, rezultati prikazani u ovom radu ukazuju da je način zaštite semena faktor koji značajno utiče na broj biljaka (od 487 kod tretmana *Tilletia* + divikonazol do 517 kod elektronskog načina zaštite) i klasova po m² (od 711 kod kontrole do 746 kod tretmana sa *Tilletia tritici*), koeficijent produktivnog bokorenja (od 1.44 kod kontrole do 1.50 kod tretmana *Tilletia tritici* + divikonazol) i prinos zrna (od 7.19 t/ha kod kontrole do 7.56 t/ha kod zaštite sa difenkonazolom). U okviru istog načina zaštite nema razlika u broju biljaka i klasnova po m², broju biljaka i klasova po m², u koeficijentu produktivnog bokorenja i prinosu zrna između ispitivanih sorti.

Tab. 4 – Prinos zrna pri različitom načinu zaštite veštački inokulisanog semena pšenice sa *T. tritici* u periodu 2003/04 – 2005/06¹

Yield of the grain per m² at the different way of the protection of artificial inoculated wheat seeds with *T. tritici* in period 2003/04-2005/06¹

Način zaštite Way of the protection	Sorta – Type			Prosek
	difenokonazol	7.70	7.73	7.25
divikonazol	7.67	7.54	7.43	7.55
karboksin + tiran	7.63	7.49	6.97	7.36
tebukonazol+triazoksin	7.40	7.76	6.99	7.38
+Kontrola – + Control	7.44	7.66	6.91	7.33
Kontrola– Control	6.97	7.73	6.87	7.19
Elektronsko – Electronic	7.63	7.91	6.77	7.44
Prosek – Average	7.49	7.69	7.03	7.40
LSD _{0,05}	0,32	0,29	0,16	0,14
LSD _{0,01}	0,35	0,36	0,17	0,16

¹ Podaci u kolonama predstavljaju dvogodišnje proseke
Data in columns represent two-years averages

Prikazani rezultati istraživanja uticaja različitih načina zaštite semena nekoliko sorata ozime pšenice na neke komponente prinosa imaju značajnu vrednost, jer je efikasnost zaštite određivana navedenim parametrima. U našoj naučnoj literaturi brojni su radovi koji su se bavili problematikom ispitivanja efikasnosti različitih fungicida prema *Tilletia tritici*, ali je efikasnost primenjenih fungicida utvrdjivana na osnovu ostvarenog procenta zaraze (Matijević i Rajković, 1995; Matijević i sar., 1993; Matijević i sar., 1994; Milošević i sar., 1998; Rajković i Matijević, 1997; Rajković i sar., 1997; Rajković i sar., 1998), ili njihovog uticaja na klijavost i energiju kljanja semena (Matijević, 1993a, 1993b), ali ne i na komponente prinosa kao što su broj biljaka i klasova po m², koeficijent produktivnog bokorenja i prinos zrna. Ovo su prvi podaci u o uticaju različitih načina zaštite semena na komponente rodnosti u našoj sredini.

LITERATURA

- Borgen A., Kristensen L.(1997): Markforseg med flerarig overlevelse af stinkbrand *Tilletia tritici* i jord. SP-rapport 8, 113-119.
- Borgen A. (1997): Effect of seed treatments with EM effective micro-organisms in control of common bunt *Tilletia* in wheat. Proceedings of the 5th International scientific Conference on Kyusei Nature Farming, 1997. In Press.
- Gaudet D A, Puchalski B J., Kozub G C., Schaalje G B. (1993): susceptibility and resistance in Canadian spring wheat cultivars to common bunt *Tilletia tritici* and *Tilletia laevis* Can. J. Plant Sci., 73, 1217-1224.
- Gerhard B., Hokeberg M., Johnsson, L. (1998): Disease cotrol by a formulation of a living bacterium. The 1998 Brighton Conference-Pests, Diseases, 901-906.
- Hoffmann J. A., Metzger R. J. (1976): Current status of virulence genes and pathogenic races of the wheatbunt fungi in the Northwestern USA. Phytopathology, 66, 657-660.
- Ivanović M. (1992): Mikoze biljaka. Nauka, Beograd.
- Jonsson J., Svensson G. (1990): Tjelvar-ny hostvetesort med resistens mot dvargstinksot. Weibulls Arbok 1990, 14-16.
- B J., Jorgensen L. N. (1994): Control of common bunt *Tilletia* caries in Denmark. BCPC Monograph no. 57, Seed Treatment, Progress and Prospects, 47-52.
- Matijević, D. (1993a): Uticaj različitih doza fungicida na klijavost i energiju klijanja semena ječma. Pesticidi, 8: 103-112.
- Matijević, D. (1993b): Uticaj fungicida na klijavost i energiju klijanja semena, porasta korena, nadzemnog dela i ukupne mase biljke ječma sorte NS 27. Pesticidi 8: 161-168.
- Matijević, D., Rajković, S. (1995): Suzbijanje *Tilletia* caries (DC) Tul na pšenici primenom TMTD. Pesticidi 9: 51-56.
- Matijević, D., Milošević, M., Klokočar-Šmit, Z. (1993): Paraziti koji se prenose semenom žita i mogućnost njihovog suzbijanja. Zbornik rezimea radova sa I jugoslovenskog savetovanja o zaštiti bilja. Vrnjačka Banja, 10.
- Matijević, D., Rajković, S., Stanković, R. (1994): Višegodišnja ispitivanja zaraze parazitom *Tilletia* caries na pšenici. Zbornik rezimea radova sa III jugoslovenskog kongresa o zaštiti bilja, Vrnjačka Banja, 15.
- Milošević,M., Stojanović, S., Jevtić, R., Matijević, D. Rajković, S. (1998): Glavnica pšenice. Naučni Institut za ratarstvo i povrтарstvo, Novi Sad, Institut za istraživanja u poljoprivredi «Srbija», Beograd, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd, Novi Sad, 1998.
- Nielsen B.J.,Nielsen G. C.(1994): Stinkbrand of jordsmitte. SP Rapport, 7, 89-103.

- Nielsen B. J., Scheel C.S. (1997): Production of quality cereal seed in Denmark. Proceedings of the ISTA Pre-Congress Seminar on Seed Pathology, ISTA, Zurich, 11-17.
- Nielsen B.J., Borgen A., Nielsen G. C., Scheel C. (1998): Strategies for controlling seed-borne diseases in cereals and possibilities for reducing fungicide seed treatments. The 1998 Brighton Conference-Pests, Diseases, 893-900.
- Rajković S. (1999): Uticaj nekih fungicida na *Tilletia caries* (D.C.) Tul. Kod različitih genotipova pšenice. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet – Novi Sad.
- Skou J.P., Nielsen B.J., Haahr V. (1994): Evaluation and importance of genetic resistance to *Erysiphe graminis* in Western European barleys. Acta Agric. Scand., Sect. B, Soil Plant Science, 44, 98-106.
- Spink H.J., Wade P. A., Paveley D.N., Griffin M.J., Scott K.R., Foulkes J. M. (1998): The effects of novel seed treatment, MON 65500, on take-all severity and crop growth in winter wheat. The 1998 Brighton Conference-Pests, Diseases, 913-920.
- Wenz M., Russell P.E., Lochel M.A., Buschhaus H., Evans H.P., Bardsley E., Petit, F., Puhl T. (1998): Seed treatment with fluquinconazole for control of cereal take-all, foliar and seed-borne diseases. The 1998 Brighton Conference-Pests, Diseases, 907-912.

(Primljeno: 14.03.2006.)

(Prihvaćeno: 08.08.2007.)

YIELD OF GRAIN AND SOME YIELD COMPONENTS DURING DIFFERENT WAY OF SEED-PROTECTION AT DIFFERENT VARIETY OF WINTER WHEAT

RADE PROTIĆ, SNEŽANA RAJKOVIĆ, MIRA STAROVIĆ,
DOBRIVOJ POŠTIĆ, SVETLANA ŽIVKOVIĆ

Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

Summary

Researching was done in field condition with three variety of winter wheat and seven ways of seed protection. Researching shown that the way of seed protection was factor that have significance influence on researched characteristics. Our researching shown that among the same way of protection hadn't been significance difference among researched variety of wheat in number plants and spike per m², coefficient of productive bushing and grain yield . Number plants per m² arrised from 484 at variety PKB-Christina to 520 at variety Vizija. According to the way of protection per m² arrised from 487 at treatment *Tilletia tritici*+ Sumi 8 to 517 at electronic way of protection. The number of spike per m² arrised from 721 at variety PKB-Christina to 732 at variety Pobeda. According to the researched ways of protection the number of spike is established from 711 at control to the 746 at treatment with *Tilletia tritici*. Coefficient of productive bushes is established was 1,43 at variety Vizija to 1,49 at variety Pobeda. According to the way of seed protection coefficient of productive bushes as established at control 1,44 to treatment *Tilletia tritici* + Sumi 8. 1,50. Yield of grain is established at variety Vizija 7,03t/ha and variety Pobeda 7,69t/ha. According to the way of grain yield protection was 7,19 t/ha and at control was 7,56 t/ha with Dividendom 030 protection.

Key words: wheat, variety, seed, fungicide, yield components, grain yield.

(Received: 14.03.2006.)

(Accepted: 08.08.2007)

Zaštita bilja
Vol. 55 (1-4), No 247-250, 75-86, 2004
Beograd

UDK 534.22-24
Naučni rad

RAZVOJ MIKOPARAZITA STROMA *POLYSTIGMA RUBRUM* SUBSP. *RUBRUM IN-VITRO*

SAŠA STOJANOVIĆ, MIRA STAROVIĆ, ALEKSIĆ GORAN, SVETLANA ŽIVKOVIĆ,
SLOBODAN KUZMANOVIĆ
Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

Uticaj temperature, sunčeve i veštačke svetlosti, pH podloge i raznih podloga na razvoj mikoparazita (*Colletotrichum gloeosporioides*) izolovanog sa stroma *Polystigma rubrum* subsp. *ruberum* ispitivan je *in-vitro*. Optimalna temperatura za porast kolonije mikoparazita je 20-25°, minimalna ispod 5°C i maksimalna 30-35°C. Obilna sporulacija gljive je na temperaturama između 20-30°C. Sunčeva, fluoroscentna i UV svetlost utiču na smanjenje porasta kolonija, ali stimulišu fruktifikaciju gljive. Najbolji porast kolonija i najobilnija fruktifikacija dobivena je pri pH podloge 6-7, mada je obilna sporulacija ostvarena na svim testiranim pH vrednostima podloge. Ispitivane podloge, osim podloge od kukuruznog brašna i podloge od krompira i mrkve, bile su pogodne za razvoj mikoparazita.

Ključne reči: šljiva, plamenjača, *Polystigma rubrum* subsp. *ruberum*, mikoparazit, *Colletotrichum gloeosporioides*, porast, sporulacija

UVOD

Polystigma rubrum subsp. *ruberum* je od velikog ekonomskog značaja u Srbiji i Bugarskoj, gde se uglavnom gaje sorte osetljive prema ovom patogenu šljive (Yossifovich, 1937). Mikoparazit stroma je prvo bitno opisan kao *Gloeosporium polystigmicolum* Bondar., a kasnije je svrstana kao jedan od brojnih sinonima za vrstu *Colletotrichum gloeosporioides* Sacc. (Arx, 1957). Ova gljiva je kao mikoparazit prisutna na Balkanu i u nekim delovima Istočne i Srednje Evrope (Trifonova, 1934, Stojanović i Kostić, 1956, Lehoczky, 1957, Beserescu et al., 1959).

Biologija i ekologija mikoparazita već je proučena kod nas (Stojanović, 1997, Stojanović et al., 1999). Kao dopunu proučavanju ovog mikoparazita u ovom radu dati su rezultati istraživanja uticaja faktora spoljne sredine na razvoj *C. gloeosporioides in vitro*.

MATERIJAL I METODE

Izolacija mikoparazita. Parazitirane stromate sa lista šljive sorte požegača, prikupljene u više lokaliteta, isprane su česmenskom vodom u toku 2 sata, površinski sterilisane u 0,5% NaOCl tokom 30 sec, i dva puta isprane sterilnom destilovanom vodom. Ovako dezinfikovane stromate su postavljene u Petri kutije sa navlaženim filter papirom i inkubirane 24 h u laboratorijskim uslovima. Masa konidija mikoparazita izbačena iz acervula je prihvatana sterilnom iglom i razblažena u sterilnoj destilovanoj vodi, tako da je dobivena suspenzija koncentracije oko 10^4 konidija/ml. Kapi od 0,1 ml suspenzije razlivane su na vodenim agar (VA). Nakon 12 h inkubacije pri 20°C , pojedinačne iskljijale konidije prebacivane su na krompir dekdsroznu podlogu (KDA). Kulture su inkubirane 7 dana na 25°C i čuvane na 5°C do upotrebe. Od brojnih dobivenih izolata, za ova istraživanja odabrana su tri porekлом iz okoline Valjeva, Čačka i Ljubovije, koji su obeleženi kao Cg-4, Cg-17 i Cg-24.

Porast i sporulacija mikoparazita. Petri kutije su zasejavane delovima micelije od svakog izolata prečnika tri mm uzetih sa kolonija starih 7-10 dana gajenih na KDA. Zasejane podloge držane su jedan dan na 25°C , pre nego što su podvrgnute uticaju spoljnih faktora. Broj konidija po ml suspenzije određen je pomoću hemocitometra, pri čemu je posmatrano svih 16 polja. Suspenzija konidija je dobivena prelivanjem pet ml sterilne destilovane vode preko površine kolonija uz blago grebanje sa sterilnim staklenim štapićem. Nivo sporulacije je određivan po skali Quesada and Lopez (1980). Iskazani podaci predstavljaju srednje vrednosti dva ponovljena ogleda.

Uticaj temperature. Porast i sporulacija izolata mikoparazita proučavana je na KDA u mraku pri temperaturama od 5°C do 35°C , sa intervalom 5°C . Prečnik obrazovanih kolonija meren je devet dana od zasejavanja.

Uticaj svetlosti. Ispitivan je uticaj sunčeve i veštačke svetlosti. Izvori veštačke svetlosti bile su tri fluorescentne cevi (Osram, Nemačka) od po 40 W. U odvojenom ogledu korišćene su dve UV lampe od 366 nm (Desaga, Heidelberg, Germany). Lampe su bile postavljene 50 cm iznad kultura isolata Cg-4 na KDA u plastičnim Petri posudama. Kulture su izlagane uticaju veštačke svetlosti tokom

11 dana po 4, 8, 12, 16, 20 i 24 h dnevno pri sobnoj temperaturi. Takođe, kulture istog izolata izlagane su uticaju direktnе sunčeve svetlosti tokom šest dana po 4, 6 i 8 h dnevno. Ovi ogledi su obavljeni u proleće kada je spoljna temperatura vazduha iznosila između 20-25°C. Kulture gajene u mraku služile su kao kontrola.

Uticaj pH podloge. Po tri izolata su gajeni na Richard-ovoј podlozi sa dodatkom 20 g agar-a, koja je podešena do pH 5-9 sa 0,1N HCl nakon sterilizacije. Ista podlo-ga bez dodavanja agar-a podešena na pH 4-9 je korišćena za ispitivanje težine suve mase. Mikoparazit je gajen u Erlenmajer kolbama zapremine 250 ml u kojima je dodano 40 ml tečne podloge. Nakon 13 dana miceljska masa je otstranjena, isprana destilovanom vodom, prosušena tokom 24 h pri temperaturi 75-80°C a zatim merena. Za svaku varijantu različite pH vrednosti korišćeno je po tri Erlenmajer kolbe. Vrednosti pH obe podloge podešavane su nakon sterilizacije pomoću 0,5N NaOH ili 0,5N HCl i proveravane pH-metrom (TOA Electronics, Japan). Zasejane kulture na tečnoj i čvrstoј podlozi u inkubirane je u tami pri 25°C tokom 11 dana.

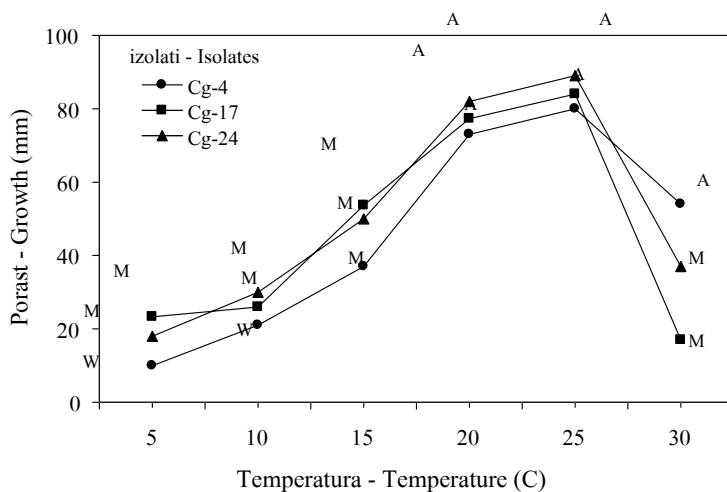
Uticaj raznih podloga. Razvoj mikoparazita ispitivan je na krompir dekstroznoj podlozi sa agarom (KDA), podlozi od krompira i mrkve sa agarom (KMA) (Onion and Smith, 1983), podlozi od soka mrkve sa agarom (MJA) (Baxter and Fagan, 1974), podlozi od kukuruznog brašna (KBA) (Manandhar et al., 1986), podlozi od slada (SA) i Čapekovoј podlozi (ČA) (Baxter et al., 1983). Kulture su inkubirane pet dana u tami na 20°C, a zatim šest dana na pod laboratorijskim uslovima.

REZULTATI

Temperatura. Mikoparazit se razvija u širokom temperaturnom intervalu. Minimalna temperatura za njegov porast je ispod 5°C, maksimalna između 30-35°C. Svi ispitivani izolati imali su dobar porast na temperaturama od 15°C do 25°C. Optimalna temperatura za porast kolonija je 25°C za izolate Cg-4 and Cg-17, odnosno 20-25°C za izolat Cg-25 (Sl. 1). Nema porasta mikoparazita na 35°C. Značajne razlike u pogledu nivoa porasta ispoljile su se između izolata na pojedinim temperaturama. Prosečni porast izolata Cg-4 je značajno niži u odnosu na ostala dva izolata na 5°, 10° i 15°C, ali je bio viši na 30°C.

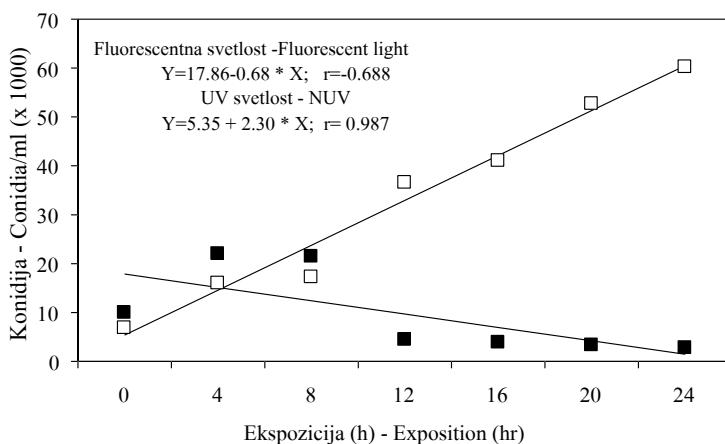
Optimalna temperatura za sporulaciju mikoparazita je ista kao i za porast. Najobilnija sporulacija dobivena je na 20-25°C (Sl. 1). Mala količina konidija je obrazovana kada su kulture gajene pri 5°C.

Svetlost. Svetlost redukuje porast mikoparazita. Direktna sunčeva svetlost redukuje radikalni porast za 40-80% u zavisnosti od dužine ekspozicije u poređenju



Sl. 1 – Porast i sporulacija kolonija tri izolata mikoparazita na raznim temperaturama.
(sporulacija: A=oblina, M=srednja, W=slaba).

Colony growth and sporulation of three mycoparasite isolates affected by temperature (sporulation: A=abundant, M=medium, W=weak).



Sl. 2 – Uticaj fluorescentne (-■-) i UV (-□-) svetlosti na sporulaciju *C.gloeosporioides*
Effect of fluorescent (-■-) and NUV (-□-) light on sporulation of
C.gloeosporioides (isolate Cg-4).

sa kontrolnim kulturama gajenim u mraku (Tab. 1). Slična inhibicija porasta pojavljuje se pri izlaganju kultura uticaju veštačke svetlosti. Prosečan radialni porast kolonija koje su izlagane uticaju fluorescentne svetlosti tokom 4, 8, 12, 16, 20 i 24 h dnevno je 64.5, 58.5, 58.0, 52.25, 50.0 i 46.0 mm, dok je u kontroli iznosio 66.25 mm, odnosno porast je bio redukovani za 2.64-30.57%. Značajna inhibicija porasta pod uticajem fluorescentne svetlosti bila je uočljiva već nakon osmočasovne ekspozicije. Porast kolonija izloženih delovanju UV svetlosti je niži u poređenju sa kontrolom, ali dužina ekspozicije nije imala značajnijeg uticaja (Tab. 2).

Tab. 1 – Uticaj direktnе sunčeve svetlosti na porast i sporulaciju

C.gloeosporioides

Effect of direct sunlight on radial colony growth and sporulation of
C.gloeosporioides

Ekspozicija (h) Exposition (hr)	Porast kolonija (mm) Colony growth (mm) ¹	Smanjenje porasta (%) Growth depressed (%) ²	Sporulacija Sporulation ³
4	25.0 b ⁴	39.8	+++
6	18.0 bc	56.6	++
8	8.0 c	80.8	+
Kontrola– Control ⁵	41.5 a	-	-

¹ Izolat Cg-4 gajan je na KDA jedan dan na 25°C u mraku, a zatim izlagani 4, 6, and 8 h/dan uticaju direktnе sunčeve svetlosti tokom šest dana. – Isolate Cg-4 were grown on PDA one day at 25°C in dark, and then exposed to the direct sunlight 4, 6, and 8 hr/day for 6 days.

² Smenjenje porasta kultura u odnosu na kontrolu (kontrola = 100%) – Colony growth depressed comparing with control (control = 100%).

³ Sporulacija (Quesada et Lopez, 1980): + = slaba (< 5 x 10³ conidija/ml), ++ = srednja (5 x 10³–10⁴ conidija/ml) i +++ = obilna (>10⁴ conidija/ml) – Sporulation (Quesada and Lopez, 1980): + = weak (< 5 x 10³ conidia/ml), ++ = medium (5 x 10³–10⁴ conidia/ml), and +++ = abundance (>10⁴ conidia/ml)

⁴ U svakoj koloni, srednje vrednosti obeležene istim slovom nisu značajno različite ($P=0.05$) na osnovu Duncan-ovog testa. – Within each columns, means followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) according to Duncan's multiple range test.

⁵ Kontrolne kulture gajene u mraku pri sobnoj temperaturi. – Control cultures grown in dark at ambient temperature

Sunčeva i veštačka svetlost stimulišu sporulaciju mikoparazita. Obilje konidija se obrazuje kada su kolonije izlagane direktnoj sunčevoj svetlosti tokom 4 h, ali sa dužinom fotoperioda sporulacija se smanjuje (Tab. 2). Optimalni fotoperiod za sporulaciju mikoparazita pri fluorescentnoj svetlosti je 8 h. Duži fotoperiodi rezultiraju u rapidnom smanjenju sporulacije. Nasuprot tome, pod UV svetlošću formiranje konidija je bilo najobilnije pri dužim ekspozicijama (Sl. 2).

Tab. 2 – Utica veštačke svetlosti na radijalni porast kolonija *C.gloeosporioides*
Effect of artificial light on radial colony growth of *C.gloeosporioides*

Ekspozicija (h) Exposition (hr)	Fluorescentna svetlost Fluorescent light ¹		Ultra ljubičasta svetlost NUV light ²	
	Porast kolonija Colony growth (mm) ³	Smanjenje porasta Growth depressed (%) ⁴	Porast kolonija Colony growth (mm)	Smanjenje porasta Growth depressed (%)
4	64.5 a ⁵	2.6	63.2 b	12.5
8	58.5 b	11.7	63.0 b	12.8
12	58.0 b	12.4	62.2 b	13.8
16	52.2 c	21.1	62.2 b	13.8
20	40.0 c	24.5	62.2 b	13.8
24	46.0 d	30.6	61.0 b	15.6
Kontrola- Control ⁶	66.2 a	-	72.2 a	-

¹ Izvor fluorescentne svetlosti = tri fluorescentne cevi od 40 W koje daju dnevnu svetlost (Osram, Germany) postavljene 50 cm iznad kultura – Fluorescent light source = three 40 W daylight fluorescent tubes (Osram, Germany) placed 50 cm above the cultures

² Izvor ultra ljubičaste svetlosti = dve UV lampe (Deasaga, Germany) koje daju dnevnu svetlost talasne dužine 366 nm postavljene 50 cm iznad kultura. – Near ultra violet light source = two near-UV lamps (Deasaga, Germany) of 366 nm placed 50 cm above the cultures.

³ Izolat Cg-4 gajen je na KDA jedan dan na 25°C u mraku, a zatim izlagani 4, 8, 12, 16, 20 i 24 h/dan uticaju veštačke tokom 11 dana na sobnoj temperaturi (podaci predstavljaju srednje vrednosti od četiri ponavljanja po tretmanu). – Isolate Cg-4 were grown on PDA one day at 25°C in dark, and then exposed to artificial light 4, 8, 12, 16, 20, and 24 hr/day for 11 days at room temperature (data represent average values of four replicates).

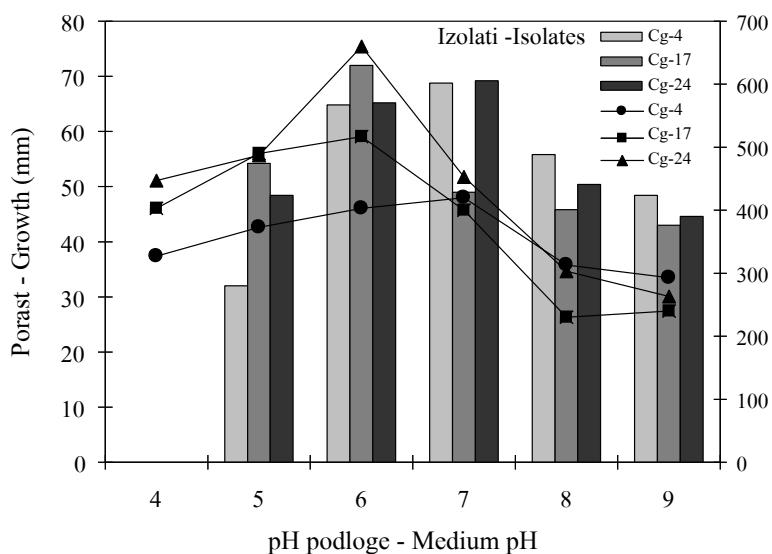
⁴ Smanjenje porasta kultura u odnosu na kontrolu (kontrola = 100%) – Colony growth depressed comparing with control (control = 100%).

⁵ U svakoj koloni, srednje vrednosti obeležene istim slovom nisu značajno različite ($P=0.05$) na osnovu Duncan-ovog testa. – Within each columns, means followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) according to Duncan's multiple range test.

⁶ Kontrolne kulture gajene u mraku pri sobnoj temperaturi. – Control cultures grown in dark at ambient temperature

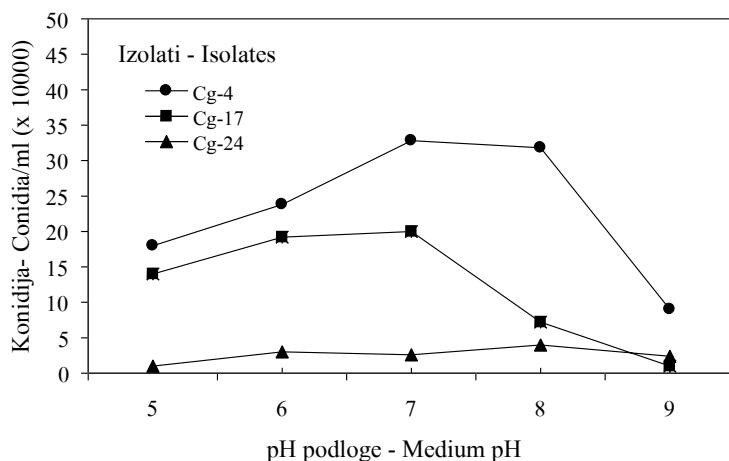
pH podloge. Izolati mikoparazita rastu na svim testiranim pH vrednostima podloge. Optimalna pH bila je između 6-7, 6, i 7 za izolate Cg-4, Cg-17 i Cg-24 (Sl. 3). Porast je bio značajno redukovani na pH preko 7 i ispod 6. Težina suve mase micelige najveća na pH od 4 do 7 za izolate Cg-4 i Cg-17, i na pH 7 za izolat Cg-24.

Sporulacija mikoparazita je bila obilna pri svim pH vrednostima, ali je broj obrazovanih konidija bio najveći pri pH 6-7 i 5-7 za izolate Cg-17 i Cg-24, dok pH podloge nije imao uticaja na sporulaciju izolata Cg-4 (Sl. 4).



Sl. 3 – Uticaj pH podloge na radijalni porast kolonija i težinu suvu mase micelije tri izolata mikoparazita.

Effect of pH of medium on colony radial growth and mycelial dry mass weight of three mycoparasite isolates.



Sl. 4 – Sporulacija tri izolata mikoparazita pri raznim pH podloge.

Sporulation of three mycoparasite isolates at different medium pH.

Podloga. Sve podloge, osim KBA i KMA, su bile pogodne za razvoj mikoparazita (Tab.3). Nakon 11 dana porasta pri 20°C kolonije sva tri izolata mikoparazita slični su jedan drugom, njihov prečnik dostizao je u proseku od 34 mm (na KMA) do 67.5 mm (na ČA). Izolati Cg-4 i Cg-17 najbolje rastu na PDA, dok izolat Cg-24 podjednako je dobro rastao na CJA i CA. Postojale su izvesne razlike u nivou porasta između izolata na svim podlogama, osim na SMA.

Sporulacija je zavisila od korišćene podloge (Tab. 3). Podjednako dobri rezultati su dobijeni kada su kolonije gajene na ČA, SA i KMA. Krompir dekstrozna i podloga od krompira i mrkve su manje pogodne za sporulaciju mikoparazita.

Tab. 3 – Porast i sporulacija tri izolata mikoparazita gajeni na raznim hranljivim podlogama

Radial growth and sporulation of three mycoparasite isolates grown on different media

Podloga Medium ¹	Porast kolonija – Colony growth (mm) ²			Sporulacija – Sporulation ³		
	Cg-4	Cg-17	Cg-24	Cg-4	Cg-17	Cg-24
KDA-PDA	65.5 a ⁴	62.5 a	54.5 ab	++	++	++
KMA-PCA	56.5 bc	34.0 c	64.5 a	+	+	+
SMA-CJA	62.5 ab	59.0 ab	63.5 a	+++	+++	+++
KBA-CMA	57.5 bc	57.5 ab	63.5 a	+	+	+
SA-MA	60.5 b	51.0 b	63.5 a	+++	+++	+++
ČA-CA	60.0 b	54.5 ab	67.5 a	+++	+++	+++

¹ KDA = podloga od krompira i dekstroze – PDA = potato dextrose agar; KMA = podloga od krompira i mrkve – PCA = potato carrot agar (Onion and Smith, 1983); SMA = podloga od soka mrkve – CJA = carrot juice agar (Baxter and Fagan, 1974); KBA = podloga od kukuruznog brašna – CMA = corn meal agar (Manandhar et al., 1986); SA = podloga od slada – MA = malt agar; ČA = Čapekova podloga – CA = Czapek's agar (Baxter et al., 1983).

² Porast kolonija meren nakon pet dana inkubiranja pri 20°C u mraku.– Radial colony growth measured five days after incubation at 20°C in dark

³ Sporulacija određena nakon šest dana inkubiranja kultura pod laboratorijskim uslovima, koje su predhodnih pet dana gajene u mraku, po skali Quesada et Lopez (1980): + = slaba sporulacija ($< 5 \times 10^3$ conidija/ml), ++ = srednja (5×10^3 – 10^4 conidija/ml) i +++ = obilna sporulacija ($> 10^4$ conidija/ml) – Sporulation determined after 11 days (cultures grown five days in dark and then six days at laboratory condition) accordin to scale of Quesada and Lopez (1980): + = weak sporulation ($< 5 \times 10^3$ conidia/ml), ++ = medium (5×10^3 – 10^4 conidia/ml), and +++ = abundance sporulation ($> 10^4$ conidia/ml)

⁴ U svakoj koloni, srednje vrednosti obeležene istim slovom nisu značajno različite ($P=0.05$) na osnovu Duncan-ovog testa. – Within each columns, means followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) according to Duncan's multiple range test.

Tokom ovih eksprimenata primećene su izvesne promene u karakteristikama micelije kolonija pod uticajem spoljnih faktora. Tako, pri temperaturama preko

20°C, sivkasta ne zonirana micelija postaje zonirana, tamno siva, maslinasto siva ili sivkasto mrka. Kada su kolonije bile izlagane sunčevoj svetlosti tokom četiri časa dnevno došlo je do formiranja brojnih, crnih, rasutih ili koncentrično raspoređenih acervula u centralnom delu kolonija. Pri veštačkoj svetlosti formiraju se koncentrični prstenovi, koji sa produžavanjem perioda ekspozicije postaju tamniji, sa jasnom razlikom između centralnog i perifernog dela kolonija. Pod uticajem NUV svetlosti centralni delo kolonija postaje tamno obojen, skoro crn. Pri višim vrednostima pH podloge kolonije, takođe, postaju zonirane sa smenom prstenova svetlo i tamno maslinasto sive boje.

DISKUSIJA

Temperaturne potrebe za razvoj mikoparazita bile su skoro iste kao kod *C.gloeopsorioides* izolovane sa drugih domaćina (Stretch and Cappellini, 1963; Wastie, 1972; Hartung et al., 1981; Ivanović and Ivanović, 1992). Mnogo veći porast mikoparazita pri temperaturama između 20-25°C, kao i visoki procenat klijanja konidija na ovim temperaturama (Stojanović et al., 1999), dokazuju činjenicu da je jaka pojava mikoparazita uslovljena povišenim temperaturama tokom proleća (Trifonova, 1934; Stojanović, 1997). Nema razvoja mikoparazita na temperaturi od 35°C. Ova je temperatura takođe nepovoljna za klijanje konidija mikoparazita (Stojanović et al., 1999). Isto tako, ovo može biti razlog niske pojave mikoparazita koje se javlja tokom dužeg sušnog perioda praćen ekstremno visokim temeperaturama tokom leta (Stojanović, 1997).

Svetlost je najvažniji faktor za značajno izazivanje sporulacije mikoparazita. Sunčeva i veštačka svetlost redukuju porast kolonija mikoparazita, ali stimulišu formiranje konidija mikoparazata. Sporulacija *C.gloeosporioides* izolovanog sa kamelije je bio takođe stimulisan svetlošću (Brown and Baxter, 1968; Miller and Baxter, 1970; Baxter and Fagan, 1974).

Kolonije mikoparazita rastu u širokom intervalu pH podloge. Optimalni porast je ostvaren (dobiven) pri rasponu pH 6-7, a prirast težine suve mase pri pH od 4 do 7. Izolati poreklom sa višnje najbolje rastu pri pH 5-8 (Ivanović and Ivanović, 1992), sa manga pri pH 6 (Quesada and Lopez, 1080), a sa kamelije pri pH 5,5 (Miller and Baxter, 1970). Pri svim pH mikoparazit obilno sporuliše, ali je broj konidija po ml suspenzije bio najveći na pH 6-7. Miller and Baxter (1970) su ustanovili da sporulacija izolata poreklom sa kamelije na podlozi od krompira i mrkve opada sa porastom pH podloge iznad 6 ili smanjenjem pH ispod 5.

Sve podloge, osim KBA i KMA, bile su pogodne za porast mikoparazita. Najbolja sporulacija je dobivena na podlogama SMA, SA i ČA. Podloga od kukuruznog brašna (KBA) je manje pogodna i za porast izolata sa kamelije (Baxter

and Faga, 1974). Porast izolata sa borovnice, jabuke i kamelije je bio najbolji na KDA (Streach and Cappellini, 1963). Miller and Baxter (1970) su ustanovili da sporulacija izolata sa kamelije bila najbolja na SMA pri svetlosti i na podlozi od ovsenog brašna u tami.

LITERATURA

- Arx J. A. von (1957): Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. *Phytopathologische Z.*, 29 (4): 413-468.
- Baxter L. W. Jr. and Fagan S.G. (1974): A simplified method of inducing asexual sporulation in *Glomerella cingulata*. *Plant Dis. Repr.*, 58:300-303.
- Baxter Alice P., Van der Westhuizen G. C. A. and Eicker A. (1983): Morphology and taxonomy of South African isolates of *Colletotrichum*. *South African Journal of Botany*, 2: 250-289.
- Beserescu D., Ducur Elena, Lazar I. and Vasilev L. (1959): Cercetari asupra agentilor patogeni care producă ciuruirea frunzelor la simburoase. *Comun. Acad. Rep. pop. Rom.*, 9:253-258.
- Brown S. and Baxter L. W. Jr. (1968): Some factors influencing conidial production of *Glomerella cingulata* pathogenic to camellias (Abstr.). *Phytopathology*, 58: 726.
- Hartung J. S., Burton C. L. and Ramsdell D. C. (1981): Epidemiological aspects of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology*, 71: 449-453.
- Ivanović M. i Ivanović Dragica (1992): Proučavanje *Colletotrichum gloeosporioides*, prouzročavača antraknose višnje i efikasnost nekif fungicida "in vitro". *Zaštita bilja*, vol. 43, No 201: 211-218.
- Lehoczky J. (1957): Néhány gazdaságilag jelentős parazita mikrogamba hazai előfordulása. I. Kertsz. Szlsz (*Annale Academiae Horticulture et Viticulture*), 21:3-14.
- Miler L. W. and Baxter S. C. Jr. (1970): Some factors influencing asexual sporulation in a strain of *Glomerella cingulata* pathogenic to camellias. *Phytopathology*, 60:743-744.
- Quesada G. L. and Lopez H. E. (1980): Forma sexual y medios de cultivo para *Colletotrichum gloeosporioides*, patógeno del mango en Cuba. *Ciencias de la Agricultura*, 7:11-17.
- Smith D. and Onions Agnes H. S. (1983): Preservation and maintenance of living fungi. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.
- Stojanović D. i Kostić B. (1956) Parazitiranost stroma *Polystigma rubrum* sa *Gloeosporium polystigmicum* u 1955. godini. *Zaštita bilja*, No 37: 91-92.
- Stojanović S. (1997): Pojava mikoparazita *Colletotrichum gloeosporioides* i njegov uticaj na razvoj *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum*. *Zaštita bilja*, vol. 48, No 221: 189-202.

- Stojanovic S., Starovic Mira and Matijevic D. (1999): Factors affecting conidial germination of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum* stromata. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 34:65-75.
- Stretch A. W. and Cappellini R. A. (1963): Effect of various factors on the growth and sporulation of *Glomerella cingulata*. *Phytopathology* (abstract), 53: 352.
- Trifonova Vera (1934): Die Rotfleckenkrankheit def Pflaume *Polystigma rubrum* (Pers.) D.C. *Phytopathologische Zeitschrift*, 7:73-92.
- Wastie R. L. (1972): Secondary leaf fall of *Havea brasiliensis* factors affecting the production, germination and viability of spores of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Annales of Applied Biology*, 72:273-282.
- Yossifovich M. (1937): Contribution a l'étude de la protection du prunier contre *Polystigma rubrum* (Pers.) D.C. *Revue de pathologie végétale et d'entomologie agricole de France*, tome XXIV, 18-31.

(Primljeno: 14.06.2007.)
(Prihvaćeno: 08.08.2007)

DEVELOPMENT OF *POLYSTIGMA RUBRUM* SUBSP. *RUBRUM* STROMATA MYCOPARASITE *IN-VITRO*

SASA STOJANOVIC, MIRA STAROVIC, ALEKSIĆ GORAN, SVETLANA ŽIVKOVIĆ,
SLOBODAN KUZMANOVIĆ

Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

Summary

The effects of temperature, sun- and artificial light, pH-value and different media on development of *Colletotrichum gloeosporioides*, isolated from stromata of *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum*, were studied *in-vitro*. Colonies of mycoparasite grew in wide range of temperature at the minimum beneath 5°C and maximum at 30-35°C. Abundant sporulation was at 20-30°C. Sun light, as well as fluorescent and near-UV light, decreased colony growth, but stimulated sporulation. The best colony growth and more abundant sporulation were obtained at pH 6-7, although there was abundant sporulation on all medium pH tested. The most media were suitable for mycoparasite development, except corn meal agar (CMA) and potato carrot agar (PCA).

Key words: Plum, red blotch, *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum*, mycoparasite, *Colletotrichum gloeosporioides*, growth, sporulation

(Received: 14.06.2007)

(Accepted: 08.08.2007)

Plant Protection: Vol. 55 (1-4), No 247-250, 75-86, 2004, Belgrade

Zaštita bilja
Vol. 55 (1-4), No 247-250, 87-96, 2004
Beograd

UDK 634-235
Naučni rad

**CHAENOMELES JAPONICA AND COTONEASTER HORIZONTALIS
NEW HOSTS OF *ERWINIA AMYLOVORA* IN SERBIA**

JELICA BALAŽ, ALEKSANDRA SMILJANIĆ
Department for Environmental and Plant Protection,
Faculty of Agriculture, University of Novi Sad,
Trg Dositeja Obradovica 8, Serbia
E-mail: balazjel@polj.ns.ac.yu

Erwinia amylovora was registered on two ornamental plants – *Chaenomeles japonica* and *Cotoneaster horizontalis* for the first time in Serbia in 2000. Both species were grown nearby of the apple orchards in which fireblight severity was epiphytic because of high temperatures during flowering period of apple.

Key words: *Erwinia amylovora*, hosts, *Chaenomeles japonica*, *Cotoneaster horizontalis*, antibiotics

INTRODUCTION

For more than one decade bacterial Fire Blight (*Erwinia amylovora*) has spreaded through out the territory of Serbia. This quarantine pathogen was initially established on pear, quince and apple in 1990. Next year it was found on medlar (*Mespilus germanica*) and hawthorn (*Crataegus* sp.) (Panić and Arsenijević, 1996). Later on, Fire Blight occurred on ornamental plants: on fire thorn in 1997 (*Pyracantha coccinea*) (Gavrilovic and Arsenijevic, 1998), and on *Chaenomeles japonica* and *Cotoneaster horizontalis* in 2000 (Balaž Jelica, 2000; Balaž Jelica et al., 2004).

The most endangered species are quince and pear trees in Serbia. The apple trees were highly infected only in some years, such was 2000 when appearence of Fire Blight had been epiphytic. The outbreak occurrence on apple blossoms was favored by high temperatures during flowering period. Due to the high infectious

pressure of pathogen in that year, Fire Blight was occurred for the first time on ornamental plants *C. japonica* and *C. horisontalis* located nearby the infected apple plantations in Vojvodina District.

C. horisontalis and *C. japonica* are already known as the hosts of *E. amylovora* (Van der Zwet and Keil, 1979; Panić i Arsenijević, 1996; Nemeth, 1998; van der Zwet and Beer, 1999; Momol and Aldwinckle, 2000). According to van der Zwet and Keil (1979), *C. japonica* could be infected only by artificial inoculations, while Hartman and Hershman (1996) considered it as less commonly host among different spontaneous and ornamental plants. There is a great similarity between symptoms of fireblight and blossom blight and twig dieback caused by *Monilinia*, which was pointed out by Mulrooney (1999).

MATERIALS AND METHODS

The samples of diseased *C. japonica* and *C. horisontalis* plants were collected in the few localities in Vojvodina. Isolations of pathogen from tissue close to dried blossoms on diseased branches of both hosts were made on nutrient sucrose agar (NSA). Of many strains obtained, the following were selected for detailed investigation: 8/1, 8/2, 8/3 and 8/4 (from *C. japonica*) and Kot I/1, Kot I/2, Kot 1 and Kot 2 (from *C. horisontalis*). Referent strain of *E. amylovora* (NCPB 595) and our strain JK, isolated from apple in Vojvodina were also included. The pathogenicity of strains was confirmed by inoculations of *C. japonica* and *C. horisontalis* shoots, immature fruits of *Pyrus communis* and *Prunus cerasifera*, as well as tobacco leaves for HR in laboratory conditions. Young 15 cm long shoots were placed in bottles with water and several drops of bacterial suspension were inserted in wounds made by scalpel. Inoculated shoots were incubated in humid chamber for 48 hr at laboratory ambient temperature. Wounds of immature pear and *P. cerasifera* fruits were made by needle (Lelliott and Stead, 1987) and tobacco leaves by medical needle (Klement, 1963).

Morphological, cultural, biochemical and physiological characteristics of pathogen were also studied (Lelliott and Stead, 1987; Schaad, 1980; Schaad et al., 2001). Identification was performed by indirect ELISA test using polyclonal antibodies of *E. amylovora* prepared from our strain JK and referent strain NCPB 595 (Dulić-Marković et al., 1999).

Agar plates diffusion method (Jarak Mirjana i Đurić Simonida, 2004) was used for studying sensitivity of bacterial strains to different antibiotics (amykacin, eritromycin, vankomycin, neomycin, streptomycin, nitrofurantion i kanamycin obtained from Company "Torlak", Belgrade). The antibacterial effect of antibiotics was evaluated by measuring the diameter of inhibition zones after 18 to 24 hr.

RESULTS

Symptoms on diseased *C. japonica* and *C. horisontalis* in Serbia during the summer of 2000 were typical for fireblight. Infected blossoms necroted and turned brown as well as the petals of diseased blossoms. Leaflets close to infected blossoms dried and fell down. Leafless branches also necroted and dried (Fig. 1 and 2). The disease severity increased on infected shrubs during the summer.



Fig. 1 – *Chaenomeles japonica*. Natural infection followed by blossoms necrosis and twigs leafless (Orig.).

Chaenomeles japonica. Prirodna infekcija praćena sušenjem cvetova i ogoljavanjem grančica (Orig.).



Fig. 2 – *Cotoneaster horizontalis*. Natural infection followed by leaves and twigs fireblight (Orig.).

Cotoneaster horizontalis. Prirodna infekcija praćena sušenjem lišća i grana (Orig.).

Artificial inoculations of *C. japonica* and *C. horisontalis* young shoots of, immature pear and *P. cerasifera* fruits and tobacco leaves proved the pathogenicity of investigated strains. The first symptoms on young shoots as dark-brown, elliptical spots 1-2 cm in diameter were observed 4-5 days after inoculations. The spots enlarged and spreaded to base of leaves (Fig.3). Inoculated shoots were necrotic with bended tips after 10-12 days (Fig.4). Dark green to brown spots mainly with bacterial ooze were formed on immature *P.cerasifera* (Fig. 5) and pear fruits (Fig. 6) 3-4 days after inoculation. All strains caused hypersensitive reaction in tobacco leaves after 24 hr.



Fig. 3 – *Chaenomeles japonica*.

Fusioned dark spots on inoculated young shot and its necrosis spreaded up to leaflets base (Orig.).

Chaenomeles japonica.

Spojene tamne pege na inokulisanom izbojku i njegova nekroza proširena do osnove listića (Orig.).

Fig. 4 – *Chaenomeles japonica*.

Necrosis and tip bending of inoculated young shoot (Orig.).
Chaenomeles japonica. Nekroza i povijanje vrha inokulisanog izbojka (Orig.).

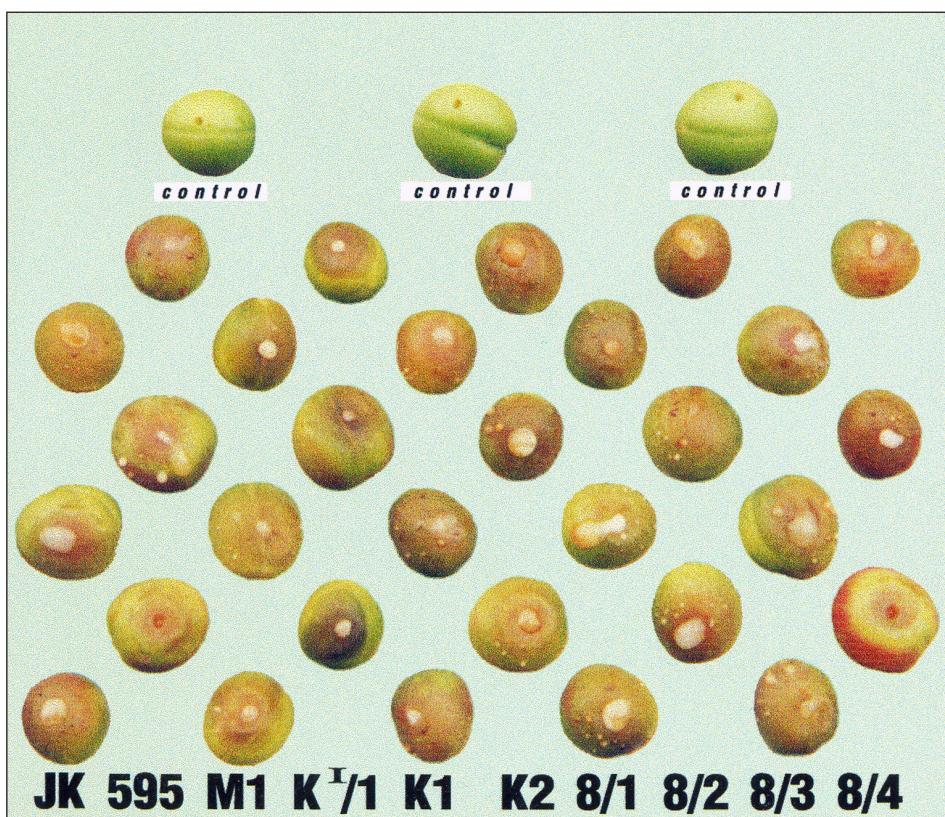


Fig. 5 – The spots and bacterial ooze on inoculated immature fruits of *Prunus cerasifera* (Orig.).

Pege i bakterijski eksudat na inokulisanim nezrelim plodovima *Prunus cerasifera* (Orig.).

Colonies are mucoid and whitish on NSA with no production of fluorescent pigment on King B medim. Bacterium is rod shaped, gram-negative and asporogenous, facultative anaerob (O/F metabolism). Acid production from glucose was slow in anaerobic but fast in aerobic conditions. Catalase is produced, but not oxidase and arginin dehydrolase. Gelatin liquefaction was positive. Production of H₂S and indol, reduction of nitrate, digestion of protein (agar plate test), and hydrolysis of starch and urease were negative.

Indirect ELISA results showed *C. japonica* and *C. horizontalis* strains to be serologically identical to the referent NCPPB 595 and our JK *E. amylovora* strains, which were used for preparation of polyclonal bacterial antibodies.



Fig. 6 – The spots with bacterial ooze on pear immature fruits inoculated with strains Kot I/1 and 8/2 (Orig.).

Pege sa bakterijskim eksudatom na nezrelim plodovima kruške inokulisanih izolatima Kot I/1 i 8/2 (Orig.).

All strains performed uniform reaction to antibiotics and were sensitive to amykacin, eritromycin, neomycin, streptomycin, nitrofurantion and kanamycin and resistant to vancomycin. The diameters of inhibition zones formed by

nitrofurantion, kanamycin and amykacin, and streptomycin and eritromycin were 30-35 mm and 25-30 mm, respectively.

DISCUSSION

Bacterial fireblight is very serious problem in Serbia. Few years after its first recording on apple, pear and quince in Serbia (Arsenijević, 1990), the causer agent (*E.amylovora*) was isolated from spontaneous and ornamental plants: – *Pyracantha coccinea* (Gavrilovic and Arsenijevic, 1998), *C. japonica* and *C. horisontalis* (Balaž Jelica, 2000; Balaž Jelica et al., 2004). The disease occurrence on *C. japonica* and *C. horisontalis* in 2000 was favored by high temperatures during flowering period of apple in the nearby oarches.

Morphological, cultural, biochemical, physiological and serological characteristics and sensitivity to antibiotics showed that our strains obtained from *C. japonica* and *C. horisontalis* were identical to referent NCPPB 595 and JK strains from apple. Bacteriological characteristics of our strains were in accordance to the results of other researches who studied numerous *E. amylovora* strains of pomaceous fruits from different geographic area of Europe and USA. Further investigations on molecular level or by enrichment serological methods, would perhaps show some differences between strains.

All our strains were sensitive to aplied antibiotics except to vancomycin. Morgan and Goodman (1955) found aureomycin, neomycin, streptomycin, polymyxin, streptotrichin, viomycin and chloromycetin to be effective to *E.amylovora* in laboratory conditions. Penicillin didn't inhibite growth of *E.amylovora* *in vitro* according to Billing et al. (1961). On the other hand, Rudolph (1946) found penicillin to inhibit pathogen *in vitro*, but its control of Fire blight failed in the field experiments. Martinec and Kocur (1964) found that all 49 tested strains of *E.amylovora* were sensitive to chloramphenicol, erytromycin, neomycin, streptomycin and teracycline, while 24 were sensitive to chlorotetracycline.

Although many antibiotics inhibit growth of *E.amylovora* *in vitro*, only a few have practical value for the field application (mainly streptomycin and sporadicly oxytetracycline and kasugamycin were used).

REFERENCES

- Arsenijević M. (1990): Identifikacija *Erwinia amylovora*. Savezni sekretarijat za poljoprivredu, Beograd, Obaveštenje br. 3 od 07.08.1990.
- Balaž Jelica (1998): Status of *Erwinia amylovora* in Yugoslavia: Distribution, identification and Control. Acta Horticulture, No. 489: 99-103.
- Balaž Jelica (2000): Epifitotična pojava bakteriozne plamenjače na jabuci. Biljni lekar, br. 4: 272-275.
- Balaž Jelica, Knežević Tatjana, Smiljanić Aleksandra, Stojšin Vera (2004): *Chaenomeles japonica* and *Cotoneaster horizontalis*, new hosts of *Erwinia amylovora* in Serbia, 10 th International Workshop on Fire Blight, Bologna, Italy, 5-9 July: 22.
- Dulić-Marković Ivana, Ranković M., Jovanović T., Balaž Jelica (1999): Dijagnostika bakterije *Erwinia amylovora* primenom indirektnog ELISA testa. Četvrtog jugoslovensko savetovanje o zaštiti bilja. Zbornik rezimea. Zlatibor, 6-10 decembra: 91.
- Gavrilović V., Arsenijević M. (1998): Vatreni trn – novi domaćin bakterije *Erwinia amylovora* za našu zemlju. Biljni lekar, br. 1, 52-55.
- Jarak M., Đurić S. (2004): Praktikum iz Mikrobiologije. Univerzitet u Novom Sadu, 2004: 146.
- Hartman J, Hershman D. (1996): Fire Blight. University of Kentucky, College of Agriculture. Online Publications (www.ca.uky.edu/agc/pubs/ppa/ppa34/ppa34.pdf)
- Klement Z. (1963): Rapid detection of pathogenicity of phytopathogenic *Pseudomonas*. Nature 199, 299-300.
- Lelliott R.A., Stead D., E. (1987): Methods for the Diagnosis of bacterial Diseases of Plants. Methods in Plant Pathology, Vol.2 (215), British Soc. for Plant Pathology, 216.
- Martinec T., Kocur M. (1964): A taxonomic study of *Erwinia amylovora* (Burill, 1882).
- Momol T., Aldwinckle H.,S. (2000): Genetic Diversity and Host range of *Erwinia amylovora* (in: Fire Blight – The Disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. ed. by J.L.Vanneste), CABI Publishing, 55 – 72 .
- Morgan B.S., Goodman R.N. (1955): *In vitro* sensitivity of plant bacterial pathogens to antibiotics and antibacterial substances. Plant Disease Reporer, 39: 487-490.
- Mulrooney B. (1999): Ornamental Hotline – Blossom Blight. Vol 6, Issue 8.
- Nemeth, J. (1998): Occurrence and spread of Fire Blight (*Erwinia amylovora*) in Hungary (1996-1998). Management of the Disease. Acta Horticulture, No. 489: 177-185.

- Panić M., Arsenijević M. (1996): Bakteriozna plamenjača voćaka i ukrasnih biljaka (403). Monografska studija. Zajednica za voće i povrće D. D. Beograd, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad: 403.
- Rudolph B. A. (1946): Attempts to control fire blight with penicillin. *Phytopathology*, 36:717-725.
- Schaad N. W., Jones J. B., Chun W. (2001): Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (Third Edition) (373), APS Press, 373.
- Van der Zwet T., Keil H. L. (1979): Fire Blight – A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. U. S. Department of Agriculture. Agriculture handbook, 510.
- Van der Zwet T., Beer S. V. (1999): Fire Blight – Its Nature, Prevention, and Control. USDA, 91.
- Winslow et al., 1920. International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy, 14: 5-14.

(Received: 20.06.07.)

(Accepted: 08.08.2007)

CHAENOMELES JAPONICA I COTONEASTER HORIZONTALIS NOVI DOMAĆINI ERWINIA AMYLOVORA U SRBIJI

JELICA BALAŽ, ALEKSANDRA SMILJANIĆ

Departman za zaštitu bilja, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad,
Trg Dositeja Obradovića 8, Srbija, E-mail: balazjel@polj.ns.ac.yu

Rezime

Erwinia amylovora je već više od jedne decenije prisutna na teritoriji bivše Jugoslavije (Arsenijević, 1990; Panić i Arsenijević, 1996; Balaž, 1998). Tokom proteklog perioda pričila je velike ekonomski štete na krušci, dunji i jabuci. Na ukrasnim biljkama pojava bakteriozne plamenjače je zapažena kasnije i to na *Pyracantha coccinea* (1997) i *C. japonica* and *C. horizontalis* (2000), (Gavrilovic and Arsenijevic, 1998; Balaž, 2000; Balaž, 2004).

Na teritoriji Srbije najugroženija vrsta je dunja, zbog kasnog cvetanja i visokih temperatura koje prate period cvetanja ove voćne vrste, na krušci se takođe gotovo redovno javlja, a na jabuci se pojavljuje u jakom intenzitetu uglavnom samo pojedinih godina (kada su visoke temperature prate fazu cvetanja), kakva je bila 2000. Usled jakog pritiska inokuluma koji je poticao sa jabuke, bakteriozna plamenjača (*Erwinia amylovora*) se pojavila i na pomenutim ukrasnim biljkama, koje su gajene u neposrednoj blizini zaraženih plantažnih zasada jabuka.

Izolacije su izvršene na NSA podlogu. Patogenost izolata je dokazana na biljkama domaćinima *Chaenomeles japonica* i *Cotoneaster horizontalis*, zelenim plodovima kruške i *Prunus cerasifera*, kao i pozitivnom HR na listu duvana. Proučene su morfološke, odgajivačke, biohemijsko-fiziološke i serološke osobine izolata. U sva ispitivanja je bio uključen referentni izolat NCPPB 595 i naš izolat JK izolovan sa jabuke. Na osnovu dobijenih rezultata, kao i njihovim upoređenjem sa referntnim izolatima, utvrđeno je da dobijeni izolati bakterije pripadaju vrsti *E. amylovora* i da su *C. japonica* and *C. horizontalis* novi domaćini ove bakterije u Srbiji od 2000. godine.

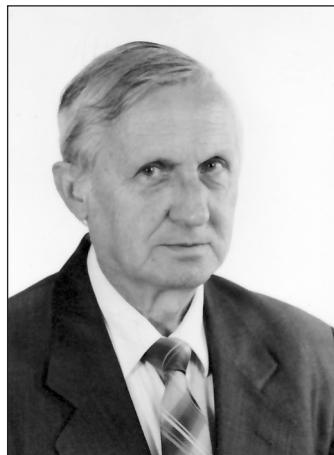
Ispitivani izolati su ispoljili i uniformnu reakciju prema prema antibioticima. Na osnovu prečnika inhibicione zone, izolati su osetljivi prema nitrofurantionu, kanamycinu, amikacinu, streptomicinu i eritromycinu, a rezistentni prema vankomicinu.

Ključne reči: *Erwinia amylovora*, domaćini, *Chaenomeles japonica*, *Cotoneaster horizontalis*, antibiotici

(Primljeno: 20.06.2007.)

(Prihvaćeno: 08.08.2007)

IN MEMORIAM



**Dr ANTON ZABEL
naučni saradnik**

06.02.1939. – 11.09.2002. god. U 64. godini života napustio nas je Dr Anton Zabel, naučni saradnik, koji je ceo svoj radni vek od 39 godina 4 meseca i 8 dana proveo u Institutu za zaštitu bilja i životnu sredinu, ne dočekavši odlazak u penziju i ne ostvarivši pravo da bude izabran u zasluženo zvanje naučni savetnik.

Dr Anton Zabel rođen je u Ljubljani 06.02.1939. godine, koju po okončenju II svetskog rata napušta, i prelazi u Beograd. Gimnaziju je završio 1956. godine u Beogradu a Poljoprivredni fakultet u Zemunu 1962. godine. Za asistenta u oblasti fitofarmacije izabran je 1963. godine u Institutu za zaštitu bilja u Topčideru u kom provodi ceo radni vek. Po završetku magistarskih studija izabran je 1984. godine za istraživača-saradnika, a po odbrani doktorske disertacije, 1992. godine, izabran je za naučnog saradnika.

U toku 1972. godine obavio je višemesecnu specijalizaciju iz oblasti zaštite bilja u Wageningenu (Holandija), a u 1984 godini šestomesecnu specijalizaciju iz oblasti fitofarmacije u Japanu. Tokom radnog veka učestvovao je na 4 međunarodna i 35 nacionalnih naučnih skupova i obavio 5 studijskih putovanja. Objavio je samostalno ili u saradnji sa drugim autorima 67 naučnih i 31 stručnih radova i saopštenja. Govorio je ruski i engleski jezik a služio se francuskim jezikom.

Učestvovao je u realizaciji naučnoistraživačkih projekta iz oblasti zaštite bilja, projekta "Zagađivanje i rekultivacija zemljišta", i više projekta iz oblasti tehnologije.

nološkog razvoja iz kojih su proistekli doktorski i magistarski radovi saradnika Instituta i diplomski radovi studenata Odseka za zaštitu bilja.

U periodu od 20 godina bio je šef Odseka za fitofarmaciju Instituta. Bio je član Saveta i Naučnog veća Instituta u više saziva, član redakcionog odbora časopisa "Zaštita bilja" i urednik iz oblasti fitofarmacije. Bio je član Društva za zaštitu bilja Srbije.

Smrću Dr Antona Zabela struka zaštite bilja izgubila je vrsnog stručnjaka za pesticide, radnici Instituta odanog prijatelja a porodica i rodbina vernog privrženika lepoti življenja i harmoničnim porodičnim odnosima.

Neka mu je večna slava i hvala.

Dr Đorđe Krnjaić