

ZAŠTITA BILJA PLANT PROTECTION



INSTITUT ZA ZAŠTITU BILJA I ŽIVOTNU SREDINU - BEOGRAD
INSTITUTE FOR PLANT PROTECTION AND ENVIRONMENT - BELGRADE

ZAŠTITA BILJA PLANT PROTECTION

Časopis „Zaštita bilja“ izdaje Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd.
„Zaštita bilja“ izlazi godišnje u jednom volumenu od četiri pojedinačna broja.

„Plant Protection“ journal is published by the Institute
for Plant Protection and Environment, Belgrade.
The journal is published annually in one volume containing four issues.

Godišnja pretplata: za privatna lica u Srbiji 2.500,00 dinara, za ustanove i preduzeća u Srbiji, 3.500,00 dinara. Za pojedince u inostranstvu 40 USD, za preduzeća i ustanove u inostranstvu 80 USD.

Subscription – Individuals: 2.500,00 din. per year. Companies, institutions: 3.500,00 din. Per year, in Serbia. Individuals: 40 USD per year. Companies, institutions: 80 USD per year, for abroad.

Svu prepisku i pretplate slati na adresu izdavača sa naznakom (ČASOPIS).

All correspondance and subscription orders should be addressed to publisher (FOR JURNALS).

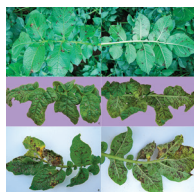
Uredništvo i administracija:
Editorial and Business staff:

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu,
Institute for Plant Protection and Environment,
Teodora Dražera 9, 11040 Beograd – Belgrade
Srbija – Serbia

Post office box 33-79

Telefon: +381 11 2660-049, 2660-049, 2663-672

Fax: +381 11 2669-860



Simptomi prouzrokovani Y-VKr: a i b – lice i naličje lista sorte Agria; b i c – lice i naličje sorte Gala; e i f – lice i naličje sorte Caruso.
Symptoms caused by PVY: a and b – leaf upper side and underside of cv. 'Agria'; b and c – leaf upper side and underside of cv. 'Gala';
e and f – leaf upper side and underside of cv. 'Caruso', respectively. (D. Milosevic)

Glavni i odgovorni urednik – Editor in Chief

Dr Nenad Dolovac, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu

Urednici – Editors

Dr Milana Mitrović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu
Dr Danijela Pavlović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu
Dr Slobodan Kuzmanović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu

Redakcioni odbor – Editorial Board

Prof. dr Radmila Petanović, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet, Beograd
Dr Ivo Toševski, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Dr Tatjana Cvrković, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Dr Milana Mitrović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Dr Sanja Radonjić, Univerzitet Crne Gore – Biotehnički fakultet, Podgorica
Prof. dr. Snježana Hrnčić, Univerzitet Crne Gore – Biotehnički fakultet, Podgorica
Prof. dr Albert Fischer, University of California, Department of Plant Sciences
Dr Danijela Pavlović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Dr Dragana Marisavljević, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Prof. dr Branka Krstić, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet, Beograd
Prof. dr Aleksandra Bulajić, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet, Beograd
Dr Slobodan Kuzmanović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Dr Tatjana Popović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Dr Svetlana Živković, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Dr Žarko Ivanović, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Dr Violeta Oro, Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
Dr Emil Rekanović, Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd
Prof. dr Ljubinko Jovanović, Educons Univerzitet, Fakultet za Ekološku Poljoprivredu, S. Kamenica

SADRŽAJ

Pregledni rad

Drago Milošević

VAŽNIJI VIRUSI KROMPIRA U SRBIJI I PRIMENA INTEGRALNIH MERA U NJHOVOM SUZBIJANJU	58-81
---	-------

Naučni radovi

Danijela Pavlović, Dragana Marisavljević, Ljiljana Radivojević,

Bogdan Nikolić, Hadi Waisi, Ana Anđelković, Sanja Đurović

ANSWER OF WEED POPULATIONS AND CROPS TO GLYPHOSATE.....	82-89
---	-------

Vojislav Trkulja, Jelena Mihić Salapura, Dragana Kovačić,

Ivana Stanković, Ana Vučurović, Aleksandra Bulajić, Branka Krstić

IRIS YELLOW SPOT VIRUS NOVI PATOGEN

CRNOG LUKA U REPUBLICI SRPSKOJ.....	90-100
-------------------------------------	--------

Gordana Tamindžić, Zorica Nikolić, Dario Danojević,

Vesna Župunski, Maja Ignjatov, Dragana Petrović, Gordana Zdjelar

UTICAJ INSEKTICIDA NA KLIJAVOST SEMENA I

PARAMETRE PORASTA PONIKA INBRED LINIJA KUKURUZA.....	101-109
--	---------

Nataša Rasulić, Dušica Delić, Slobodan Kuzmanović, Dragana Jošić,

Đorđe Kuzmanović, Srđan Anđelović, Olivera Stajković-Srbinić

AGROHEMIJSKE I MIKROBIOLOŠKE OSOBINE

POŠUMLJENIH DEPOSOLA RUDARSKOG BASENA „KOLUBARA“.....	110-115
---	---------

CONTENTS

Review paper

<i>Drago Milošević</i> MAJOR POTATO VIRUSES IN SERBIA AND INTEGRATED CONTROL MEASURES.....	58-81
--	-------

Scientific papers

<i>Danijela Pavlović, Dragana Marisavljević, Ljiljana Radivojević, Bogdan Nikolić, Hadi Waisi, Ana Anđelković, Sanja Đurović</i> ODGOVOR KOROVSKIH POPULACIJA I GAJENIH USEVA NA PRISUSTVO GLIFOSATA	82-89
<i>Vojislav Trkulja, Jelena Mihić Salapura, Dragana Kovačić, Ivana Stanković, Ana Vučurović, Aleksandra Bulajić, Branka Krstić</i> IRIS YELLOW SPOT VIRUS A NEW PATHOGEN OF ONION IN REPUBLIC OF SRPSKA.....	90-100
<i>Gordana Tamindžić, Zorica Nikolić, Dario Danojević, Vesna Župunski, Maja Ignjatov, Dragana Petrović, Gordana Zdjelar</i> EFFECT OF INSECTICIDES ON SEED GERMINATION AND SEEDLING GROWTH PARAMETERS OF MAIZE INBRED LINES.....	101-109
<i>Nataša Rasulić, Dušica Delić, Slobodan Kuzmanović, Dragana Jošić, Đorđe Kuzmanović, Srdan Anđelović, Olivera Stajković-Srbinić</i> AGROCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF THE „KOLUBARA“ OPEN CAST MINE DEPOSOLS RECULTIVATED UNDER FOREST CULTURES	110-115

Zaštita bilja
Vol. 64 (2), N° 284, 58-81, 2013, Beograd
Plant Protection
Vol. 64 (2), N° 284, 58-81, 2013, Belgrade

UDK: 635.21-238

Pregledni rad
Review paper

VAŽNIJI VIRUSI KROMPIRA U SRBIJI I PRIMENA INTEGRALNIH MERA U NJIHOVOM SUZBIJANJU

DRAGO MILOŠEVIĆ

*Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, Čačak
dragom@kg.ac.rs*

REZIME

Virusi krompira spadaju u najznačajnije i najštetnije patogene prouzrokovaoce bolesti krompira. S obzirom na visok stepen zaraze virusima krompira kod nas, postoji višegodišnja i, za sada, trajna epidemija koja će još dugo biti ograničavajući činilac semenarstva krompira. Najrašireniji virus koji prouzrokuje najveće štete proizvodnji konzumnog i semenskog krompira u Srbiji je Y virus krompira, Y-VKr (*Potato virus Y*, PVY). Ovaj virus predstavlja ograničavajući činilac proizvodnje semenskog krompira, ne samo kod nas nego i u državama regiona. U usevima konzumnog krompira Y-VKr je zaraženo više od 90% biljaka, što u visokom stepenu utiče na smanjenje prinosa, a u semenarstvu krompira predstavlja skoro nerešiv problem. Drugi po ekonomskim štetama koje prouzrokuje je virus uvijenosti lišća krompira, VULKr (*Potato leaf roll virus*, PLRV). Virusi krompira, pored smanjenja prinosa konzumnog krompira, problema u procesu proizvodnje semenskog krompira, prouzrokuju i bolest proizvedenih krtola koja ih čini tržišno neupotrebljivim. Tako Y-VKr prouzrokuje bolest prstenastu nekrozu krtola krompira kod nekih osetljivih sorti, što predstavlja dodatni problem. Virus se u toku vegetacije prenosi biljnim vašima na neperzistentan (Y-VKr) i perzistentan (VULKr) način. Ovo su važna saznanja bez kojih se ne može uspostaviti sistem zaštite od infekcije virusima i primene insekticida u cilju suzbijanja vektora i eventualne zaštite od prenošenja virusa. Za rešavanje problema viroza krompira izuzetno je važno poznavati osobine, način prenošenja iz vegetacije u vegetaciju, a posebno u toku vegetacije, rasprostranjenost virusa, efekat i redosled primene mera suzbijanja ova dva virusa, kojima se suzbijaju i drugi manje značajni virusi. Mere zaštite se odnose na proizvodnju semenskog krompira zaraženog u dozvoljenim okvirima i upotrebi takvog krompira za zasnivanje proizvodnje konzumnog krompira. S obzirom na visok infekcijski pritisak zbog raširenosti izvora zaraze virusima u našim uslovima, u proizvodnji semenskog krompira, zaštita predstavlja skup više mera strogo utvrđenog redosleda primene. To je jedini način da se viroze drže pod kontrolom, a time unapredi proizvodnja semenskog krompira, a preko kvalitetnog semenarstva i proizvodnja krompira za različite namene.

Ključne reči: Y virus krompira, virus uvijenosti lišća krompira, krompir, biljne vaši, vektori virusa, integralne mere suzbijanja virusa

UVOD

Proizvodnja konzumnog i semenskog krompira u Srbiji je pod uticajem velikog broja prouzrokovaoča bolesti, među kojima najznačajnije mesto pripada virusima s obzirom na način prenošenja iz vegetacije u vegetaciju i tokom vegetacije, brzinu

širenja, rasprostranjenost, sistemičan karakter zaraze, uticaj na smanjenje prinosa i način suzbijanja. Krompir je prva biljka značajna za ishranu na kojoj su zabeleženi simptomi prouzrokovani zarazom virusima, što je znatno uticalo na prinos, pa se ta pojava često označava kao „degeneracija” odnosno „izrođavanje”. Kasnije je dokazano da je to prouzro-

kovano virusima (Šutić, 1995).

Začuduje činjenica zašto se nedovoljno pažnje poklanjalo virozama krompira u Srbiji i drugim državama nastalim raspadom SFRJ, a danas još manje, što svedoči i analiza bibliografije naučnih i stručnih radova iz oblasti krompira (Buturović and Milošević, 1988a, 1988b).

Utica j virusa na prinos krompira preko kvaliteta sadnog materijala je veoma izražen. Virusi utiču i na kvalitet kod osetljivih sorti, naročito nekrotični soj Y-VKr (Y-VKr^{NTN}) koji prouzrokuje bolest prstenastu nekrozu krtola (Buturović and Kus, 1990; Weidemann, 1993; Milošević, 1994).

Virusi krompira kod nas pričinjavaju proizvodnji krompira velike i stalne štete. Procenjuje se da je prosečan prinos krompira u našoj zemlji zbog korišćenja virusima zaraženog („izrođenog“) sadnog materijala najmanje duplo manji od potencijalnog. Ako se uzme da pod krompirom u Srbiji ima oko 70 hiljada hektara, onda nam je lako izračunati kolike štete nastaju zbog korišćenja virusima zaraženog semenskog krompira u proizvodnji konzumnog.

Ekonomična proizvodnja krompira za različite namene se ne može zamisliti bez upotrebe zdravog sadnog materijala. Neka istraživanja obavljena kod nas pokazuju da se zdrav sadni materijal za dve godine 100% zarazi Y virusom i dodatno u visokom stepenu virusom uvijenosti lišća, S virusom i dr., što utiče na pad prinosa ukoliko se takve krtole koriste kao sadni materijal (Milošević and Stoilković, 1989, 1991).

Krompir je domaćin više od 30 virusa i nisu svi jednako ekonomski štetni. Štete koje prouzrokuju pojedini virusi zavise od smanjenja prinosa zaraženih biljaka, rasprostranjenosti i brzine širenja virusa. Radi toga što je Y-VKr najrasprostranjeniji, on je i najštetniji bez obzira što je smanjenje prinosa kod zaraženih biljaka manje u odnosu na VULKr koji nije u toj meri raširen.

S obzirom na dugogodišnje stanje visokog stepena zaraženosti biljaka u polju i krtola koje se koriste kao sadni materijal i bez izgleda da će se smanjiti u značajnijem stepenu, možemo konstatovati epidemiju Y-VKr krompira u Srbiji i državama nastalim raspadom SFRJ.

Suzbijanje virusa krompira predstavlja veoma složen posao. Suština svih mera koje se odnose na suzbijanje virusa odnose se na sprečavanje njihovog širenja ili zaražavanja zdravih biljaka semenskog krompira i upotreba zdravog semenskog krompira na većim površinama za proizvodnju konzumnog.

NAJŠTETNIJI VIRUSI KROMPIRA U SRBIJI I NJIHOVA RASPROSTRANJENOST

Svrstavanje nekih virusa krompira u najštetnije je veoma značajno kako bi se definisale mere efikasnog suzbijanja. Suzbijanjem najštetnijih virusa u procesu proizvodnje semenskog krompira, suzbijamo sve ostale viruse. Bavljenje „suzbijanjem“, npr. X virusa krompira, X-VKr (*Potato virus X*, PVX) nećemo postići nikakav efekat u suzbijanju bilo kog virusa. Na bazi dosadašnjih rezultata istraživanja, ekonomski najštetniji su Y virus krompira, Y-VKr (*Potato virus Y*, PVY) i virus uvijenosti lišća, VULKr (*Potato leaf roll virus*, PLRV). Ova dva virusa se različito prenose; prvi na neperzistentan, a drugi na perzistentan način. S virus krompira, S-VKr (*Potato virus S*) je treći po rasprostranjenosti i brzini širenja. U odnosu na prethodna dva virusa, njegov uticaj na smanjenje prinosa je znatno manji.

Po rasprostranjenosti, na prvom mestu kod nas je Y-VKr (Milošević, 1989, 1991, 1992, 1992a, 1995, 1995a, 2009a; Gavran, 1996), a i jednogodišnje zaražavanje zdravih biljaka krompira ovim virusom je najveće (Milošević, 1996). To je i razlog što Y-VKr u proizvodnji semenskog krompira u Srbiji i zemljama regiona (Milošević and Petrović, 2000; Zindović, 2011) i drugim državama u svetu (Singh, 2004; Kirchner et al., 2009) predstavlja najveći problem. Po rasprostranjenosti slede VULKr, S-VKr i A virus krompira, A-VKr (*Potato virus A*, PVA).

Virusi krompira, posebno Y-VKr predstavljaju najveći problem u proizvodnji konzumnog i semenskog krompira kod nas (Milošević, 1995, 1998, 2008; Milošević et al., 2000, 2008; Milošević and Bugarić, 2005).

Koliki su problem virusi u našem regionu govori podatak da je jednogodišnja zaraza biljaka (krtola) Y-VKr, veća od 50% i kreće se čak do 90% u samo jednoj vegetacionoj sezoni. Ovo je veoma važan podatak kod razmatranja pitanja suzbijanja virusa, odnosno upravljanja zdravstvenim stanjem semenskog krompira u područjima sa ovakvim infekcijskim pritiskom virusima kakav je kod nas i u državama u okruženju (Milošević, 1989, 1992b; Jasnić et al., 2003; Milošević et al., 2000). Slična situacija je i u državama regiona kao i drugim područjima u Evropi. U Evropi preovladava PVY^N posle 1980. godine (Weidemann, 1988; Chrzanowska, 1991; Wolf et al., 1998; Basky, 2002). Ovaj virus je prouzrokovao epidemiju u Mađarskoj, Bugarskoj (Horvath and Wolf, 1999) i dr. Y-VKr, odnosno nekrotični soj ovoga virusa (Y-VKr^N) predstavlja najveći problem u proizvodnji semenskog krompira i u mnogim drugim državama sveta (Singh, 2004; ;

Avila et al., 2009; Kirchner et al., 2009).

Y virus krompira

Y virus krompira je, za sada, ekonomski najštetniji virus krompira u Srbiji. Pored uticaja ovog virusa na smanjenje prinosa zaraženih biljaka, što zavisi od soja virusa, sorte krompira, vremena zaraze (primarna ili sekundarna), uslova spoljne sredine i sl., njegova štetnost se posebno ogleda u rasprostranjenosti i brzini širenja (zaražavanja) zdravih biljaka u toku vegetacije. Nekrotični soj ovog virusa, koji je i najdominantniji, prouzrokuje na krtolama nekih sorti bolest prstenastu nekroze krtola. Zbog te bolesti mnoge su sorte krompira dobrog konzumnog kvaliteta povučene iz proizvodnje ili ne mogu biti na sortnoj listi u Srbiji i regionu.

Od zaraze u toku vegetacije ili od sadnje zaraženih krtola, usevi za proizvodnju konzumnog krompira zaraženi su ovim virusom prosečno više od 90%. Osim raširenosti ovog virusa, odnosno procenta zaraženih posadenih krtola, a na početku vegetacije isto toliko zaraženih biljaka, važno saznanje je i kojom se brzinom širi ovaj virus u toku vegetacije. Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja kod nas (Milošević, 1989, 1992a, 1996) ovaj virus tokom jedne vegetacije zarazi u većini proizvodnih područja krompira u Srbiji više od 50% zdravih biljaka krompira.

Zabeleženo je da je početak poslednje decenije dvadesetog veka obeležen epidemijskim širenjem nekrotičnog soja ovog virusa (Y-VKr^N, Y-VKr^{NTN}) (Milošević, 1992a), što traje i do danas. U tom periodu je utvrđena prva pojava bolesti prstenaste nekroze krtola čiji je ovaj virus prouzrokovatelj (Y-VKr^{NTN}).

Simptomi koje prouzrokuje prisustvo Y virusa u biljci krompira najčešće zavise od soja virusa, sorte krompira, vremena zaraze (primarna ili sekundarna), uslova spoljne sredine (temperatura) i drugih činilaca (de Bokx and Piron, 1977; Milošević et al., 1997, Milošević, 2002) (Slike 1, 2, 3, 4, 5). Ako uzmemo u obzir sve zaražene biljke samo Y-VKr, onda možemo pouzdano reći da je mozaik sa naboranošću listova simptom koji preovladava u vrlo visokom procentu (Slike 1, 3), a rezultat je preovlađujuće zaraze Y-VKr^N.

Nekrotični soj (Y-VKr^N, Y-VKr^{NTN}) /PVY^N, PVY^{NTN}. Nekrotični soj Y-VKr prouzrokuje blaže simptome u odnosu na Y-VKr^O i Y-VKr^C. Većina sorti, na prisustvo virusa, u godini infekcije (primarna zaraza) reaguju slabim do srednjim šarenilom i mozaikom. Neke sorte reaguju crtičastom, prstenastom i tačkastom nekrozom. Ispoljeni simptomi na biljkama dobijenim od virusom zaražene krtol

le (sekundarna zaraza) su srednje do jače šarenilo i mozaik lišća praćen naboranošću lista (Slike 1, 2, 3, 5). Moguća je i pojava nekroze nervature. Međutim, kod nekih sorti primarni simptomi su nekroza nervature, a sekundarni šarenilo i mozaik. Simptomima PNKKr se odlikuju krupnim nekrotičnim prstenovima, koji mogu biti pojedinačni ili koncentrični, neretko međusobno spojeni. Osnovna razlika u odnosu na druge nekrotične pojave je da su prstenovi površinskog tipa dublje ili pliće ispod površine krtole i uvek vezani za površinu.

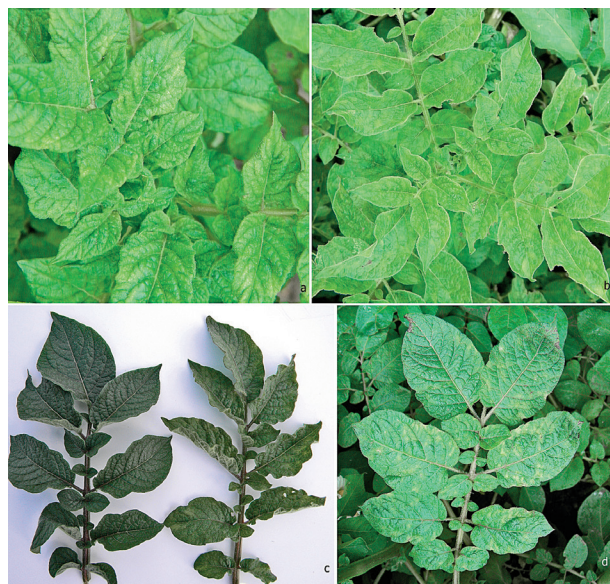
Osamdesetih godina prošlog veka je utvrđeno da Y-VKr prouzrokuje bolest koja je nazvana prstenasta nekroza krtola krompira, PNKKr (potato tuber ring spot disease, PTNRD) (Buturović and Kus, 1990; Milošević, 1994). Prstenasta nekroza krtola krompira koja se ispoljava na krtolama zaraženim nekrotičnim sojem Y-VKr je bolest koja se može pojaviti samo na nekim sortama krompira zaraženim Y-VKr, dok se, bez obzira na zarazu ovim patogenom ne pojavljuje na drugim sortama (Slika 4). U uslovima visokog infekcijskog pritiska virusima nema druge zaštite osim da se izbegne gajenje te sorte, bez obzira na njen konzumni i drugi kvalitet. Za sorte koje na zarazu Y-VKr ne reaguju pojavom simptoma na krtolama, bolest nema većeg značaja.

Pojava prstenaste nekroze krtola prvi put je zabeležena na prostoru bivše Jugoslavije 1987. godine na jednom lokalitetu centralnog dela Bosne i Hercegovine. Nakon toga, krtole sa istim simptomima su registrovane sledećih godina na više sorti i lokaliteta u republikama bivše SFRJ. Ta bolest je razlog što su iz proizvodnje povučene osetljive sorte krompira Igor, Romano i Arielle, a sorte Finka, Hermes, Colette, Inova, Gala, Caruso i Sapphire zbog otkrivanja bolesti u preliminarnim ogledima kod nas i njihove visoke osetljivosti, verovatno neće biti na našoj sortnoj listi (Milošević, 1994; Milošević et al., 2008a; Milošević et al., 2011). Ova bolest je zabeležena i u više zemalja Evrope, pri čemu prva zapažanja datiraju s početka osamdesetih godina (Beczner et al., 1984; Schiessendoppler, 1990; McDonalds and Sing, 1993; Bem and Varveri, 1999). U bivšoj Jugoslaviji je osim u BiH, prstenasta nekroza krtola krompira zabeležena i u Sloveniji i Srbiji 1989. godine (Buturović and Kus, 1990; Milošević, 1994).

Osetljive sorte na ovu bolest se ne mogu gajiti u našim uslovima zbog toga što proizvedene krtole ovih sorti nemaju tržišnu vrednost. Zato treba sprečiti svaki pokušaj uvoza sadnog materijala tih sorti radi izbegavanja šteta koje su neminovne sve do momenta kada se proizvođači uvere u postojanje problema, kao što je to bio slučaj sa sortom Arielle. Zato bi i u oceni vrednosti sorti, pored prinosa i drugih

osobina, prilikom stavljanja na sortnu listu, trebalo obratiti pažnju i na ovu bolest. Ako se zaražene krtole koriste za sadnju, daju zaražene biljke sa nižim prinosom i tržišno neupotrebljivim krtolama sa simptomima (Slike 4, 5).

Obični soj (Y-VKr^o)/PVY^o. Najčešći primarni simptomi prouzrokovani običnim sojem Y-VKr, zavise od sorte krompira, su nekroza, šarenilo, žućenje i prevremeno odumiranje lišća. Nekroza lisnog tkiva je najčešća u obliku crtičavosti (nekroze) nervature i nekrotičnih kružića što dovodi do opadanja lišća. U slučaju sekundarne zaraze javlja se takođe crtičasta nekroza nervature, mozaično šarenilo, povijanje vrhova listića, odnosno kovrdžanje lišća. Lišće je krto i lako se lomi. Sušenje i opadanje donjeg lišća prouzrokuje pojavu da samo vršno lišće ostaje kovrdžavo skraćenih peteljki. Ovaj stadijum popularno je nazvan „palma“. Nekroze se javljaju i



Slika 1. Simptomi prouzrokovani Y-VKr: a, b, c i d – sekundarni simptomi nekrotičnog soja Y-VKr; a – sorta Inova Y-VKr^{NTN}; c – sorta Desiree, levo zdrav i desno zaražen list.

Figure 1. Symptoms caused by PVY: a, b, c and d – secondary symptoms of a necrotic strain of PVY – PVY^{NTN}; a – cv. 'Inova'; c – cv. 'Desiree', left – a healthy leaf, right – an infected leaf.

na stablu. Nekroze su jače kod primarne nego kod sekundarne zaraze. Postoje velike razlike u intenzitetu simptoma među različitim sortama krompira.

C soj (Y^cVKr)/PVY^c. C soj je, po sadašnjim saznanjima, redak soj Y-VKr kod nas. Primarni simptomi zavise od sorte krompira, a najčešći su nekroza, šarenilo i kovrdžavost. Sekundarni simptomi su nekroze u obliku prstenova i crtica, kovrdžavost i šarenilo lišća.

Pored krompira, domaćini Y virusa mogu biti i niz drugih biljaka koje reaguju na zarazu odgovarajućim simptomima. Duvan je jedna od biljaka koja je domaćin ovog virusa. *Solanum demissum* x *Solanum tuberosum* (Aquila) (A6) se koristi za detekciju Y-VKr. Simptomi se javljaju 4-5 dana posle inokulacije zavisno od uslova, u vidu nekrotičnih prstenova prečnika 2-2,5 mm.



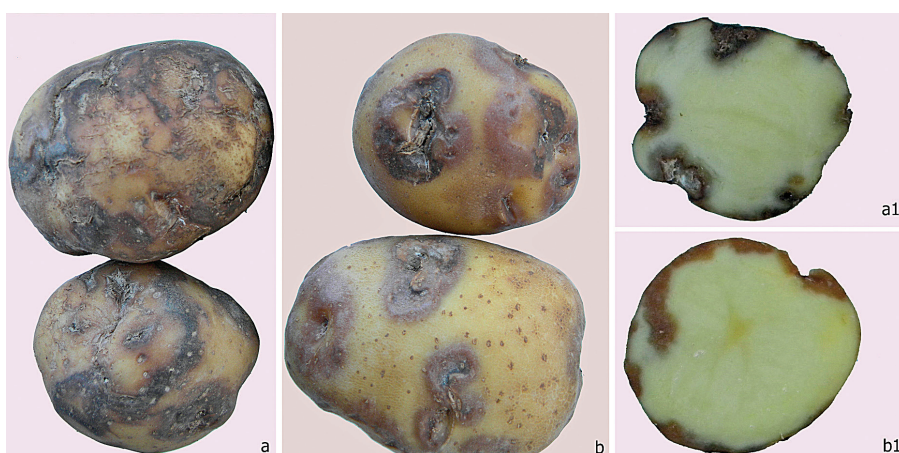
Slika 2. Simptomi prouzrokovani Y-VKr. Ovakvi simptomi (tipovi nekroza) mogu biti prouzrokovani svim sojevima Y-VKr u zavisnosti da li se radi o primarnoj ili sekundarnoj zarazi; a i b – lice i naličje lista sorte Agria; b i c – lice i naličje sorte Gala; e i f – lice i naličje sorte Caruso.

Figure 2. Symptoms caused by PVY. These symptoms (types of necroses) may be caused by any strain of PVY, depending on infection (primary or secondary infection); a and b – leaf upper side and underside of cv. 'Agria'; b and c – leaf upper side and underside of cv. 'Gala'; e and f – leaf upper side and underside of cv. 'Caruso', respectively.



Slika 3. Simptomi na biljkama zaraženim Y-VKr; a – mešana zaraza gde je prisutan i Y-VKr; b i c – zdrava i zaražena biljka nekrotičnim sojem Y-VKr.

Figure 3. Symptoms on PVY-infected plants; a – mixed infection, with PVY also present; b and c – a healthy plant and a plant infected with the necrotic strain of PVY, respectively.



Slika 4. Simptomi prstenaste nekroze krtola krompira: a i a1 – simptomi na površini i preseku krtole sorte Caruso; b i b1 – simptomi na površini i preseku krtole sorte Hermes.

Figure 4. Symptoms of potato tuber ring necrosis disease: a and a1 – symptoms on the surface and cross-section of cv. 'Caruso' tuber; b and b1 – symptoms on the surface and cross-section of cv. 'Hermes' tuber.



Slika 5. Izgled zdravih i zaraženih biljaka Y-VKr sorte Collete; levo – zdrave biljke; desno – biljke od sađenih krtola sa simptomima prstenaste nekroze krtola (Y-VKr^{NTN}).

Figure 5. Appearance of healthy and PVY-infected plants of cv. 'Collete'; left – healthy plants; right – plants developed from tubers with tuber ring necrosis disease symptoms (PVY^{NTN}).

Virusne čestice Y-VKr su filamentozne, veličine 730 x 11 nm. Virus je serološki srodan sa A virusom krompira i nekim drugim biljnim virusima (Tošić et al., 1990). Virus se može detektovati biotestovima, serološkim testovima, PCR. U rutinskoj detekciji virusa kod sertifikacije semenskog krompira u širokoj upotrebi je ELISA test (Ranković et al., 1985; Milošević, 1997; Milošević et al., 1998a; Gavran-Starović, 1999).

Virus se iz vegetacije u vegetaciju prenosi zaraženim krtolama. U toku vegetacije se prenosi vektorima – biljnim vašima i mehanički.

Prenošenje virusa iz vegetacije u vegetaciju zaraženim krtolama je najznačajniji način širenja virusa. Sadnjom zaraženih krtola koje daju zaražene biljke povećava se brojnost izvora zaraze. Povećanjem izvora zaraze uz istu brojnost vektora, povećava se zaraza zdravih biljaka, odnosno širenje virusa u toku vegetacije (Slika 6).

Biljne vaši su najznačajniji vektori virusa i uglavnom su odgovorne za njegovo širenje u toku vegetacije. Veliki broj vrsta biljnih vaši su vektori virusa koga prenose na neperzistentan način od kojih je *Myzus persicae* najefikasniji vektor, što ne znači da je i najodgovorniji vektor za širenje virusa. Poznato je da najveći broj biljnih vaši prenosi ovaj virus sa različitom efikasnošću (Kostiwić, 1979; van Hoof, 1977, 1980.; van Harten, 1983; Sigvald, 1984; Katis and Gibson, 1985; Peters, 1987a; de Bokx, 1987; de Bokx and Piron, 1990; King et al., 2004; Valkonen, 2007). Nije utvrđeno da se virus prenosi botaničkim semenom krompira. Mehaničko prenošenje virusa ima neuporedivo manji značaj u odnosu na prenošenje virusa biljnim vašima.

Ako se zdrav sadni materijal, kao što je slučaj kod nas, koristi u malom procentu za zasnivanje proizvodnje konzumnog krompira, infektivni potencijal, odnosno izvor zaraze se povećava. U takvim uslovima, uz prisustvo biljnih vaši kao vektora virusa, virus se brzo širi.

Suzbijanje viroza je složen posao. Osnovna mera suzbijanja viroza je proizvodnja kvalitetnog semenskog krompira i njegova upotreba u proizvodnji konzumnog krompira. S tim u vezi, smanjivao bi se izvor zaraze – zaražene biljke krompira ovim virusom. Za zasnivanje proizvodnje semenskog krompira niže klase treba koristiti ili bezvirusni ili semenski krompir više klase sa maksimalno dozvoljenim procentom krtola zaraženih Y-VKr za tu klasu.

Dislokacija proizvodnje semenskog krompira u izolovana područja bez proizvodnje konzumnog krompira kao izvora zaraze je najvažnija mera zaštite krompira od zaraze Y-VKr. Ona je ujedno i uslov za primenu drugih mera.

Eliminacija unutrašnjeg izvora zaraze, čišćenje useva semenskog krompira od zaraženih biljaka (negativna selekcija) mora da se obavi najkasnije do kraja prve trećine vegetacionog perioda. Ova mera ima smisao samo tada jer se smanjuje rizik od daljeg širenja virusa i zaražavanja zdravih biljaka.

Primena insekticida radi sprečavanja širenja Y-VKr može biti efikasna u izvesnom stepenu ako se tretira usev semenskog krompira koji se uzgaja u izolovanom lokalitetu daleko od spoljnog izvora zaraze. Primena insekticida u suzbijanju širenja Y-VKr sa izvora zaraze iz okruženja nema nikakvog efekta ili u izvesnom stepenu i suprotan efekat o čemu će biti reči kasnije.

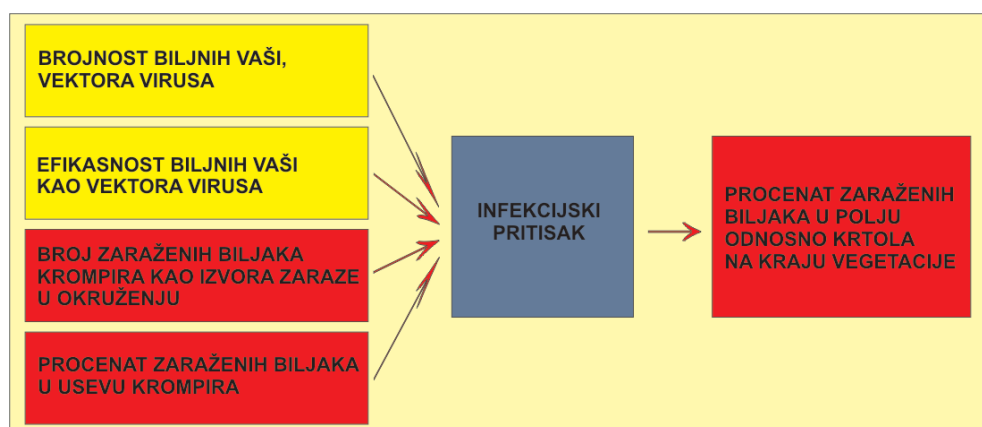
Efekat u zaštiti biljaka od zaraze Y-VKr ima primena mineralnih ulja (Gibson and Cayley, 1984; Dedić, 1986; Milošević, 1996a). Primenjuje se u proizvodnji visokih klasa semenskog krompira.

Virus uvijenosti lišća krompira

VULKr smanjuje prinos zaraženih biljaka i preko 70%. U našim uslovima, krompir se zarazi ovim virusom 100% za više od 4 godine za razliku od Y-VKr koji zarazi biljke za 1-2 godine. Početno širenje VULKr je u odnosu na Y-VKr 1:10-1:20 (Milošević, 1992b), dok se ne ostvare prve zaraze u usevu, što naredne godine kao unutrašnji izvor zaraze pospešuje dodatno znatno brže zaražavanje ostalih biljaka. Ovakav odnos je zabeležen i u drugim državama Evrope i sveta (Sigvald and Hulle, 2004; Avila et al., 2009). Iako se prenosi isključivo vektorima na perzistentan način, znatno manji broj vrsta vaši prenosi VULKr u odnosu na Y-VKr (Sigvald, 1984; de Bokx, 1987) zbog čega je njegovo početno širenje nešto sporije.

Simptomi virusne zaraze se uglavnom javljaju na lišću, a retko i na krtolama. Simptomi na listu se ispoljavaju uvijanjem liski krompira prema licu. Primarni simptomi prouzrokovani zaraženošću biljaka VULKr se javljaju u tekućoj sezoni, posle ostvarene zaraze. Karakteristika primarnih simptoma jeste uvijanje mlađeg lišća na vršnom delu biljke (Yaíasighe, 1988). Sekundarni simptomi virusne zaraze se javljaju na biljkama dobijenim iz zaraženih krtola (Slika 7). Ispoljavaju se jakim uvijanjem starijeg lišća na donjem delu stabla. Veoma je teško, u našim uslovima, pronaći biljku zaraženu samo VULKr zbog toga što se prethodno zaraze Y-VKr koji se brže širi od VULKr.

Simptomi virusne zaraze se mogu naći i na krupnijim krtolama nekih sorti krompira u obliku nekroze provodnog sistema floema i mrežaste nekroze na preseku krtole (Yaíasighe, 1988).



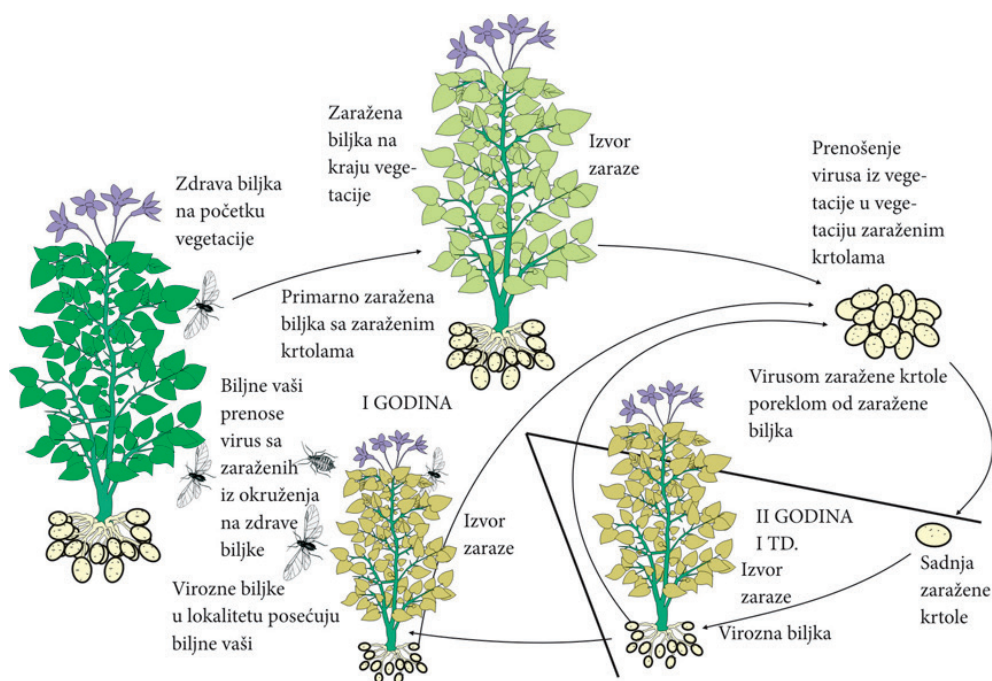
Slika 6. Osnovni činioci koji utiču na degenerativnost područja odnosno infekcijski pritisak virusima.

Figure 6. Major factors contributing to the degeneration of potato production regions i.e. virus infection pressure.



Slika 7. Sekundarni simptomi prouzrokovani VULKr.

Figure 7. Secondary symptoms caused by PLRV.



Slika 8. Ciklus bolesti prouzrokovane virusima krompira koji se prenose biljnim vašima (Milošević, 2009).

Figure 8. Cycle of a disease caused by aphid-transmitted potato viruses (Milošević, 2009).

Simptomi uvijanja lista zavise od sorte i uslova uzgoja koje čine činioci spoljne sredine. U nekim slučajevima simptome uvijenosti lišća mogu prouzrokovati i neki drugi činioci pa je iz tog razloga nekada teško vizuelno razlikovati neinfektivnu i uvijenost lišća čiji je prouzrokovatelj virus (Milošević and Domanović, 1989). Neinfektivna uvijenost može nastati poremećajem u usvajanju hranljivih materija na jako kiselim zemljištima, zaraženošću biljaka gljivom *Thanatephorus cucumeris* i drugim patogenima. Pored krompira virus može da zarazi još 56 biljnih vrsta.

Virusne čestice VULKr su izometrijskog oblika prečnika 24 nm. Virus se uspešno dokazuje serološki ELISA testom.

Najznačajniji način širenja virusa iz vegetacije u vegetaciju je zaraženim krtolama. U toku vegetacije virus se prenosi sa zaraženih na zdrave biljke isključivo vektorima, biljnim vašima. Virus se ne prenosi mehanički.

Prenošenje zaraženim krtolama je, s obzirom na sistemičan karakter zaraze, najrasprostranjeniji način širenja virusa, a samim tim i bolesti koju prouzrokuje. Krtole poreklom od virusom zaražene biljke su zaražene. Takve krtole daju bolesne biljke koje sadrže virus, prouzrokovatelj bolesti (Slika 8).

Najznačajniji način širenje virusa u polju je vektorima - biljnim vašima. Smatra se da je *Myzus persicae* najefikasniji i najznačajniji vektor ovog virusa (de Bokx, 1987; Khoudja et al., 2004). Pored ove, vektori virusa su i niz drugih vrsta biljnih vaši kao što su *Myzus ascalonicus*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis nasturtii*, *Brachycaudus helichrysi*, *Phorodon humuli*, *Rhopalosiphonium latysiphon* i dr. Biljne vaši prenose virus na perzistentan način. Za usvajanje virusa vaš se hrani na zaraženoj biljci oko 20-30 minuta. Posle toga perioda vaš usvaja virus, i posle perioda inkubacije, dok je živa, hraneći se na zdravim biljkama, sposobna je da prenese virus u njih. Vetar može da prenese krilate forme vaši i na udaljenost od desetina, čak i stotine kilometara, šireći tako i virus.

Osim u polju, virus se može širiti vašima i tokom skladištenja krompira. Vaš može preneti virus sa zaraženih na zdrave klice naklijalih krtola krompira.

Za zasnivanje proizvodnje konzumnog krompira za sadnju treba koristiti zdrave, bezvirusne krtole ili u tolerantnim granicama, za pojedine kategorije, zaražene krtole.

Suzbijanje vektora radi sprečavanja širenja virusa primenom sistemskih insekticida u proizvodnji semenskog krompira ima efekta. Ova mera

zaštite semenskog krompira kod suzbijanja širenja VULKr, u odnosu na Y-VKr, je efikasna i može se koristiti.

Eliminacija unutrašnjeg izvora zaraze, čišćenje useva od zaraženih biljaka i izbegavanje spoljnog izvora zaraze je najvažnija mera, preduslov i garancija uspešne proizvodnje semenskog krompira, odnosno zaštite od VULKr. Ona podrazumeva dislokaciju proizvodnje semenskog krompira u izolovana područja bez proizvodnje konzumnog krompira kao izvora zaraze. Ona je ujedno i uslov za primenu drugih mera u tehnologiji proizvodnje semenskog krompira, odnosno u zaštiti od viroza o čemu će biti reči kasnije.

Ostali virusi krompira

Kao što smo već rekli, krompir može da zarazi više od trideset različitih virusa. Da bismo ostvarili efekat u radu na suzbijanju virusa krompira onda je veoma važno istaći koji su važni, a koji manje važni virusi. Suzbijanjem ekonomski štetnijih virusa, suzbijamo i ostale viruse. Virusi čiji domaćin može biti krompir, prema međunarodnoj nomenklaturi (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) su: AMV, *Alfalfa mosaic virus*; PVY, *Potato yellowing virus*; ToSWV, *Tomato spotted wilt virus*; PVS, *Potato virus S*; PVM, *Potato virus M*; PVP, *Potato virus P*; PRDV, *Potato rough dwarf virus*; APMoV, *Andean potato mottle virus*; PVV, *Potato yellow vein virus*; CMV, *Cucumber mosaic virus*; BCTV, *Beet curly top virus*; PYMV, *Potato yellow mosaic virus*; SALCV, *Solanum apical leaf curling virus*; TSV, *Tobacco streak virus*; SYV, *Solanum yellows*; TNV, *Tobacco necrosis virus*; PBRV, *Potato black ringspot virus*; TRSV, *Tobacco ringspot virus*; AVB (O), *Arracacha virus B strain Oca*; PVU, *Potato virus U*; PVX, *Potato virus X*; PAMV, *Potato aucuba mosaic virus*; PapMV, *Papaya mosaic virus*; PepMV, *Pepino mosaic virus*; PVA, *Potato virus A*; PVV, *Potato virus V*; WPMV, *Wild potato mosaic virus*; PYDV, *Potato yellow dwarf virus*; EMDV, *Eggplant mottle dwarf virus*; TMV, *Tobacco mosaic virus*; 14R, *14R virus*; PMTV, *Potato mop-top virus*; TRV, *Tobacco rattle virus*; PVT, *Potato virus T*; APLV, *Andean potato latent virus*.

Na našim prostorima su do sada detektovani Y-VKr, VULKr, X-VKr, S-VKr, M-VKr, A-VKr, virus bronzavosti paradajza, virus žutog mozaika krompira (*Potato aucuba mosaic virus*, PAMV) (Smiljanić, 1975; Ranković et al., 1985; Milošević, 1992a, 2009; Gavran, 1996; Todorović et al., 1997; Đekić et al., 2008).

UTICAJ VIRUSA NA PROIZVODNJU KROMPIRA U SRBIJI

Nesumnjivo, virusi su, za sada, u Srbiji najznačajniji patogeni prouzrokovajući bolesti krompira. To je trajni problem o čijem rešavanju se ne razmišlja ili se, ako se preduzimaju, ne preduzimaju adekvatne i kompleksne mere primerene stanju problema. Naši usevi za proizvodnju konzumnog krompira su više od 90% zaraženi Y-VKr, jednim većim delom je sekundarna zaraza (korišćenje zaraženog sadnog materijala), a drugim delom primarna zaraza (sadejene zdrave krtole koje se na samom početku vegetacije zaraze usled visokog infekcijskog pritiska). Usevi konzumnog krompira su dodatno zaraženi VULKr, S-VKr, A-VKr i dr. Virus krompira su jedan značajan činilac koji utiče na formiranje niskih prinosa krompira. Osim toga, veoma značajan je potencijalni problem koji onemogućava uzgoj nekih sorti krompira u našem regionu, a to je prstenasta nekroza krtola čiji je prouzrokovatelj nekrotični soj Y-VKr.

Drugi i veoma značajan problem koje pričinjavaju virusi kod nas su u semenarstvu krompira. Ne postoji proizvodnja osnovnog sadnog materijala (elita), a samim tim i razlog za stvaranje sorti, što je jedno sa drugim u tesnoj vezi. Nažalost, i proizvodnja bezvirusnog sadnog materijala kulturom tkiva, tek što je zaživela (Ružić et al., 1997; Milošević et al., 1997a; Milošević and Bratić, 2000), potpuno je ugašena zahvaljujući teškoćama koje pričinjavaju virusi.

U Srbiji ne postoji zvanično uređen i primenjen sistem suzbijanja virusa, odnosno upravljanja

zdravstvenim stanjem semenskog krompira. To je moguće ostvariti samo primenom integralnog sistema suzbijanja virusa i na taj način proizvesti semenski krompir shodno propisanim standardima u pogledu dozvoljenog procenta zaraženih krtola za određenu kategoriju semenskog krompira.

ODRŽAVANJE, PRENOŠENJE I ŠIRENJE VIRUSA KROMPIRA

Virusi krompira se održavaju u zaraženim krtolama ako ih sadimo naredne godine ili krtolama koje zaostaju u zemljištu i naredne godine daju samonikle biljke. Zaražene krtole potiču od biljaka zaraženih virusom (Beemster, 1976; Gibson, 1991). Virus se, posle umnožavanja u nadzemnom delu, translocira do krtole. Ranija zaraza biljaka virusima u vegetaciji povećava procenat zaraženih krtola. Vreme translokacija virusa iz zaražene cime (primarna zaraza) do krtole zavisi od vrste virusa, soja, mesta na nadzemnom delu gde je vaš unela virus (vrh ili donji deo) i faze razvoja biljke u vreme infekcije (Gibson, 1991; Beemster, 1976, 1987; Sigvald, 1985). Od sekundarno zaražene biljke virusom sve krtole su zaražene.

Sadnjom virusima zaraženih krtola ili pojavom samoniklih biljaka u narednoj vegetaciji virus prenosimo iz vegetacije u vegetaciju onoliko dugo dok se god sadi krompir poreklom od zaražene krtole (Slika 8). Zato se korišćenjem zaraženih krtola za proizvodnju konzumnog krompira dobijaju zaražene biljke koje će dati nizak prinos i koje su izvor zaraze za širenje virusa u vegetaciji. Zbog toga je jedna od veoma važnih mera u suzbijanju virusa ko-

Tabela 1. Način prenošenja nekih virusa krompira.
Table 1. Mode of transmission of some potato viruses.

Patogen Pathogen	Mehaničko prenošenje Mechanical transmission	Prenošenje vektorima Transmission by vectors	Način prenošenja vektorima Mode of transmission by vectors
Y virus krompira Potato virus Y	da yes	biljne vaši aphids	N* N
Virus uvijenosti lišća krompira Potato leaf roll virus	ne no	biljne vaši aphids	P* P
A virus krompira Potato virus A	da yes	biljne vaši aphids	N N
X virus krompira Potato virus X	da yes	ne no	- -
S virus krompira Potato virus S	da yes	biljne vaši aphids	N N
M virus krompira Potato virus M	da yes	biljne vaši aphids	N N

*P – perzistentno prenošenje; *N – neperzistentno prenošenje

*P – persistent transmission; *N – non-persistent transmission

rišćenje pravog semenskog krompira za zasnivanje proizvodnje konzumnog krompira. Time se smanjuje i izvor zaraze koji predstavlja najveći problem u zaštiti semenskog krompira od virusa.

Najznačajniji vektori virusa krompira i najodgovorniji za njihovo širenje u vegetaciji su biljne vaši (fam. Aphididae) (Tabela 1). Činioci spoljne sredine mogu da utiču na efikasnost prenošenja virusa, delujući na brojnost i aktivnost biljnih vaši (temperatura i dr.). Na prenošenje virusa, zaražavanje biljaka i stepen zaraženosti krtola utiče infekcijski pritisak koji čine vektorski pritisak (brojnost vrsta vaši vektora virusa) i količina inokuluma u okruženju i u samom usevu (Slika 6). Na vektorski pritisak veliki uticaj ima klima i vreme koji utiču na brojnost i aktivnost biljnih vaši.

Pošto biljna vaš usvoji virus na zaraženoj biljci krompira, u zavisnosti od načina prenošenja (neperzistentan i perzistentan), odmah ili posle određenog vremena je sposobna da prenese virus i zarazi zdravu biljku (biljke) krompira (Raman, 1985; Bostan et al., 2006). Nakon toga, virus se umnožava u nadzemnom delu biljke (sistemična zaraza) i zaražava krtole. Dakle, postoji vremenski period između infekcije biljke i infekcije krtola (Beemster, 1987). Perzistentni virusi dospevaju u organizam vektora, u njemu se umnožavaju i zadržavaju preko 100 časova, pa čak i čitavog života. U ovom slučaju je vaš i domaćin virusa. Neperzistentni virusi se ne umnožavaju u telu biljnih vaši nego se samo zadržavaju u njenom usnom aparatu nekoliko časova.

Biljne vaši u našim uslovima tokom jedne vegetacije mogu da zaraze i više od 50% biljaka zdravog useva, koji u početku nije imao unutrašnjeg izvora zaraze (bezvirusni), odnosno zaraženih biljaka. Dve zadnje decenije dvadesetog veka karakteriše intenzivno širenje YVKr^N, odnosno YVKr^{NTN} kod nas i u drugim državama Evrope (Kus and Hočevár, 1977; Chrzanowska, 1991; Milošević, 1992a, 1996; Horvath and Wolf, 1999; Chrzanowska and Doroszewska, 2004; Chatzivassiliou et al., 2008). Koji će se virus intenzivnije širiti zavisi od vrsta i aktivnosti biljnih vaši koje prenose viruse, kao i od količine inokuluma (biljaka konzumnog krompira zaraženih virusom).

Virusi se u toku vegetacije uglavnom prenose biljnim vašima (Tabela 1). Zato su biljne vaši štetne jer su vektori virusa krompira (Van Hoof, 1980; Harrington et al., 1986; Piron, 1986; de Bokx, 1987; de Bokx and van der Want, 1987; Weidemann, 1988; Flanders et al. 1991; Woodford, 1992; Thomas, 1997; King et al., 2004; Sigvald and Hulle, 2004). *Myzus persicae* se ističe kao najefikasniji vektor virusa krompira (Sigvald, 1984, 1990; Cloyd and Sadof,

1998; Boukhris et al., 2011).

Različite vrste vaši prenose viruse različitom efikasnošću (Harrington and Gibson, 1989). Kod prenošenja YVKr, biljne vaši posle određenog vremena (i krilate i beskrilne) gube infektivnost, a krilate forme nekih vrsta kao *A. nasturti* zadržavaju infektivnost duže vreme, što je značajno za prenošenje ovoga virusa na veće distance (Kostiwi, 1974, 1975). U poređenju sa *M. persicae*, biljna vaš *R. padi* je vektor YVKr sa znatno manjom efikasnošću, a kako se navodi javlja se rano i sa velikom brojnošću (Kostiwi, 1979).

Sigvald and Hulle (2004) navode da je do sada poznato da 40 vrsta biljnih vaši koje prenose YVKr. VULKr se prenosi vašima koje koloniziraju krompir, dok YVKr može biti prenet i drugim vašima kao što su *Rhopalosiphum padi*, *Brachycaudus helichrysi* i *Acyrtosiphon pisum* čiji domaćin nije krompir (Kostiwi, 1980, cit. Sigvald, 1984; van Hoof, 1980).

Za usvajanje VULKr od strane vašiju potreban je duži period ishrane na zaraženoj biljci u odnosu na YVKr za čije usvajanje je potrebno veoma kratko vreme (Kostiwi, 1991). Znatno veći broj biljnih vaši su vektori YVKr u odnosu na VULKr, te je stoga i odnos stepena jednogodišnje zaraze biljaka krompira u korelaciji sa tim (de Bokx and van der Want, 1987; Milošević, 1992b). Sigvald and Hulle (2004) navode da je sada poznato da 40 vrsta biljnih vaši prenose YVKr. Takođe, više vrsta vašiju su vektori YVKr^N (YVKr^{NTN}) u odnosu na YVKr^O gde takođe dominira YVKr^N.

Raman (1985) navodi da se većina virusa krompira, među kojima i Y-Kr, prenosi na neperzistentan način gde je vaš potrebno da se kratko vreme hrani u epidermalnom tkivu kako bi se kontaminirala virusom. Za usvajanje virusa koji se prenose na perzistentan način (VULKr) potreban je znatno duži period ishrane na zaraženoj biljci (20-30 minuta) radi usvajanja virusa, a posle toga i inkubacioni period od nekoliko sati da bi vaš bila sposobna da prenese virus.

Biljne vaši predstavljaju najveći problem proizvodnji semenskog krompira u našoj zemlji, jer su vektori ekonomski najštetnijih virusa, YVKr i VULKr (Milošević, 2008, 2009). Veliki broj vrsta biljnih vaši su vektori virusa krompira od kojih najveći broj vrsta prenosi YVKr (de Bokx, 1987), što je i razlog da je ovaj virus i najrasprostranjeniji u Srbiji i državama regiona.

Na stepen zaraze krtola virusima utiče infekcijski pritisak virusa u određenom regionu (Slika 6). Najvažniji činioci koji utiču na infekcijski pritisak su brojnost i vrste vektora virusa, količina inokuluma u okruženju i količina inokuluma unutar useva kro-

mpira više kategorije od koje želimo proizvesti semenski krompir niže kategorije (Gabriel, 1988).

Kojim od ovih činilaca se može upravljati? Prvo, količinom inokuluma unutar useva. U našim uslovima izvor zaraze u okruženju možemo samo izbegavati. Pod inokulumom u ovom smislu podrazumevamo biljke zaražene virusom, a to je konzumni krompir koji je kod nas više od 90% zaražen Y-VKr. Takođe, može se upravljati i brojnošću vektora koji naseljavaju krompir (biljne vaši). Mi, pojedinačno, ne možemo smanjiti, odnosno uticati na smanjenje količine inokuluma u okruženju, odnosno lokalitetu. Možemo izbegavati izvor zaraze u okruženju dislociranjem proizvodnje semenskog krompira u lokalitete gde nema proizvodnje konzumnog krompira kao izvora zaraze (Milošević, 1998a, 2000, 2009).

Unutrašnji izvor zaraze predstavljaju bolesne biljke u usevu koji umnožavamo. I unutrašnjim izvorom inokuluma možemo upravljati tako što za umnožavanje npr. više kategorije semenskog krompira za proizvodnju niže koristimo kvalitetaniji sadni materijal više kategorije, sa manjim procentom zaraženih krtola virusima (npr., ako je za klasu A, (original) dozvoljeno 2-6% zaraženih krtola, treba koristiti sadni materijal klase A sa 2% zaraženih krtola). Smanjenje unutrašnjeg izvora zaraze možemo vršiti i čišćenjem useva, odnosno uništavanjem zaraženih biljaka na samom početku vegetacije (Gabriel, 1988; Milošević, 2009).

U razmatranju pitanja suzbijanja biljnih vaši kao vektora virusa krompira treba istovremeno imati u vidu: način prenošenja virusa (perzistentan, neperzistentan), prisustvo spoljnog izvora zaraze (zaražen – konzumni krompir u okruženju), prisustvo unutrašnjeg izvora zaraze (zaražene biljke u usevu), istovremeno prisustvo i unutrašnjeg i spoljnog izvora zaraze i dr.

Pitanje uništavanja biljnih vaši kao štetočina je drugo pitanje. Biljne vaši se suzbijaju primenom insekticida kao što su: pimetrozin, metomil, tiame-toksam, deltametrin, alfa cipermetrin, hlörpirifos + cipermetrin, acefat, deltametrin, lambda cihalotrin, acetamiprid, diazinon, triazamat, bifentrin, endo-sulfan, azinfos-metil, hlörpirifos, dimetoat, esfen-valerat, oksidemeton-metil, triazamat, fenitrotion, metidation, fozalon, malation, mineralno ulje, tiaklopid, imidaklopid, dihlörvos i dr.

INTEGRALNE MERE SUZBIJANJA VIROZA KROMPIRA

Suzbijanje viroza krompira je složeno i jedino je moguće primenom integralnih mera sa jasno

utvrđenim redosledom imajući u vidu i viroepidemiološku situaciju u regionu (Milošević et al., 2007). Primena mera koje utiču na suzbijanje viroza ima za cilj istrebljenje ili drastično smanjenje bolesnih biljaka krompira kao izvora zaraze, sprečavanje zaraze semenskog krompira preko dozvoljenih granica za određenu kategoriju (1% za elitu, 6% za original i 10% za prvu sortnu reprodukciju), proizvodnju dovoljnih količina takvog sadnog materijala i njegovu upotrebu u zasnivanju proizvodnje konzumnog krompira u visokom stepenu. Suzbijanje biljnih virusa zasniva se na primeni kompleksa mera koje mora da se izvedu prema strogom redosledu i u celosti (Milošević, 2000; Milošević et al., 2000).

Uništavanje ili izbegavanje izvora zaraze.

Ovo je najvažnija mera kojom se eliminiše izvor zaraze virusima ili se on izbegava. Primena ove mere je uslov za efikasnost i drugih mera.

Sušćina suzbijanja virusa je onemogućavanje (presećenje) lanca zaraze. Zaraza počinje od spoljnog izvora (zaražene biljke krompira u okruženju, konzumni krompir) ili unutrašnjeg izvora zaraze (bolesne biljke u usevu – dozvoljeno prisustvo), a nastavlja se prenošenjem virusa vektorima (biljne vaši) do zdrave biljke (semenskog) krompira. Suzbijanje viroza se ostvaruje eliminacijom ili izvora zaraze ili biljnih vaši kao vektora.

Ako nema izvora zaraze virusima – zaražene biljke, nema ni problema sa virusnim bolestima bez obzira na prisustvo vektora. Eliminisanje izvora zaraze podrazumeva eliminisanje spoljnog izvora zaraze uzgojem semenskog krompira u područjima bez proizvodnje jelovnog krompira i unutrašnjeg izvora zaraze uzgojem (umnožavanjem) bezvirusnog semenskog krompira i čišćenjem semenskog useva od bolesnih biljaka radi smanjenja unutrašnjeg izvora zaraze. Eliminisanje vektora virusa (biljne vaši) radi onemogućavanja prenošenja virusa je mnogo teže pogotovu kada se radi o prenošenju neperzistentnih virusa (Y-VKr) o čemu će detaljnije biti reći, kasnije (Slike 6, 8).

Uništavanje izvora zaraze bi se jedino moglo provesti zakonskom zabranom sadnje zaraženog sadnog materijala. Na taj način bi sadašnji lokaliteti u našoj zemlji, koje označavamo kao lokaliteti niskog infekcijskog pritiska bili lokaliteti veoma niskog infekcijskog pritiska, a drugi bi dobili status lokaliteta niskog infekcijskog pritiska virusima. Zato je, u cilju suzbijanja virusa i proizvodnje semenskog krompira, osnovna mera zaštite kod nas izbegavanje izvora zaraze. To se, u našim uslovima, jedino može postići rejonizacijom proizvodnje semenskog krompira, odnosno njenim lociranjem u rejone veoma niskog infekcijskog pritiska virusima.

Na taj način se obezbeđuje dobra prostorna izolacija koja garantuje da će se uz pomoć drugih mera uvek proizvesti kvalitetan semenski krompir.

Ukoliko se u područjima gde se proizvodi konzumni krompir pokuša proizvesti i semenski, proizvedene krtole će biti zaražene u daleko većem stepenu nego što je dozvoljeno za odgovarajuću kategoriju bez obzira na primenu drugih mera.

Oni virusi koje prenose više vrsta lisnih vaši su i najrasprostranjeniji, odnosno, najbrže se šire u toku vegetacije. To je u našoj zemlji, za sada, Y-VKr. Znatno iza ovoga zaostaju VULKr, S-VKr i dr. Dislociranje proizvodnje semenskog krompira u „zdrava“ područja je u prvom redu radi zaštite od Y-VKr, a ukoliko smo postigli cilj, zaštita se ostvaruje i od drugih virusa.

Prostorna izolacija ima isti smisao kao i rejonizacija. Rejonizacija podrazumeva veću distancu od izvora zaraze, dok prostorna izolacija u ovom smislu predstavlja distancu od izvora zaraze unutar određenog lokaliteta. Prostorna izolacija između semenskog useva niže kategorije mora biti veća nego između iste kategorije. Kada se radi o sprečavanju prenošenja virusa krompira, prostorna izolacija i od nekoliko stotina metara nema pozitivnog efekta u lokalitetima visokog infekcijskog pritiska. Ona može samo doprineti kvalitetu proizvedenog semenskog krompira i sprečavanju prenošenja virusa u lokalitetima niskog infekcijskog pritiska.



Slika 9. Bezvirusne biljke krompira dobijene kulturom tkiva.
Figure 9. Virus-free potato plants produced by tissue culture.

Plodored. Uzgoj semenskog krompira na istom mestu gde je i prethodne, odnosno prethodnih godina uzgajan krompir povećava rizik od unutrašnjeg izvora zaraze virusima. Virusima zaražene krtole iz prethodne godine zaostaju u zemlji i naredne godine daju zaražene biljke kao unutrašnji izvor zaraze u usevu semenskog krompira koji smo

zasnovali naredne godine. U cilju lakšeg upravljanja zdravstvenim stanjem semenskog krompira i proizvodnje kvalitetnog sadnog materijala sa što manje zaraze krtola virusima, treba redovno menjati površine pod semenskim krompirom. Zato na istu površinu ne treba semenski krompir saditi najmanje tri godine uz uslov da su prethodnih godina, hemijski i mehanički uništavane samonikle biljke rano u vegetaciji pre formiranja krtola.

Čišćenje useva od bolesnih biljaka. Čišćenje semenskih useva od bolesnih biljaka je veoma važna mera zaštite od širenja viroza i obavezna mera u tehnologiji proizvodnje semenskog krompira. Ako mislimo da ćemo postići pozitivan efekat tako što ćemo uzgajati „semenski“ krompir u uslovima raširenog izvora zaraze, a da ćemo čišćenjem useva od bolesnih biljaka nadomestiti taj nedostatak, nećemo uspeti! Zašto? Čišćenje useva od bolesnih biljaka vršimo u prvoj trećini vegetacije na bazi sekundarnih simptoma virusne zaraze. Bolesna biljka u usevu krompira predstavlja unutrašnji, bliski izvor zaraze. Zbog toga je neophodno uklanjati vizuelno virozne biljke sa eventualno formiranim krtolama. Ukoliko se zakasni u vegetaciji sa uklanjanjem bolesnih biljaka, povećava se rizik od prenošenja virusa sa zaraženih na zdrave biljke i zato ova mera u kasnim fazama nema efekta. Ako smo zasnovali proizvodnju semenskog krompira u lokalitetu niskog infekcijskog pritiska, čišćenje useva od viroznih biljaka ima pozitivan efekat na konačan rezultat – smanjujemo unutrašnji izvor zaraze i tako smanjujemo mogućnost primarnih zaraza.

Proizvodnja bezvirusnog i osnovnog sadnog materijala. Metodom kulture tkiva, *in vitro*, od zdrave, bezvirusne biljke ili krtole, brzim umnožavanjem u relativno kratkom vremenskom intervalu i u prostoru zaštićenom od vektora, dobijemo veliki broj bezvirusnih individua (biljaka, mini ili mikro krtola) koje nam koriste za dalje umnožavanje radi dobijanja osnovnog sadnog materijala – super elite i elite (Slika 9). Primena i uspeh ovih metoda u proizvodnji bezvirusnog semenskog krompira ne zavisi samo od tehničke opremljenosti laboratorije i prateće infrastrukture što se potvrdilo na našem i primeru iz okruženja. U Srbiji se ova metoda počela primenjivati od 1996. i do 2000. godine je potpuno primenjena i prilagođena datim uslovima, kada je proizvedena i prva elite na bazi sopstveno proizvedenog bezvirusnog sadnog materijala (Milošević et al., 1997a; Ružić et al., 1997; Milošević and Bratić, 2000).

Primena insekticida. Suzbijanje virusa u procesu proizvodnje semenskog krompira podrazumeva primenu više mera, a često se među tim me-

rama pominje primena insekticida, s obzirom da je najznačajniji način prenošenja virusa u toku vegetacije u polju biljnim vašima (Mowry, 2005; Van Toor and Teulon, 2006; Kotzampigikis et al., 2008; Nolte et al., 2009).

Činjenica da su biljne vaši vektori virusa u toku vegetacije, nameće logičan zaključak da primena insekticida rešava taj problem što se posebno ističe u publikacijama koje reklamiraju insekticide (Radcliffe, 2006).

Rezultati istraživanja kod nas pokazuju da se Y virus, koji se inače prenosi na neperzistentan način, najbrže širi u uslovima Srbije i država regiona (Milošević, 1992b; Horvath and Wolf, 1999). VULKr je drugi ekonomski štetni virus u našoj zemlji, a njegovo početno širenje (zaražavanje zdravih biljaka krompira u prvoj godini) znatno zaostaje za Y-VKr. Tako je odnos širenja ova dva virusa 20:1-2 (Milošević, 1992b). Identičan odnos širenja Y-VKr i VULKr navode i istraživači iz Mađarske (Basky, 2002), Turske (Bostan and Haliloglu, 2004; Bostan et al., 2006), Grčke (Chatzivassiliou et al., 2008) i dr.

Hemijska zaštita zavisi od načina prenošenja virusa vektorima. Y-VKr se prenosi na neperzistentan način pri čemu je vaš za kratko vreme ishrane (probe) na zaraženoj biljci kontaminirana (stilet) virusom i, takođe, za kratko vreme joj je potrebno da ga prenese i zarazi drugu (zdravu) biljku (Nolte et al., 2009).

Istraživanja izvedena u našim uslovima, u lokalitetu visokog infekcijskog pritiska Y-VKr pokazuju da primena insekticida nema efekta u sprečavanju prenošenja ovog virusa, čak je dokazano da primena insekticida i pospešuje zarazu. Ovo se, naravno, odnosi na efekat sprečavanja prenošenja virusa sa spoljnog izvora zaraze – zaraženih biljaka krompira u lokalitetu. Da upotreba insekticida utiče na smanjenje populacije biljnih vaši na biljkama krompira, ali ne smanjuje, nego, naprotiv, u manjem procentu povećava zarazu biljaka Y-VKr potvrđuju i drugi istraživači (Birecki i sar., 1967, cit. Gabriel et al., 1982; Raman, 1985; Peters, 1987; Gabriel, 1988; Milošević, 1996a; Radcliffe, 2006; Van Toor and Teulon, 2006; Nolte et al., 2009). Insekticidi su neefikasni u zaštiti od infekcije virusa koji se prenose na neperzistentan način (Racchah, 1986; Perring et al., 1999; Hooks and Fereres, 2006; Milošević i sar., 2012).

Ima slučajeva kada primena insekticida u sprečavanju prenošenja Y-VKr ima efekta. Ako želimo da od, npr. kategorije original (sa maksimalno 6% zaraženih krtola) proizvedemo kategoriju I sortna reprodukcija, to je jedino moguće u uslovima niskog infekcijskog pritiska virusima kakav je kod

nas u visokim planinskim područjima. Veća je verovatnoća da ćemo proizvesti prvu reprodukciju sa maksimalno 10% zaraženih krtola ako je original sa manjim procentom virusima zaraženih krtola. Međutim, i u tim područjima ima vaši koji su vektori Y-VKr (Milošević and Petrović, 1996). U tom slučaju, iako je manji rizik od donošenja virusa vašima iz okruženja (sa izvora zaraze van useva), postoji rizik od prenošenja virusa sa zaraženih biljaka na zdrave biljke unutar useva. U tom slučaju primena insekticida može imati efekta (Milošević, 1998). Kotzampigikis et al. (2008) navode da su insekticidi efikasniji u sprečavanju prenošenja virusa sa unutrašnjeg izvora zaraze nego sa spoljnog izvora zaraze.

S obzirom na drugačiji način prenošenja biljnim vašima VULKr, istraživanja pokazuju da primena insekticida ima efekta u zaštiti zdravih biljaka od prenošenja virusa sa spoljnog izvora zaraze (Woodford, 1992; Sigvald and Hulle, 2004; Van Toor and Teulon, 2006; Milošević, 2009). Ako tretiramo usev semenskog krompira insekticidima, vaš koja „nosi“ virus usvojen na izvoru zaraze u okruženju u periodu inkubacije, tj. u vremenu od usvajanja virusa do mogućnosti njegovog prenošenja ishranom na zdravoj biljci tretiranoj insekticidom, usvojiće insekticid pre nego što prenese virus. Na taj način će pre uginuti nego što prenese virus. Poseban efekat insekticidi imaju kod sprečavanja prenošenja VULKr sa zaraženih na zdrave biljke unutar useva semenskog krompira. Taj efekat je sličan onome kod sprečavanja prenošenja Y-VKr sa zaraženih na zdrave biljke krompira unutar useva semenskog krompira.

Efikasnost sistemskih insekticida u sprečavanju širenja VULKr potvrđuju i mnogi istraživači koji su se bavili ovom problematikom, preporučujući njihovu primenu u proizvodnji semenskog krompira (Fernow and Kerr, 1953; Broadbent et al., 1956; Gabriel, 1988; Rasocha and Trnkova, 1988; Beukema and van der Zaag, 1990). Prema Peters-u (1987) primena insekticida može biti efikasna u sprečavanju širenja VULKr sa biljke na biljku u usevu, a manje efikasna u sprečavanju širenja VULKr sa zaraženih biljaka iz useva na zdrave biljke u drugom usevu. Hooker (1986) radi kontrole, odnosno suzbijanja VULKr preporučuje primenu sistemskih insekticida.

Primena mineralnih ulja. Primena mineralnih ulja ima efekta na sprečavanja prenošenja Y-VKr (Dedić, 1986; Radcliffe, 2006). Istraživanja kod nas, u uslovima visokog infekcijskog pritiska (Milošević, 1996a) pokazuju da sedmodnevna primena 3% emulzije ulja ima efekta ali da ona ne može obezbediti zaštitu semenskog useva na tom nivou da zaraza bude u tolerantnim granicama za određenu katego-

riju. Dakle, ova mera može imati puni efekat samo ako je semenska proizvodnja locirana u uslovima nižeg infekcijskog pritiska.

Orijentacija semenskih useva u odnosu na polja pod krompirom. Orijentacija polja pod semenskim krompirom treba da je takva da najčešći vetrovi duvaju od semenskog useva više kategorije (zdravijeg) ka usevu niže kategorije. Ako vetar duva preko useva niže kategorije (sa većim dozvoljenim procentom virusima zaraženih biljaka) ka semenskom usevu više kategorije (manji procenat virusnih biljaka), prenosi sa zaraženog useva vaši koje nose virus prema zdravijem usevu, što povećava rizik od prenošenja virusa i zaraze zdravih biljaka.

Monitoring krilatih formi biljnih vaši. Utvrđeno je da postoji pozitivna korelacija između brojnosti uhvaćenih krilatih formi biljnih vaši u usevu krompira i stepena zaražavanja biljaka krompira Y-VKr i VULKr (van Harten, 1983; Sigvald, 1990; Basky, 2002, 2006), odnosno brojnosti *Myzus persicae* i % infekcije biljaka VULKr (Nanafi et al., 1989). S obzirom na tu činjenicu vrši se i praćenje vremena pojave, brojnosti i vrsta biljnih vaši. Zato ranije uništavanje cime obezbeđuje zdravije krtola semenskog krompira (Mnari et al., 1999).

Pojava većeg broja biljnih vaši je signal da treba prekidati vegetaciju kako bi se smanjio rizik od infekcije biljaka virusima. Međutim, i u slučaju da biljna vaš prenese virus sa izvora infekcije na zdravu biljku imamo još vremena u zavisnosti od starosti biljke u vreme zaraze (Beemster, 1987) da sprečimo da virus iz nadzemnog dela dospe do krtola i tako poveća procenat zaraženih krtola.

Starije biljke su manje osetljive na virusnu infekciju (starosna otpornost) pa je i translokacija virusa iz lista do krtola sporija (Sigvald, 1985; Beemster, 1987). Tako da se kasnijim infekcijama smanjuje procenat zaražavanja krtola i obrnuto.

Za biljne vaši je atraktivna boja koja reflektuje svetlost spektra 500–700 nm te se u tu svrhu koriste žute lovne posude za praćenje leta biljnih vaši (Moe-riche, 1955). Praćenje brojnosti i vrsta biljnih vaši vrši se pomoću usisnog sistema (suction trap, ST) i žutim lovnim posudama (yellow pan traps, YPT) (Turl, 1983; Kostiw, 1999; Stufenks et al., 2000; King et al., 2004; Petrović-Obradović i sar., 2006, Vučetić i sar., 2013). Određuje se pik leta i dominantne vrste. Na bazi kritičnog broja i efikasnosti vrsta vašiju u prenošenju virusa stižu se, sa tog aspekta, uslovi da se donese odluka o prekidu vegetacije (Kirchner et al., 2009).

Monitoring biljnih vaši ima smisla samo u uređenom semenarstvu krompira. Na žalost takva mera u našim uslovima, za sada, nema nikakvog

pozitivnog efekta. U Srbiji je dozvoljena proizvodnja „semenskog“ krompira u uslovima visokog infekcijskog pritiska. U takvim uslovima se ostvaruje masovna zaraza „semenskih useva“ krompira na početku vegetacije što se nesporno odražava na masovno zaražavanje biljaka, a samim tim i krtola. U toj fazi zaraze biljaka Y-VKr^N virus se brže translocira u krtola. To je jedan od ključnih razloga što desikacija nema ili ima vrlo mali efekat ako se semenski krompir uzgaja u uslovima visokog infekcijskog pritiska bez obzira na eventualni monitoring biljnih vaši. Praktično, u takvim lokalitetima i ne treba dozvoliti zasnivanje proizvodnje semenskog krompira. Kod kasnije inficiranih biljaka u vegetaciji Y-VKr i VULKr manji je procenat zaraženih krtola u odnosu na ranije inficirane biljke u vegetaciji (Beemster, 1976, 1987; Sigvald, 1985; Gibson, 1991).

Kakav je efekat monitoringa biljnih vaši u lokalitetima gde je jedino moguće u Srbiji proizvesti semenski krompir? Zasnivanje semenskih useva u, npr. Sjenici i okolini se obavlja od 10. maja do kraja juna. Desikacija radi mogućnosti vađenja krtola počinje početkom septembra, a završava se početkom oktobra. I u ovakvim okolnostima zbog pogoršanja vremena nekada na desetina hektara semenskog krompira ostane nepovađeno – propadne. Dakle, ovde nema prostora za praćenje leta biljnih vaši da bi se, na bazi toga, vršio prekid vegetacije (Milošević, 2006). Slična situacija je sa sadnjom i vađenjem krompira na Vlasini, Kopaoniku i drugim područjima (lična komunikacija sa proizvođačima semenskog krompira u Srbiji).

Da bi se obavilo vađenje krompira na vreme bez rizika da, kao što se često dešava, ostanu nepovađene velike površine zbog loših vremenskih prilika, mora se na vreme obaviti desikacija semenskih useva. S obzirom na skraćen vegetacioni period i nužnost vađenja krtola sa dozrelom pokožicom, neophodno je izvršiti uništavanje cime najmanje 15 dana pre početka vađenja krtola. Dakle, u takvim lokalitetima praćenje brojnosti vaši radi eventualnog prekida vegetacije ne bi generalno imalo smisla, osim ako se dugogodišnjim istraživanjima utvrdi drugačije (Milošević, 2006).

Ako pratimo brojnost biljnih vaši u regionima visokog infekcijskog pritiska virusima, gde se, na žalost proizvodi „semenski“ krompir, praćenje leta (brojnosti) vaši nema nikakvog efekta. Zašto? Zato što je prisutan brojna izvor zaraze u okruženju pa se zaraza preko dozvoljene granice ostvari na samom početku vegetacije. Iskustva pokazuju da je u lokalitetima gde je vršeno praćenje leta biljnih vaši kod nas, nemoguće proizvesti semenski krompir bez obzira na primenjene mere u zaštiti od zaraze

virusima (Guča i Čačak) (Petrović-Obradović i sar., 2006).

Da bi se sprečilo prenošenje virusa u toku vegetacije moraju se preduzeti neke druge mere koje će to sprečiti (Sigvald and Hulle, 2004) kao što su sadnja bezvirusnog semenskog krompira, lociranje useva semenskog krompira u posebne regione – lokalitete, ranija sadnja naklijalog krompira, podesiti period uzgoja sa manje vektora, primena mineralnih ulja, primena insekticida u nekim slučajevima, uklanjanje zaraženih biljaka rano u vegetaciji, uništavanje cime pre nego što virus zarazi krtola i prognoza virusa pre zaraze krtola i dr.

Da bi praćenje vremena pojave, brojnosti i vrsta krilatih formi biljnih vaši u cilju unapređenja semenarstva krompira imalo efekta, moraju se preduzeti sledeće mere:

1. Celokupna proizvodnja semenskog krompira može biti locirana isključivo u lokalitetima niskog infekcijskog pritiska virusima da bi ova mera imala efekta;

2. Za svaki lokalitet – područje, gde je locirana proizvodnja semenskog krompira ispitati efekat praćenja biljnih vaši i mogućnosti prekida vegetacije;

3. Sakupljanje vaši ne mogu vršiti proizvođači već stručna ustanova sa obučanim ljudima za determinaciju vrsta biljnih vaši;

4. Država, odnosno Ministarstvo poljoprivrede, treba da organizuje posao oko praćenja brojnosti i vrsta biljnih vaši kada se za to steknu uslovi;

5. Isključiti lokalitete gde je jednogodišnja zaraza veća od 30, 40, čak i 50%, jer u takvim uslovima niti jedna niti kompleks mera može suzbiti zarazu virusima, a praćenje brojnosti i vrsta vaši predstavlja samo trošak koji daje negativan efekat.

Prevreteni prekid vegetacije. Prevreteni prekid vegetacije se vrši na bazi prognoze mogućeg zaražavanja krtola semenskog krompira. Zaraza biljaka se ostvaruje preko vektora virusa – biljnih vaši. Virus se u biljci, nakon infekcije, umnoži u svim delovima biljke i iz zaraženog lista biljke, posle određenog vremena, prelazi i zaražava krtola. Dužina perioda translokacije virusa iz lišća do krtola zavisi od virusa, sorte krompira, vremena infekcije u odnosu na period vegetacije (ranije ili kasnije u vegetaciji) i sl. Činjenica je da je pri ranoj zarazi u vegetaciji taj period kraći, a u kasnijoj zarazi duži. Prema nekim podacima najbrže se translocira YVKn^N koji je i najrašireniji i virus koji se najintenzivnije širi u polju.

U slučaju da se u određenom području pojavi intenzivan let vaši kada je usev krompira u odmakloj fazi vegetacije, odnosno kada je formiran optimalan broj krtola po broju i veličini, radi sprečavanja infek-

cije i translokacije virusa u krtola predlaže se prevremeni prekid vegetacije. Da bi proizvedene krtola semenskog krompira pripadale određenoj kategoriji, odnosno, da zaraza krtola ne bi bila veća od dozvoljene preporučuje se prevremeno uništavanje nadzemne mase. Skraćanjem perioda vegetacije smanjuje se rizik od primarnih zaraza biljaka i translokacije virusa do krtola i njihove zaraze. U tom slučaju ranije ostvarene zaraze virusima (nekoliko dana pred desikaciju) neće uspeti da zaraze krtola.

Uništavanje nadzemne mase krompira, cime, može se obaviti na dva načina: mehanički i hemijski. Mehanički način uništavanja cime se izvodi tarupiranjem, čupanjem cime i sl. Tarupiranje se vrši mašinom sa rotirajućim noževima na vertikalnoj ili horizontalnoj osovinu, tarupom. Hemijsko uništavanje cime se vrši odgovarajućim hemijskim sredstvima, herbicidima, desikantima. Preporučena količina preparata herbicida može biti primenjena jednokratno ili u split aplikaciji (podeljena količina preparata primenjena u razmaku od nekoliko dana). Primena desikanta je bolja u split aplikaciji zbog eventualnog oštećenja krtola nekih sorti osetljivih na nagli prekid vegetacije.

Za desikaciju krompira se mogu koristiti preparati na bazi herbicida dikvat i glufosinat-amonijum. Glufosinat-amonijum (Basta-15, Finale-15, 2,5-3,5 l/ha /150 g/l a.m./) i dikvat-dihlorid (Reglone forte, Didikvat, 4-5 l/ha /150, odnosno 140 g/l a.m./).

Poljski pregled useva semenskog krompira.

Poljski pregledi semenskih useva se zasnivaju na vizuelnoj metodi utvrđivanja prisustva viroza i drugih bolesti koje su ograničavajući činilac kategorizacije semenskog krompira. Da bi se poljskim pregledima utvrdilo stvarno stanje zaraženosti biljaka virusima i time uticalo na kvalitet proizvedenog semenskog krompira u pogledu stepena zaraze virusima mora se prethodno ispuniti nekoliko uslova:

1. Stručnjaci koji vrše pregled useva (aproba-ciju) moraju poznavati simptome koje prouzrokuju pojedini virusi, odnosno sojevi virusa. Zato bi bilo neophodno da svi oni koji vrše kontrolu proizvodnje, poljske preglede, a koje angažuje država, periodično prođu kratak kurs i obnove znanja iz ove oblasti.

2. Poljski pregledi moraju biti izvedeni u vreme kada se najbolje uočavaju simptomi zaraze. Prvi pregled je u fazi intenzivnog porasta, a drugi pregled najkasnije do faze cvetanja. Ukoliko se u prvom pregledu uoči prisustvo bolesnih biljaka u procentu većem od dozvoljenog, usev se odbija odnosno ne priznaje kao semenski. Ukoliko se utvrdi u prvom pregledu da je u semenskom usevu prisutan manji broj zaraženih biljaka od maksimalno dozvoljenog,

proizvođaču se nalaže da do drugog pregleda očisti usev, odnosno eliminiše sve vidljivo bolesne biljke. Proizvođač treba to da uradi iako procenat vidljivo zaraženih biljaka ne prelazi dozvoljeni procenat bolesnih biljaka u usevu. Ovim se uklanja unutrašnji izvori zaraze koji mogu da povećaju zarazu krtola preko dozvoljene, a koja će tek biti otkrivena u posttestu (Milošević, 2009).

Postkontrola. U cilju sprečavanja širenja virusa sadnim materijalom i proizvodnje kvalitetnog semenskog krompira vrši se postkontrola, odnosno post test proizvedenih krtola na viruse. Poljskim pregledima se uglavnom utvrđuje stepen sekundarne zaraze biljaka (zaražene biljke poreklom od sađenih zaraženih krtola). Zbog toga je neophodno utvrditi stvarno zdravstveno stanje proizvedenog semenskog krompira neposredno po vađenju. Danas se posttest izvodi testiranjem dobijenih biljaka iz okaca ELISA testom na ekonomski najznačajnije viruse krompira. Kvalitetno urađen test na viruse doprinosi suzbijanju širenja virusa krompira.

Centralno kontrolno polje. Kontrolno polje predstavlja javno predstavljene rezultate rada proizvodnje semenskog krompira od strane proizvođača, a posebno od strane ustanova koje su vršile poljske preglede, odnosno postkontrolu. Da bismo dobili pravu sliku o kvalitetu proizvedenog semenskog krompira u toku prethodne godine, a posebno sliku o kvalitetno urađenom post testu, Uprava za zaštitu bilja pri Ministarstvu poljoprivrede koja je nadležna za semenarstvo krompira treba da organizuje sađenje duplikata uzetih uzoraka za postkontrolu. Ovo bi imalo uticaj na rad i kriterijume aprobatara, onih koji vrše postkontrolu (post test) i proizvođača semenskog krompira. Ovakav način rada bi izuzetno podsticao kvalitet, što je u ovoj oblasti nezamislivo, a državi Srbiji je potrebno radi unapređenja proizvodnje semenskog krompira. To treba da bude stalni projekat Ministarstva poljoprivrede.

ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata istraživanja rasprostranjenosti, brzine širenja, štetnosti i mogućnosti suzbijanja virusa krompira kod nas i u svetu mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Virusi krompira u Srbiji i državama regiona su stalni ekonomski najštetniji prouzrokovaci bolesti krompira;

2. S obzirom na njihovu rasprostranjenost i brzinu širenja, može se konstatovati epidemija Y virusa krompira.

3. Najrasprostranjeniji virusi krompira kod nas i državama regiona su, na prvom mestu Y-VKr, a slede VULKr i S-VKr;

4. Virusi krompira su u Srbiji najveći uzročnici niskih prinosa što je posledica akumulacije virusa u krtolama koje se koriste kao sadni materijal;

5. Virusi krompira su ograničavajući čini-lac proizvodnje kvalitetnog semenskog krompira u količinama koje su potrebne Srbiji, a za zasnivanje proizvodnje konzumnog krompira;

6. Suzbijanje virusa krompira je složen posao koji se ostvaruje kroz sistem integralnih mera sa jasno utvrđenim redosledom;

7. U uslovima visokog infekcijskog pritiska virusima kakvi su kod nas, izbegavanje izvora zaraze virusima i dislociranje proizvodnje semenskog krompira u planinska područja, predstavljaju osnovne mere suzbijanja virusa.

ZAHVALNICA

Ova istraživanja su rezultati projekta TR31043 – Proučavanje biljnih patogena, artropoda, korova i pesticida u cilju razvoja metoda bioracionalne zaštite bilja i proizvodnje bezbedne hrane, koji finansira Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije.

LITERATURA

- Avila, A.C., Melo, P.E., Leite, L.R., Inoue-Nagata, A.K. (2009): Ocorrência de virus em batata sete estados do Brasil. *Horticultura Brasileira* /online/, 27(4): 490-497.
- Basky, Z. (2002): The relationship between aphid dynamics and two prominent potato viruses (PVY and PLRV) in seed potatoes in Hungary. *Crop Protection*, 21(9): 823-827.
- Basky, Z. (2006): Cumulative vector intensity and seed potato virus infection in Hungary. *International Journal of Horticultural Science*, 12(4): 61-64.
- Beczner, L.J., Horwath, J., Romhanyi, I., Forster, H. (1984): Studies on the etiology of tuber necrotic ringspot disease in potato. *Potato Research*, 27: 339-352.
- Bem, F., Varveri, C. (1999): First report of occurrence of potato tuber necrotic ringspot disease in Greece. *Plant Disease*, 83: 488.
- Beemster, A.B.R. (1976): Translocation of the potato viruses Y^N and Y^O in some potato varieties. *Potato Research*, 19: 169-172.
- Beemster, A.B.R. (1987): Virus translocation and mature-plant resistance in potato plants. In: *Viruses of Potatoes and Seed Potato Production* (De Bokx J.A., van der Want, J.P.H., eds.), Pudoc, Wageningen, pp. 116-125.
- Beukema, H.P., van der Zaag, D.E. (1990): Introduction to Potato Production. Pudoc, Wageningen, pp. 1-208.
- Bostan, H., Haliloglu, K. (2004): Distribution of PLRV, PVS, PVX and PVY (PVY^N, PVY^O and PVY^C) in the seed potato tubers in Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7: 114-1143.
- Bostan, H., Guclu, C., Ozturk, E., Ozdemir, I., Ilbagi, H. (2006): Influence of aphids on the epidemiology of potato viruses diseases (PVY, PVS and PLRV) in the high altitude areas of Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(4): 759-765.
- Boukhris, S.B., Rouze, J.J., Souissi, R., Glais, L., Hule, M. (2011): Transmission efficiency of the strain PVY^{NTN} by commonly captured aphids in Tunisian potato fields. *Plant Pathology Journal*, 10: 22-28.
- Broadbent, L., Burt, P.E., Heathcote, G.D. (1956): The control of potato virus diseases by insecticides. *Annals of Applied Biology*, 44: 256-273.
- Buturović, D., Kus, M. (1990): The occurrence of potato ring tuber necrotic disease in Yugoslavia. *Potato Research*, 33: 138.
- Buturović, D., Milošević, D. (1988a): Jugoslovenska bibliografija krompira. *Semenarstvo*, 4-5: 127-162.
- Buturović, D., Milošević, D. (1988b): Osvrt na naučno istraživački rad o krompiru u Jugoslaviji (1901-1988). *Semenarstvo*, 4-5: 108-125.
- Chatzivassiliou, E.K., Moschos, E., Gazi, S., Koutretsis, P., Tsoukaki, M. (2008): Infection of potato crops and seed with potato virus Y and potato leafroll virus in Greece. *Journal of Plant Pathology*, 90(2): 253-261.
- Chrzanowska, M. (1991): New isolates of the necrotic strain of potato virus Y (PVY^N) found recently in Poland. *Potato Research* 34(2): 179-182.
- Chrzanowska, M., Doroszewska, T. (2004): Biological differentiation of pvY strains found in potato and tobacco in Poland. *Proceedings 12th EAPR Virology Section Meeting, Rennes, France*, p. 44.

- Cloyd, R.A., Sadof, C.S. (1998): Aphids: biology and management. *Floriculture Indiana*, 12(2): 3-7.
- De Bokx, J.A. (1987): Biological properties. In: *Viruses of Potatoes and Seed Potato Production* (De Bokx J.A., van der Want, J.P.H., eds.), Pudoc, Wageningen, pp. 58-82.
- De Bokx, J.A., Piron, P.G.M. (1977): Effects of temperature on symptom expression and relative virus concentration in potato plants infected with potato virus Y^N and Y^O. *Potato Research*, 20: 207-213.
- De Bokx, J.A., Piron, P.G.M. (1990): Relative efficiency of a number of aphid species in the transmission of potato virus Y^N in the Netherlands. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 96: 237-246.
- Dedič, P. (1986): Ochrana proti šireni neperzistentnih viru u bramboru pomoci mineralniho oleje Albolineum. *Vedecke prace VŠUB v Havličkově Brode*, 10: 101-108.
- Đekić, I., Bulajić, A., Ivanović, M., Vučurović, A., Krstić, B. (2008): Tomato spotted wilt virus – detekcija u krompiru. *Zbornik rezimea IX savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor*, str. 75-76.
- Fernow, K.H., Kerr, S.H. (1953): Leafroll control by insecticides. *American Potato Journal*, 30: 187-196.
- Flanders, K.L., Radcliffe, E.B., Ragsdale D.W. (1991): Potato leaf roll virus spread in relation to densities of Green peach aphid (Homoptera: Aphididae). Implication for management threshold for Minnesota seed potatoes. *Journal of Economic Entomology*, 84: 1028-1036.
- Gabriel, W. (1988): Metodické osnov semenovodstva kartofelja. U: *KARTOFELJ: Selekcija, semenovodstvo, tehnologija uzdeljivanja* (Aljmsnik P.I. et al., eds.), Izdateljstvo Uraždaj, Minsk, str. 172-204.
- Gabriel, W., Szulc, J., Wislocka, M. (1982): Influence de la distance des sources d'infection sur l'effect de traitements a l'aide d'insecticides systemiques sur la propagation des virus Y et M de la pomme de terre. *Potato Research*, 25: 1-11.
- Gavran, M. (1996): Distribution of potato viruses in Yugoslavia. *Proceedings of the First Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes*, Belgrade, Serbia, pp. 929-935.
- Gavran-Starović, M. (1999): Osetljivost nekih modifikacija enzimskog imunoadsorpcionog testa (ELISA) u dokazivanju Y virusa krompira. *Zaštita bilja*, 228: 95-104.
- Gibson, R.W. (1991): The development of mature plant resistance in four potato cultivars against aphid-inoculated potato virus Y^O and Y^N in four potato cultivars. *Potato Research*, 34: 205-210.
- Gibson, R.W., Cayley, G.R. (1984): Improved control of potato virus Y by mineral oil plus the pyrethroid cypermethrin applied electrostatically. *Crop Protection*, 3: 469-478.
- Harrington, R., Gibson, R.W. (1989): Transmission of potato virus Y by aphids trapped in potato crops in southern England. *Potato Research*, 32: 167-174.
- Harrington, R., Katis, N., Gibson, R.W. (1986): Field assessment of the relative importance of different aphid species in the transmission of potato virus Y. *Potato Research*, 29: 67-76.
- Hooker, W.J. (1986): *Compendium of Potato Diseases*. American Phytopathological Society, pp. 1-115.
- Hooks, C.R., Fereres, A. (2006): Protecting crop from non-persistently aphid-transmitted viruses: A review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Research*, 120: 1-16.

- Horvath, S., Wolf, I. (1999): Virological problems of potato production in Hungary. Abstracts of 14th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Sorento, Italy, pp. 383-384.
- Jasnić, S., Milošević, D., Bagi, F. (2003): Virusi paraziti semena. Biljni lekar, 6: 610-621.
- Katis, N., Gibson, R.W. (1985): Transmission of potato virus Y by cereal sphids. Potato Research, 28(1): 65-70.
- Khouadja, F.D., Rouzé-Jouan, J., Gauthier, J.P., Bouhachem, S., Marrakchi, M., Fakhfakh, H. (2004): Transmission efficiency of Tunisian *Potato leaf-roll virus* isolates by Tunisian clones of the *Myzus persicae* complex (Hemiptera: Aphididae). Boletín De Sanidad Vegetal Plagas, 30: 47-55.
- King, L., Fox, A., Browning, I., Pickup, J. (2004): Aphid transmission of the potato viruses PVY^O and PVY^N. Proceedings of the 12th EAPR Virology Section Meeting, Rennes, France, p. 18.
- Kirchner, S.M., Hiltunen, L., Virtanen, E., Döring, T.F., Valkonen, J.P.T. (2009): Potato virus Y transmitting aphids in a Finnish seed potato area. Abstracts 8th International Symposium on Aphids, Catania, Italy, , p. 167.
- Kostiw, M. (1974): Some results on the transmission of potato viruses Y and M by aphids. Abstracts Virology Section Meeting EAPR -, Potato Research, 18: 149.
- Kostiw, M. (1975): Investigation on the retention of potato viruses M and Y in two species of aphids (*Myzus persicae* Sulz. and *Aphis nasturtii* Kalt.). Potato Research, 18(4): 637-640.
- Kostiw, M. (1979): Transmission of potato virus Y by *Rhopalosiphum padi* L. Potato Research, 22: 237-238.
- Kostiw, M. (1991): Influence of the duration of acquisition and inoculation feeding on the effectiveness of potato leafroll virus transmission by *Myzus persicae* Sulz. Potato Research, 34: 41-45.
- Kostiw, M. (1999): Aphid monitoring at potato crops in Poland. Proceedings of the 14th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Sorento, Italy, pp. 563-564.
- Kotzampigikis, A., Hristova, D., Tosheva-Terzieva, E. (2008): Distribution of potato leafroll virus – (PLRV) and potato virus Y – (PVY^N) in a field experiment. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 14(1): 56-67.
- Kus, M., Hočevár, J. (1977): Problems in seed potato growing in Slovenia. Meeting of the Virology Section of the EAPR - Potato Research, 20: 346.
- McDonalds, J.G., Sing, R.P. (1993): Assessment of North American isolates of PVY^N for strains that induce tuber ring necrosis disease. American Potato Journal, 70: 827.
- Milošević, D. (1989): Rasprostranjenost nekih virusa krompira u području Zapadne Srbije. Zaštita bilja, 40(3), 189: 367-374.
- Milošević, D. (1991): Rasprostranjenost virusa crtičastog mozaika u nekim sortama i hibridima krompira na području Guče. Zbornik radova Poljoprivredi fakultet, Beograd, str. 39-59.
- Milošević, D. (1992): Nekrotični soj Y virusa (PVY^N) i njegov značaj u proizvodnji sjemenskog krompira. Zbornik radova Jugoslovenskog savetovanja o krompiru, Guča, str. 87-90.
- Milošević, D. (1992a): The occurrence of the necrotic strain of potato virus Y (PVY^N) in some localities in Serbia. Zaštita bilja, 43(3), 201: 197-202.
- Milošević, D. (1992b): Odnos inteziteta širenja virusa uvijenosti lišća i Y virusa krompira u prvoj godini ekspozicije zdravih biljaka prirodnoj zarazi. Zbornik rezimea 9. jugoslovenskog simpozijuma o zaštiti bilja, Vrnjačka

Banja, str. 34.

Milošević, D. (1994): Pručavanje pojave i uzročnika prstenaste nekroze krtola krompira. U: Zaštita bilja – danas i sutra, Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd, str. 187–196.

Milošević, D. (1995): Rasprostranjenost i štetnost virusa krompira u Jugoslaviji. Biljni lekar, 6: 633–637.

Milošević, D. (1995a): The intensity of spreading of potato viruses in some localities in Yugoslavia. Proceedings of the 9th EAPR Virology Section Meeting, Bled, Slovenia, p. 173.

Milošević, D. (1996): Uticaj lokaliteta i načina prenošenja na intezitet širenja nekih virusa krompira. Zaštita bilja, 47(3), 217: 205–218.

Milošević, D. (1996a): Efikasnost ulja i insekticida u zaštiti biljaka krompira od zaraze Y i virusom uvijenosti lišća krompira (Y-VKr i VULKr). Zaštita bilja, 47(4), 218: 333–342.

Milošević, D. (1997): Some experience in the identification of “*poty*” potato viruses by ELISA. Acta Agriculturae Serbica, 2(3): 11–18.

Milošević, D. (1998): Bolesti krompira sa osnovama semenarstva. Izdavačka kuća „Draganić“ i Institut „Srbija“, Beograd, str. 1–273.

Milošević, D. (1998a): Značaj brdsko-planinskih područja Jugoslavije u proizvodnji sjemenskog krompira. In: international conference TEMPO-HP ‘98 – Savremena poljoprivreda, vanredni broj: 65–71.

Milošević, D. (2000): Stanje i perspektive proizvodnje semenskog krompira u Jugoslaviji. Arhiv za poljoprivredne nauke, 61(215): 5–27.

Milošević, D. (2002): Uticaj pojedinačne i mešane zaraze izolatima Y virusa krompira (Y-VKr) na ispoljavanje simptoma na lišću i krtolama sorte Romano. Zbornik rezimea XII simpozijuma o zaštiti bilja, Zlatibor, str. 71.

Milošević, D. (2006): Mogućnost praćenja leta i suzbijanja biljnih vaši kao vektora važnijih virusa radi sprečavanja njihovog prenošenja u procesu proizvodnje semenskog krompira. Zbornik rezimea VIII savetovanja o zaštiti bilja, str. 73–74.

Milošević, D. (2008): Zaštita krompira od prouzrokovala bolesti u procesu proizvodnje sadnog materijala. Zbornik rezimea 5. simpozijuma o zaštiti bilja u B i H. Sarajevo, str. 34–35.

Milošević, D. (2009a): Virusi kao limitirajući činioci proizvodnje semenskog krompira u državama regiona – stanje i mogućnost suzbijanja. Zbornik rezimea 6. simpozijuma o zaštiti bilja u BiH, Tuzla, str. 34–35.

Milošević, D., Domanović, M. (1989): Mogućnosti i problemi primjene serološke (ELISA) i vizuelne dijagnostike virusa uvijenosti lišća krompira u klonskoj selekciji. Zaštita bilja, 188: 181–186.

Milošević, D., Stoilković, B. (1989): Uticaj zaraženosti sadnog materijala krompira važnijim virusima i količina upotrebljenih mineralnih đubriva na prinos krompira. Savremena poljoprivreda, 37(5–6): 255–262.

Milošević, D., Stoilković, B. (1991): Uticaj višegodišnjeg umnožavanja krtola u uslovima visokog infekcijskog pritiska na stepen izrodavanja krompira. Savremena poljoprivreda, 5:19–24.

Milošević, D., Petrović, O. (1996): A study of aphid flight activity (Homoptera, *Aphididae*), potential vectors of potato viruses. Acta Horticulturae, 462: 999–1006.

Milošević, D., Bratić, M. (2000): Proizvodnja bezvirusnog i osnovnog semenskog krompira u Jugoslaviji – stanje i mogućnosti. Arhiv za poljoprivredne nauke, 61(215): 115–130.

- Milošević, D., Petrović, D. (2000): Virusne bolesti i proizvodnja semenskog krompira. Zbornik rezimea Naučno-stručnog savjetovanja agronoma Republike Srpske sa međunarodnim učešćem. Teslić, BiH, str. 59-60.
- Milošević, D., Bugarčić, Ž. (2005): Uticaj nekih činilaca na zdravstveno stanje sadnog materijala i ukupnu proizvodnju krompira u Srbiji. Traktori i pogonske mašine, 10(2): 138-148.
- Milošević, D., Bročić, Z., Đalović, I. (2008a): Osetljivost nekih sorti krompira prema prstenastoj nekrozi krtola. Zbornik rezimea IX savetovanja o zaštiti bilja. Zlatibor, str. 77.
- Milošević, D., Bugarčić, Ž., Ivanović, M., Ivanović, M. (2007): Upravljanje zdravstvenim stanjem semenskog krompira. Zbornik rezimea XIII simpozijuma sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, str. 26-28.
- Milošević, D., Čakarević, V., Vasiljević, Z. (1997): Reakcija nekih sorti krompira na zarazu Y virusom, Y-VKr (Potato virus Y, PVY). Zbornik rezimea Trećeg jugoslovenskog savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor, str. 107.
- Milošević, D., Milinković, M., Bošković, T. (1997a): Proizvodnja bezvirusnog semenskog krompira kulturom tkiva u Jugoslaviji. Selekcija i semenarstvo, 3-4: 121-124.
- Milošević, D., Čakarević, V., Bošković, T. (1998): Bolesti semenskog krompira i njihovo suzbijanje. Biljni lekar, 2: 139-147.
- Milošević, D., Dulić-Marković, I., Čuljković, B., Romac, S. (1998a): Primena metode lančane polimerizacije (PCR) za unapređenje dijagnostike Y virusa (PVY). Zbornik rezimea IV jugoslovenskog kongresa o zaštiti bilja, Vrnjačka Banja, str. 33.
- Milošević, D., Ivanović, M., Janjić, V., Perić, I., Jasnić, S. (2000): Zaštita krompira od bolesti, štetočina i korova. Arhiv za poljoprivredne nauke, 61(215): 73-99.
- Milošević, D., Đalović, I., Bugarčić, Ž. (2008): Značaj sadnog materijala u cilju povećanja proizvodnje krompira. Agroznanje, 8(4): 110-126.
- Milošević, D., Bročić, Z., Staletić, M. (2011): Osetljivost novih introdukovanih sorti krompira prema prstenastoj nekrozi krtola. XI Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, 28.11-2.12.2011. Zbornik rezimea, str. 82-83.
- Milošević D., Stamenković S., Perić P. (2012): Potential Use of Insecticides and Mineral Oils for the Control of Transmission of Major Aphid-Transmitted Potato Viruses. Pestic. Phytomed. (Belgrade), 27 (2): 97-106.
- Mnari, H.M., Cherif, M.C., Boudhir, H. and Ezzaier, K. (1999): Evaluation of Tunisian potato seed programm according to Virus epidemiology. Proccedings of the 14th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Sorrento, Italy, pp. 551-552.
- Moericke, V. (1955): Über die Lebensgewohnheiten der geflügelten Blattläuse (Aphididae) Unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens beim Laden. Zeitschrift für Angewandte Entomologie. 37: 29-91.
- Mowry, T.M. (2005): Insecticidal reduction of Potato leafroll virus transmission by *Myzus persicae*. Annals of Applied Biology, 146: 81-88.
- Nanafi, A., Radcliffe, E.B., Ragsdale, D.W. (1989): Spread and control of potato leafroll virus in Minnesota. Journal of Economic Entomology, 82(4): 1201-1206.
- Notle, P., Alvarez, J.M. and Whitworth, J.L. (2009): Potato virus Y Managment for the Seed Potato Production. University of Idaho, pp. 1-8.

- Peters, D. (1987): Control of virus spread. In: Virus of Potatoes and Seed Potato Production (de Bokx, J.A., van der Want, J.P.H., eds.), Pudoc, Wageningen, pp. 171-174.
- Peters, D. (1987a): Spread of viruses in potato crops. In: Virus of Potatoes and Seed Potato Production (de Bokx, J.A., van der Want, J.P.H., eds.), Pudoc, Wageningen, pp. 126-145.
- Petrović-Obradović, O., Vučetić, A., Knežević, T., Živković, Lj., Pantelić, M. (2006): Uspostavljanje sistema praćenja leta biljnih vašiju u usevima semenskog krompira. Zbornik rezimea VIII savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor, str. 84-85.
- Piron, P.G.M. (1986): New aphid vectors of potato virus Y^N. Netherlands Journal of Plant Pathology, 92: 223-229.
- Racchah, B. (1986): Nonpersistent viruses: epidemiology and control. Advances in Virus Research, 31: 387-429.
- Radcliffe, E.B. (2006): Use of non-chemical alternatives to synthetic pesticides in maintaining plant health in a clonally propagated crop: potato. Arab Journal of Plant Protection. 42: 170-173.
- Raman, K.V. (1985): Transmission of potato viruses by aphids. Third edition. Technical information Bulletin 2. International Potato Center, Lima, Peru, pp. 1-23.
- Ranković M., Vuksanović S., Milošević, D. (1985): Primena ELISA tehnike u proizvodnji bezvirusnog semenskog krompira. Zbornik radova Zavoda za krompir, Guča, 4-5: 73-80.
- Rasocha, V. and Trnkova, J. (1988): Učinnost vybraných postřikových insecticide v ochrane proti vektorům viroz brambor. Rostlina výroba, 34: 1087-1094.
- Ružić, Đ., Milinković, M., Milošević, D. (1997): In vitro propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). Acta Horticulturae, 462: 959-962.
- Schiessendoppler, E. (1990): PVY as causal agent of tuber necrotic ring disease. Proceedings of the 11th triennial Conference of the European Association for Potato research, Edinburgh, pp. 194-195.
- Sigvald, R. (1984): The relative efficiency of some aphid species as vector of potato virus Y^o (PVY^o). Potato Research, 27: 285-290.
- Sigvald, R. (1985): Mature-plant resistance of potato plants against potato virus Y^o (PVY^o). Potato Research, 28: 135-143.
- Sigvald, R. (1990): Aphids on potato foliage in Sweden and their importance as vectors of potato virus Y^o. Acta Agriculturae Scandinavica, 40: 53-58.
- Sigvald, R., Hulle, M. (2004): Aphid-vector management in seed potatoes: monitoring and forecasting. Abstracts 12th EAPR Virology Section Meeting, Rennes, France, pp. 8-11.
- Sing, R.P. (2004): The emergence and spread of PVY^N (strain and variants) in North America. Abstracts 12th EAPR Virology Section Meeting, Rennes, France, p. 3.
- Smiljanić, A. (1975): Stepen zaraze nekih sorti krompira sa X, S i M virusima. Zbornik radova Zavoda za krompir, Guča, 2-3: 221-226.
- Stufenks, M.A.V., Teulon, D.A.J., Nicol, D., Fletcher, J.D. (2000): Implications of aphid flight patterns for pest management of potatoes. New Zealand Plant Protection, 53: 78-82.
- Šutić, D. (1995): Viroze biljaka. Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd,.

- Thomas, E.P. (1997): Role of green aphid flights in the epidemiology of leaf roll disease in the Columbia. *Plant Disease*, 81(11): 1311-1316.
- Todorović, B., Tošić, M., Nešković, S. (1997): Aucuba mosaic virus on potatoes in Yugoslavia. *Acta Horticulturae*, 462: 353-356.
- Tošić, M., Krstić B., Obradović I. i Milošević D. (1990): ELISA metoda otkriva zajedničke epitope virusnih antigena. *Zaštita bilja*, 41(2), 192: 165-172.
- Turl, L.A.D. (1983): Forecasting potato aphid development in Scotland in relation to seed-potato crop management. *Virology Section Meeting EAPR, Braunschweig, West Germany – Potato Research*, 33: 110-111.
- Valkonen, J.P.T. (2007): Viruses: economical losses and biotechnological potential. In: *Potato Biology and Biotechnology* (Vreugdenhil D., ed.), Elsevier, New York, pp. 619-641.
- Van Harten, A. (1983): The relation between aphid flights and the spread of potato virus Y^N (PVY^N) in the Netherlands. *Potato Research*, 26: 1-15.
- Van Hoof, H.A. (1980): Aphid vectors of potato virus Y^N. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 86: 159-162.
- Van Hoof, H.A. (1977): Determination of the infection pressure of potato virus Y^N. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 83: 123-127.
- Van Toor, R.F., Teulon, D.A.J. (2006): Insecticide practice for aphid control in potatoes. *New Zealand Plant Protection*, 59: 235-241.
- Vučetić A, Vukov T, Jovičić I, Petrović-Obradović, O (2013): Monitoring of aphid flight activities in seed potato crops in Serbia. In: Popov A, Grozeva S, Simov N, Tasheva E (Eds) *Advances in Hemipterology*. *ZooKeys* 319: 333-346.
- Weidemann, H.L. (1988): Importance and control of potato virus Y^N (PVY^N) in seed potato production. *Potato Research*, 31: 85-94.
- Weidemann, H.L. (1993): Nekrotische Ringsymptome an Kartoffelknollen. *Der Kartoffelbau*, 44(8): 308-309.
- Wolf, I., Horváth, S. and Polgár, Z. (1998): Resistance of some Hungarian potato varieties against potato leafroll Luteovirus and the NTN strain of potato Y potyvirus. *Proceedings of EAPR Virology Section Meeting, Baden (Vienna), Austria*, pp. 18-22.
- Woodford, J.A.T. (1992): Virus transmission by aphids in potato crops. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 98(2): 47-54.
- Yayasinghe, U. (1988): Potato leafroll virus. *Technical Information Bulletin*, International Potato Center, CIP. Lima, Peru, 22: 21.
- Zindović, J. (2011): Prisustvo i rasprostranjenost ekonomski značajnijih virusa krompira u Crnoj Gori. *Pesticidi i fitomedicina*, 26(2): 117-127.

(Primljeno: 19. 09. 2013.)

(Prihvaćeno: 05. 11. 2013.)

MAJOR POTATO VIRUSES IN SERBIA AND INTEGRATED CONTROL MEASURES

DRAGO MILOŠEVIĆ

*University of Kragujevac, Faculty of Agronomy, Čačak
dragom@kg.ac.rs*

SUMMARY

Potato viruses are among the most important and dangerous crop pathogens. The high level of virus infection in potato crops in Serbia is responsible for the long-lasting epidemics that will continue to be a constraint to seed potato production for a long period of time. Potato virus Y, PVY i.e. its necrotic strain (PVY^{NTN}) is the most widespread virus in Serbia which causes severest damage to both table-stock and seed potato production in Serbia. This virus is a limiting factor for seed potato production not only in Serbia but also in surrounding countries. In table-stock potato crops, more than 90% of plants are infected with PVY. This PVY infection leads to high yield reductions and almost unsolvable problems in seed potato production. The second largest virus in terms of economic damage is potato leaf roll virus, PLRV. Apart from reducing table-stock potato yields and causing seed potato production problems, potato viruses bring diseases to tubers which make them lose their marketable value. For example, the necrotic strain of potato virus Y (PVY^{NTN}) causes tuber ring necrosis disease in some, primarily sensitive, cultivars, which is an additional problem. During the growing season, viruses are transmitted by aphids in a non-persistent (PVY) or persistent (PLRV) manner. These are important facts essential to establishing an adequate crop protection system involving the use of insecticides to control vectors and ensure protection against virus transmission. In order to resolve potato virosis problems, it is vital to understand the characteristics of virus transmission, mode of transmission from one growing season to another and, in particular, during the season, virus distribution, effects and sequence of measures used to control these two viruses and, hence, other minor viruses. Protection measures involve the production of seed potato within allowable infection levels and its use in table-stock potato production. Given the high infection pressure occurring due to the spread of sources of infection under conditions in Serbia, seed potato crop protection includes a set of strictly sequenced control measures. This is the only way to keep viroses under control and, accordingly, improve seed potato production and, hence, potato production for different purposes.

Key words: potato virus Y, potato leaf roll virus, potato, aphids, virus vectors, integrated virus control measures

(Received: 19. 09. 2013.)

(Accepted: 05. 11. 2013.)

Plant Protection
Vol. 64 (2), N^o 284, 82-89, 2013, Belgrade
Zaštita bilja
Vol. 64 (2), N^o 284, 82-89, 2013, Beograd

UDC: 632.954.025

Scientific paper
Naučni rad

ANSWER OF WEED POPULATIONS AND CROPS TO GLYPHOSATE

DANIJELA PAVLOVIĆ¹, DRAGANA MARISAVLJEVIĆ¹, LJILJANA RADIVOJEVIĆ², BOGDAN NIKOLIĆ¹,
HADI WAISI³, ANA ANĐELKOVIĆ⁴, SANJA ĐUROVIĆ¹

¹Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

²Institute of Pesticides and Environmental Protection, Belgrade

³Institute for the Development of Water Resources "Jaroslav Černi", Belgrade

⁴Scholar of Ministry of Education, Science and Technological Development
of the Republic of Serbia
e-mail: dulekaca@yahoo.com

REZIME

Measuring amount of shikimate and chlorophyll content of hybrids of malze, line of soybean, *C. canadensis* and *L. rigidum* populations were examined after application of 1 kg a.e. ha⁻¹ of the herbicide product TOUCHDOWN[®]. Šactive ingredient: glyphosate trimesium salt (syn. sulfosate), 500 g L⁻¹. Samples collected 2, 4 and 6 day after treatment. Changes in amount of shikimate in treated plants vs control were significant for S plants and nosignificant for R plants. Content of chlorophyll in treated plants were statistically lower vs nontreated plant in every tested populations/lines/hybrids, except in hybrids of malze (differences were not significant).

Key word: weeds, crops, shikimate, chlorophyll

INTRODUCTION

Glyphosate is used mainly for postemergence herbicide control of monocot and dicot weeds in glyphosate resistant crops (GR), in ruderal habitat and stubbles. After expiry of patents in the 90s, glyphosate became a common herbicide manufactured and distributed by several companies (Marsh et al., 2006). Glyphosate causes relatively few ecological and toxicological side effects (Giesy et al., 2000). It binds to 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) enzyme, which consequently inhibits the biosynthesis of the aromatic amino acids – tryptophan, tyrosine and phenylalanine (Siehl, 1997; Feng et al., 2004; Dill et al., 2010). Therefore,

by inhibiting shikimate pathway, synthesis of aromatic amino acids is interrupted. Applied in dosages of about 1 kg a.e. ha⁻¹ or more, glyphosate is a non-selective herbicide. It is taken up by leaves of target plants and is also translocated to plant roots, which enables a systemic activity. Herbicide resistant weeds are having a major impact on world agriculture. Alternatively, ineffectiveness of glyphosate may be due to natural tolerance of larger plants (Wu et al., 2008) and/or environmental conditions (Somerville, 2004).

This paper reports on the evaluation of resistance of Soybean lines, Maize hybrids, *Conyza canadensis* and *Lolium rigidum* populations by shikimate and chlorophyll content methods.

MATERIAL AND METHODS

Experiment was conducted under controlled environmental conditions (temp. 22.8/10.5°C day/night, 54.6% RH, 12:12h period) at the University of Pretoria. Seeds of soybean (GRS, SS), maize (GRM, SM), *C. canadensis* (CC) and *L. rigidum* (LR, LPR, LS) were planted in 1 L pots and placed in greenhouse. Watered every second day and fertilized as needed. Resistant seed of *L. rigidum* (LR) was provided by the Institute for Plant Production, Western Cape, SA. Susceptible (LS) and presumably resistant (LPR) seeds were collected in cereals near the Western Cape. Plants were treated with 1 kg a.e ha⁻¹ TOUCHDOWN®. Active substance: glyphosate trimesium salt, 500 g L⁻¹. Treatments were performed 4 weeks after planting using the indor hand sprayer equipped with an RS-MM 110°/04 nozzles and applying 300 L water per ha at 276 kPa. The experimental design was a full randomization. Samples were collected from sprayed and unsprayed plants, in both varieties 2, 4 and 6 DAT (days after treatment).

Extraction of Shikimate: Plant material was ground using mortar and pestle in liquid nitrogen. About 1.5 g of grounded material was mixed with 10 ml 1M HCl and shaken for 24 h. pH was adjusted with 1M NaOH and 0.1M NaOH to pH = 3.0 - 3.5. Analysis of Shikimate (HPLC) was performed using a method of Mueller et al. (2003). Material extracted as described above was then centrifuged at 15.000 g for 5 min to remove any particulate matter. An aliquot (20 µl) of the supernatant was injected into Water HPLC (Hewlett Packard Agilent 1100 series, DAD (Diode Array Detector), Lune-NH₂, column diameter 5 µl, flow 1 ml min⁻¹).

Extraction of Chlorophyll: Plant material was ground using mortar and pestle in liquid nitrogen. About 0.5 g of grounded material was mixed with 5 ml methanol (in the dark) and analyzed on spectrophotometer (Beckman Coulter, DU 530, Life Science UV/VIS Spectrofotometer). Before the reading of chlorophyll content samples were centrifuged at 1500 rpm. Chlorophyll absorption was measured at wavelenghts of $\lambda=653$ i $\lambda=666$.

Statistical analysis was performed with the SigmaPlot 4.0 software.

RESULTS

A significant amount of shikimate was detected in soybean plants of SS line: on the second day 19,6x, on the fourth day 28,4x and on the sixth day 30,7x more after applying herbicide when compared to the values measured before treatment (Fig. 1). In the GRS line the amount of shikimate was close to the values measured in the control: on the second day 2,3x, on the fourth day 3,9x and on the sixth day 1,9x more than in the control. Based on this, it can be concluded that the GRS line of soybean has reacted mildly to the presence of herbicide, and that on the 6th DAT it has already recovered from the stress recorded on the second and fourth DAT (Fig. 1).

The results recorded for the treated SM maize hybrid plants show an increase in the shikimate amount: 3,2x on the second day, 3,1x on the fourth day and 1,6x on the sixth DAT. Unlike the sensitive hybrid type, glyphosate resistant maize hybrid didn't react to the 1 kg a.e. ha⁻¹ herbicide application (Fig. 2).

With all tested *L. rigidum* populations (LS, LR and LPR), an increase in the amount of the shikimate two days after herbicide treatment was registered. On the fourth and sixth day of the analysis this tendency of increase continued with LS (4,8x and 5,2x) and LPR (2,4x and 2,9x) populations, while with LR population a decrease in the shikimate amount was detected (Fig. 3).

Analysis of the shikimate amount in *C. canadensis* plants showed a tendency for accumulation of shikimate in treated plants, when compared to the values measured before herbicide application (Fig. 4). However, if the 2-6 DAT trend is analysed, a tendency for a decrease in shikimate content can be registered, which could imply a tendency of plants to overcome the stress caused by herbicide treatment by metabolic degradation of shikimate, although the amount measured was still greater than the amount measured in the non-treated plants (3,8x on the second day, 7,7x on the fourth day and 2,5x more on the sixth day; Fig. 4).

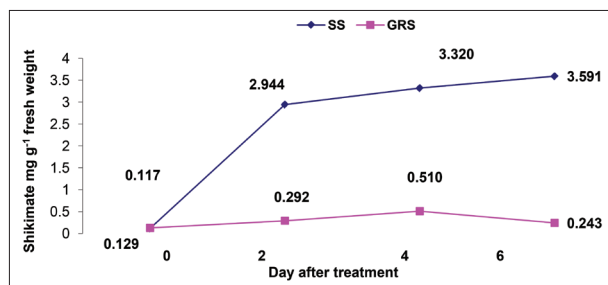


Figure 1. Shikimate content of SS and GRS lines of soybean vs day of sampling after treatment with 1 kg a.e. ha⁻¹ glyphosate

Slika 1. Sadržaj šikiminske kiseline kod SS i GRS linija soje u odnosu na dan uzorkovanja posle primene 1 kg a.m. ha⁻¹ glifosata

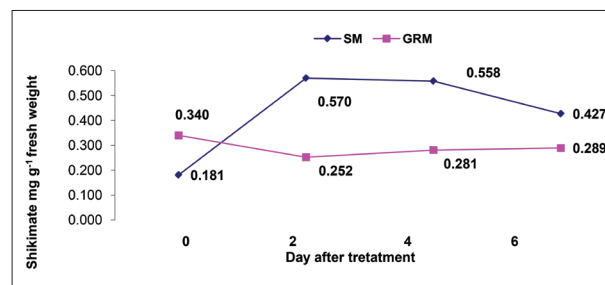


Figure 2. Shikimate content of SM and GRM hybrids of maize vs day of sampling after treatment with 1 kg a.e. ha⁻¹ glyphosate

Slika 2. Sadržaj šikiminske kiseline kod SM i GRM hibrida kukuruza u odnosu na dan uzorkovanja posle primene 1 kg a.m. ha⁻¹ glifosata

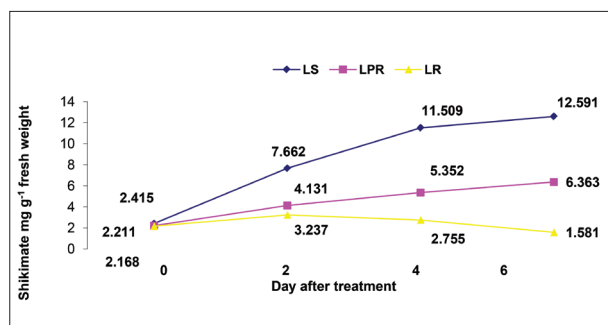


Figure 3. Shikimate content of LS, LPR and LR pop. of *L. rigidum* vs day of sampling after treatment with 1 kg a.e. ha⁻¹ glyphosate

Slika 3. Sadržaj šikiminske kiseline kod LS, LPR i LR pop. *L. rigidum* u odnosu na dan uzorkovanja posle primene 1 kg a.m. ha⁻¹ glifosata

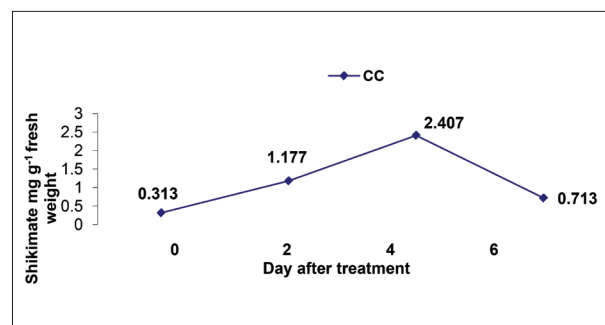


Figure 4. Shikimate content of CC pop. of *C. canadensis* vs day of sampling after treatment with 1 kg a.e. ha⁻¹ glyphosate

Slika 4. Sadržaj šikiminske kiseline kod CC pop. *C. canadensis* u odnosu na dan uzorkovanja posle primene 1 kg a.m. ha⁻¹ glifosata

The chlorophyll content extracted by methanol from the treated plants was statistically significantly lower than in the non-treated plants, with all plants tested, except for maize (where this difference was not statistically significant) (Table 1). Differences between treated and control plants were

somewhat more pronounced with the SS soybean line ($p < 0.001$) that with the GRS line, in all measurement periods and with all chlorophyll parameters measured (except for chlorophyll *a* content, where these differences were at the $p < 0.05$ and $p < 0.01$ levels of significance, Table 1, Figure 5a,b).

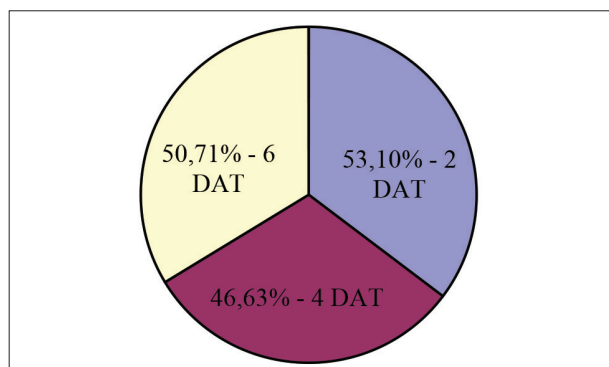


Figure 5a. Totall amount of chlorophyll vs. days after treatment, S soybean line
Slika 5a. Ukupan hlorofil vs. dani uzorkovanja posle primene, S linija soje

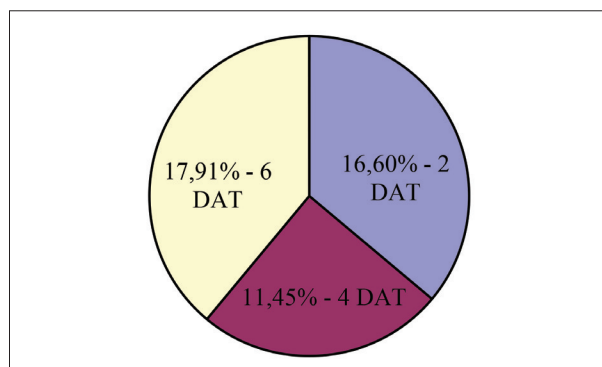


Figure 5b. Totall amount of chlorophyll vs. days after treatment, R soybean line
Slika 5b. Ukupan hlorofila vs. dani uzorkovanja posle primene, R linija soje

Table 1. Amount of chlorophyll (mg g⁻¹ fresh weight) in control and treated plants with 1 kg a.e. ha⁻¹ glyphosate population of weeds and crops (LSD test).

Tabela 1. Sadržaj hlorofila (mg g⁻¹ sveže mase) u kontroli i tretiranim biljkama sa 1 kg a.m. ha⁻¹ glifosata populacija korova i useva (LSD test).

		Average			Sataistical differences		
		Soybean	Mayze	<i>C.canadensis</i>	Soybean	Mayze	<i>C.canadensis</i>
6 day after treatment							
Resistant populations							
Totall chl	C	62,82±2,86	39,83±8,21	62,08±0,71	**	NS	***
	T	51,57±9,83	45,02±10,44	59,70±0,63			
Chl.a	C	22,82±0,77	24,25±1,41	23,66±0,47	**	NS	NS
	T	24,47±1,05	24,44±2,43	24,11±0,38			
Chl.b	C	40,00±3,61	15,57±7,48	38,43±0,91	**	NS	**
	T	27,18±10,64	20,58±9,27	35,70±0,89			
a:b	C	0,57±0,08	1,56±0,75	0,61±0,06	*	NS	NS
	T	0,90±0,52	1,19±0,57	0,67±0,06			
Susceptible populations							
Totall chl	C	55,94±8,23	41,75±6,53	-	***	NS	-
	T	27,56±11,05	33,37±15,24	-			
Chl.a	C	24,33±1,72	24,90±2,17	-	*	**	-
	T	18,11±4,92	19,03±4,83	-			
Chl.b	C	31,60±9,89	16,85±4,67	-	***	NS	-
	T	9,46±6,29	14,34±11,32	-			
a:b	C	0,77±0,39	1,48±0,31	-	***	NS	-
	T	1,91±0,58	1,33±0,57	-			

p<0,001 ***; p<0,01 **; p<0,05*; NS - not statistically significant

By analysing the results obtained for total chlorophyll content (Figure 6a,b), chlorophyll *a* and chlorophyll *b* content and chlorophyll *a:b* ratio, in both maize hybrids, no statistically significant differences were confirmed for the values

registered before and after herbicide treatment, with the exception of GRM hybrid 2 DAT for chlorophyll *a* content (p<0,01) and SM hybrid 2 and 6 DAT, also for chlorophyll *a* content (p<0,05, p<0,01) (Table 1).

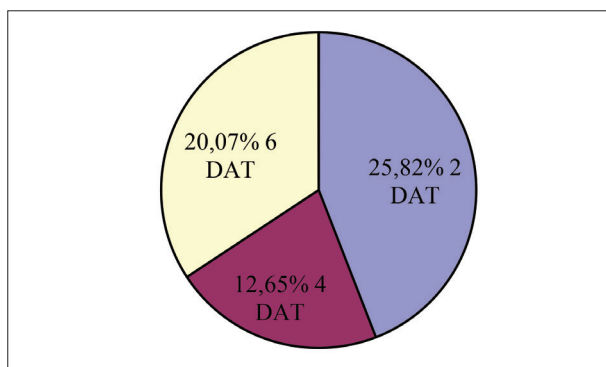


Figure 6a. Total amount of chlorophyll vs. days after treatment, S maize hybrid

Figure 6a. Ukupan hlorofil vs. dani uzorkovanja posle tretmana, S hibrid kukuruza

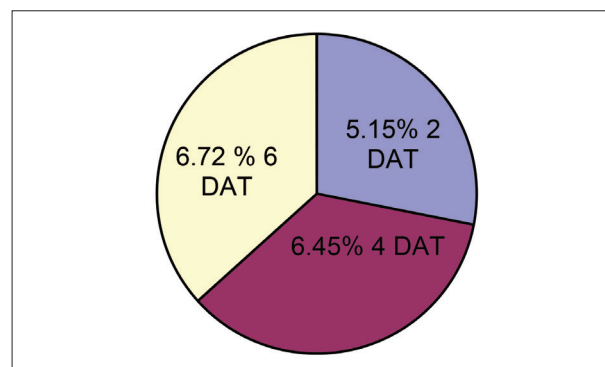


Figure 6b. Total amount of chlorophyll vs. days after treatment, R maize hybrid

Figura 6b. Ukupan hlorofil vs. Dani uzorkovanja posle tretmana, R hibrid kukuruza

Based on the results obtained and data analysed for *C. canadensis* population, it was determined that the results are statistically significantly different or highly different, for nearly all the chlorophyll parameters analysed in treated plants, when compared to the values measured before 1 kg a.e. ha⁻¹ glyphosate application ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$), except for 6 DAT for chlorophyll *a* content and chlorophyll *a:b* ratio (Table 1, Figure 7).

DISCUSSION

Thanks to modern biotechnologies (i.e. GMO crops) examples of mixed and multi resistance of weeds have been recorded. As a result of this, nowadays in many developed and developing countries of the world the development of herbicide resistance in weeds has become a major problem, on a local, but also on a global scale.

In all tested populations, low shikimate content in nontreated plants confirmed that the amount of shikimate is not connected with the resistance and susceptibility of plants. This method is used as an early and highly sensitive indicator of the effect of glyphosate on sensitive plants (Komossa 1992). Changes in the shikimate content in treated plants vs control plants were significant for S plants and nonsignificant for R plants. Differential shikimate accumulation can be used to differentiate between glyphosate S and R plants, although it is not an indication of the mechanism responsible for such resistance (Mueller et al., 2003). HPLC determination of shikimate levels can be conducted at different growth stages of plants, and even on dead plant material (Singh and Shaner, 1998). In our experiment by shikimate method we confirmed the resistance of GR populations and resistance of LR population

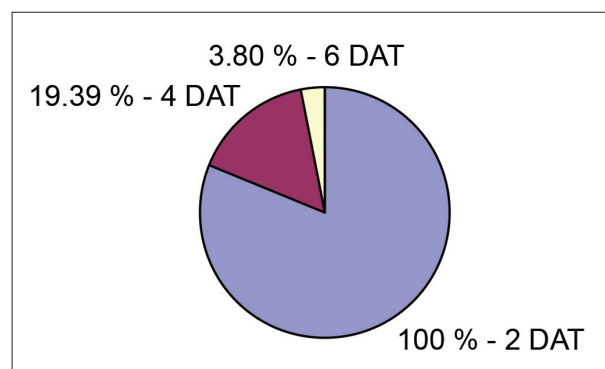


Figure 7. Total amount of chlorophyll vs. days after treatment, *C. canadensis*

Figura 7. Ukupan hlorofil vs. dani uzorkovanja posle tretmana, *C. canadensis*

of *L. rigidum*. Shaner et al. (2005) confirmed that leaf area is positively correlated with shikimate accumulation. With regards to this, they confirmed a greater amount of shikimate after glyphosate application in sunflower plant tissue, as opposed to the amount measured in wheat and *Proso millet* tissue. This fact was also confirmed in our research, where a greater amount of shikimate (2.3–3.6 mg g⁻¹ fresh weight) was recorded in the sensitive line of soybean compared to the susceptible maize hybrid (0.4–0.6 mg g⁻¹ fresh weight), after the same dose of glyphosate. Perez-Jones et al. (2007) have come to similar results when testing *Lolium multiflorum* for glyphosate resistance. Shikimate amount was 2–3x greater in the leaves of sensitive *L. multiflorum* population, when compared to the amount measured in the resistant population. Also, Michitte et al. (2007) have noticed the same regularity as did we in our research, by registering the increase in shikimate content over time in the susceptible populations of *L.*

multiflorum, and more or less unchanged amount of shikimate in the R populations of *L. multiflorum* after glyphosate treatment. The shikimate amount was 8x greater in the LS than in the LR population on the last day of analysis (6 DAT). Certain changes in the shikimate content in the LR population can be explained as the effect of stress in the presence of herbicides, but the plants have very quickly overcome this state of stress. Baerson et al. (2002) have explained the differences between the S and R populations of *L. rigidum* as a result of increased EPSPS enzyme activity, which was 2-3x greater in treated than in control plants. High initial levels of shikimate measured in R population (10x greater than in the control) can be explained by stronger plant activity, which enables it to overcome the state of stress caused by glyphosate treatment. Our results for populations of *C. canadensis* are consistent with the results of Mueller et al. (2003). They compared R and S populations of *C. canadensis* and observed an increasing amount of shikimate time consuming after glyphosate treatment (2-4 DAT) when compared with control. However, in the analysis of shikimate trend in 2-6 DAT period (Fig. 4), a slight tendency for a decrease in its amount can be observed (2 DAT: 3,8x greater, 4 DAT: 7,7x greater and 6 DAT: 2,5x greater), compared to the values measured before herbicide application. Based on this, it can be presumed that the plant activates certain enzymes and tries to overcome the state of stress, even though the amounts are still high, compared to the control.

Chlorophyll content extracted by methanol from the treated plants was statistically signifi-

cantly lower than in the non-treated plants, with all the plants tested, except for maize (where these differences were not statistically significant) (Table 1). In their research Reddy et al. (2004) came to the conclusion that a greater amount of glyphosate (1,12 - 13,4 kg ha⁻¹) causes a milder inhibition of chlorophyll content in soybean plants (12% after 7 DAT), and a mild reduction in fresh matter (8% after 14 DAT). Based on these research, it can be concluded that the environmental conditions can also influence the chlorophyll content after glyphosat application. With regard to this matter, Pline et al. (1999) have confirmed that high temperatures cause significant damage to plants of the glyphosat resistant soybean line, and a significant reduction of chlorophyll content in high temperatures (35°C) when compared to the changes measured on 15°C.

Research conducted and the results obtained have shown that, based on the analysis of shikimate content, differences in the sensitivity of plants to glyphosate can be easily registered and resistance to it can be proved. Measurements of chlorophyll content have also proved to be a good method for registering the presence of glyphosate, but not for differentiating the sensitivity of R and S plants and proving the plant's resistance.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Ministry of Education and Science of R. Serbia for support this investigation (Projects TR 31018 and III 46008).

REFERENCES

- Baerson, S. R., Rodriguez, D. J., Biest, N. A., Tran, M., You, J., Kreuger, R. W., Dill, G. M., Pratley, J. E., Gruys, K. J. (2002): Investigating the mechanism of glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science*, 50: 721-730.
- Dill, G. M., Sammons, R. D., Feng, P. C. C., Kohn, K., Kretzmer, K., Mehrsheikh, A., Bleeke, M., Honegger, J. L., Farmer, D., Wright, D., Haupfear, E. A. (2010): Glyphosate: discovery, development, applications and properties V.K. Nandula (Ed.), *Glyphosate Resistance in Crops and Weeds: History, Development and Management*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey: 1-34.
- Feng, P. C., Tran, M., Chiu, T., Sammons, R. D., Heck, G. R., CaJacob, C. A. (2004): Investigations into glyphosate resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation and metabolism. *Weed Science*, 52: 498-505.
- Giesy, J. P., Dobson, S., Solomon, K. R. (2000): Ecotoxicological risk assessment for roundup herbicide. *Rev. Environm. Cont. Toxicol.* 167: 35-120.

- Komossa, D., Gennity, I., Sandermann, H. J. (1992): Plant metabolism of herbicides with C-P-bonds: glyphosate. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 43: 85-94.
- Marsh, S. P., Llewellyn, R. S., Powles, S. B. (2006): Social Costs of Herbicide Resistance: the Case of Resistance to Glyphosate. Poster Paper Presented at International Association of Agricultural Economists Conference, 2006. <http://purl.umn.edu/25413>.
- Michitte, P., De Prado, R., Espinoza, N., Ruiz-Santaella, J. P., Gaurit, C. (2007): Mechanisms of resistance to glyphosate in a Ryegrass (*Lolium multiflorum*) biotype from Chile. *Weed Science*, 55 (5): 435-440.
- Mueller, T. C., Massey, J. H., Hayes, R. M., Main, C. L., Stewart, C. N. (2003): Shikimate accumulation in both glyphosate-sensitive and glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Crong.). *J. Agric. Food Chem.* 51: 680-684.
- Perez-Jones, A., Park, K. W., Polge, N., Colquhoun, J., Mallory-Smith, C. (2007): Nontarget site and target-based mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. Resistance 2007, Rothamsted Research, Harpenden, Hertfordshire, UK.
- Pline, W. A., Wu, J., Hatzios, K. K. (1999): Effects of temperature and chemical additives on the response of transgenic herbicide-resistant soybean to glufosinate and glyphosate applications. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 65: 119-131.
- Reddy, K. N., Rimando, A. M., Duke, S. O. (2004): Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *J. Agric. Food. Chem.*, 52: 5139-5143.
- Somervaille, A. (2004): Control of Flaxleaf Fleabane with Fallow Herbicides Near Jondaryan, p. 28. Proceedings of Fleabane Workshop, Toowoomba, Australia,. www.weedsrc.org.au/publications/wshop_proceedings.html.
- Singh, B. J., Shaner, D. L. (1998): Rapid determination of injury to plants and identification of glyphosate-resistant plants. *Weed Technol.* 12: 527-530.
- Siehl, D. L. (1997): Inhibitors of EPSP synthase, glutamine synthetase and histidine synthesis. In R. M. Roe, ed. *Herbicide Toxicity: Toxicology, Biochemistry and Molecular Biology*. Amsterdam, Netherlands: IOS: 37-67.
- Shaner, D. L., Nadler-Hassar, T., Henry, W. B., Koger, C. H. (2005): A rapid in vivo shikimate accumulation assay with excised leaf discs. *Weed Science*, 53: 769-774.
- Wu, H., Walker, S., Robinson, G. (2008): Chemical control of flaxleaf fleabane (*Conyza bonariensis* (L.) Cronquist) in winter fallows. *Plant Protection Quarterly* 23: 162-165.

(Received: 03. 07. 2013.)

(Accepted: 09. 09. 2013.)

ODGOVOR KOROVSKIH POPULACIJA I GAJENIH USEVA NA PRISUSTVO GLIFOSATA

DANIJELA PAVLOVIĆ¹, DRAGANA MARISAVLJEVIĆ¹, LJILJANA RADIVOJEVIĆ²,
BOGDAN NIKOLIĆ¹, HADI WAISI, ANA ANĐELKOVIĆ³, SANJA ĐUROVIĆ¹

¹Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

²Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd

³Institut za vodoprivredu "Jaroslav Černi", Beograd

⁴Stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije
e-mail:dulekaca@yahoo.com

REZIME

Imerenje sadržaja šikiminske kiseline i hlorofila kod hibrida kukuruza, linija soje, populacija *C. canadensis* and *L. rigidum* je obavljeno nakon primene 2 kg a.m. ha⁻¹ herbicida TOUCHDOWN®. Šaktivna materija: glifosat trimezijum so (sin. sulfosat), 500 g L⁻¹Č. Uzorkovanje je urađeno 2, 4 i 6 dana posle primene. Promene sadržaja šikiminske kiseline kod tretiranih biljaka u odnosu na ne tretirane su bile značajne kod svih S biljaka i nisu imale značaja kod R biljaka. Sadržaj hlorofila kod tretiranih biljaka je statistički bio niži u odnosu na sadržaj kod ne tretiranih biljaka kod svih testiranih populacija/linija osim kod hibrida kukuruza (razlike nisu bile statistički značajne).

Ključne reči: korovi, usevi, šikiminska kiselina, hlorofil

(Primljeno: 03. 07. 2013.)
(Prihvaćeno: 09. 09. 2013.)

Zaštita bilja
Vol. 64 (2), No 284, 90-100, 2013, Beograd
Plant Protection
Vol. 64 (2), No 284, 90-100, 2013, Belgrade

UDK: 632.25-238(497.6)

Naučni rad
Scientific paper

IRIS YELLOW SPOT VIRUS NOVI PATOGEN CRNOG LUKA U REPUBLICI SRPSKOJ

VOJISLAV TRKULJA¹, JELENA MIHIĆ SALAPURA¹, DRAGANA KOVAČIĆ¹, IVANA STANKOVIĆ²,
ANA VUČUROVIĆ², ALEKSANDRA BULAJIĆ², BRANKA KRSTIĆ²

¹Poljoprivredni institut Republike Srpske, Banja Luka, Bosna i Hercegovina

²Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet, Beograd, Srbija
e-mail: branka.krstic@agrif.bg.ac.rs

REZIME

Istraživanjem prisustva i rasprostranjenosti virusa žute pegavosti irisa (*Iris yellow spot virus*) u usevu semenskog i merkantilnog crnog luka u Republici Srpskoj tokom 2012. godine, od 56 sakupljenih uzoraka prisustvo virusa ustanovljeno je u 34 serološki testirana uzorka prikupljena iz četiri različita lokaliteta gajenja ove kulture. Za dalja istraživanja odabrana su četiri uzorka prirodno zaraženih biljaka crnog luka poreklom iz različitih lokaliteta, koji su uspešno preneti mehaničkim inokulacijama na test biljke *Petunia x hybrida* i *Nicotiana benthamiana* čime je potvrđena infektivna priroda oboljenja. Ni jedan od odabranih izolata nije izazvao pojavu simptoma na sejancima crnog luka. Molekularna detekcija obavljena je amplifikacijom fragmenta dužine 896 bp kod svih ispitivanih izolata korišćenjem specifičnih prajmera IYSV56U/IYSV917L koji omogućavaju umnožavanje gena za nukleokapsid. U cilju dalje identifikacije RT-PCR produkt izolata 373-12 je sekvencioniran (KF733020) i upoređen sa sekvencama IYSV dostupnim u GenBank. Analizom sekvenci kompletnog gena za nukleokapsid, najviši stepen nukleotidne sličnosti 99,6% (99,6% aminokiselinska sličnost) sekvenca odabranog izolata pokazala je sa izolatom IYSV iz crnog luka iz Teksasa. Filogenetska analiza pokazala je grupisanje izolata u šest molekularnih grupa u korelaciji sa geografskim poreklom izolata, a izolati IYSV iz crnog luka iz Republike Srpske grupišu se u klaster 5 sa izolatima iz Džordžije i Perua.

Ključne reči: IYSV, crni luk, DAS-ELISA, molekularna detekcija, filogenetska analiza

UVOD

Virus žute pegavosti irisa (*Iris yellow spot virus*, IYSV) jedan je od 23 virusa iz roda *Tospovirus*, jedinog roda infektivnog za biljke u okviru familije *Bunyaviridae*. Simptomi karakteristični za zaraze izazvane IYSV prvi put su uočeni 1989. godine na crnom luku u SAD (Hall et al., 1993), a zatim i na irisu u Holandiji (Cortês et al., 1998). Kasnije, virus je detektovan i na crnom luku u Izraelu (Gera et al., 1998a) i Brazilu (Pozzer et al., 1999), a do 2004. godine njegovo prisustvo je potvrđeno u svim zemljama u zapadnom delu SAD (Gent et al., 2006). Danas se IYSV ubraja u grupu veoma destruktivnih „*emerging*“ virusa čija se rasprostranjenost naglo povećala poslednjih godina i prisutan je u mnogim

zemljama Severne i Južne Amerike, Evrope, Azije, Afrike i Australije (Pappu et al., 2009). Prisustvo virusa u Evropi, osim Holandije, zabeleženo je i u Sloveniji (Mavrič and Ravnikar, 2000), Španiji (Córdoba-Sellés et al., 2005), Poljskoj (Balukiewics and Kryczynski, 2005), Francuskoj (Huchette et al., 2006), Nemačkoj (Leinhos et al., 2007), Velikoj Britaniji (Mumford et al., 2008), Srbiji (Bulajić et al., 2008), Italiji (Tomassoli et al., 2009), Grčkoj (Chatzivassiliou et al., 2009) i Austriji (Plenk and Gausgruber-Gröger, 2011).

IYSV izaziva značajna oboljenja nekih ukrasnih biljaka i razih vrsta lukova (*Allium* spp.), ali je u proizvodnji crnog luka najznačajniji (Gent et al., 2006; Pappu et al., 2009). Najveće štete u proizvodnji crnog luka zabeležene su

u Izraelu (Gera et al., 1998b) i Brazilu (Pozzer et al., 1999), kada je proizvodnja bila potpuno uništena, a štete procenjene na 100%. IYSV je jedan od ekonomski najznačajnijih virusa crnog luka i u SAD gde izaziva ogromne gubitke u proizvodnji poslednjih godina (Poole et al., 2007). Prisustvo ovog virusa u SAD zabeleženo još 90.-tih godina prošlog veka, ali u početku nije izazivao značajne štete. Međutim, 2000. godine dolazi do naglog širenja IYSV i pojave znatnih šteta u proizvodnji kako semenskog tako i merkantilnog crnog luka širom SAD. Tako su Crowe and Pappu (2005) zabeležili skoro potpuno propadanje semenskog useva crnog luka u Oregonu kad je intenzitet zaraze procenjen na 100%. U Vašingtonu, IYSV prvi put je zabeležen 2003. godine, a već 2005. godine proizvodnja semenskog crnog luka u većem broju lokaliteta bila je u potpunosti uništena (Gent et al., 2006). Ovako brzo širenje objašnjava se efikasnim prenošenjem tripsima (*Thrips tabaci*), ali i promenom u načinu proizvodnje i sve češćoj proizvodnji luka iz rasada. Uprkos činjenici da je prisutan u mnogim evropskim zemljama i da je poslednjih godina zabeležena i epidemijska pojava ovog virusa u Italiji (Tomassoli et al., 2009), Srbiji (Bulajić et al., 2009) i Velikoj Britaniji (Mumford et al., 2008), za sada nema mnogo podataka o štetama koje IYSV izaziva u proizvodnji lukova u Evropi.

Imajući u vidu značaj gajenja crnog luka u Republici Srpskoj, sve veću raširenost IYSV na različitim vrstama luka u EPPO regionu, kao i često veliku brojnost lukovog tripsa - vektora ovog virusa, IYSV može postati ograničavajući faktor uspešne proizvodnje crnog luka u Republici Srpskoj i celoj Bosni i Hercegovini. Nakon prve detekcije i pojave IYSV na crnom luku (Trkulja et al., 2013), a zbog svega navedenog, osnovni cilj ovih istraživanja bio je da se ispita prisustvo, rasprostranjenost i učestalost pojave ovog virusa na različitim lokalitetima gajenja crnog luka u Republici Srpskoj, te da se utvrdi genetička sličnost odabranih izolata IYSV poreklom iz crnog luka iz Republike Srpske sa izolatima ovog virusa iz drugih delova sveta, kao i da se filogenetskim analizama odredi mesto odabranih izolata u populaciji ovog virusa.

MATERIJAL I METODE

Pregled terena i sakupljanje uzoraka

Istraživanja sprovedena tokom 2012. godine u cilju utvrđivanja prisustva, rasprostranjenosti i učestalosti pojave IYSV u usevu crnog luka obuhvatila

su pregled jednog useva semenskog crnog luka iz lokaliteta Gornji Karajzovci i 11 useva merkantilnog crnog luka iz tri različita lokaliteta gajenja u Republici Srpskoj: Petrovo Selo, Kukulje i Vilusi. Ukupno je sakupljeno 56 uzoraka sa simptomima koji su upućivali na virusnu infekciju.

DAS-ELISA test

Uzorci crnog luka prikupljeni tokom 2012. godine, serološki su testirani primenom direktne imunoenzimske metode na ploči (DAS-ELISA) uz korišćenje komercijalnih poliklonalnih antiseruma (Bioreba AG, Switzerland) specifičnih za detekciju IYSV, kao i dva druga tospovirusa: virusa bronzavosti paradajza (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) i virusa nekrotične pegavosti impatiensa (*Impatiens necrotic spot virus*, INSV). Specifična poliklonalna antitela i poliklonalna antitela konjugovana sa alkalnom fosfatazom korišćena su u razređenju 1:1000 u odgovarajućem puferu, po uputstvu proizvođača. Uzorci su pripremani homogenizacijom 1 g biljnog materijala sa 5 ml ekstrakcionog pufera, a kao pozitivna i negativna kontrola korišćene su komercijalno dostupne kontrole za svaki od testiranih virusa. Nakon 1-2 časa po dodavanju supstrata p-nitrofenilfosfata, intenzitet bojene reakcije očitavan je spektrofotometrijski (Microplate reader, DASrl, Italy). Pozitivnom reakcijom smatrane su vrednosti apsorpcije na 405 nm koje su dva i više puta veće od vrednosti apsorpcije negativne kontrole.

Mehaničko prenošenje izolata IYSV

U cilju dokazivanja infektivne prirode oboljenja odabran je po jedan uzorak crnog luka sa svakog od četiri lokaliteta u kojima je serološki dokazano prisustvo IYSV, pripremljen je inokulum koji je mehanički inokulisan na po pet sejanaca crnog luka starih tri nedelje i po pet biljaka *Petunia x hybrida* i *Nicotiana benthamiana*. Inokulum za mehaničke inokulacije je pripreman homogenizacijom lišća prirodno zaraženih biljaka crnog luka u prisustvu 0,01 M fosfatnog pufera (pH 7) uz dodatak 0,1% natrijum-sulfita (Kritzman et al., 2001) i karborundum praha (finoće 400 meša) kao abraziva.

Test biljke inokulisane su u fenofazi 2-3 prava lista, a pojava i tip simptoma praćeni su u periodu do mesec dana nakon inokulacije. U cilju potvrde prisustva virusa i provere postojanja latentnih infekcija, sve mehanički inokulisane test biljke kao i sejanici crnog luka testirani su primenom DAS-ELISA metode.

Molekularna detekcija i sekvencioniranje

Molekularna detekcija i identifikacija IYSV, kao i potvrda rezultata dobijenih biološkim i serološkim analizama, obavljena je primenom reverzne transkripcije praćene lančanom reakcijom polimeraze (reverse transcription-polimerase chain reaction, RT-PCR).

Ukupna RNK iz 100 mg lišća četiri odabrane prirodno zaražene biljke crnog luka, izolovana je primenom RNeasy Plant Mini Kit-a (Qiagen, Hilden, Germany) i korišćena kao matrica za RT-PCR. Detekcija IYSV izvršena je primenom OneStep RT-PCR Kit-a (Qiagen) i para specifičnih prajmera IYSV56U/IYSV917L (Robène-Soustrade et al., 2006) koji omogućavaju umnožavanje fragmenta S RNK dužine 896 bp koji obuhvata gen za nukleokapsid (nucleocapsid gene, N gene). RT-PCR reakcija obavljena je u 25 µl zapremine i sadržala je 5 µl 5x Qiagen OneStep RT-PCR pufera sa 12,5 mM MgCl₂, 1 µl dNTP Miksa (po 10 mM svakog dNTP), 1 µl RT-PCR enzimskog miksa, 1,5 µl svakog prajmera (finalne koncentracije 0,6 µM), 1 µl izolovanih ukupnih RNK i 14 µl RNase free vode. Kao pozitivna kontrola korišćen je izolat 605-SRB, poreklom iz crnog luka iz Srbije (GenBank Acc. No. EU586203), a kao negativna kontrola lišće zdrave biljke crnog luka. Reakcija je izvedena korišćenjem Thermocycler (Biometra, UK) po protokolu: reverzna transkripcija 30 min na 50°C; inicijalna denaturacija nukleinskih kiselina 15 min na 95°C; denaturacija 60 s na 94°C, elongacija 60 s na 40°C i ekstenzija 60 s na 72°C (40 ciklusa); te finalna ekstenzija 72°C u trajanju od 10 min.

Dobijeni produkti su elektroforetski razdvojeni u 1% agaroznom gelu, obojeni u rastvoru etidijum-bromida finalne koncentracije 0,5 µg/ml i posmatrani pod UV transiluminatorom. Pozitivnom reakcijom smatrana je pojava fragmenata očekivane veličine, određene poređenjem sa markerom MassRuler™DNA ladder, Mix (Fermentas Life Sciences GmbH, Lithuania).

Za dalju molekularnu identifikaciju i karakterizaciju odabran je izolat 373-12 poreklom sa lokaliteta Kukulje dobijen tokom ovih istraživanja, kao i izolat 302-12 poreklom sa lokaliteta Gornji Karajzovci koji je na osnovu analize sekvence i stepena nukleotidne sličnosti sa izolatima iz drugih delova sveta prethodno identifikovan kao IYSV (Trkulja et al., 2013). Umnoženi fragment izolata 373-12 je, nakon prečišćavanja pomoću QIAquick PCR Purification Kit-a (Qiagen), poslat na uslužno sekvencioniranje (Macrogen, South Korea) u oba smera korišćenjem istog para prajmera kao u RT-PCR reakciji. Dobijene sekvence obrađene su u programu FinchTV Version

1.4.0 i međusobno upoređene pomoću CLUSTAL W programa (Thompson et al., 1994) integrisanog unutar MEGA5 softvera (Tamura et al., 2011). Tako dobijena konsenzus sekvencija je zatim podneta u GenBank bazu podataka i analizirana prvo upotrebom BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) algoritma, a zatim je izvršen i proračun nukleotidne i aminokiselinske sličnosti odabranog izolata sa izolatima iz drugih delova sveta dostupnim u GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Za poređenje sekvence odabranog izolata sa dostupnim sekvencama odgovarajućeg regiona genoma virusa, kao i za filogenetske analize upotrebljen je softverski paket MEGA5.

Filogenetsko stablo rekonstruisano je na osnovu delimične sekvence N gena dva izolata iz crnog luka poreklom iz Republike Srpske i 24 sekvence preuzete iz GenBank (Tabela 1), dužine 740 bp, korišćenjem Maximum parsimony metode i bootstrap analize sa 1000 ponavljanja. Kao „outgrupa“ za rekonstrukciju filogenetskog stabla korišćena je sekvencija IYSV poreklom iz Slovenije (Tabela 1). Na osnovu testa za pronalaženje najpogodnijeg modela nukleotidne supstitucije za izračunavanje prosečne vrednosti genetičke udaljenosti unutar i između podgrupa izolata koje su se izdvojile u filogenetskom stablu, odabran je Tamura 3-parametar sa Gamma distribucijom (T92+G).

Tabela 1. Sekvence N gena izolata virusa žute pegavosti irisa dostupnih u GenBank korišćene za filogenetsku analizu.**Table 1.** N gene sequences of *Iris yellow spot virus* isolates from GenBank used in the phylogenetic analysis.

Izolat ^a Isolate ^a	Zemlja porekla Geographical origin	Biljka domaćin Host	Pristupni broj GenBank Acc. No.
302-12 ^b	Republika Srpska, BIH	crni luk	JX861126
373-12 ^b	Republika Srpska, BIH	crni luk	KF733020
SgA	Japan	<i>Lisianthus</i> sp.	AB180921
SgOniD1	Japan	crni luk	AB180919
T3	Japan	<i>Lisianthus</i> sp.	AB121026
Br10	Brazil	crni luk	AF067070
Isra1a	Izrael	<i>Lisianthus</i> sp.	AF271219
NLa	Holandija	iris	AF001387
UK	Velika Britanija	<i>Lisianthus</i> sp.	AM900393
IYSV-ALB	Španija	crni luk	EF419888
IYSV-VAL	Španija	praziluk	EF427447
Cip3	Italija	crni luk	FJ185142
Chilea	Čile	crni luk	DQ150107
WAPasco	Vašington, SAD	crni luk	DQ233469
Shallot	Vašington, SAD	vlašac	DQ233471
IDNampa	Ajdaho, SAD	crni luk	DQ233472
Ica	Peru	crni luk	DQ838584
Supel	Peru	crni luk	DQ838585
Guat2	Gvatemala	crni luk	DQ838590
Georgia2	Džordžija, SAD	crni luk	DQ838592
Georgia3	Džordžija, SAD	crni luk	DQ838593
New Zealand	Novi Zeland	crni luk	EU477515
605-SRB	Srbija	crni luk	EU586203
622-SRB	Srbija	crni luk	EU750697
283-SRB	Srbija	crni luk	EU727180
Slov1a ^c	Slovenija	praziluk	AY377428

^a – Podaci preuzeti iz GenBank; ^b – Izolati poreklom iz crnog luka iz Republike Srpske;

^c – Sekvenca *Iris yellow spot virus* korišćena kao „outgrupa“.

^a – All data are from GenBank; ^b – Isolates originating from onion from Republic of Srpska;

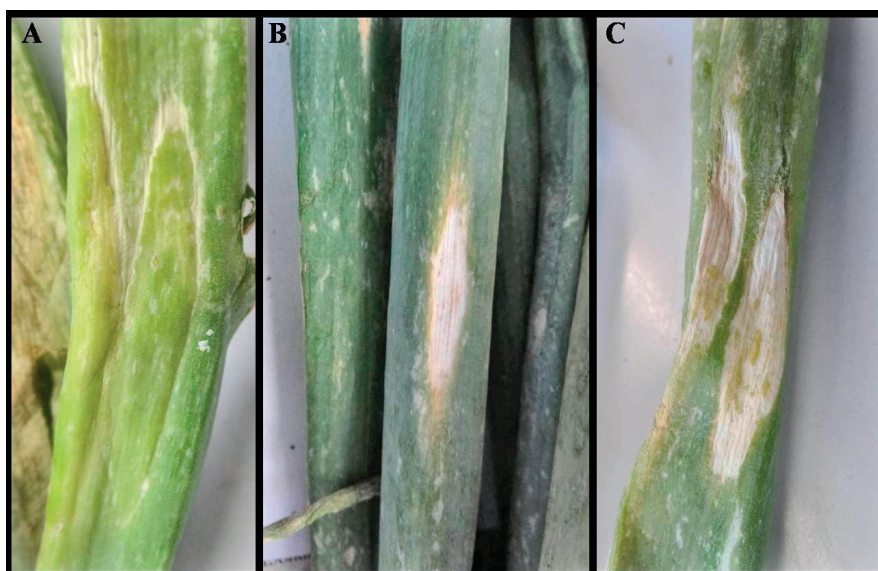
^c – *Iris yellow spot virus* sequence used as outgroup.

REZULTATI I DISKUSIJA

Simptomi u polju

Na svim pregledanim lokalitetima gajenja crnog luka u Republici Srpskoj tokom 2012. godine zabeležena je pojava izraženih simptoma što je verovatno posledica ranih virusnih infekcija. U početnim fazama razvoja bolesti najčešće uočeni simptomi na lišću bili su u vidu neravnomerno raspoređenih, hlorotičnih (Slika 1A) do nekrotičnih,

žućkasto do žućkastosmeđe obojenih, izduženih, vretenastih ili pega u obliku dijamanta (Slika 1B i 1C). Kasnije, usled širenja i spajanja pega, nekrozom je bila zahvaćena veća površina lista koji su se sušili i propadali, a uočene su i biljke koje su zaostajale u porastu. U usevu semenskog luka na lokalitetu Gornji Karajzovci, osim na lišću, simptomi izduženih, slamastih pega u obliku dijamanta zabeleženi su i na cvetonosnom stablu. Zabeleženi simptomi karakteristični su simptomi za zaraze izazvane IYSV, opisani od strane brojnih autora (Gera et al., 1998a;



Slika 1. IYSV. Hlorotične (A) i nekrotične (B i C) izdužene, vretenaste pege na lišću crnog luka.
Figure 1. IYSV. Chlorotic (A) and necrotic (B and C) elongated, spindle-shaped lesions on the leaves of onion.

Pozzer et al., 1999; Bulajić et al., 2008; Pappu et al., 2008; Tomassoli et al., 2009; Krauthausen et al., 2012).

Serološka detekcija

Ispitivanjima sprovedenim tokom 2012. godine, prisustvo IYSV dokazano je na sva četiri pregledana lokaliteta gajenja crnog luka u Republici Srpskoj (Tabela 2). Nakon prve detekcije IYSV u 19 od 20 testiranih uzoraka prikupljenih u usevu semenskog luka iz lokaliteta Gornji Karajzovci, virus je detektovan u još 15 uzoraka merkantilnog crnog luka prikupljenih iz pet useva u tri lokaliteta: Petrovo Selo, Kukulje i Vilusi. Virus je bio najzastupljeniji na lokalitetu Gornji Karajzovci, gde je detektovan u 95% testiranih uzoraka semenskog crnog luka, kao i lokalitetu Kukulje, gde je prisustvo virusa dokazano u oba pregledana useva u šest od 10 testiranih uzoraka merkantilnog crnog luka (60%). Na lokalitetu Petrovo Selo prisustvo IYSV detektovano je u dva od osam pregledanih useva merkantilnog crnog luka i to u 36,36% testiranih uzoraka, dok je prisustvo virusa na lokalitetu Vilusi ustanovljeno u nešto nižem procentu, 25%. Prisustvo TSWV i INSV nije dokazano ni u jednom od testiranih uzoraka.

U Mediteranskom basenu, prisustvo IYSV prvi put je zabeleženo na crnom luku u Izraelu (Gera et al., 1998a). Nakon toga, zaraze izazvane ovim virusom ustanovljene su u više zemalja uključujući prisustvo na crnom luku u Sloveniji (Mavrič and Ravnikar, 2000), Tunisu (Ben Mousa et al., 2005), Srbiji (Bulajić et al., 2008), Italiji (Tomassoli et al., 2009) i Grčkoj (Chatzivassiliou et al., 2009), kao i na crnom luku i vlašcu u Francuskoj (Huchette et al., 2008) i

crnom luku i praziluku u Španiji (Córdoba-Sellés et al., 2005, 2007) i crnom i belom luku i praziluku u Egiptu (Elnagar et al., 2005). Međutim, podataka o prisustvu i rasprostranjenosti ovog virusa u Republici Srpskoj nije bilo, izuzev prvog izveštaja o detekciji na crnom luku (Trkulja et al., 2013). Mada IYSV tokom 2012. godine nije bio prustan u svim usevima, detektovan je na sva četiri pregledana lokaliteta gajenja semenskog i merkantilnog crnog luka i to sa visokom procentualnom zastupljenošću (25-95%). S obzirom da se crni luk tradicionalno gaji u Republici Srpskoj i predstavlja jedan od ekonomski značajnih useva, pojava novog i destruktivnog patogena kakav je IYSV može postati limitirajući činilac uspešne proizvodnje. Takođe, imajući u vidu da je virus infektivan i za druge vrste roda *Allium* i brojne vrste ukrasnih biljaka, neophodna su dalja istraživanja kako bi se utvrdile razmere širenja ovog virusa i naročito izvori inokuluma u prirodi.

Mehaničke inokulacije i dobijanje izolata IYSV

Sva četiri odabrana uzorka prirodno zaraženih biljaka crnog luka u kojima je prethodno dokazana infekcija IYSV, uspešno su preneti mehaničkim inokulacijama na test biljke *Petunia x hybrida* i *Nicotiana benthamiana*. Sve inokulisane biljke *P. x hybrida* reagovale su uniformno, pojavom lokalnih nekrotičnih pega 2-4 dana nakon mehaničkih inokulacija odabranim izolatima IYSV, dok je na biljkama *N. benthamiana* pojava blagog mozaika zabeležena 10-14 dana nakon inokulacije. Simptomi zabeleženi na inokulisanim test biljkama u saglasnosti su sa simptomima opisanim za zaraze izazvane ovim virusom i od strane drugih autora (Cortês et

Tabela 2. Prisustvo i procentualna zastupljenost virusa žute pegavosti irisa u usevu crnog luka tokom 2012. godine.
Table 2. Presence and incidence of *Iris yellow spot virus* in onion crops during 2012.

Lokalitet Locality	Tip useva Crop type	Pregledani usevi Inspected crops	Testirani uzorci Tested samples	Usevi sa IYSV Crops with IYSV	Pozitivni uzorci Positive samples
Gornji Karajzovci	Semenski usev Seed crop	1	20	1	19 (95%) ^a
Petrovo Selo	Merkantilni usev Bulb crop	8	22	2	8 (36,36%)
Kukulje	Merkantilni usev Bulb crop	2	10	2	6 (60%)
Vilusi	Merkantilni usev Bulb crop	1	4	1	1 (25%)
Ukupno Total		12	56	6	34 (60,70%)

^a - Broj zaraženih uzoraka (% zaraženih uzoraka izračunat na osnovu ukupnog broja testiranih uzoraka).

^a - Number of infected samples (% infected samples calculated over the total number of tested samples).

al., 1998; Pozzer et al., 1999; Kritzman et al., 2001). Ni jedan od odabranih izolata nije izazvao pojavu simptoma na inokulisanim sejanacima crnog luka, ali i u literaturi se navodi da je potvrda Kohovih postulata mehaničkim inokulacijama zdravih biljaka crnog luka i reprodukcija simptoma otežana (Pozzer et al., 1999; Bulajić et al., 2009).

Molekularna detekcija i identifikacija

Prisustvo IYSV u usevu crnog luka u Republici Srpskoj potvrđeno je i RT-PCR metodom uz korišćenje para prajmera IYSV56U/IYSV917L koji omogućavaju umnožavanje N gena. Poređenjem amplifikovanih fragmenata odabranih uzoraka i pozitivne kontrole sa korišćenim markerom, prisustvo pojedinačnog fragmenta očekivane veličine oko 896 bp, utvrđeno je kod sva četiri ispitivana uzorka poreklom iz crnog luka kao i kod pozitivne kontrole. Do amplifikacije nije došlo u ekstraktu RNK pripremljenom od nezaraženog lišća crnog luka, odnosno negativnoj kontroli.

Nakon sekvencioniranja PCR produkta odbranog izolata 373-12 dobijenog korišćenjem istog para prajmera kao u RT-PCR i obrade u FinchTV programu, dobijena je sekvenca kompletnog N gena, koja je prijavljena u GenBank bazu podataka (Acc. No. KF733020). Dalja identifikacija obavljena je višestrukim uparivanjem i proračunom genetičke sličnosti sekvence dobijene u ovom radu sa sekvenama odgovarajućeg dela genoma izolata iz drugih

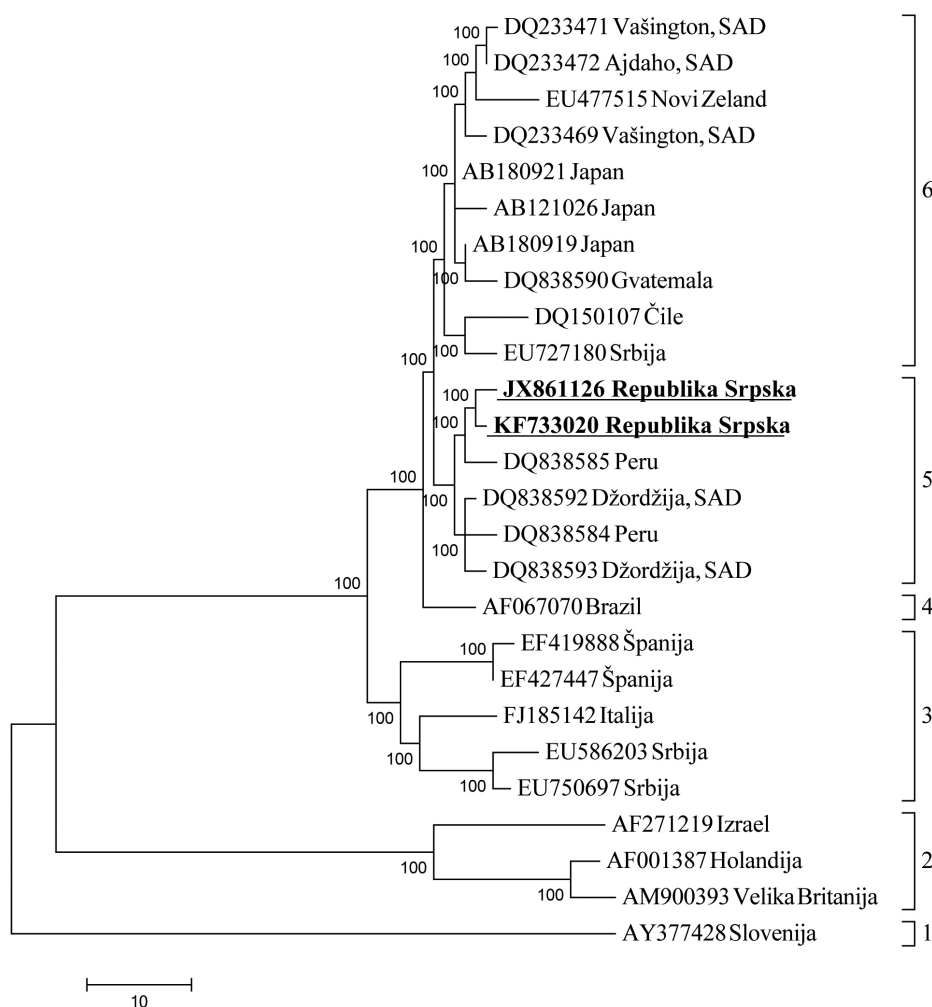
delova sveta dostupnih u GenBank korišćenjem MEGA5 softvera. Najviši stepen nukleotidne sličnosti 99,6% (99,6% aminokiselinska sličnost) sekvencu odbranog izolata 373-12 iz crnog luka poreklom iz Republike Srpske pokazala je sa sekvencom izolata iz crnog luka (DQ658242) iz Teksasa.

Poređenje sekvenci dva do sada poznata izolata poreklom iz crnog luka iz Republike Srpske, od kojih je jedan identifikovan tokom ovih proučavanja, a drugi su identifikovali Trkulja et al. (2013), pokazalo je da se oni međusobno razlikuju u šest nukleotida (99,3% sličnosti) na celoj dužini dobijenih sekvenci, dok se u delu sekvence dužine od 822 nt koji kodira protein nukleokapsida razlikuju u pet nukleotida (98,9% nukleotidne sličnosti), što je rezultiralo izmenom jedne aminokiseline, tako da je aminokiselinska identičnost bila 99,6%. Dosadašnja proučavanja varijabilnosti u okviru populacije IYSV u različitim delovima sveta nisu u potpunom skladu. Visok stepen homologije sekvenci N gena utvrdili su i Krauthausen et al. (2012) proučavajući prirodnu populaciju IYSV u Nemačkoj. Skoro svi izolati (42 od 46 proučavanih), pokazuju nizak stepen divergentnosti, dok su samo četiri izolata genetički različita od ostalih. Međutim, s druge strane Pappu et al. (2006) ustanovili su visok stepen divergentnosti izolata ovog virusa u zapadnom delu SAD i grupisanje izolata iz Oregona u odvojen klaster od ostalih izolata poreklom iz ovog regiona. Takođe, i tri izolata IYSV iz Srbije ispoljavaju značajnu varijabilnost i grupišu se u dva različita klastera (Bulajić et al., 2009).

Filogenetska analiza

Delimične sekvence N gena dužine 740 bp dva izolata IYSV poreklom iz Republike Srpske i 24 izolata dostupna u GenBank bazi podataka međusobno su uparene, izvršeno je njihovo poređenje i rekonstruisano filogenetsko stablo korišćenjem Maximum parsimony metode integrisane unutar MEGA5 softvera (Slika 2). Rekonstruisano filogenetsko stablo pokazalo je jasno izdvajanje šest klastera, odnosno grupisanje izolata u šest genetičkih grupa koje je u saglasnosti sa njihovim geografskim poreklom. Ovakvo grupisanje izolata podržano je visokom homologijom sekvenci unutar grupe i visokim

bootstrap vrednostima koje su za svaku podgrupu iznosile 100%, što je u potpunoj saglasnosti sa rezultatima Bulajić et al. (2009). Prosečan genetički diverzitet između formiranih klastera kretao se od $0,014 \pm 0,003$ do $0,193 \pm 0,022$, dok je unutar grupa bio niži i iznosio je $0,008 \pm 0,002$ za klaster 5 i $0,010 \pm 0,002$ za klaster 6 do $0,023 \pm 0,004$ za klaster 3 i $0,035 \pm 0,006$ za klaster 2. Dva klastera, klaster 1 i 4, čine samo po jedan izolat IYSV poreklom iz Slovenije, odnosno iz Brazila. Po jedan izolat iz Izraela, Velike Britanije i Holandije grupišu se u klaster 2, dok klaster 3 čine po dva izolata iz Španije i Srbije i jedan izolat iz Italije. Većina odabranih izolata, po tri iz zapadnog dela SAD i Japana i po jedan izolat iz



Slika 2. Filogenetsko stablo rekonstruisano na osnovu delimičnih sekvenci gena za nukleokapsid 26 izolata IYSV korišćenjem MEGA5 softvera i Maximum parsimony metode sa bootstrap analizom u 1000 ponavljanja gde su bootstrap vrednosti (>50%) prikazane pored odgovarajućih grana. Sekvenca IYSV iz Slovenije korišćena je kao „outgroup“. Izolati iz crnog luka iz Republike Srpske su podvučeni i naznačeni fontom Bold.

Figure 2. Maximum parsimony tree based on partial sequences of nucleocapsid gene of 26 isolates of IYSV. Phylogram was generated with MEGA5 using Maximum parsimony method. Bootstrap analysis was performed with 1000 replicates and bootstrap values (>50%) are shown next to relevant branches. Slovenian IYSV isolate was used as the outgroup sequence. The IYSV isolates from onion from Republic of Srpska are underlined and bolded.

Čilea, Srbije, Gvatemale i Novog Zelanda, svrstali su se u klaster 6. U okviru petog klastera nalaze se po dva izolata iz Perua i Džordžije (SAD). Ovom klasteru pripadaju i odabrani izolati iz crnog luka poreklom iz Republike Srpske. Slične rezultate i grupisanje četiri italijanska izolata u jedan klaster utvrdili su i Tomassoli et al. (2009). S druge strane, ispitujući populaciju ovog virusa u Australiji i Japanu, Smith et al. (2006) ustanovili su da se pet izolata poreklom iz tri različite države Australije grupišu u jedan klaster, ali i da se sedam izolata iz Japana razdvajaju u dve odvojene grupe. Takođe, grupisanje izolata u dve genetičke grupe zabeleženo je kod izolata poreklom iz Srbije (Bulajić et al., 2009), kao i kod izolata ovog virusa iz Nemačke (Krauthausen et al., 2012).

Velika genetička sličnost izolata iz Republike Srpske i grupisanje u jedan klaster ukazuje na mogućnost jedne introdukcije IYSV u Republiku Srpsku. Ono što je naročito zanimljivo jeste da izolati iz Republike Srpske i Srbije nisu filogenetski srodni ukazujući da ne postoji veza između introdukcija u ovde dve zemlje, odnosno da je u ova dva geografski bliska regiona IYSV introdukovao najmanje u tri nezavisna unosa. Epidemiološka ispitivanja puteva širenja i konačni zaključak o broju introdukcija, eventualnom poreklu i putevima unošenja, kao i ocena o sastavu i varijabilnosti populacije ovog virusa u Republici Srpskoj zahteva nastavak istraživa-

nja u koja bi trebalo uključiti veći broj izolata različitog porekla. Osim toga, određivanje varijabilnosti u okviru populacije ovog virusa kako u usevu crnog luka tako i u drugim biljkama domaćinima u Republici Srpskoj doprineće rasvetljavanju nepoznatih epidemioloških aspekata i otkrivanju biljaka koje su od značaja za održavanje virusa, a sve u cilju osmišljavanja i sprovođenja što efikasnijih mera kontrole, kao i prevencije mogućih introdukcija novih sojeva za našu zemlju usled veoma intenzivne međunarodne razmene biljnog materijala.

ZAHVALNICA

Istraživanja saopštena u ovom radu realizovana su kao deo projekta 19/6-020/961-92/11 (Pojava, rasprostranjenost i molekularna karakterizacija *Iris yellow spot virus*-a na lukovima u Republici Srpskoj) koji finansira Ministarstvo nauke i tehnologije Republike Srpske, projekta III-43001 (Agrobiodiverzitet i korišćenje zemljišta u Srbiji: integrisana procena biodiverziteta ključnih grupa artropoda i biljnih patogena) koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, kao i FP7 Project Area 316004 (Advancing Research in Agricultural and Food Sciences at Faculty of Agriculture, University of Belgrade).

LITERATURA

- Balukiewics, A., Kryczynski, S. (2005): Tospoviruses in chrysanthemum mother stock plants in Poland. *Phytopathologia Polonica*, 37: 59-67.
- Ben Moussa, A., Marrakchi, M., Makni, M. (2005): Characterisation of Tospovirus in vegetable crops in Tunisia. *Infection, Genetics and Evolution*, 5: 312-322.
- Bulajić, A., Đekić, I., Jović, J., Krnjajić, S., Vučurović, A., Krstić, B. (2009): Incidence and distribution of *Iris yellow spot virus* on onion in Serbia. *Plant Disease*, 93: 976-982.
- Bulajić, A., Jović, J., Krnjajić, S., Petrov, M., Djekić, I., Krstić, B. (2008): First report of *Iris yellow spot virus* on onion (*Allium cepa*) in Serbia. *Plant Disease*, 92: 1247.
- Chatzivassiliou, E. K., Giavachtsia, V., Mehraban, A. H., Hoedjes, K., Peters, D. (2009): Identification and incidence of *Iris yellow spot virus*, a new pathogen in onion and leek in Greece. *Plant Disease*, 93: 761.
- Córdoba-Sellés, C., Cebrián-Mico, C., Alfaro-Fernández, A., Muñoz-Yerbes, M. J., Jordá-Gutiérrez, C. (2007): First report of *Iris yellow spot virus* in commercial leek (*Allium porrum*) in Spain. *Plant Disease*, 91: 1365.
- Córdoba-Sellés, C., Martínez-Priego, L., Muñoz-Gómez, R., Jordá-Gutiérrez, C. (2005): *Iris yellow spot virus*: A new onion disease in Spain. *Plant Disease*, 89: 1243.
- Cortês, I., Livieratos, I. C., Derks, A., Peters, D., Kormelink, R. (1998): Molecular and serological characterizati-

on of iris yellow spot virus, a new and distinct Tospovirus species. *Phytopathology*, 88: 1276–282.

Crowe, F. J., Pappu, H. R. (2005): Outbreak of *Iris yellow spot virus* in onion seed crops in central Oregon. *Plant Disease*, 89: 105.

Elnagar, S., El-Sheikh, M. A. K., Abdel Wahab, A. S. (2005). *Iris yellow spot virus* (IYSV): A newly isolated thrips-borne tospovirus in Egypt. 7th International Conference on Pests in Agriculture, Montpellier, France, Proceedings, 8.

Gent, D. H., du Toit, L. J., Fichtner, S. F., Mohan, S. K., Pappu, H. R., Schwartz, H. F. (2006): *Iris yellow spot virus*: An emerging threat to onion bulb and seed production. *Plant Disease*, 90: 1468–1480.

Gera, A., Cohen, J., Salomon, R., Raccach, B. (1998a). *Iris yellow spot tospovirus* detected in onion (*Allium cepa*) in Israel. *Plant Disease*, 82:127.

Gera, A., Kritzman, A., Cohen, J., Raccach, B. (1998b): Tospoviruses infecting bulb crops in Israel. In Peters D. and Goldbach R. (eds.) *Recent Progress in Tospovirus and Thrips Research*. 4th International Symposium on Tospoviruses and Thrips in Floral and Vegetable Crops, Wageningen, The Netherlands, Proceedings, 86–87.

Hall, J. M., Mohan, K., Knott, E. A., Moyer, J. W. (1993): Tospoviruses associated with scape blight of onion (*Allium cepa*) seed crops in Idaho. *Plant Disease*, 77: 952.

Huchette, O., Bellamy, C., Filomenko, R., Pouleau, B., Seddas, S., Pappu, H. R. (2008): *Iris yellow spot virus* on shallot and onion in France. Online. *Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP-2008-0610-01-BR.

Huchette, O., Filomenko, R., Pouleau, B., Godbert, N., Larièpe, A., Out, H., Seddas, S. (2006): Development of an easy and reliable method to diagnose the *Iris yellow spot virus* in Burgundy, France. 2006 National Allium Research Conference, College Station, TX, Proceedings, 40.

Krauthausen, H. J., Leinhos, G. M. E., Müller, J., Radtke, P. C., Jehle, J. A. (2012): Identification and incidence of *Iris yellow spot virus* in *Allium* fields crops in Southwest Germany. *European Journal of Plant Pathology*, 134: 345–356.

Kritzman, A., Lampel, M., Raccach, B., Gera, A. (2001): Distribution and transmission of *Iris yellow spot virus*. *Plant Disease*, 85: 838–842.

Leinhos, G., Müller, J., Heupel, M., Krauthausen, H. J. (2007): *Iris yellow spot virus* an Bund- und Speisezwiebeln-erster Nachweis in Deutschland. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 59: 310–312.

Mavrič, I., Ravnikar, M. (2000): *Iris yellow spot tospovirus* in Slovenia. 5th Congress of the Europea Foundation for Plant Pathoogy: Biodiversity in Plant Pathology, Taormina-Giardini Naxos, Italy, Proceedings, 223–225.

Mumford, R. A., Glover, R., Daly, M., Nixon, T., Harju, V., Skelton, A. (2008): *Iris yellow spot virus* (IYSV) infecting *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum*) in the UK: First finding and detection by real-time PCR. *Plant Pathology*, 57: 768.

Pappu, H. R., du Toit, L. J., Schwartz, H. F., Mohan, K. (2006): Sequence diversity of the nucleoprotein gene of *Iris yellow spot virus* (genus *Tospovirus*, family *Bunyaviridae*) isolates from the western region of the United States. *Archives of Virology*, 151: 1015–1023.

Pappu, H. R., Jones, R. A. C., Jain, R. K. (2009): Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: Successes achieved and challenges ahead. *Virus Research*, 141: 219–236.

Pappu, H. R., Rosales, I. M., Druffel, K. L. (2008): Serological and molecular assays for rapid and sensitive detection of *Iris yellow spot virus* infection of bulb and seed onion crops. *Plant Disease*, 92: 588–594.

- Plenk, A., Grausgruber-Gröger, S. (2011): First report of *Iris yellow spot virus* in onions (*Allium cepa*) in Austria. *New Disease Reports*, 23: 13.
- Poole, G. J., Pappu, H. R., Davis, R. M., Turini, T. A. (2007): Increasing outbreaks and impact of *Iris yellow spot virus* in bulb and seed onion crops in the Imperial and Antelope Valleys of California. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2007-0508-01-BR.
- Pozzer, L., Bezerra, I. C., Kormelink, R., Prins, M., Peters, D., Resende, R. de O., de Ávila, A. C. (1999): Characterization of a tospovirus isolate of *Iris yellow spot virus* associated with a disease in onion fields in Brazil. *Plant Disease*, 83: 345-350.
- Robène-Soustrade, I., Hostachy, B., Roux-Cuvelier, M., Minatchy, J., Hédont, M., Pallas, R., Couteau, A., Cassam, N., Wuster, G. (2006): First report of *Iris yellow spot virus* in onion bulb and seed production fields in Reunion Island. *Plant Pathology*, 55: 288.
- Smith, T. N., Jones, R. A. C., Wylie, S. J. (2006): Genetic diversity of the nucleocapsid gene of *Iris yellow spot virus*. *Australasian Plant Pathology*, 35: 359-362.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011): MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. (1994): CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.
- Tomassoli, L., Tiberini, A., V. Masenga, V., Vicchi, V., Turina, M. (2009): Characterization of *Iris yellow spot virus* isolates from onion crops in northern Italy. *Journal of Plant Pathology*, 91: 733-739.
- Trkulja, V., Mihić Salapura, J., Kovačić, D., Stanković, I., Bulajić, A., Vučurović, A., Krstić, B. (2013): First report of *Iris yellow spot virus* infecting onion in Bosnia and Herzegovina. *Plant Disease* 97: 430.

(Primljeno: 22. 10. 2013.)

(Prihvaćeno: 14. 11. 2013.)

IRIS YELLOW SPOT VIRUS A NEW PATHOGEN OF ONION IN REPUBLIC OF SRPSKA

VOJISLAV TRKULJA¹, JELENA MIHIĆ SALAPURA¹, DRAGANA KOVAČIĆ¹, IVANA STANKOVIĆ²,
ANA VUČUROVIĆ², ALEKSANDRA BULAJIĆ², BRANKA KRSTIĆ²

¹Agricultural Institute of Republic of Srpska, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

²University of Belgrade-Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia
e-mail: branka.krstic@agrif.bg.ac.rs

SUMMARY

The investigation of the presence and distribution of *Iris yellow spot virus* in seed and bulb onion crops in the Republic of Srpska during 2012 revealed the virus presence in 34 out of 56 serologically tested samples collected at four different localities. For further analyses, the four samples of naturally infected onion plants originating from different localities were selected and successfully mechanically transmitted to test plants *Petunia x hybrida* and *Nicotiana benthamiana* confirming the infectious nature of the disease. None of the selected isolates caused symptoms on onion seedlings. Molecular detection was performed by amplification of a fragment of 896 bp in all tested samples, using the specific primers IYSV56U/IYSV917L that amplify nucleocapsid gene. The RT-PCR products derived from isolate 373-12 was sequenced (KF733020) and compared with the IYSV sequences available in GenBank. Sequence analysis of the complete N gene, revealed the highest nucleotide identity of 99.6% (99.6% amino acid identity) with IYSV onion isolate originating from Texas. Phylogenetic analysis showed clustering of selected isolates into six molecular groups correlating with their geographic origin. Onion IYSV isolates from the Republic of Srpska grouped in cluster 5 together with isolates from Georgia and Peru.

Key words: IYSV, onion, DAS-ELISA, molecular detection, phylogenetic analysis

(Received: 22. 10. 2013.)

(Accepted: 14. 11. 2013.)

UTICAJ INSEKTICIDA NA KLIJAVOST SEMENA I PARAMETRE PORASTA PONIKA INBRED LINIJA KUKURUZA

GORDANA TAMINDŽIĆ, ZORICA NIKOLIĆ, DARIO DANOJEVIĆ, VESNA ŽUPUNSKI,
MAJA IGNJATOV, DRAGANA PETROVIĆ, GORDANA ZDJELAR

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Srbija
*e-mail: gordana.tamindzic@nsseme.com

REZIME

U pojedinim godinama, napadi polifagnih insekata mogu da ugroze semensku proizvodnju kukuruza. Od hemijskih mera zaštite najekonomičnije je tretiranje semena insekticidnim preparatima, a to je dovelo do ispitivanja njihovog uticaja na kvalitet semena. Koncentrovane suspenzije za tretiranje semena na bazi aktivnih materija klotianidin, imidakloprid, tiametoksam, teflutrin+tiametoksam i fipronil su obuhvaćene ovim testiranjem. Dobijeni rezultati ukazuju na postojanje razlika u ispitivanjima klijavosti semena i parametara porasta ponika samooplodnih linija kukuruza kod primene insekticida na bazi različitih aktivnih materija. Svi primenjeni preparati su uticali na smanjenje procenta klijavosti semena (93,3-94,3%). Primenom preparata na bazi aktivnih materija teflutrin+tiametoksam, imidakloprid i fipronil došlo je do povećanje broja atipičnih ponika. Preparat na bazi aktivne materije klotianidin uticao je na povećanje dužine nadzemnog dela ponika (146 mm) u odnosu na kontrolu, dok je preparat na bazi aktivne materije teflutrin+tiametoksam uticao na povećanje dužine korena ponika (154,6 mm).

Ključne reči: klijavost semena, parametri porasta ponika, inbred linije kukuruza, tretman semena insekticidima.

UVOD

Proizvodnja semenskog kukuruza je od izuzetnog značaja. Rentabilnost ove proizvodnje ostvaruje se jedino u slučajevima visokog prinosa semena dobrog kvaliteta. S obzirom da su inbred linije znatno osetljivije na sve negativne uticaje spoljne sredine, u ovu proizvodnju neophodno je ulagati dosta materijalnih sredstava i angažovati veliki broj stručnih lica (Jocković i sar., 2011).

Jedan od bitnih negativnih činioca koji narušavaju semensku proizvodnju kukuruza jesu štetocine kukuruza. U početnoj fazi razvoja, kukuruz je izložen napadu mnogih fitofagnih vrsta insekata. Podzemni delovi biljke često su izloženi napadu larvi skočibuba, gundelja i podgrizajućih sovice, a štete koje nastaju u pojedinim godinama mogu biti ekonomski vrlo značajne. Tek ponikle

biljke često su meta napada sive kukuruzne pipe (*Tanymecus dilaticollis*), crne repine pipe (*Psallidium maxillosum* F.), buvača (*Phyllotreta spp*) i nekih drugih vrsta (Almaši i sar., 2002). Hemijske mere zaštite su neophodne u borbi protiv ovih štetnih vrsta. Hemijske mere zaštite su neophodne u borbi protiv ovih štetnih vrsta, a tretiranje semena sa insekticidnim preparatima prilikom dorade predstavlja jeftiniji i ekološki prihvatljiviji metod primene insekticida (Bača i sar., 2008). Ovakav vid zaštite obezbeđuje da se insekticid nalazi u neposrednoj okolini buduće biljke, gde je najpotrebniji i može pokazati najbolje delovanje (Marjanović-Jeromela i sar., 2008). Danas sve širu primenu u ratarskoj proizvodnji imaju koncentrovane suspenzije za tretiranje semena na bazi različitih aktivnih materija. S obzirom da je u našoj zemlji primena ovih preparata novijeg datuma postavlja se pitanje

njihovog uticaja na kvalitet semena, u prvom redu na klijavost semena.

Preparati za tretiranje semena obezbeđuju povoljnije uslove za rast i razvoj ponika. Ipak, rezultati pojedinih istraživanja ukazuju na činjenicu da preparati za tretiranje semena, u određenim uslovima, mogu izazvati smanjenje klijavosti i preživljavanje ponika, što je posledica fitotoksičnog delovanja (Braguini, 2005). S druge strane, pronađeni su i literaturni podaci koji ukazuju na pozitivno delovanje preparata imidakloprid i tiametoksam na klijavost semena pasulja i na ostale važne agronomске osobine, čime je ostvarena veća produktivnost (Barbosa et al., 2002). Međutim, Tavares et al. (2007) nisu primetili razliku u klijavosti i vigoru semena soje kod primene različitih koncentracija tiametoksama.

Kvalitet semena je skup osobina koji obezbeđuju uspešan razvoj nove biljke u okviru agroekoloških uslova sredine (Poštić i sar., 2011). Kvalitet semena određuje veći broj činilaca (čistoća semena, klijavost, vlaga, masa 1000 semena i dr.) koji su pod uticajem različitih faktora spoljne sredine (Karagić i sar., 2001). Veliki broj faktora utiče na najvažnije karakteristike semena, energiju klijanja i klijavost semena (Radić, 2003), koja se smatra jednim od najvažnijih pokazatelja vitalnosti semena (Mrđa i sar., 2009). Ukoliko su uslovi za klijanje semena u zemljištu optimalni klijavost semena dobijena u laboratorijskim uslovima dobar je pokazatelj kvaliteta semena kojim može da se okvirno predvidi poljsko nicanje (Durrant & Gummerson, 1990).

Cilj ovog istraživanja bio je da se utvrdi uticaj insekticida za tretiranje semena na klijavost semena i parametre porasta ponika inbred linija kukuruza.

MATERIJAL I METOD RADA

Ispitivanje je izvedeno na semenu šest inbred linija kukuruza Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad. Dorađeno seme je pre laboratorijskih analiza tretirano sa pet preparata na bazi aktivnih materija (klotianidin, imidakloprid, teflutrin+tiametoksam, tiametoksam i fipronil) u preporučenim dozama (Tab. 1). Netretirano seme šest samooplodnih linija je uzeto kao kontrola. Ogled je postavljen u Laboratoriji za ispitivanje semena Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Ispitivanje klijavosti semena je izvršeno primenom standardnog testa klijavosti kod kojeg je korišćen sterilisan pesak kao podloga, u četiri ponavljanja po 100 semena, na 25°C u trajanju od sedam dana. Energija klijanja je određena četvrtog dana, dok je klijavost semena određena sedmog dana (ISTA 2009). Ocenjeni su i parametri porasta ponika, dužina nadzemnog dela i dužina korena.

Rezultati su obrađeni u statističkom programu Statistica 10, metodom analize varijanse glavnih efekata, gde su za glavni efekat uzeti tretmani sa insekticidima. Rezultati su prikazani grafički, pri čemu su glavni efekti tretmana predstavljeni na apscisi. Razlike između sredina utvrđene su NZR testom na nivou značajnosti od 5%.

Tabela 1. Aktivne materije, količine primene i hemijske grupe aktivnih materija insekticidnih preparata kojima je tretirano seme inbred linija kukuruza.

Table 1. Active substances, quantities and chemical groups of insecticidal products applied on the seed of maize inbred lines.

Aktivna materija (hemijska grupa)	Količina primene (ml/100kg semena)
Klotianidin 600g/l (neonikotinoid)	280
Imidakloprid 600g/l (neonikotinoid)	600
Tiametoksam 350g/l (neonikotinoid)	900
Teflutrin (80g/l) + tiametoksam (200g/l) (piretroid + neonikotinoid)	420
Fipronil 500g/l (pirazol)	400

Tabela 2. Analiza varijanse energije klijanja semena, klijavosti semena, atipičnih ponika i parametara porasta ponika inbred linija kukuruza tretiranih različitim aktivnim materijama insekticida.

Table 2. Analysis of variance of energy of germination, seed germination, abnormal seedlings and seedling growth parameters of maize inbred lines treated with products based on different active substances of insecticides.

	Stepen slobode Degr.of	Energija klijanja Energy of germination		Klijavost semena Seed germination		Atipični ponici Abnormal seedlings		Dužina nadzemnog dela ponika Seedlings shoot lenght		Dužina korena ponika Seedlings root lenght	
		Sredina kvadrata MS	F-odnos F	Sredina kvadrata MS	F-odnos F	Sredina kvadrata MS	F-odnos F	Sredina kvadrata MS	F-odnos F	Sredina kvadrata MS	F-odnos F
Linija	5	110	5,25*	49	4*	16,49	1,874	764	2,529*	962	1,438
Inbred line	5	106	5,05*	44	3,7*	21,575	2,472*	1265	4,186*	1588	2,373*
Tretman											
Treatment											
Greška	133	21		12		8,8		302		669	
Error											

REZULTATI

Rezultati analize varijanse pokazali su da su efekti linija i tretmana značajni kod svih ispitivanih parametara, dok efekat linija kod atipičnih ponika i kod dužine korena ponika nije značajan (Tab. 2).

Primenom standardnog testa klijavosti dobijena energija klijanja semena inbred linija kukuruza koje nije tretirano je iznosila 95,7% (Graf. 1). Primena insekticida za tretiranje semena sa različitim aktivnim materijama je dovela do značajnih razlika u energiji klijanja semena. Najmanji pad energije klijanja zabeležen je kod preparata na bazi aktivnih materija tiametoksam i teflutrin+tiametoksam u odnosu na kontrolu, dok su preparati na bazi aktivnih materija klotianidin (92,8%), fipronil (91,3%) i imidakloprid (90,6%) doveli do značajnijeg pada energije klijavosti.

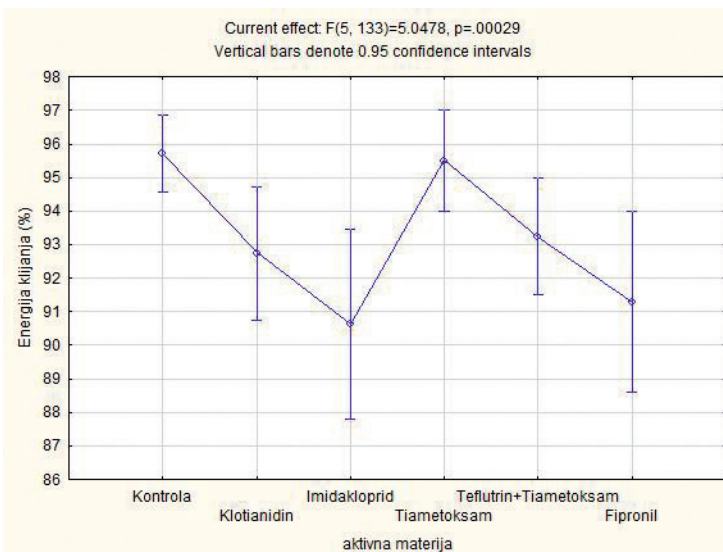
Klijavost netretiranog semena inbred linija kukuruza dobijena primenom standardnog testa klijavosti je iznosila 96,6% (Graf. 2). Klijavost semena ispitivanih inbred linija tretiranog preparatima na bazi a.m. imidakloprid i fipronil (93,3%) bila je značajno manja u odnosu na klijavost semena u kontroli. Manju klijavost imalo je i seme inbred linija tretirano preparatom na bazi aktivne materije teflutrin+tiametoksam (94,3%). Između preparata na bazi a.m. klotianidin, tiametoksam i kontrolne varijante nije bilo značajne razlike u klijavosti semena. Iako su preparati uticali na smanjenje klijavosti semena kukuruza, dobijene vrednosti su bile veće od minimalne propisane vrednosti klijavosti semena kukuruza.

Procenat atipičnih ponika inbred linija kukuruza u kontroli iznosio je 1,8% (Graf. 3). Udeo atipičnih ponika povećao se sa primenom preparata insekticida na bazi različitih aktivnih materija. Procenat atipičnih ponika inbred linija kod primene

preparata sa a.m. tiametoksam (3,0%) i preparata sa a.m. klotianidin (3,5%) se nije značajno razlikovao u odnosu na vrednost atipičnih ponika inbred linija u kontroli. Značajno veći procenat atipičnih ponika u odnosu na kontrolu imalo je seme inbred linija tretiranih preparatima sa a.m. teflutrin+tiametoksam (3,7%), imidakloprid (4,1%) i fipronil (4,6%).

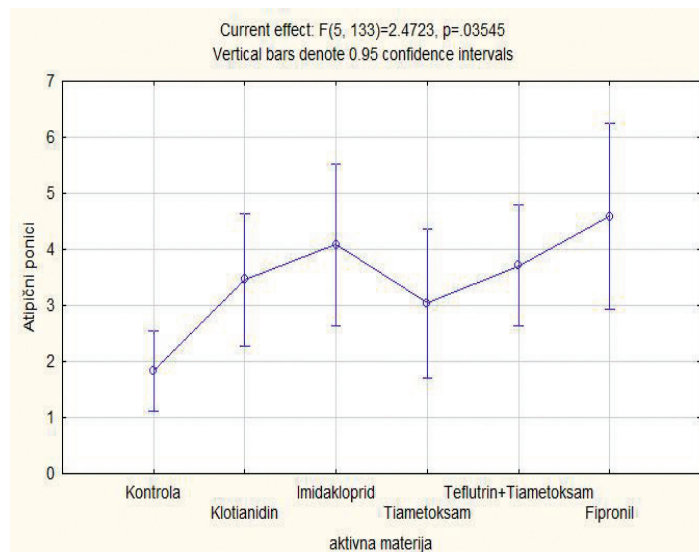
Dužina nadzemnog dela ponika je značajno varirala između tretmana preparatima na bazi različitih aktivnih materija (Graf. 4). U kontroli dužina nadzemnog dela ponika je iznosila 142,9 mm. Preparat na bazi a.m. klotianidin je ispoljio pozitivan, ali ne i značajan uticaj na porast nadzemnog dela ponika i vrednost ispitivanog parametra kod primene ovog preparata je iznosila 146,0 mm. Vrednosti ovog parametra kod semena tretiranog preparatima na bazi a.m. fipronil i teflutrin+tiametoksam nisu se značajno razlikovale u odnosu na kontrolnu varijantu. Značajno manje vrednosti dužine nadzemnog dela ponika ispitivanih inbred linija dobijene su kod primene preparata na bazi a.m. imidakloprid (131,2 mm) i tiametoksam (126,7 mm).

U kontroli dužina korena ponika je iznosila 138,2 mm (Graf. 5). Nešto manje vrednosti ovog parametra zabeležene su kod preparata sa a.m. tiametoksam i fipronil. Značajno povećanje dužine korena zabeleženo je kod primene preparata sa a.m. teflutrin+tiametoksam i ta vrednost je iznosila 154,6 mm.



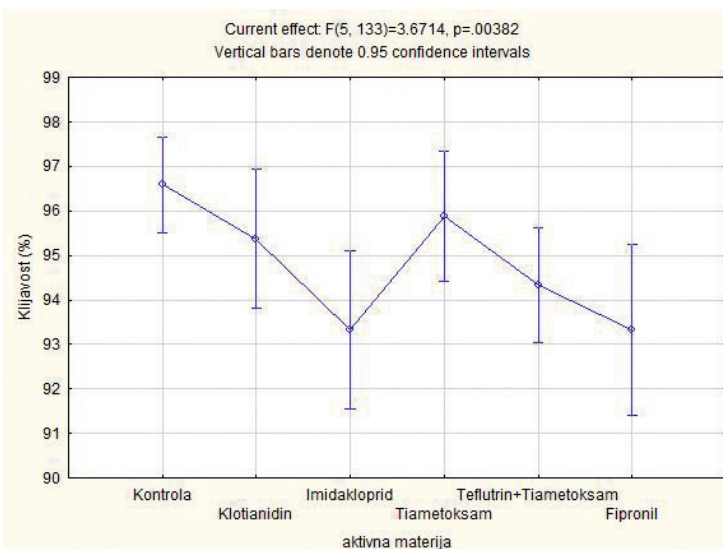
Grafikon 1. Energija klijanja semena inbred linija kukuruza tretiranih preparatima na bazi različitih aktivnih materija insekticida.

Chart 1. Energy of germination of maize inbred lines treated with products based on different active substances of insecticides.



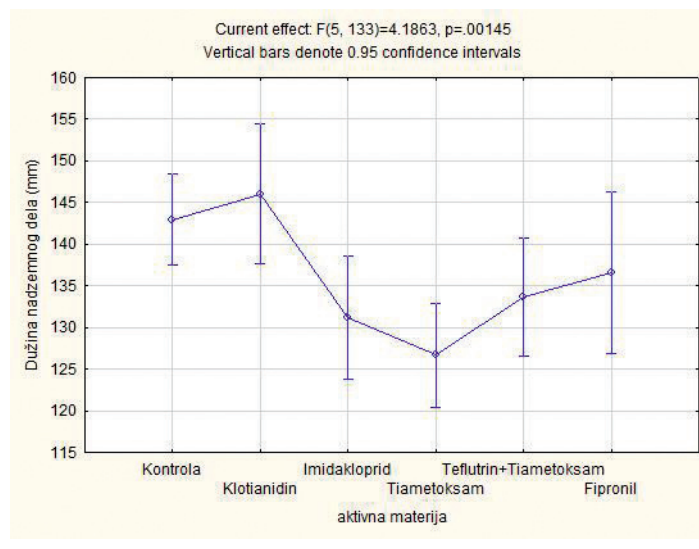
Grafikon 3. Atipični ponici inbred linija kukuruza tretiranih preparatima na bazi različitih aktivnih materija insekticida.

Chart 3. Abnormal seedlings of maize inbred lines treated with products based on different active substances of insecticides.



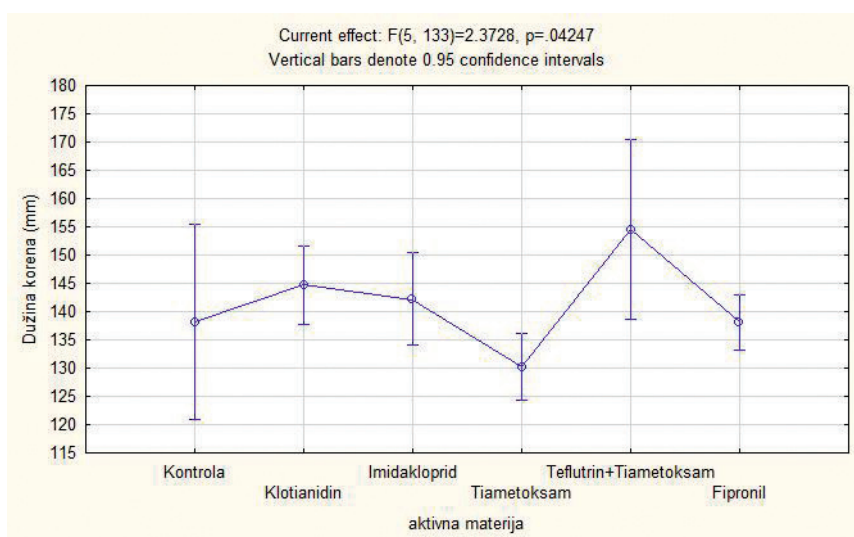
Grafikon 2. Klijavost semena inbred linija kukuruza tretiranih preparatima na bazi različitih aktivnih materija insekticida.

Chart 2. Seed germination of maize inbred lines treated with products based on different active substances of insecticides.



Grafikon 4. Dužina nadzemnog dela ponika inbred linija kukuruza tretiranih preparatima na bazi različitih aktivnih materija insekticida.

Chart 4. Seedlings shoot length of maize inbred lines treated with products based on different active substances of insecticides.



Grafikon 5. Dužina korena ponika inbred linija kukuruza tretiranih preparatima na bazi različitih aktivnih materija insekticida.

Chart 5. Seedlings root length of maize inbred lines treated with products based on different active substances of insecticides.

DISKUSIJA

U ovom istraživanju svi primenjeni preparati su uticali na smanjenje vrednosti klijavosti semena inbred linija kukuruza, ali su te vrednosti bile iznad minimalne vrednosti klijavosti semena kukuruza propisane Pravilnikom o kvalitetu semena poljoprivrednog bilja (Sl. List SFRJ 47/87). Odsustvo štetnih efekata preparata na bazi a.m. tiametoksam na klijavost semena u ovom istraživanju u saglasnosti su sa rezultatima istraživanja Tavares et al. (2007) na semenu soje, kao i na semenu pasulja (Barros et al., 2001). Pozitivan uticaj tiametoksama na klijavost semena graška, soje i kukuruza navodi Horri et al. (2007). Tiametoksam je pokazao pozitivne efekte kroz povećanje životne sposobnosti, akumulacije biomase, visoke stope fotosinteze i razvijenosti korenovog sistema (Cataneo, 2008). Tiametoksam se transportuje u biljci kroz njene ćelije i aktivira nekoliko fizioloških reakcija (npr. ekspresija proteina), koji su u interakciji sa različitim odbrambenim mehanizmima biljke, omogućavajući bolje suočavanje sa nepovoljnim uslovima (Cavijo, 2008; Almeida et al., 2013). Preparat na bazi aktivne materije imidakloprid je uticao na smanjenje procenta klijavosti semena inbred linija kukuruza u odnosu na kontrolu, što je suprotno rezultatima Dragičević i sar. (2011). Kuhar et al. (2002) su naveli slučajeve smanjenja klijavosti semena kukuruza kao rezultat primene imidakloprida, kao i da su partije semena sa većim vigorom bile tolerantnije na imidakloprid. Ovako raznoliki rezultati se mogu objasniti činjenicom da isti preparat može imati de-

presivan efekat kod jednog genotipa, a pozitivan efekat kod drugog genotipa (Ivanović i sar., 1994).

Literaturni podaci ukazuju da insekticid na bazi aktivne materije imidakloprid nije imao uticaja na energiju klijanja semena kukuruza (Bittencourt et al., 2000; Dan et al., 2012), što je suprotno rezultatima dobijenim u ovom istraživanju. Energija klijanja semena hibrida suncokreta bila je manja kod upotrebe ovog preparata (Mrdja i sar., 2009). Rezultati istraživanja Castro et al. (2007) na soji i Clavijo (2009) na pirinču pokazuju da seme tretirano tiametoksamom ima ubrzano klijanje usled stimulisanje enzimske aktivnosti, kao i bolju energiju klijanja i uniformniju početni razvoj ponika. Na semenu soje uočeno je da tiametoksam ubrzava proces klijanja i da indukuje razvoj embrionove ose (Cataneo, 2008).

Primena insekticidnih preparata dovela je do povećanja udela atipičnih ponika. Kod primene preparata na bazi a.m. imidakloprid, kao i fipronil uočeno je značajno povećanje atipičnih ponika. Ovaj rezultat se može objasniti time što imidakloprid u određenoj koncentraciji remeti metabolizam dovoljno da izazove pojavu abnormalnih biljaka (Ebel et al., 2000), što su potvrdili rezultati u ovom istraživanju. Dobijeni rezultati su u saglasnosti u saglasnosti sa Kuhar et al. (2002).

Dužina nadzemnog dela ponika varirala je kod primene preparata sa različitim aktivnim materijama. Imidakloprid i tiametoksam su značajno uticali na smanjenje dužine nadzemnog dela ponika u ovom istraživanju. Negativan uticaj tiametoksama i imidakloprida na dužinu nadzemnog dela ponika

konstatovan je i kod semena crnog pasulja (Guimarães et al., 2005). Suprotno ovim rezultatima, u literaturi su pronadjeni podaci da tiametoksam pozitivno utiče da razvijenost nadzemnog dela ponika (Almeida et al., 2013).

Manja vrednost dužine korena ponika u odnosu na kontrolu zabeležena je kod primene preparata na bazi aktivne materije fipronil. Smanjenje dužine korena ponika kod semena kukuruza tretiranog preparatom fipronil konstatovao je i Silveira et al. (2001). Iako je preparat na bazi aktivne materije tiametoksam uticaj na smanjenje dužine korena ponika, pronadjeni

su literaturni podaci koji ukazuju na pozitivan uticaj ovog preparata na dužinu korena ponika (Almeida et al., 2013). Kao jedna od aktivnih materija, u kombinaciji sa aktivnom materijom teflutrin, ostvario je pozitivan uticaj na porast dužine korena ponika.

ZAHVALNICA

Ovaj rad je rezultat projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, broj TR 31073: „Unapređenje kukuruza i sirka u uslovima stresa“.

LITERATURA

- Almaši R, Bača F, Čamprag D, Sekulić R (2002): Štetočine kukuruza i njihovo suzbijanje. U: kolektiv autora (Ur.): Bolesti, štetočine i korovi kukuruza i njihovo suzbijanje. Školska knjiga, Novi Sad.
- Almeida, A.S., Villela, F.A., Nunes, J.C., Meneghello, G.E. and Jauer A. (2013): Thiamethoxam: An Insecticide that Improve Seed Rice Germination at Low Temperature in Insecticides - Development of Safer and More Effective Technologies Chapter 14, p.p.417-426.
- Bača F, Gošić-Dondo S, Videnović Ž, Erski P (2008): Efekat tretiranja semena kukuruza imidaklopridom i tiametoksamom na sklop biljaka i prinosa zrna. Ratar. Povrt./Field Veg. Crop Res. 14 (1-2): 61-70.
- Barbosa, F.R., Siqueira, K.M.M., Souza, E.A., Moreira, W.A., Haji, F.N.P., Alencar, J.A. (2002): Efeito do controle químico da mosca-branca na incidência do vírus-do-mosaico-dourado e na produtividade do feijoeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 37(1):879-883.
- Barros R.G.; Yokoyama M., Costa J.L. da S. (2001): Compatibilidade do inseticida thiametoxan com fungicidas utilizados do tratamento de sementes de feijoeiro. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, 31: 153-157.
- Bittencourt, S.R.M.; Fernandes, M.A.; Ribeiro, M.C.; Vieira, R.D (2000): Desempenho de sementes de milho tratadas com inseticidas sistêmicos. Revista Brasileira de Sementes, 22(2): 86-93.
- Braguini, W. L. (2005): Efeitos da Deltametrina e do Glifosato, sobre parâmetros do metabolismo energético mitocondrial, sobre membranas artificiais e naturais e experimentos in vivo. Curitiba: UFP.
- Castro, P.R.C.; Pitelli, A.M.C.M.; Peres, L.E.P.; Aramaki, P.H. (2007): Análise da atividade reguladora de crescimento vegetal de tiametoxam através de biotestes. Publicatio. UEPG (Ponta Grossa), 13: 25-29.
- Cataneo A.C. (2008): Ação do Tiametoxam sobre a germinação de sementes de soja (Glycine max L.): Enzimas envolvidas na mobilização de reservas e na proteção contra situação de estresse (deficiência hídrica, salinidade e presença de alumínio). Tiametoxam: uma revolução na agricultura brasileira.: Gazzoni D.L. (ed), 123-192.
- Clavijo J. (2008): Um nuevo concepto em vigor y productividad. Bogotá, Colômbia, 196.
- Dan L.M.G., Dan H.A., Braccini A.L., Barrosp A.L.L., Ricci T.T. Piccinin G.G., Scapim C.A. (2012): Insecticide Treatment and Physiological Quality of Seeds, Insecticides – Advances in Integrated Pest Management, Dr. Farzana perveen (Ed.), ISBN: 978-953-307-780*2, in Tech, available from: <http://intechopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/insecticide-treatment-and-physiological-quality-of-seeds>
- Dragičević, V., Gošić-Dondo, S., Jug, I., Srdić, J., Sredojević, S. (2011): The influence of seed treatments on ger-

mination and initial growth of maize seedlings. Proc. 46th Croatian and 6th international Symposium on Agriculture. Opatia. 654-657.

Durrant M. J., Gummerson R. J. (1990): Factors associated with germination of sugarbeet seed in the standard test establishment in the field. Seed Sci. and Techn. 18: 1-10.

Ebel, R.C., Wallace, B., Elkins, C. (2000): Phytotoxicity of the Systemic Insecticide Imidacloprid on tomato and Cucumber in the Greenhouse. HortTechn. 10 (1): 144-147.

Guimarães R.N. et al. (2005): Efeito do tratamento de sementes com inseticidas na emergência altura de plântulas de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, Goiânia, 8., 94-99. (Documentos, 182)

Horii P.M., Shetty K. (2007): Enhancement of seed vigour following insecticide and phenolic elicitor treatment. Bioresour. Tech. 98: 623-632.

ISTA (2009): International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Switzerland.

Ivanović, D., Stojkov, S., Kaitović, Ž., Bača, F. (1994): The reaction of corn inbred lines and hybrids on chemical preparations for seed treatment. Plant Breeding Seed Prod. 1(1): 147-150.

Jocković Đ., Boćanski J., Popov R., Malidža G., Nastasić A., Đalović I. (2011): Proizvodnja semena kukuruza. U: Milošević, M., Kobiljski, B. (Ur.): Semenarstvo II. Institut za ratarstvo i povrtarstvo. 91-195.

Jocković Đ., Purar B., Bekavac G., Stojaković M., Ivanović M. (2006): Oplemenjivanje kukuruza u Naučnom institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Ratar. Povrt./Field Veg. Crop Res. 42: 55-69.

Karagić Đ., Katić S., Mihajlović V., Vujaković M. (2001): Semenski kvaliteti domaćih sorti lucerke. Ratar. Povrt./Field Veg. Crop Res. 35: 367-379.

Kuhar, T.P., Stevens-Young, L.J., Hoffman, M., Taylor A. (2002): Control of the corn flea beetle and Stewart's wilt in sweet corn with imidacloprid and thiamethoxam seed treatments. Crop Prot. 21, 25-31.

Macedo W.R., Fernandes G.M., Possenti R.A., Lambais G.R., Camargo e Castro P.R. (2013): Responses in root growth, nitrogen metabolism and nutritional quality in Brachiaria with the use of thiamethoxam. Acta Physiol. Plant. 35(1): 205-2011.

Marjanović-Jeromela A., Marinković R., Milovac Ž., Miladinović D., Sekulić R., Jasnić S. (2008): Ispitivanje sjemenskih kvaliteta sjemena uljane repice (*Brassica napus* L.) tretiranog insekticidima i fungicidima. Glasnik zaštite bilja 4: 13-21.

Mrđa J., Ostojić B., Radić V., Prole S., Jokić G., Butaš D., Miklič V. (2009): Efekat različitih uslova čuvanja na klijavost tretiranog hibridnog semena suncokreta. Ratar. Povrt./Field Veg. Crop Res. 46(1): 63-71.

Padihla L., Faroni L.R.D.A (1993): Importância e forma de controle de *Rhizopertha dominica* em grãos armazenados. In: SIMPÓSIO DE PROTEÇÃO DE GRÃOS ARMAZENADOS. Anais. Passo Fundo: EMBRAPA, CNPT, 52-58.

Poštić D., Momirović N., Bročić Z., Dolijanović Ž., Trkulja N., Dolovac N., Ivanović Ž. (2011): Ocena kvaliteta semena paradajza (*Lycopersicum esculentum* L.). Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik 17 (1-2): 131-135.

Pravilnik o kvalitetu semena poljoprivrednog bilja, Službeni list SFRJ br. 47/87.

Radić V. (2003): Uticaj nepovoljnih činilaca na klijavost pojedinih genotipova kukuruza (*Zea Mays* L.). Magistrska teza. Univerzitet u Novom Sadu. Poljoprivredni fakultet.

Silveira R.E., Maccari, M., Marquezi C.F. (2001): avaliação do efeito de inseticidas aplicados via tratamento de sementes sobre o desenvolvimento de raízes de milho, na proteção de pragas do solo. In: REUNIÃO SUL-BRASILEIRA SOBRE PRAGAS DE SOLO, 8., londrina. Anais. Londrina: embrapa Soja, 246-249.

Tavares, S., Castro, P.R.C., Ribeiro, R.V., Aramaki, P.H. (2007): Avaliação dos efeitos fisiológicos de thiametoxan no tratamento de sementes de soja. Revista de Agricultura, Piracicaba, 82(1): 47-54.

Vujaković M., Milošević M., Nikolić Z., Zlokolica M. (2003): Uticaj preparata za tretiranje semena na klijavost i vigor pšenice. J. Process. Energ. Agr./PTEP 7(3-4): 75-78.

(Primljeno: 31. 05. 2013.)
(Prihvaćeno: 15. 08. 2013.)

EFFECT OF INSECTICIDES ON SEED GERMINATION AND SEEDLING GROWTH PARAMETERS OF MAIZE INBRED LINES

GORDANA TAMINDŽIĆ, ZORICA NIKOLIĆ, DARIO DANOJEVIĆ, VESNA ŽUPUNSKI,
MAJA IGNJATOV, DRAGANA PETROVIĆ, GORDANA ZDJELAR

*Institute of field and vegetable crops, Novi Sad
e-mail: gordana.tamindzic@nsrps.com*

SUMMARY

In some years, polyphagous insects can threaten production of maize seed. Use of insecticides through seed treatment is known to be the most economical chemical control, which imposed the need to determine the impact of used insecticides on seed quality. Concentrated suspensions for seed treatment, based on active substances clothianidin, imidacloprid, thiamethoxam, tefluthrin + thiamethoxam and fipronil are included in this test. The results indicate differences in germination capacity and seedling growth parameters of maize inbred lines when insecticides with different active substances were applied. All applied insecticides decreased the percentage of germination (93.3 to 94.3%) when compared to control (96.6%). Insecticides based on active substances tefluthrin + thiamethoxam, imidacloprid and fipronil increased the number of abnormal seedlings. Products based on active ingredient clothianidin, increased shoot length of seedlings (146 mm) when compared to the control, while products based on active ingredient thiamethoxam + tefluthrin increased the root length of seedlings (154.6 mm).

Key words: seed germination, seedling growth parameters, maize inbred lines, seed treatment insecticides

(Received: 31. 05. 2013.)

(Accepted: 15. 08. 2013.)

Zaštita bilja
Vol. 64 (2), N^o 284, 110-115, 2013, Beograd
Plant Protection
Vol. 64 (2), N^o 284, 110-115, 2013, Belgrade

UDK: 630*233:622.012 ; 622.012

Naučni rad
Scientific paper

AGROHEMIJSKE I MIKROBIOLOŠKE OSOBINE POŠUMLJENIH DEPOSOLA RUDARSKOG BASENA „KOLUBARA“

NATAŠA RASULIĆ¹, DUŠICA DELIĆ¹, SLOBODAN KUZMANOVIĆ², DRAGANA JOŠIĆ¹,
ĐORDE KUZMANOVIĆ¹, SRDAN ANDELOVIĆ³, OLIVERA STAJKOVIĆ-SRBINOVIĆ¹

¹Institut za zemljište, Beograd

²Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

³Delta Agrar doo Beograd, Serbia

REZIME

Zbog nepovoljne konfiguracije terena, na većini trajno odloženih zemljišta (deposola) rudarskog basena „Kolubara“ rekultivacija je izvedena pošumljavanjem. Izvršeno je ispitivanje osnovnih agrohemijских osobina, kao i kvantitativne zastupljenosti pojedinih grupa mikroorganizama u deposolima različite starosti i pod različitim šumskim kulturama. Ispitivani deposoli su pokazali povoljniji pH od kontrolnog zemljišta, niži sadržaj humusa, ukupnog N i lako pristupačnog K₂O, a viši sadržaj lako pristupačnog P₂O₅. Opšta biogenost je bila zadovoljavajuća, s tim što je zastupljenost ukupne mikroflore, gljivica i bakterija iz roda *Clostridium* bila manja nego kod kontrolnog zemljišta, dok je zastupljenost ostalih fizioloških grupa mikroorganizama bila znatno veća.

Ključne reči: biogenost, deposoli, pošumljavanje, rekultivacija

UVOD

Površinska eksploatacija mineralnih sirovina se sve više primenjuje u svetu, a pogotovo u eksploataciji uglja koji predstavlja pogonsko gorivo za rad termoelektrana i dobijanje električne energije. Tehnologija površinske eksploatacije je specifična i zahteva uklanjanje pedosfere i matičnog supstrata sve do slojeva uglja. Materijal koji se mora ukloniti, tzv. „otkrivka“ ili „jalovina“ je često debljine i do 200m. Njenim deponovanjem nastaju zemljišne tvorevine nazvane deposoli ili tehnogena zemljišta (Antonović, 1980) koji predstavljaju posebnu grupu u okviru postojeće sistematike zemljišta.

Rudnik lignita „Kolubara“ je započeo otkopavanje uglja površinskom eksploatacijom 1957. godine i od samog početka pristupio rekultivaciji novonastalih supstrata, odnosno njihovom privođenju kulturi. Postoje tri kategorije rekultivacije: autorekultivacija-bez intervencije čoveka, rekultivacija pošumljavanjem i potpuna, odnosno poljoprivredna rekultivacija (Resulović, 1984). Tako je 1958. godi-

ne pošumljeno 110 ha deposola kulturom bagrema (Kotlajić, 1979). Do danas je rekultivacija izvršena na 1200 ha deposola, od čega se, zbog nepovoljne konfiguracije terena, 875 ha nalazi pod šumom, a svega 375 ha pod poljoprivrednim kulturama (Trbojević i sar., 1990). U toku rekultivacije pošumljavanjem se postiže povećan priliv organske materije u sterilan supstrat jalovine, a samim tim ubrzano oživljavanje supstrata i pokretanje pedoloških procesa. Pored toga, šume u procesu fotosinteze stvaraju velike količine kiseonika koji je neophodan svuda gde je prisutno aerozagadenje.

Za pošumljavanje deposola su korišćene sledeće kulture: bagrem, topola, ariš, jasen, hrast, jova, lipa, duglazija, javor, breza, brest, crni i beli bor.

Na svim površinama su pre početka izvođenja biološke rekultivacije izvršena detaljna fizička, hemijska i mikrobiološka ispitivanja odloženih materijala. Na osnovu hemijskih analiza, istaknut je izraženi nedostatak organske materije, a s tim u vezi i ukupnog azota. Asimilativnog fosfora bilo je samo u tragovima, dok su vrednosti za lako pristupačan ka-

lijum bile promenljive (Antonović i sar., 1984). Sveže odloženi supstrati su bili vrlo male biogenosti (Marković et Veselinović, 1979). Pojavom vegetacije se povećala i brojnost mikroorganizama, odnosno opšta biogenost je rasla (Bogdanović et Kotlajić, 1985). Navedena ispitivanja se i dalje obavljaju u kontinuitetu da bi se ocenio trend stvaranja zemljišta. U tom cilju su u Institutu za zemljište u Beogradu izvršena terenska i laboratorijska ispitivanja agrohemijskih i mikrobioloških osobina deposola rudnika lignita „Kolubara“ pod različitim šumskim kulturama.

MATERIJAL I METODE

Brojnost i enzimatska aktivnost mikroorganizama su najveći u površinskom sloju zemljišta, zbog čega su uzorci zemljišta sa odabranih 19 lokaliteta za agrohemijske i mikrobiološke analize uzeti aseptično sa dubine od 0–25 cm.

Za ocenu agrohemijskih osobina deposola određeni su sledeći parametri: pH, odnosno kiselost – potenciometrijskim postupkom; sadržaj humusa – metodom po Kotzmann-u; ukupan azot – metodom po Kjeldahl-u; lako pristupačni fosfor i kalijum Al-metodom Enger-Richm-a

Za ocenu biogenosti određena je kvantitativna zastupljenost sledećih grupa mikroorganizama: ukupna mikroflora na agarizovanom zemljišnom ekstraktu; gljivice na Čapekovom agaru; aktinomicete na sintetičkom agaru sa saharozom po Krasilnjikovu; amonifikatori na tečnoj podlozi sa asparaginom kao izvorom azota; *Azotobacter* spp. metodom fertilnih kapi na bezazotnoj podlozi po Fjodorovu; *Clostridium* spp. metodom nakupljanja u tečnoj podlozi sa rastvorom Vinogradskog; celulolizatori na podlozi Waksman-Carey; nitrifikatori na tečnoj mineralnoj podlozi sa rastvorom Vinogradskog. Brojnost mikroorganizama je utvrđena standardnim mikrobiološkim metodama zasejavanja određene količine suspenzije zemljišta na odgovarajuće hranljive podloge korišćenjem decimalnih razređenja (10^{-1} – 10^{-8}), (Pochon et Tardieux, 1962). Broj mikroorganizama je izražen na gram apsolutno suvog zemljišta.

Pošto je rudarski basen „Kolubara“ lociran u zoni rasprostiranja pseudogleja, rezultati izvršenih analiza su poređeni sa ovim tipom zemljišta kao kontrolom.

REZULTATI I DISKUSIJA

U Tabeli 1 su prikazani rezultati agrohemijskih analiza uzoraka deposola pod različitim šumskim kulturama. Utvrđeno je da su fizič-

ko-hemijske karakteristike zemljišta najvažnije svojstvo koje utiče na broj i aktivnost mikroorganizama, (Milošević i sar., 1997, Marinković i sar., 2007). Na osnovu pH vidimo da su ispitivani deposoli uglavnom slabo kisele reakcije, što znači da imaju povoljniji pH od kontrolnog zemljišta koje je kisele reakcije. Naime, vrednost pH zemljišta direktno utiče na mobilnost hranljivih elemenata, tj. uslovljava njihovu pristupačnost za biljke, ali isto tako uslovljava sastav mikrobne populacije zemljišta, (Tintor i sar., 2009).

Sadržaj humusa u ispitivanim deposolima je u najvećem broju uzoraka bio nizak, kao i nivo ukupnog azota koji je u korelaciji sa procentom humusa.

Nivo lako pristupačnog fosfora je uglavnom bio viši u poređenju sa kontrolnim zemljištem što se može dovesti u vezu sa boljom rastvorljivošću soli fosforne kiseline u uslovima slabo kisele i neutralne reakcije (Popović, 1989).

Obezbeđenost lako pristupačnim kalijumom je bila srednja i u većini slučajeva niža nego u kontrolnom zemljištu.

Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih u Tabeli 2, može se reći da je brojnost ukupne mikroflore kod ispitivanih deposola uglavnom niža u poređenju sa pseudoglejem, što je verovatno uslovljeno nižim sadržajem organske materije. Izuzetak predstavljaju uzorci 2, 8, 9, 13 i 14 i 18 kod kojih je zabeležen i nešto veći sadržaj humusa.

Zastupljenost aktinomiceta je, usled povoljnijeg pH, znatno veća nego kod kontrolnog zemljišta što ukazuje na jače procese mineralizacije organske materije.

Gljivice kao acidofilni mikroorganizmi su slabije zastupljene u deposolima nego u pseudogleju koji, usled veće kiselosti, pruža povoljnije uslove za njihov razvoj.

Amonifikatori, kao korisnici organskog azota i razlagači proteina, su jedna od najzastupljenijih grupa mikroorganizama u zemljištu, (Bogdanović, 1990). Brojnost amonifikatora u deposolima je bila višestruko veća nego kod kontrolnog zemljišta.

Kod većine ispitivanih deposola konstatovane su bakterije roda *Azotobacter*, za razliku od kontrolnog zemljišta kod kojeg uopšte nije zabeleženo njihovo prisustvo, verovatno usled nepovoljne reakcije za razvoj ovih najznačajnijih asocijativnih azotofiksatora i male snabdevenosti zemljišta fosforom (Milošević, 2008).

Zastupljenost bakterija roda *Clostridium* u deposolima je uglavnom niža u odnosu na pseudoglej koji spada u teška i slabo aerisana zemljišta, pa samim tim pruža povoljne uslove za razvoj ovog

anaerobnog mikroorganizma.

Brojnost celulolizatora je višestruko veća nego u kontrolnom zemljištu, pa se može zaključiti da se razlaganje biljnih ostataka u deposolima odvija intenzivnije nego u prirodnom zemljištu.

Što se tiče nitrifikatora, vidimo da su nitritne

bakterije u deposolima zastupljene u istom ili većem broju nego u pseudogleju, što se ne može reći za predstavnike druge faze nitrifikacije. Na osnovu iznetog, može se zaključiti da se većina korisnih mikrobioloških procesa intenzivnije odvija u deposolima nego u prirodnom, neporemećenom zemljištu.

Tabela 1. Agrohemijske osobine ispitivanih deposola.

Table 1. Agrochemical properties of tested deposols.

Lokalitet Location	Kultura Culture	pH	Humus %	Ukupni N % Total N	P ₂ O ₅ mg/100g	K ₂ O mg/100g
1	Crni bor Pine	5,50	1,48	0,10	8,2	15,4
2	Crni bor Pine	6,60	2,97	0,10	2,4	16,6
3	Jova Alder	6,40	1,06	0,10	6,9	18,4
4	Jova Alder	6,10	2,06	0,10	7,5	23,0
5	Jova Alder	6,65	2,06	0,10	8,8	18,4
6	Lipa Lime	6,05	2,11	0,15	6,4	10,8
7	Jova Alder	5,80	1,06	0,15	1,2	9,6
8	Jova Alder	6,10	2,49	0,07	2,0	6,2
9	Duglazija Douglas fir	6,00	2,63	0,08	1,8	20,0
10	Lipa Lime	5,90	1,12	0,06	2,5	15,2
11	Jova Alder	6,80	1,11	0,05	4,7	22,2
12	Jova Alder	5,90	1,41	0,07	10,4	24,8
13	Jova Alder	6,50	2,10	0,05	2,1	13,6
14	Duglazija Douglas fir	5,20	2,34	0,15	2,3	16,2
15	Duglazija Douglas fir	5,75	1,35	0,12	3,7	27,8
16	Lužnjak Oak	6,50	1,26	0,13	6,8	22,6
17	Crni bor Pine	6,10	1,50	0,10	4,5	20,5
18	Ariš Larch	5,90	2,67	0,10	3,6	16,5
Pseudoglej Pseudogley	Crni bor Pine	4,55	3,15	0,16	2,7	23,4

Tabela 2. Broj mikroorganizama po gramu apsolutno suvog zemljišta.
Table 2. Number of microorganisms per gram of absolute dry soil.

Lokalitet Location	Ukupna mikroflora 10 ⁶ Total microflora	Aktino- micete 10 ⁵ Actino- mycetes	Gljive 10 ⁴ Fungi	Amoni- fikatori 10 ⁵ Ammoni- fiers	Azoto- bacter	Clostri- dium	Celulo- lizatori 10 ⁴ Celu- loly-sators	Nitrifikatori $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ Nitrifiers	
1	10,67	12,00	19,33	140,00	667	45	24,67	950	450
2	23,33	37,67	1,67	110,00	7335	250	7,00	450	95
3	3,67	5,67	6,67	110,00	8000	95	18,67	950	40
4	3,00	23,33	6,00	110,00	0	95	9,33	2500	90
5	15,33	28,33	2,33	45,00	167	95	9,33	250	90
6	13,00	9,67	41,67	110,00	5335	450	9,67	250	90
7	9,67	24,00	10,00	110,00	10335	95	9,33	450	450
8	37,33	48,00	18,67	110,00	0	95	4,33	950	250
9	42,00	38,33	5,00	110,00	1665	450	5,67	450	250
10	8,67	6,00	12,67	110,00	167	25	14,00	450	90
11	20,33	20,33	4,33	110,00	14500	250	6,50	950	250
12	7,33	15,67	12,00	45,00	0	95	3,00	250	40
13	28,00	26,00	15,33	110,00	1000	250	2,33	2500	40
14	33,33	10,67	9,00	110,00	0	45	27,33	90	40
15	1,67	7,33	4,00	110,00	1000	25	10,67	450	40
16	7,00	7,00	10,00	45,00	0	9	6,00	450	450
17	4,00	11,33	3,33	25,00	500	25	20,00	2500	950
18	43,00	58,33	20,67	140,00	0	95	21,33	2500	450
Pseudoglej Pseudogley	22,33	0,67	22,33	9,50	0	450	0,67	250	40

ZAKLJUČAK

Ispitivani deposoli su pokazali povoljniji pH od kontrolnog zemljišta, niži sadržaj humusa i ukupnog azota, znatno viši sadržaj lako pristupačnog fosfora i približno isti sadržaj lako pristupačnog kalijuma.

U pogledu biogenosti, u poređenju sa pseudoglejem pošumljeni deposoli su pokazali manju zastupljenost ukupne mikroflore, gljivica i bakterija

roda *Clostridium*, a s druge strane znatno veću zastupljenost aktinomiceta, amonifikatora, celulolizatora, nitrifikatora i slobodnih aerobnih azotofiksatora iz roda *Azotobacter*.

ZAHVALNICA

Istraživanje je podržano od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, Projekat TR 37006.

LITERATURA

- Antonović, G. (1980): Oštećenje zemljišta i problemi njegove zaštite. Zemljište i biljka Vol. 29, N°2: 99-106.
- Antonović, G., Moskovljević S. i Protić N. (1984): Osobine deposola kao supstrata u regionu Kolubare. Zemljište i biljka Vol. 30, N°1: 25-31.
- Bogdanović, V. i Kotlajić M. (1985): Zastupljenost nekih grupa mikroorganizama u jalovini površinskih kopova REIK „Kolubara“. Zemljište i biljka Vol. 24, N°2: 151-157.
- Bogdanović, V. (1990): Zastupljenost mikroorganizama u deponiji pepela. Zemljište i biljka Vol. 39, N°2: 139-145.
- Kotlajić, M. (1979): Rekultivacija odlagališta površinskih kopova REIK „Kolubara“. Zbornik rez. Simpozijuma „Oštećenje zemljišta i problemi njegove zaštite“, 18-20 oktobar 1979, Lazarevac, str.28.
- Marinković, J., N. Milošević, Tintor B. i Vasin J. (2007): Zastupljenost pojedinih grupa mikroorganizama na različitim tipovima zemljišta, Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, vol 43: 319-328.
- Marković, D. i Veselinović N. (1979): fizičko-hemijske i mikrobiološke osobine oštećenih zemljišta površinskim kopovima u REIK „Kolubara“, Zbornik rez. Simpozijuma „Oštećenje zemljišta i problemi njegove zaštite“, 18-20 oktobar 1979, Lazarevac, str.36.
- Milošević, N., Ubavić M., Čuvarđić M. i Vojin S. (1997): Mikrobi zemljišta: značaj i mogućnosti. Unapređenje, korišćenje i očuvanje zemljišta. Jugoslovensko društvo za proučavanje zemljišta, Novi Sad, 389-397.
- Milošević, N. (2008): Mikroorganizmi-bioindikator zdravlja/kvaliteta zemljišta, Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 45, 505-515.
- Popović, Ž. (1989): Agrohemija, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Resulović, H. (1984): Rekultivacija, termini i koncepcija, Zemljište i biljka Vol. 33, N°1: 19-24.
- Pochon et Tardieux (1962): Techniques d'analyse en microbiologique du Sol edit de la tourel, P.
- Tintor, B., Milošević N. i Vasin J. (2009): Mikrobiološka svojstva černozema južne Bačke u zavisnosti od načina korišćenja zemljišta, Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, vol.46, br 1, 189-198.
- Trbojević, M., Kotlajić M. i Vuletić D. (1990): Površinska eksploatacija uglja u kolubarskom basenu i rezultati rada na rekultivaciji degradiranih zemljišta. Zbornik rezimeea Simpozijuma „Ekološki problemi Beograda“, 21-23. april 1990, Beograd, str. 52.

(Primljeno: 06. 06. 2013.)
(Prihvaćeno: 30. 07. 2013.)

AGROCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF THE „KOLUBARA“ OPEN CAST MINE DEPOSOLS RECULTIVATED UNDER FOREST CULTURES

NATAŠA RASULIĆ¹, DUŠICA DELIĆ¹, SLOBODAN KUZMANOVIĆ², DRAGANA JOŠIĆ¹,
DORĐE KUZMANOVIĆ¹, SRĐAN ANĐELOVIĆ³, OLIVERA STAJKOVIĆ-SRBINOVIĆ¹

¹*Institute of Soil Science, Belgrade*

²*Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade*

³*Delta Agrar doo Belgrade, Serbia*

SUMMARY

Due to unfavorable terrain configuration on the great of deposols of the „Kolubara“ open cast mine, recultivation under forest cultures has been performed. Tests of basic agrochemical properties as well as quantitative abundance of some groups of microorganisms in deposols of different oldness and under different forest cultures have been done. The tested deposols have shown favorable pH, low content of humus and total nitrogen, readily available to phosphorus and potassium. The biogenity shown is satisfactory but the total microflora, fungi and Clostridium abundance is lower compared to the control soil while the other physiological groups of microorganisms are considerably more abundant.

Key words: biogenity, deposols, foresting, recultivation

(Received: 06. 06. 2013.)

(Accepted: 30. 07. 2013.)

UPUTSTVO AUTORIMA

Časopis "Zaštita bilja" objavljuje naučne radove, pregledne radove i prethodna saopštenja iz oblasti zaštite bilja. Radovi se štampaju na srpskom ili engleskom jeziku. Uz radove na engleskom jeziku štampa se i rezime na srpskom jeziku. Rukopis (1)otkucan sa duplim proredom sadrži: zaglavlje, naslov, imena autora i adrese, rezime, ključne reči, tekst rada (sa poglavljima: uvod, materijal i metode, rezultati, diskusija, zahvalnica, literatura i rezime sa ključnim rečima), tabele i grafikone, fotografije i crteže.

ZAGLAVLJE – u gornjem, desnom uglu upisuje se kategorizacija rada. **NASLOV** – pisan velikim slovima (bold) treba da bude kratak, jasan, bez skraćenica. Ne navoditi istovremeno ime vrste na srpskom i na latinskom jeziku. **APSTRAKT** – treba da sadrži najviše 200 reči teksta. **KLJUČNE REČI** – treba navesti do 6 ključnih reči. **TEKST** – treba da sadrži poglavlja: UVOD, MATERIJAL I METODE, REZULTATI, DISKUSIJA, LITERATURA i REZIME (na srpskom i engleskom jeziku istog sadržaja) sa ključnim rečima. LITERATURA se navodi na posebnoj stranici, po abecednom redu. Npr. Arsenijević, M., Draganić M., Knežević Tatjana (1996): Vrste nekadašnjeg roda *Helminthosporium* utvrđene u Jugoslaviji (1992-1995). Zaštita bilja, 216: 93-119. Citat iz knjige navesti prema primeru: Dhingra O. D., Sinclair, J. B. (1955): Basic Plant Pathology Methods. CCR Press Inc., Baco Raton, pp. 355-360. U tekstu, na kraju citata, navesti autore na sledeći način: (Matijević 1994; Stojanović i Borić, 1990; Manojlović i sar., 1998). REZIME sa ključnim rečima treba da je na engleskom i srpskom i daje se na posebnim stranicama na kraju teksta i treba da sadrži ime autora i naziv ustanove.

Naslov poglavlja u radu (prvi nivo naslova) pisati centrirano, velikim slovima, boldovano.

Podnaslov (drugi nivo naslova) pisati centrirano, prvo slovo veliko, ostala slova mala, boldovano, sa jednim redom razmaka od teksta na koji se odnosi.

Podnaslov (treći nivo naslova) pisati od početka reda, prvo slovo veliko, ostala slova mala. Pisati zakošeno (italik), sa jednim redom razmaka od teksta na koji se odnosi.

Podnaslov (četvrti nivo naslova) pisati na početku reda zakošenim slovima (italik), s tim da je sastavni deo teksta na početku reda i od njega odvojen crticom.

TABELE I GRAFIKONI – Tabele i grafikoni se daju na posebnim stranicama. U rukopisu označiti mesto za tabele i grafikone. Naslove tabela i grafikona obavezno dati prvo na srpskom, pa na engleskom jeziku, a ako je rukopis na engleskom, onda prvo navesti engleski, pa srpski tekst naslova.

FOTOGRAFIJE I CRTEŽI – Fotografije i crteži treba da su kontrastni i oštri. Na poledini

fotografija i crteža grafitnom olovkom označiti njihov broj, ime autora i skraćeni naslov rada. Pri tome, na posebnim stranicama priložiti pune naslove na srpskom i engleskom jeziku, uz podatke o imenu autora i naslovu rada.

Ostale napomene

Radovi se recenziraju. Na zahtev urednika, redakciji časopisa dostaviti rad na disketi sa upisanim imenom autora i naziv fajla. Radovi se mogu dostaviti poštom na adresu Teodora Draljzera 9, 11040 Beograd, ili putem e-mail adrese glavnog urednika časopisa: ndolovac@yahoo.com. Rukopis pripremiti u MS Word for Windows (.doc) ili Rich Text Formatu (.rtf). Pored toga, dostaviti dva primerka rukopisa. Merne jedinice izražavati u Internacionalnom sistemu jedinica (SI). Stranice u tekstu obavezno obeležiti brojevima, a rukopis, ovako pripremljen za štampu, slati Redakciji časopisa, uz propratno pismo autora. Treba napisati i skraćenu verziju naslova rada radi njegovog upisivanja na neparnim stranicama. Poštujući gore navedena pravila ubrzavate objavljivanje svog rada i doprineti kvalitetu časopisa.

REDAKCIJA ČASOPISA "ZAŠTITA BILJA"

INSTRUCTION TO AUTHORS

The "Plant Protection" publishes scientific papers, review papers and scientific notes from plant protection field. The papers are printed in Serbian or English.

A manuscript, double-spaced printed, contains: chapter, title, the name of an author and addresses, abstract, key words, text (including the chapters: introduction, material and methods, results, discussion, acknowledgements, references and summary followed by key words), tables and graphs, photographs and drawings.

CHAPTER – the top, right-hand corner is reserved for categorization of the paper.

TITLE – in capital letters (bold) ought to be short, clear, without abbreviations. It is desirable to use the name of species either in Serbian or in Latin.

ABSTRACT – should contain most 200 words of the text. **KEY WORDS** – there must be up to 6 key words.

TEXT – ought to be divided into the following chapters: INTRODUCTION, MATERIAL AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, REFERENCES and SUMMARY (in English and Serbian of the same contents) followed by key words. **REFERENCES** – is quoted on the separate sheet of paper in alphabetical order. Follow the example bellow: Arsenijević, M., Draganić, M., Knežević Tatjana (1996): Cultivars of the former gender *Helminthosporium* determined in Yugoslavia (1922-1955). Plant Protection, 216: 93 – 119. A quotation originated from a book should follow the example bellow: Dhingra, O. D., Sinclair, J. B. (1955): Basic Plant Pathology Methods, CCR. Press Inc, Baco Raton, pp. 335 –360. In text, at the end of the quotation, the authors are to be quoted such as the example bellow: (Matijević, 1994; Stojanović and Borić, 1990; Manojlović et al., 1998). SUMMARY, followed by key words, should be in English and Serbian and given on the separate sheets of paper at the end of the text, containing the author's name and the name of the institution.

The title of chapter in paper (the first rank of title) should be centred and written in capital letters (bold).

Subchapter (the second rank of title) should be centered and written in first capital letter (bold), single-spaced from the text it refers to.

Subchapter (the third rank of title) should be written at the beginning of the line in first capital letter (italic), single-spaced from the text it refers to.

Subchapter (the fourth rank of title) should be written at the beginning of the line (italic), separated from the rest of the text by a hyphen.

TABLES AND GRAPHS – Tables and graphs should be given on the separate pages. In manuscript, a space for tables and graphs should be marked. The titles of the tables and graphs ought to be first in Serbian then in English, and if the script is in English, then English version comes first followed by Serbian name of the titles.

PHOTOGRAPHS AND DRAWINGS – Photographs and drawings should be clear and sharp. At the back of the photos and drawings, their number, the name of an author and shorten version of the paper should be marked by pencil. On the separate sheet of papers, full titles in Serbian and English should be added along with information about the author's name, and the title of the paper.

Additional notes

The papers are reviewed. On the editor's request, the paper should be addressed to the Board on a diskette labeled with the name of the author and a file to Teodora Drajzera 9, 11040 Belgrade, or by e-mail: ndolovac@yahoo.com. A manuscript should be prepared in MS Word for Windows (.doc) or Rich Text Format (.rtf). In addition, two copies of the printed text should be sent to the Board. International System of Units (SI) is required. Pages of the text must be marked in numbers and the manuscript prepared for printing in this way should be sent to the Board with accompanying author's letter. The shorten version of the title of the paper is also required to be printed on odd pages.

Following the aforementioned rules, you will make publishing of your paper quicker and contribute to better quality of the journal.

EDITORIAL Board for "Plant Protection"

CIP – Katalogizacija u publikaciji
Narodna biblioteka Srbije, Beograd

632.9

ZAŠTITA bilja = Plant protection / Institut za zaštitu bilja i
životnu sredinu; glavni i odgovorni urednik Nenad Dolovac,
God. 1, br. 1 (1950) – Beograd: Institut za zaštitu bilja i
životnu sredinu, 1950 – (Beograd: Press d.o.o.). – 28 cm.

Tromesečno
ISSN 0372-7866 = Zaštita bilja
COBISS.SR-ID 870660

