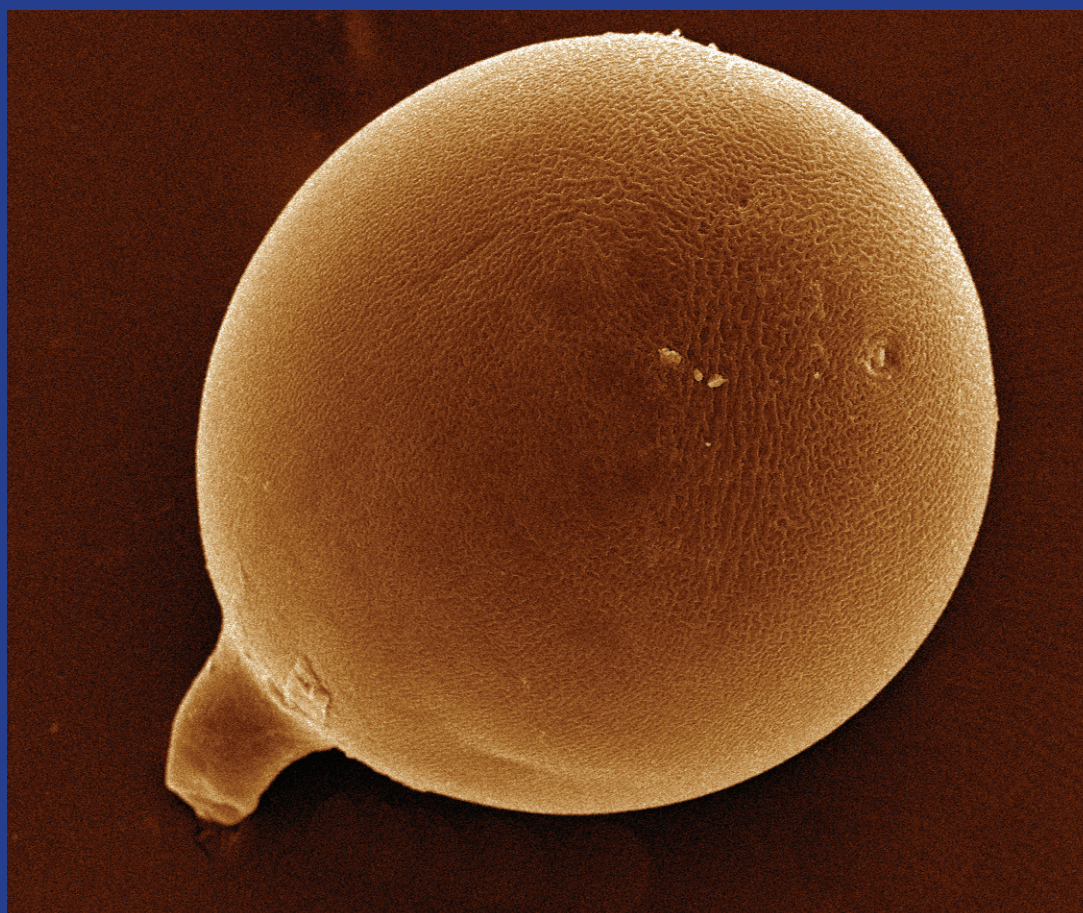


# ZAŠTITA BILJA PLANT PROTECTION





INSTITU 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:

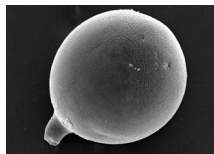
Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu,  
Institute for Plant Protection and Environment,  
Teodora Drajzera 9, 11040 Beograd – Belgrade  
Srbija – Serbia

Post office box 33-79

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

Fax: +381 11 2669-860

---



Scanning elektronska mikroskopija: Cista *Globodera rostochiensis* (ljubaznošću V. Oro)  
Scanning electron microscopy: Cyst of *Globodera rostochiensis* (courtesy of V. Oro)

**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

### **Naučni radovi**

- Violeta Oro, Svetlana Živković, Nenad Dolovac, Slobodan Kuzmanović, Žarko Ivanović  
MORFOLOGIJA DVE NOVE POPULACIJE  
*GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* IZ SRBIJE ..... 123-129
- Svetlana Živković, Veljko Gavrilović, Violeta Oro, Erika Pfaf Dolovac,  
Stefan Stošić, Slobodan Kuzmanović, Žarko Ivanović  
IDENTIFICATION OF *COLLETOTRICHUM ACUTATUM* FROM NECTARINE FRUIT ..... 130-138
- Goran Aleksić, Mira Starović, Slobodan Kuzmanović,  
Tatjana Popović, Dobrivoj Poštić, Snežana Pavlović, Dragana Jošić  
ANTIGUGALNA AKTIVNOST AUTOHTONIH RIZOSVERNIH IZOLATA  
*PSEUDOMONAS* SPP. PREMA *VENTURIA INAEQUALIS* ..... 139-147
- Anja Milosavljević, Miloš Stevanović, Tatjana Popović, Lana Đukanović,  
Svetlana Živković, Milana Mitrović, Nenad Trkulja  
MORFOLOŠKE I ODGAJIVAČKE KARAKTERISTIKE IZOLATA  
*MONILINIA LAXA* SA KOŠTIČAVIH VOĆAKA ..... 148-158
- Jasmina Bačić  
KARANTINSKE VRSTE NEMATODA KROMPIRA  
IZ RODA *GLOBODERA* I *MELOIDOGYNE* ..... 159-174

## CONTENTS

### Scientific papers

- Violeta Oro, Svetlana Živković, Nenad Dolovac, Slobodan Kuzmanović, Žarko Ivanović  
MORPHOLOGY OF TWO NEW *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS*  
POPULATIONS FROM SERBIA..... 123-129
- Svetlana Živković, Veljko Gavrilović, Violeta Oro, Erika Pfaf Dolovac,  
Stefan Stošić, Slobodan Kuzmanović, Žarko Ivanović  
IDENTIFIKACIJA *COLLETOTRICHUM ACUTATUM* SA PLODA NEKTARINE ..... 130-138
- Goran Aleksić, Mira Starović, Slobodan Kuzmanović,  
Tatjana Popović, Dobrivoj Poštić, Snežana Pavlović, Dragana Jošić  
ANTIFUNGAL ACTIVITY OF INDIGENOUS RHIZOSPHERIC  
ISOLATES *PSEUDOMONAS* SPP. AGAINST *VENTURIA INAEQUALIS*..... 139-147
- Anja Milosavljević, Miloš Stevanović, Tatjana Popović, Lana Đukanović,  
Svetlana Živković, Milana Mitrović, Nenad Trkulja  
MORPHOLOGICAL AND CULTURAL CHARACTERISTICS  
OF *MONILINIA LAXA* ISOLATES FROM THE STONE FRUITS ..... 148-158
- Jasmina Bačić  
POTATO QUARANTINE NEMATODES OF  
THE GENUS *GLOBODERA* AND *MELOIDOGYNE* ..... 159-174





Zaštita bilja  
Vol. 63 (3), Nº 281, 123-129, 2012, Beograd  
Plant Protection  
Vol. 63 (3), Nº 281, 123-129, 2012, Belgrade

UDK: 632.651.32(497.11) "2012"  
595.132(497.11) "2012"  
Naučni rad  
Scientific paper

## MORFOLOGIJA DVE NOVE POPULACIJE *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* IZ SRBIJE

VIOLETA ORO, SVETLANA ŽIVKOVIĆ, NENAD DOLOVAC, SLOBODAN KUZMANOVIĆ, ŽARKO IVANOVIĆ

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

### REZIME

U skladu sa Programom stalnog praćenja karantinskih i ekonomski štetnih nematoda koji se intenzivno sprovodi svake godine kao i fitosanitarnom regulativom, utvrđuje se prisustvo ovih organizama na teritoriji Republike Srbije i u uzorcima biljnog materijala. *Globodera pallida* i *G. rostochiensis* su najznačajniji paraziti krompira kod nas a njihovo prisustvo se prati od 2005. odn. 2000. god. Morfologija odn. ispitivanje morfoloških karakteristika različitih populacija cistolikih nematoda krompira daje podatke o njihovoj međusobnoj sličnosti (razlikama) unutar vrsta, između vrsta i sličnost sa tipskim populacijama. U radu su dati morfološki opisi cisti i larvi drugog stepena dve populacije *G. rostochiensis* pronadjene na lokalitetima Rujevac i Tabanovići u 2012 godini.

**Ključne reči:** morfologija, *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, krompir, populacije, Srbija

### UVOD

Cistolike nematode krompira (CNK): *Globodera pallida* Stone i *Globodera rostochiensis* Wollenweber spadaju u grupu najznačajnijih parazita krompira. Ove nematode se nalaze na karantinskoj listi naše zemlje (Pravilnik o listama štetnih organizama i listama bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata, Sl. glasnik RS 07/10) i karantinskoj listi (EPPO A1 and A2 Lists of Pests Recommended for Regulation as Quarantine Pests, PM 1/2 (18)) zemalja evropskog i mediteranskog regiona (EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Or-

ganization) čiji je Republika Srbija član a što znači da prisustvo ovih organizama na teritoriji naše zemlje i u uzorcima biljnog materijala nije dozvoljeno i povlači zakonske posledice.

U skladu sa programom Uprave za zaštitu bilja o stalnom praćenju karantinskih i ekonomski štetnih nematoda koji se intenzivno sprovodi svake godine, potrebno je utvrditi prisustvo karantinskih organizama kako bi se mere borbe mogle efikasno sprovesti.

Cistolike nematode krompira su prisutne u našoj zemlji od 2000. god. (Krnjaić et al., 2000) odnosno od 2005. god. (Krnjaić et al., 2005). U tom

smislu je neophodno poznavati taksonomiju i morfologiju ovih karantinskih organizama jer su istraživanja cistolikih nematoda krompira od značaja za širu društvenu zajednicu odn. fitokarantin naše zemlje.

Morfologija odnosno ispitivanje morfoloških karakteristika različitih populacija cistolikih nematoda krompira utvrđuje njihovu međusobnu sličnost (razlike) unutar vrsta, između vrsta i sličnost sa tipskim populacijama. U radu su dati morfološki opisi cisti i larvi drugog stepena ( $L_2$ ) dve populacije *G. rostochiensis* pronadjene na lokalitetima KO Rujevac KBr. 197-198 iz Mačvanskog okruga i KO Tabanovići KBr. 203-204/3 iz Zlatiborskog okruga u 2012 godini.

#### MATERIJAL I METODE

Ekstrakcija cisti iz zaraženog zemljišta je vršena elutriacijom na Spirsovom aparatu (Spears, 1968) a ciste su zahvatane na sitima od 150  $\mu\text{m}$ , dok su invazivne larve dobijene disekcijom cisti. Za morfološke studije ciste i larve su fiksirane formalin-glicerinskim fiksativom (Hooper, 1986), preparirane u glicerinu i posmatrane svetlosnim mikroskopom.

Merenje je vršeno preko okularnog mikrometra. Dobijene merne karakteristike su poređene sa karakteristikama vrsta iz originalnih opisa sa lokaliteta Rostock (Stone, 1973a) i Epworth, Lincolnshire (Stone, 1973b) i izvršena je njihova međusobna komparacija. Morfološka identifikacija vrsta obuhvata dužinu stileta i oblik bazalnog proširenja stileta larvi, prečnik vulvalnog bazena cisti, distancu vulve i anusa, Granekov odnos (indeks) (rastojanje vulve i anusa podeljeno prečnikom vulvalnog bazena) i broj kutikularnih nabora u perianalnoj oblasti (EPPO Standards PM 7/40, 2004).

#### REZULTATI I DISKUSIJA

Usporedna analiza populacija *G. rostochiensis* pokazuje da ne postoje velike razlike u prosečnim vrednostima morfoloških parametara.

U tabelama 1 i 2 su date zbirne vrednosti morfometrijskih karakteristika larvi i cisti populacija Rujevac i Tabanovići, zasnovanih na merenju 30 jedinki sa njihovim opsegom (min-max), prosekom ( $\bar{x}$ ) i standardnom devijacijom (sd).

**Tabela 1.** Morfološke karakteristike jedinki populacije Rujevac.  
**Table 1.** Morphological characters of specimens of Rujevac population.

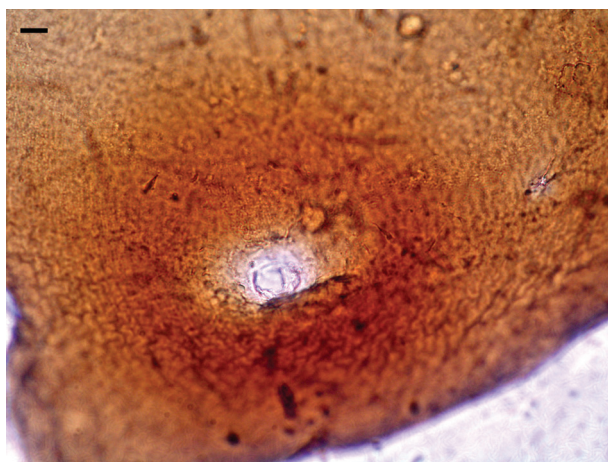
n= 30 karakteristike	Larve ( $L_2$ )			Ciste		
	min-max	$\bar{x}$	sd	min-max	$\bar{x}$	sd
L2 dužina ( $\mu\text{m}$ )	472.50-522.90	496.02	15.95	-	-	-
L2 stilet ( $\mu\text{m}$ )	19.20-22.40	20.48	0.98	-	-	-
L2 rep ( $\mu\text{m}$ )	40.00-64.00	54.08	4.94	-	-	-
L2 hijalinski deo ( $\mu\text{m}$ )	19.20-33.60	27.04	3.13	-	-	-
dužina ciste ( $\mu\text{m}$ )	-	-	-	403.00-729.00	562.40	71.34
širina ciste ( $\mu\text{m}$ )	-	-	-	341.00-677.00	504.50	76.47
prečnik vulval. bazena ( $\mu\text{m}$ )	-	-	-	16.00-41.60	26.29	6.31
distanca vulva-anus ( $\mu\text{m}$ )	-	-	-	49.60-139.20	82.35	20.25
Granekov odnos	-	-	-	2.00-5.80	3.25	0.97
kutikularni nabori	-	-	-	12-34	19.20	4.31

**Tabela 2.** Morfološke karakteristike jedinki populacije Tabanovići.  
**Table 2.** Morphological characters of specimens of Tabanovići population.

n= 30 karakteristike	Larve (L2)			Ciste		
	min-max	$\bar{x}$	sd	min-max	$\bar{x}$	sd
L <sub>2</sub> dužina (µm)	409.50-504.00	462.65	39.53	-	-	-
L <sub>2</sub> stilet (µm)	19.20-22.40	20.69	0.93	-	-	-
L <sub>2</sub> rep (µm)	46.40-54.40	50.77	2.48	-	-	-
L <sub>2</sub> hijalinski deo (µm)	24.00-35.20	27.09	2.41	-	-	-
dužina ciste (µm)	-	-	-	310.00-698.00	523.00	107.82
širina ciste (µm)	-	-	-	186.00-667.00	501.00	115.99
prečnik vulval. bazena (µm)	-	-	-	14.40-32.00	21.20	4.85
distanca vulva-anus (µm)	-	-	-	46.40-148.80	74.00	23.79
Granekov odnos	-	-	-	2.07-7.20	3.65	1.34
kutikularni nabori	-	-	-	13-32	17.97	9.57

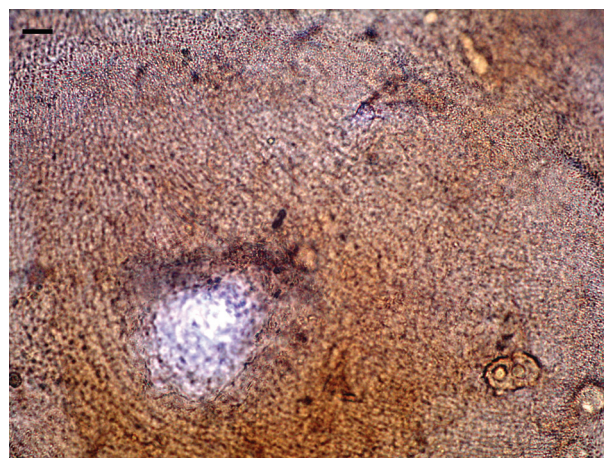
Morfološke karakteristike posmatranih populacija iz Srbije se razlikuju ali ne u velikoj meri. Cista najmanje veličine je pronađena u populaciji Tabanovići 341 X 388 µm a najveća cista je iz populacije Rujevac 729 X 620 µm. Prosečne vrednosti veličina cisti kod populacije Rujevac 562 X 504 µm su nešto veće od prosečnih vrednosti cisti populacije Tabanovići 523 X 501 µm. Veći prečnik fenestre u proseku ima populacija Rujevac (26.29 µm) u odnosu na Tabanoviće (21.20 µm), a ova populacija ima i veći prečnik vulvalnog bazena u apsolutnom izno-

su. Najveću prosečnu distancu vulva-anus imaju ciste populacije Rujevac (82.35 µm) dok se u populaciji Tabanovići nalazi cista sa najvećom distancom u apsolutnom iznosu (148.80 µm). Veću vrednost Granekovog indeksa (u proseku) ima populacija iz Tabanovića (3.65) ali i najveću apsolutnu vrednost ovog parametra (7.20). Veći broj kutikularnih nabora u proseku ima populacija Rujevac (19.20) u odnosu na Tabanoviće (17.97) ali i veći apsolutni iznos (27). Mikrofotografije perianalne oblasti cisti populacija Rujevac i Tabanovići su date na slikama 1 i 2.



Sl. 1 Perianalna oblast ciste iz Rujevca (10µm).

Fig. 1 Perineal area of a cyst from Rujevac (10µm).



Sl. 2 Perianalna oblast ciste iz Tabanovića (10µm).

Fig. 2 Perineal area of a cyst from Tabanovići (10µm).



Poredeći ispitivane populacije larvi *G. rostochiensis*, najkraća jedinka je nađena u populaciji Tabanovići (409.50  $\mu\text{m}$ ) a najduža jedinka u populaciji Rujevac (522.90  $\mu\text{m}$ ).

U relativnom iznosu, duže larve (u proseku) ima populacija Rujevac (496.02  $\mu\text{m}$ ) u odnosu na larve iz Tabanovića (462.65  $\mu\text{m}$ ). Prosečna dužina stileta larvi populacije Rujevac iznosi 20.48  $\mu\text{m}$  dok je prosečna dužina stileta larvi populacije Tabanovići neznatno veća 20.69  $\mu\text{m}$ . Jedna od osnovnih morfoloških karakteristika je i oblik odn. usmere-

nost bazalnih proširenja (bubrešića) stileta. Kod obe populacije bazalna proširenja stileta larvi su zaobljena i usmerena na dole, što je karakteristika *G. rostochiensis*. Prosečno duži rep imaju larve iz populacije Rujevac (54.08  $\mu\text{m}$ ) u odnosu na (50.77  $\mu\text{m}$ ) populacije Tabanovići. Što se tiče hijalinskog dela repa, obe populacije imaju približno iste vrednosti (Rujevac 27.04  $\mu\text{m}$  odn. Tabanovići 27.09  $\mu\text{m}$ ). Mikrofotografije larvi obe populacije su date na slikama 3-6.



Sl. 3 Prednji deo L2 - Rujevac (10 $\mu\text{m}$ ).

Fig. 3 Anterior part of L2 - Rujevac (10 $\mu\text{m}$ ).



Sl. 4 Zadnji deo L2 - Rujevac (10 $\mu\text{m}$ ).

Fig. 4 Posterior part of L2 - Rujevac (10 $\mu\text{m}$ ).



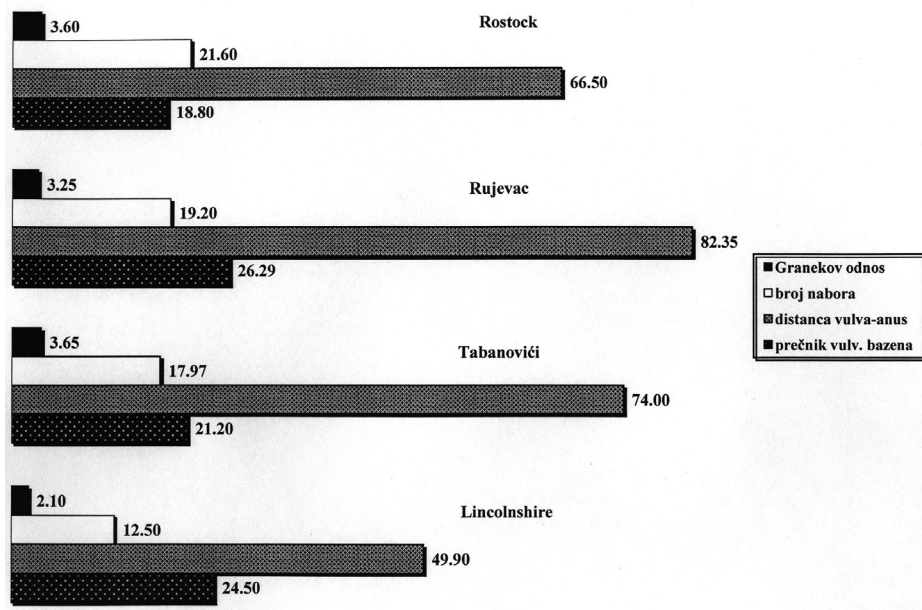
Sl. 5 Prednji deo L2 -Tabanovići (10 $\mu\text{m}$ ).

Fig. 5 Anterior part of L2-Tabanovići (10 $\mu\text{m}$ ).



Sl. 6 Zadnji deo L2 -Tabanovići (10 $\mu\text{m}$ ).

Fig. 6 Posterior part of L2 -Tabanovići (10 $\mu\text{m}$ ).



Graf. 1. Usporedna analiza cisti različitih populacija CNK.

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

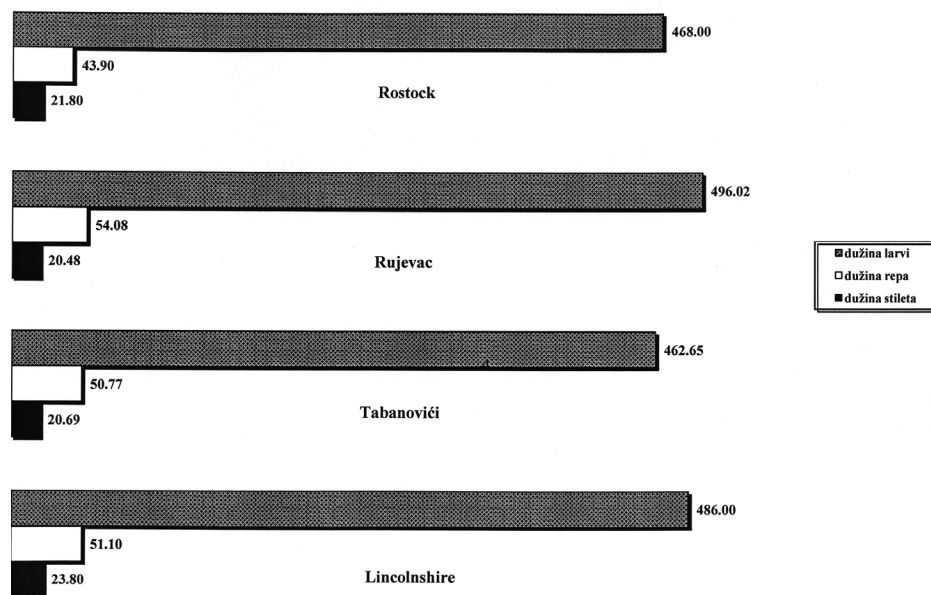
Usporedna analiza karakteristika cisti proučavanih i tipskih populacija je prikazana na grafiku 1. U odnosu na tipske populacije, prosečne veličine cisti proučavanih populacija su približnije proseku populacije *G. pallida*, Lincolnshire (579 X 534  $\mu\text{m}$ ) nego populaciji iz Rostocka (445 X 382  $\mu\text{m}$ ).

U odnosu na prečnik vulvalnog bazena odn. fenestre, obe populacije su približnije tipskoj populaciji Lincolnshire jer populacija Rostock ima znatno manju prosečnu vrednost prečnika fenestre. U odnosu na prosečnu distancu vulva-anus, ciste populacija Rujevac i Tabanovići su bliže populaciji iz Rostocka, dok posebno visoku vrednost parametra ima populacija Rujevac. Najpribližniju vrednost Granekovog odnosa tipskoj populaciji u proseku ima populacija iz Tabanovića. Prema broju kutikularnih nabora u proseku obe populacije po vrednostima pripadaju *G. rostochiensis* jer imaju vrednosti

veće od 14. Usporedna analiza karakteristika larvi proučavanih i tipskih populacija je prikazana na grafiku 2.

U odnosu na tipske populacije, populacija Rujevac ima prosečno duže larve od tipskih populacija Lincolnshire i Rostock, i one su po vrednosti približnije populaciji Lincolnshire, dok populacija Tabanovići ima približnije larve populaciji Rostock. Prosečne dužine stileta larvi obe populacije su manje od proseka za *G. rostochiensis* (21.80  $\mu\text{m}$ ). Prosečne vrednosti dužine repa ispitivanih populacija su veće od vrednosti tipskih populacija i približnije vrednosti date za Lincolnshire (51.10  $\mu\text{m}$ ).

Generalno, sve prosečne vrednosti ali i apsolutne vrednosti morfometrijskih parametara posmatranih populacija Rujevac i Tabanovići su u saglasnosti sa vrednostima parametara datih za *G. rostochiensis*.



Graf. 2. Usporedna analiza larvi različitih populacija CNK.

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

## ZAHVALNICA

Rad je podržan sredstvima Projekata Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije TR 31018 i III 46007.

## LITERATURA

- EPPO Standards PM 7/40 (2004): Diagnostic protocols for regulated pests: *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. EPPO bulletin, 34: 309-314.
- Hooper, D. J. (1986): Handling, fixing, staining and mounting nematodes. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes, J. F. Southey (ed.), Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, pp. 59-80.
- Krnjaić, Đ., Bačić, J., Krnjaić, S. and Čalić, R. (2000): Prvi nalaz zlatnožute krompirove nematode u Jugoslaviji. XI Jugoslovenski simpozijum o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 71.
- Krnjaić, Đ., Oro, V., Gladović, S., Trkulja, N., Šćekić, D. & Kecović, V. (2005): Novi nalazi krompirovih nematoda u Srbiji, Zaštita bilja, 53 (4): 147 -156.
- Spears, J.F. (1968): *The Golden Nematode Handbook-Survey, Laboratory, Control and Quarantine Procedures*. Agriculture Handbook 353, USDA, Agricultural Research Service. Washington, D.C., pp. 82.
- Stone, A.R. (1973a): *Heterodera rostochiensis*. C.I.H. Descriptions of plant-parasitic nematodes, Set 2, No. 16, CAB International, Wallingford.
- Stone, A.R. (1973b): *Heterodera pallida*. C.I.H. Descriptions of plant-parasitic nematodes, Set 2, No. 17, CAB International, Wallingford.

(Primljeno: 18.08 .2012.)

(Prihvaćeno: 30.09.2012.)

## MORPHOLOGY OF TWO NEW *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* POPULATIONS FROM SERBIA

VIOLETA ORO, SVETLANA ŽIVKOVIĆ, NENAD DOLOVAC, SLODOBAN KUZMANOVIĆ, ŽARKO IVANOVIĆ

*Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade*

*e-mail: viooro@yahoo.com*

### SUMMARY

In concordance with phytosanitary regulations and the Programme of continuous monitoring of quarantine and economically harmful nematodes that are intensively conducted every year, the presence of these organisms is determined in the territory of the Republic of Serbia and in the samples of plant material. *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* are the most important parasites of potato in our country and their presence is monitored since 2005 and 2000 respectively. Morphology, i.e. examination of morphological characters of different populations of potato cyst nematodes determines their mutual similarities (differences) within species, between species and the similarity with the type populations. This paper presents the morphological descriptions of cysts and second stage larvae of two populations of *G. rostochiensis* found in localities Rujevac and Tabanovići in 2012.

**Key words:** morphology, *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, potato, populations, Serbia

**(Received: 18.08.2012.)**

**(Accepted: 30.09.2012.)**



Plant Protection  
Vol. 63 (3), N<sup>o</sup> 281, 130-138, 2012, Belgrade  
Zaštita bilja  
Vol. 63 (3), N<sup>o</sup> 281, 130-138, 2012, Beograd

UDK: 634.26-248.231  
632.482.31  
Scientific paper  
Naučni rad

## IDENTIFICATION OF *COLLETOTRICHUM ACUTATUM* FROM NECTARINE FRUIT

SVETLANA ŽIVKOVIĆ, VELJKO GAVRILOVIĆ, VIOLETA ORO,  
ERIKA PFAF DOLOVAC, STEFAN STOŠIĆ, SLOBODAN KUZMANOVIĆ, ŽARKO IVANOVIĆ

*Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade*  
*e-mail: zivkovicsvetla@gmail.com*

### SUMMARY

Isolates of *Colletotrichum* spp. obtained from nectarine fruits with typical anthracnose symptoms in 2010 were identified using morphological and molecular methods. Pathogenicity test was conducted on symptomless, detached nectarine fruits. All tested isolates caused anthracnose lesions on nectarine fruits after 7 days of incubation. On PDA medium nectarine isolates forming dark green to dark gray mycelia. Growth rates of all isolates and reference strain of *C. acutatum* were lower at 25°C compared with reference strain of *C. gloeosporioides*. The conidia were hyaline, aseptate, and fusiform. Appressoria were dark brown, smooth, simple, and clavate to ovate. Using the primer set CaInt2/ITS4, the 490 bp DNA fragment was amplified from all nectarine isolates and reference strain of *C. acutatum* – CBS 294.67. Based on these results, the causal agent of anthracnose on nectarine fruits in Serbia was identified as *C. acutatum*.

**Key words:** anthracnose, nectarine, *Colletotrichum acutatum*, identification



## INTRODUCTION

A large number of fungal pathogens attack the blossoms, foliage, fruits, branches, trunks and roots of peach (*Prunus persica*, L., Stokes) and nectarine (*P. persica*, variety *nectarine*). Most of them occur preharvest in the orchard and determine the overall productivity and fruit quality, whereas other are post-harvest pathogens that cause tremendous annual economic losses during storage (Adaskaveg et al., 2008).

Anthracnose disease caused by *Colletotrichum* spp. appears in both developing and mature plant tissues. The ability to cause latent or quiescent infections has grouped *Colletotrichum* among the most important postharvest pathogens (Bailey et al., 1992). In the United States and Brazil the pathogen causing anthracnose on peach and nectarine has been identified as *Colletotrichum acutatum* (Bernstein et al., 1995; Adaskaveg and Hartin, 1997; Kimati et al., 2005; Schnabel et al., 2006), and in Canada peach fruit may be infected with either *C. acutatum* or *C. gloeosporioides* early in development and remain symptomless until maturity (Zaitlin et al., 2000). In Serbia, anthracnose on nectarine fruits has been found during 2010 (Živković i sar., 2011).

Differentiation between *Colletotrichum* species based on host range or host of origin may not be a reliable criterion for fungi of this genus. Some taxa appear to be restricted to host families, genera or species within those families, or even cultivars, whereas others have more extensive host ranges (Freeman et al., 1998). Classification of *Colletotrichum* spp. on the basis of morphological and cultural features (Cannon, 1998) failed to resolve relationships among several species, including *C. acutatum* and *C. gloeosporioides*, due to overlapping morphological characteristics. Based on morphological descriptions, many diseases reported before 1965 to be caused by *C. gloeosporioides* (or one of its synonyms) could have been caused by *C. acutatum* (Baxter et al., 1983). *C. acutatum* represents

a species that encompasses a wide range of morphological and genetic diversity. Characterization of *C. acutatum* has been enhanced by the use of molecular methods, which have identified genetically distinct and perhaps biologically discrete groups among morphologically similar isolates (Johnston and Jones 1997; Forster and Adaskaveg, 1999). Lardner et al. (1999) suggested that *C. acutatum* J. H. Simmonds is a subspecific group within the broader *C. acutatum* complex, and Freeman et al. (2001) referred to this group as *C. acutatum* sensu Simmonds. Molecular analysis are now routinely used in conjunction with morphological characteristics to identify and characterize *Colletotrichum* spp. from various hosts (Guerber et al., 2003; Sreenivasaprasad et al., 2005; McKay et al., 2009).

The objective of the present study was identifying the causal agent of anthracnose disease on nectarine fruit using morphological and molecular techniques.

## MATERIAL AND METHODS

### Pathogen isolation and maintenance

Nectarine fruits with typical anthracnose lesions were collected from the markets. Symptomatic tissues were surface sterilized with 10% sodium hypochlorite solution for 2 min., and then rinsed several times with sterile distilled water before placing on potato dextrose agar (PDA) at 25°C. Monoclonial cultures were produced for each isolate and maintained on PDA slants at 4°C. The reference isolates of *C. acutatum* (CBS 294.67) and *C. gloeosporioides* (CBS 516.97) were obtained from Fungal Biodiversity Centre, Netherlands.

### Pathogenicity test

Pathogenicity tests were conducted on symptomless, detached nectarine fruits. The fruits were

surface sterilized with ethanol (70%), wounded with sterile needle and inoculated with disk of PDA colonized with tested isolates. Non colonized PDA disk was used as negative control. The fruits were then incubated in a plastic container at 25°C and >95% relative humidity, and examined for lesion development 7 days after inoculation. After 14 days, spores from diseased fruits were aseptically transferred onto PDA plates, which were incubated at 25°C in darkness. The resultant cultures were checked for colony and spore morphology to confirm Koch's postulates.

### Morphological and cultural characterization

The isolates were cultured on PDA in darkness at 25°C for 7 days, and the diameter of mycelial growth was measured daily. The appearance of the colonies, the occurrence of sectors, and the vegetative and reproductive structures were described after 14 days incubation. The conidia were taken from actively growing colonies and suspended in sterile water. Length and width were measured for 100 conidia, and conidial shape was recorded using light microscopy. Appressoria were produced using a slide culture technique (Johnston and Jones, 1997). After 5 days, the shape and size of the 50 appressoria were examined microscopically.

### DNA extraction and PCR amplification

Total genomic DNA was extracted from mycelium obtained from cultures grown on PDA for 7 days at 25°C. The 0.5 g of mycelium for each isolate was frozen in liquid nitrogen and ground in a sterile mortar. DNA was extracted using the DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany), according to the manufacturer's instructions. Extracted DNAs were preserved at -20°C.

Species-specific primers for *C. gloeosporioides* (CgInt: 5'-GGCCTCCCGCCTCCGGGCGG-3'), and *C. acutatum* (CaInt2: 5'-GGCGCCGGCCCCGT-

CACGGGGG-3') from the ITS1 region of the ribosomal DNA gene were used in combination with the conserved primer ITS4 (5'-TCCTCCGCTATTGATATGC-3'), (White et al., 1990). PCR amplification was performed in a 25 µl reaction mixture containing 1.5 µl of DNA extract in low-TE buffer; 4 µl of 200 µM each of dATP, dCTP, dGTP, and dTTP; 2.5 µl of 10× Taq reaction buffer; 0.5 µl of 100 µM MgCl<sub>2</sub>; 1.0 µl of 1 µM target primer; 1 µl of 1 µM ITS4 primer; 0.65 U Taq DNA polymerase, and 14.85 µl of sterile water. Amplifications were performed in Eppendorf Master Cycler programmed for the following cycling conditions: initial denaturation at 94°C for 5 min; 35 amplification cycles consisting of 1 min at 94°C, 2 min at 59°C, 1 min of extension at 72°C, and final extension at 72°C for 5 min. PCR products were separated using electrophoresis in 1% agarose gels in TBE buffer. Gels were stained in dilute ethidium bromide (0.2µg/ml) and visualized by UV transilluminator.

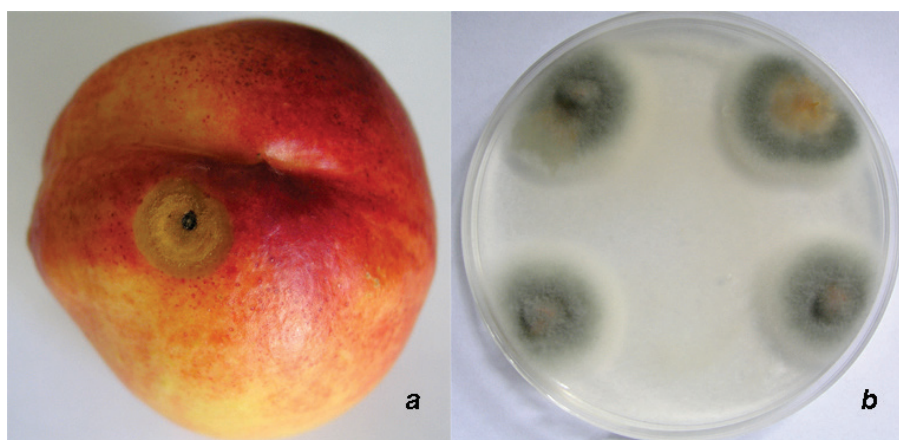
## RESULTS

### Disease symptoms

The symptom begin as small, sunken lesion that have a water-soaked appearance, increase in diameter, and coalesce, leaving a large sunken soft area. The necrotic spots can expand and merge to cover the whole affected area. The color of the infected part darkens. Orange conidial masses may occur scattered or in concentric rings on the lesion (Figure 1a).

### Pathogenicity test

All tested isolates caused anthracnose lesions on nectarine fruits after 7 days of incubation (Figure 2a). No lesions developed on fruit inoculated with non colonized PDA disk (Figure 2b). Koch's postulates were fulfilled by re-isolation from inoculated nectarine fruits. Spore shape, size, and colony morphology were identical for the original and recovered isolates.



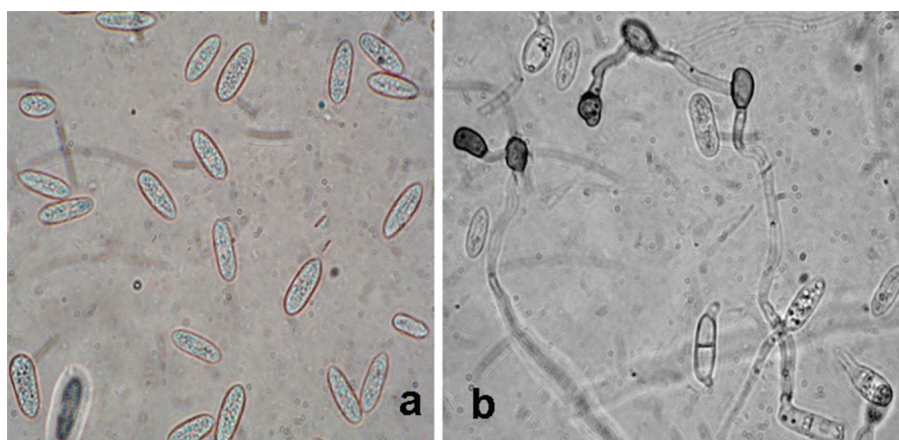
**Figure 1.** Anthracnose symptoms on nectarine fruit: a. Sunken necrotic lesion with orange conidial masses; b. Isolates from nectarine fruit on PDA.

**Slika 1.** Simptomi antraknoze na plodu nektarine: a. Ulegnuta nekrotična lezija sa narandžastom masom konidija; b. Izolati sa ploda nektarine na PDA.



**Figure 2.** Pathogenicity test: a. Necrotic lesion on nectarine fruit inoculated with isolate BC-1; b. Control fruit inoculated with sterile PDA disk.

**Slika 2.** Test patogenosti: a. Nekrotične lezije na plodu nektarine inokulisanim izolatom BC-1; b. Kontrolni plod inokulisanim isečkom sterilne PDA podloge.



**Figure 3.** Morphological characteristics of nectarine isolates: a. Conidia of isolate BC-1 (x 400); b. Appressoria of isolate BC-1 (x400).

**Slika 3.** Morfološke karakteristike izolata sa nektarine: a. Konidije izolata BC-1 (x400); b. Apresorije izolata BC-1 (x400).

**Table 1.** Morphological characteristics and growth rate of isolates from nectarine fruits.  
**Tabela 1.** Morfološke osobine i stopa porasta izolata sa plodova nektarine.

Isolate Izolot	Growth rate St.rasta (mm/day)	Conidia Konidije		Appressoria Apresorije	
		*shape oblik	size (µm) (length x width) veličina (µm) (dužina x širina)	**shape oblik	size (µm) (length x width) veličina (µm) (dužina x širina)
BC-1	9.2	F	12,8-17,6 x 2,4-4,8	Cl	6.4-9.6 x 5.6-6.2
BC-2	8.8	F	11.2-15.6 x 2.4-4.8	Cl	6.4-9.6 x 5.6-6.2
BC-3	8.7	F	11.2-16.2 x 3.2-4.8	Cl	8.0-9.2 x 5.6-7.2
BC-4	9.0	F	12.8-17.2 x 3.2-4.8	Ov	8.0-9.2 x 4.8-6.4
BC-5	8.9	F	11.2-15.6 x 2.4-4.8	Cl	6.4- 9.6 x 4.8-6.2
CBS 294.67	9.3	F	11.2-15.2 x 3.2-4.8	Cl	6.4-9.6 x 5.6-6.4
CBS 516.97	14.5	C	12.8-19.2 x 3.2-4.8	Ir, Ov	9.6-14.4 x 6.4-8.8

\* Shape of conidium: F - fusiform; C - cylindrical;

\*\*Shape of appressorium: Cl - clavate; Ir - irregular; Ov - ovate.

### Morphological and cultural characterization

Colonies of nectarine isolates were dense aerial, initially dark green then turning dark gray, as the cultures aged on PDA (Figure 1b). Bright orange spore masses were produced outward from the center of the colony. The reverse of cultures was mostly greenish to dark grayish. The cultures developed black acervuli around the center of the colony. No setae were observed. Mycelia were branched, septate, and hyaline. Conidia were hyaline, aseptate, and fusiform (Figure 3a). Appressoria produced directly from conidia were dark brown, smooth, simple, clavate to ovate (Figure 3b). Conidial and appressorial shape and size, and growth rate of nectarine isolates are shown in Table 1.

### Molecular identification

Using the primer set CaInt2/ITS4, the 490 bp DNA fragment was amplified from all nectarine isolates and reference strain of *C. acutatum* - CBS 294.67, but not from DNA of *C. gloeosporioides* (Figure 4a). In contrast, a primer par CgInt/ITS4 was amplified a 450 bp DNA fragment only from reference strain of *C. gloeosporioides* - CBS 516.97 (Figure 4b). No PCR products were produced with

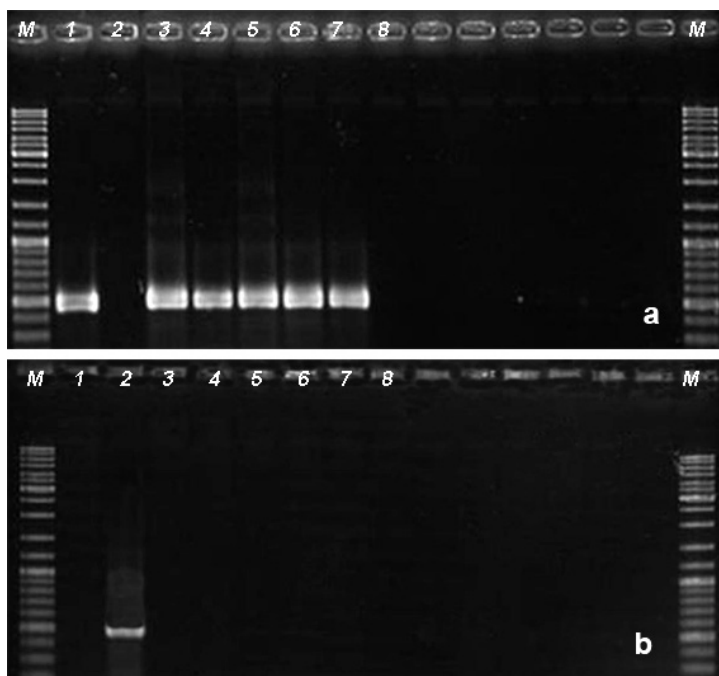
water controls in any of the reaction. Based on these results, the causal agent of anthracnose on nectarine fruits in Serbia was identified as *C. acutatum*.

### DISCUSSION

Nectarine isolates of *C. acutatum* were demonstrated to be pathogenic on wounded fruits and were reisolated, fulfilling Koch's postulates.

Morphological identification of nectarine isolates based on phenotypic traits, such as colony appearance, growth rate, and characters of vegetative and reproductive structures. The color of cultures may vary considerably within and between species of *C. acutatum* and *C. gloeosporioides*. Colonies of *C. gloeosporioides* are usually gray in appearance, while *C. acutatum* colonies had a chromogenic (pink) or nonchromogenic (white to gray) phenotype (Baxter et al., 1983; Freeman et al., 1998; Lardner et al., 1999; Forster and Adaskaveg, 1999). The results of cultures studies showed no distinct differences in characteristics among the nectarine isolates. All isolates were nonchromogenic. The colors of colonies were dark green to dark gray. Growth rates of nectarine isolates and reference strain of *C. acutatum* were lower at 25°C compared with *C. gloeosporioides*. Maximum growth rates for *C. acutatum*





**Figure 4.** Amplification of specific DNA fragments from nectarine isolates: a. Primer pair CaInt2/ITS4 specific for *C. acutatum*; b. Primer pair CgInt/ITS4 specific for *C. gloeosporioides*; line 1 - reference strain of *C. acutatum* CBS 294.67; line 2 - reference strain of *C. gloeosporioides* CBS 516.97; lines 3-7 nectarine isolates; line 8 - negative control (water); M - marker GeneRuler™ DNA Ladder Mix (100-10.000 bp).

**Slika 4.** Amplifikacija DNA fragmenata *Colletotrichum* izolata sa nektarine: a. Par prajmera CaInt2/ITS4 specifičnih za *C. acutatum*; b. Par prajmera CgInt/ITS4 specifičnih za *C. gloeosporioides*; kolona 1 - referentni soj *C. acutatum* CBS 294.67; kolona 2 - referentni soj *C. gloeosporioides* CBS 516.97; kolone 3-7 izolati sa nektarine; kolona 8 - negativna kontrola (voda); M - marker GeneRuler™ DNA Ladder Mix (100-10.000 bp).

isolates were between 8.8 and 9.3 mm/day after 7 days, whereas reference strain of *C. gloeosporioides* had maximum growth rates of 14.5 mm/day. These results are consistent with other studies that used temperature relationships to distinguish *C. acutatum* from *C. gloeosporioides* (Sutton, 1992; Bernstein et al., 1995; Adaskaveg and Hartin, 1997).

Conidial size of *C. acutatum* was described variably as 8-16 × 2.5-4 μm (Dyko and Mordue, 1979), 12.3-14.7 × 4.6-5.3 μm (Smith and Black, 1990), and 12.5-20 × 3-5 μm (Gunnell and Gubler, 1992). Conidia of our isolates from nectarine fruits were compared with conidia of reference isolates of *C. acutatum*, and found to be similar size. The conidial shape of nectarine isolates was fusiform. In general, conidia of *C. acutatum* are fusiform in shape, whereas conidia of *C. gloeosporioides* are cylindrical with obtuse ends (Dyko and Mordue, 1979; Baxter, et.al., 1983; Smith and Black, 1990). Shape and size of appressoria have also been used for taxonomy of the genus *Colletotrichum*. Isolates from nectarine fruits showed slightly smaller appressoria than reference strain of *C. gloeosporioides*. These

results correspond to description of Sutton (1992). The shape of appressoria of *C. acutatum* from nectarine was clavate or ovate, and appressoria of *C. gloeosporioides* - CBS 516.97 were variable, irregular or ovate. Using these criteria, all of the nectarine isolates were distinct from the reference strain of *C. gloeosporioides*.

Morphological characteristics of isolates indicated that the causal agent of anthracnose could be *C. acutatum*, but PCR with primers specific for both species, demonstrated that the causal agent of nectarine anthracnose is *C. acutatum*. A PCR-amplified fragment of 490 bp was evident in all isolates from nectarine fruits and *C. acutatum* - CBS 294.67, but not in reference strain of *C. gloeosporioides* - CBS 516.97. *C. gloeosporioides* was not detected among the nectarine isolates in this study.

#### ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Project TR 31018.

## REFERENCES

- Adaskaveg, J. E., and Hartin, R. J. (1997): Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. *Phytopathology*, 87:979-987.
- Adaskaveg, J.E., Schnabel, G., Forster, H. (2008): Diseases of peach caused by fungi and fungal – like organisms: biology, epidemiology and management in *The Peach: Botany, Production and Uses* (D.R. Layne and D. Bassi, eds. CABI), pp. 352-407.
- Baxter, A.P., van der Westhuizen, G.C.A., Eicker, A. (1983): Morphology and taxonomy of South African isolates of *Colletotrichum*. *S. African. J. Bot.*, 2: 259-289.
- Bailey, J. A., O'Connell, R. J., Pring, R. J., Nash, C. (1992): Infection strategies of *Colletotrichum* species in *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*, (J. A. Bailey and M. J. Jeger, CAB Int., Wallingford, UK eds.), pp. 88-120.
- Bernstein, B., Zehr, E. I., Dean, R. A., Shabi, E. (1995): Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan, and other hosts. *Plant Disease*, 79: 478-482.
- Cannon, P. F. (1998): International Course on the Identification of Fungi of Agricultural and Environmental Significance. *Colletotrichum*. CABI Bioscience, UK.
- Dyko, B.A., and Mordue, J.E.M. (1979): CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 630, *Colletotrichum acutatum*. Kew, Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute.
- Gunnell, P.S., and Gubler, W.D. (1992): Taxonomy and morphology of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. *Mycologia*, 84:157-165.
- Guerber, J. C., Liu, B., Correll, J. C., Johnston, P. R. (2003): Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia*, 95:872-895.
- Forster, H., and Adaskaveg, J.E. (1999): Identification of subpopulations of *Colletotrichum acutatum* and epidemiology of almond anthracnose in California. *Phytopathology*, 89: 1056-1065.
- Freeman, S., Katan, T., Shari, E. (1998): Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease*, 82: 596-605.
- Freeman, S., Katan, T., Maymon M., Zveibil, A. (2001): Genetic diversity within *Colletotrichum acutatum* sensu Simmonds. *Phytopathology*, 91: 586-592.
- Johnston, P.R., and Jones D. (1997): Relationship among *Colletotrichum* isolates from fruit rots assessed using rDNA sequences. *Mycologia*, 89: 420-430.
- Kimati, H., Amorim, L., Rezende, J.A.M., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. (2005): *Manual de Fitopatologia-Doenças das Plantas Cultivadas*. Sao Paulo, Brazil, Agronomica Ceres Ltda.
- Lardner, R., Johnston, P.R., Plummer, K.M., Pearson, M. N. (1999): Morphological and molecular analysis of *Colletotrichum acutatum* sensu lato. *Mycological Research*, 103: 275-285.
- McKay, S. F., Freeman, S., Minz, D., Maymon, M., Sedgley, M., Collins, G. C., Scott, E. S. (2009): Morphological, genetic, and pathogenic characterization of *Colletotrichum acutatum*, the cause of anthracnose of almond in Australia. *Phytopathology*, 99: 985-995.
- Schnabel, G., Chai, W., Cox, K. D. (2006): Identifying and characterizing summer diseases on 'Babygold' peach in South Carolina. Online, Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2006-0301-01-RS. <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2006/babygold/>.

- Smith, B.J., and Black, L.L. (1990): Morphological, cultural, and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. *Plant Disease*, 74: 69-76.
- Sreenivasaprasad, S., and Talhinas, P. (2005): Genotypic and phenotypic diversity in *Colletotrichum acutatum*, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts. *Mol. Plant Pathol.*, 6: 361-378.
- Sutton, B.C. (1992): The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*, in: *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control* (J. A. Bailey and M. J. Jeger, CAB Int., Wallingford, UK eds.), pp. 1-26.
- White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S., Taylor, J. W. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. ed. by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sinsky and T. J. White, Academic Press, New York, USA, pp. 315-322.
- Zaitlin, B., Zehr, E.I., Dean, R.A. (2000): Latent infection of peach caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum acutatum*. *Can. J. Plant Pathol.*, 22: 224-228.
- Živković S., Gavrilović, V., Stojanović, S., Trkulja, N., Ivanović, Ž. (2011): *Colletotrichum acutatum* – patogen ploda nektarine u Srbiji. XI Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, 28.11.-02. 12. Zbornik rezimea: 28-29.

**(Received: 12.09.2012.)**

**(Accepted: 25.10.2012.)**

## IDENTIFIKACIJA *COLLETOTRICHUM ACUTATUM* SA PLODA NEKTARINE

SVETLANA ŽIVKOVIĆ, VELJKO GAVRILOVIĆ, VIOLETA ORO,  
ERIKA PFAF DOLOVAC, STEFAN STOŠIĆ, SLOBODAN KUZMANOVIĆ, ŽARKO IVANOVIĆ

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

e-mail: zivkovicsvetla@gmail.com

### REZIME

Izolati *Colletotrichum* spp. dobijeni 2010. godine, sa antraknoznih plodova nektarine identifikovani su pomoću morfoloških i molekularnih metoda. Test patogenosti je obavljen sa reprezentativnim izolatima, na odabranim, zdravim plodovima. Svi ispitivani izolati prouzrokuju antraknozne lezije na plodu nektarine, 7 dana nakon inokulacije. Na PDA podlozi izolati formiraju tamno zelenu do tamno sivu miceliju. Stopa rasta izolata sa nektarine i referentnog soja *C. acutatum* je bila niža u odnosu na referentni soj *C. gloeosporioides*. Konidije su hialinske, neseptirane i fusiformne. Apresorije su tamno braon boje, glatke, jednostavne, okruglastog ili oblika izdužene palice. Korišćenjem para prajmera CaInt2/ITS4 iz genoma DNA izolata sa ploda nektarine i referentnog soja *C. acutatum* – CBS 294.67, amplifikovan je fragment veličine 490 bp. Na osnovu ovih rezultata, u Srbiji je kao prouzrokovatelj antrakoze plodova nektarine identifikovana vrsta *C. acutatum*.

**Ključne reči:** antraknoza, nektarina, *Colletotrichum acutatum*, identifikacija

(Primljeno: 12.09.2012.)

(Prihvaćeno: 25.10.2012.)



Zaštita bilja  
Vol. 63 (3), Nº 281, 139-147, 2012, Beograd  
Plant Protection  
Vol. 63 (3), Nº 281, 139-147, 2012, Belgrade

UDK: 634.11-248.231  
632.482.31:632.937  
Naučni rad  
Scientific paper

## ANTIFUNGALNA AKTIVNOST AUTOHTONIH RIZOSFERNIH IZOLATA *PSEUDOMONAS SPP.* PREMA *VENTURIA INAEQUALIS*

GORAN ALEKSIĆ<sup>1</sup>, MIRA STAROVIĆ<sup>1</sup>, SLOBODAN KUZMANOVIĆ<sup>1</sup>, TATJANA POPOVIĆ<sup>1</sup>,  
DOBRIVOJ POŠTIĆ<sup>1</sup>, SNEŽANA PAVLOVIĆ, DRAGANA JOŠIĆ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

<sup>2</sup>Institut za zemljište, Beograd

e-mail:algoran@sezampro.rs

### REZIME

Biljne bolesti prouzrokovane fitopatogenim gljivicama su jedan od glavnih problema u voćnjacima u Srbiji. Biološka kontrola patogena sve više se koristi u upravljanju biljnim bolestima kako bi se izbeglo korišćenje hemijskih agenasa u velikoj meri. Jabuka kao veoma značajna voćarska kultura je domaćin veoma agresivne fitopatogene gljive *Venuria inaequalis*, prouzrokovača čađave krastavosti ploda. U potrazi za ekološkim načinima za sprečavanje pojave i smanjenje simptoma bolesti, biološka kontrola autohtonim izolatima iz roda *Pseudomonas* je potencijalno moguće rešenje. Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita antifungalna aktivnost različitih autohtonih izolata *Pseudomonas* (P16, B25 i PS2) protiv fitopatogene gljive *V. inaequalis* koja zaražava jabuku. Autohtoni *Pseudomonas* izolati su u *in vitro* uslovima pokazali inhibiciju rasta kolonija gljivice od 13.85% do 54.36% na WA podlozi i od 11.37% do 58.33% na PDA. Ove izolate treba dalje analizirati kao grupu bioloških agenasa koja može imati veliki potencijal u suzbijanju *V. inaequalis*, prouzrokovača čađave krastavosti jabuke.

**Ključne reči:** *Venturia inaequalis*, jabuka, *Pseudomonas*, biološka kontrola bolesti bilja

### UVOD

Jabuka je najintenzivnije gajena voćarska kultura na našim prostorima sa veoma značajnom godišnjom proizvodnjom plodova. Međutim, ovu proizvodnju ugrožava pojava raznih, veoma destruk-

tivnih patogena. Čađava pegavost lista i krastavost ploda (*Venturia inaequalis*) je jedna od ekonomski najštetnijih bolesti jabuke u svim rejonima gde se ova voćna vrsta gaji. Štete se odražavaju kroz smanjenje prinosa i pogoršanje kvaliteta plodova, smanjuje se rodost voćaka u narednoj godini i povećava

osetljivost prema izmrzavanju. Gubici mogu biti i do 100% ukoliko se ostvare povoljni uslovi za razvoj patogena (prohladno i kišovito proleće i leto) (Ivanović, 2001). Uspešna proizvodnja jabuke nije moguća bez izvođenja hemijskih mera zaštite. Obzirom na način širenja i karakter patogena neophodna je intenzivna zaštita jabuke koja se u najvećoj meri izvodi upravo protiv ovog patogena. Za zaštitu jabuke od čađave krastavosti koristi se široka paleta preparata iz različitih grupa jedinjenja i različitih mehanizama delovanja. To su preparati i različitog načina dejstva (preventivnog, preventivno-kurativnog, kurativnog ili eradikativnog), koji se često zbog poboljšanog delovanja ili izbegavanja rezistencije patogena, međusobno kombinuju. Tokom vegetacije se, za suzbijanje ovog patogena i zaštitu jabuke izvede često i preko 20 tretiranja (Ivanović, 2001). Ovako veliki broj tretmana različitim, a ne retko i istim preparatima, ima za posledicu i nepovoljne ekotoksikološke efekte na zemljište i na životnu sredinu uopšte, a naročito se njihov nepovoljan efekat odražava na visok nivo ostataka u plodovima i prehrambenim proizvodima, pa tako i direktno na zdravlje ljudi. U tom smislu su, u novije vreme, znatno pooštreni i kriterijumi i propisi o sadržaju maksimalne dozvoljene količine pojedinih aktivnih supstanci u plodovima i prehrambenim proizvodima, što ograničava i broj tretmana u zasadima, kao i vreme primene i količine upotrebljenih preparata i aktivnih supstanci ne samo protiv prouzrokovala čađave krastavosti jabuke, nego i protiv svih štetnih organizama u biljnoj proizvodnji. Situacija u zaštiti jabuke od prouzrokovala čađave krastavosti je možda najdrastičnija, jer se protiv ovog patogena izvodi veliki broj tretmana. To je uzrokovalo i pojavu smanjene osetljivosti patogena prema fungicidima sa specifičnim mehanizmom delovanja, koji se češće upotrebljavaju, zahvaljujući velikoj sposobnosti patogena za variranje i prevladavanje prepreka koje pred njega postavlja priroda ili čovek, što predstavlja drugi veliki problem. Iz svih navedenih razloga je izuzetno važno da se u zaštitu jabuke

i zaštitu bilja uopšte, uvode novi preparati koji nemaju nepovoljan uticaj na zdravlje i životnu sredinu ili je taj uticaj znatno smanjen i prihvatljiv. Jedan od načina da se pomenuti problemi prevaziđu i ostvari nastojanje da se smanji upotreba potencijalno štetnih aktivnih supstanci i proširi paleta proizvoda u cilju izbegavanja rezistencije patogena, je i uvođenje preparata na bazi bioloških agenasa u zaštitu jabuke koji će svojim antagonističkim delovanjem sprečiti ili usporiti razvoj patogena i na taj način obezbediti zaštitu prinosa.

Biološka kontrola predstavlja efikasan alternativni ili dodatni način zaštite bilja i redukcije upotrebe hemijskih sredstava (Postma i sar., 2003; Welbaum i sar., 2004). Efikasni agensi koji se koriste u biološkoj kontroli su brojni mikroorganizmi, a posebnu grupu čine rizosferne bakterije koje istovremeno i stimulišu rast biljaka - plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) (Cattelan i sar., 1999; Zehnder i sar., 2001). Bakterije roda *Pseudomonas* se ubrajaju u najbrojnije i najefikasnije PGPR u biološkoj kontroli različitih biljnih patogena - gljiva, bakterija i virusa (Cattelan i sar., 1999; Gerhardson, 2002). *Pseudomonas* vrste produkuju brojne sekundarne metabolite sa antagonističkim efektima: antibiotike (fenazine, 2,4-diacetylphloroglucinol, pioluteorin, pirolnitrin), siderofore, cijanovodonik, tenzin, homoserin laktone, ciklične lipopeptide (Nielsen i sar., 2002; Raaijmakers i sar., 2002; de Souza, 2003; Nielsen i Sørensen, 2003), pa su producenti ovih materija često korišćeni pri kontroli različitih patogena.

Cilj ovog rada je ispitivanje antagonističkog delovanja autohtonih rizosfernih izolata bakterija iz roda *Pseudomonas* koji produkuju antibiotike fenazinskog tipa prema *Venturia inaequalis*, prouzrokovala čađave krastavosti jabuke.

## MATERIJAL I METODE

Ogledi su izvedeni tokom 2012. godine u laboratorijama Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu,

Beograd. U *in vitro* uslovima ispitivano je inhibitorno delovanje tri izolata bakterija roda *Pseudomonas* (Q16, B25 i PS2) na porast kolonija izolata *V. inaequalis* izolovanih sa inficiranih listova jabuke prikupljenih u tretiranim i netretiranim voćnjacima tokom 2011. godine. Izolati gljive, prouzrokovača čađave krastavosti, dobijeni su monokonidijalnom izolacijom prema metodi Borić (1987), Aleksić (1996) i Aleksić i sar. (2005), na KDA podlogu. U ispitivanjima su korišćena tri izolata *V. inaequalis* (M, N i N1) poreklom iz dva lokaliteta sa područja Srbije (Morović i Neštin). Izolati iz lokaliteta Morović uzorkovani su iz komercijalnog zasada jabuke površine 100 ha, u kome se sprovode intenzivne mere zaštite dugi niz godina. U ovom voćnjaku se koristi čitava paleta fungicida registovana za suzbijanje prouzrokovača čađave krastavosti jabuke. Izolati iz lokaliteta Neštin su uzeti sa pojedinačnih stabala jabuke udaljenih od bilo kakvog komercijalnog zasada. Na tim stablima se ne sprovode mere zaštite prouzrokovača čađave krastavosti, pa se ovi izolati mogu smatrati divljim izolatima.

Fragmenti micelije veličine 1mm, uzimani su sa kolonija izolata i prenošeni u Petri kutije na podlogu. Za ispitivanja su korišćene dve vrste podloga: krompir glukozni agar (PDA) i Waxman (WA). Kontrolne Petri kutije su sadržale odgovarajuću podlogu bez nanesenih bakterija. Ogledi su izvođeni u 6 ponavljanja. Kulture *V. inaequalis* su inkubirane na 18°C tokom tri nedelje u uslovima tame, posle čega je unošen odgovarajući ispitivani izolat bakterije. *Pseudomonas* izolati su gajeni na tečnoj Waxman

podlozi na 26 °C uz orbitalno mešanje od 100 rpm u toku 24h i optimizirani na OD600= 0,625. Po 10 µl bakterijske kulture naneto je pored gljive na dve tačke unakrsno. Posle tri nedelje, što je praktično bila šesta nedelja od zasejavanja gljive, meren je porast kolonija gljive kako bi se utvrdilo inhibitorno delovanje bakterija. Prečnik kolonije gljive meren je unakrsno (Borić, 1985). Dobijeni rezultati su statistički obrađeni analizom varijanse i Duncan i LSD testom.

Procenat inhibicije je izračunavan po formuli:  $\frac{\bar{S}(R-r)}{R\bar{C}} \times 100$ , gde je R- porast gljive u kontroli, a r - porast u tretmanu izolatima bakterija (Gado, 2007).

## REZULTATI I DISKUSIJA

Poslednjih nekoliko dekada aktivno su istraživani uticaji rizosfernih izolata *Pseudomonas* vrsta na biljne patogene, posebno za primenu u organskoj proizvodnji. U ovim istraživanjima korišćeni su autohtoni izolati kod kojih je detektovana produkcija antibiotika iz grupe fenazina i to fenazin-hidroksilne koseline (PCA) i 2-OH- fenazina (2-OH-PCA) (Josic i sar., 2012a).

Rezultati uticaja bakterijskih izolata *Pseudomonas* Q16, B25 i PS2 na porast kolonija gljive *V. inaequalis* izolata M, N i N1 prikazani su u tabeli 1 i grafikonima 1-9. Ispitivanja su rađena na dve hranljive podloge: PDA-krompr glukozni agar i WA-Waxman.

**Tabela.1.** Uticaj izolata bakterija na porast izolata M, N i N1 gljive *V. inaequalis*.

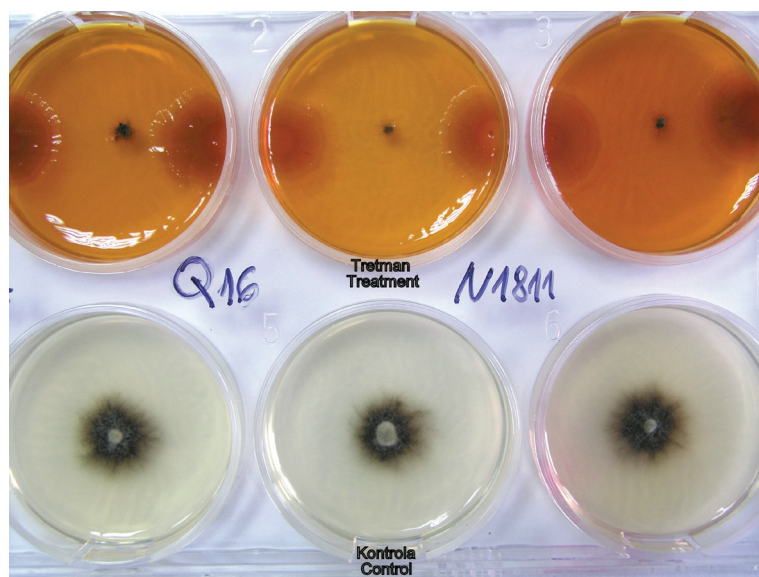
**Table 1.** Effect of bacterial isolates on the growth of M, N and N1 *V. inaequalis* isolates.

Izolat gljive Fungi isolates	Podloga Medium	K	Izolati bakterija Bacterial isolates			LSD <sub>005</sub>
			Q16	B25	PS2	
M	PDA	58.67a*	47.33c	52.00b	51.33b	2.93
	WA	43.33a	32.67c	35.00bc	37.33b	4.08
N	PDA	64.00a	49.00c	54.33b	26.67d	5.38
	WA	49.67a	22.67d	40.00b	26.67c	3.12
N1	PDA	53.00a	38.67c	42.00bc	44.00b	4.82
	WA	46.33a	25.00b	25.67b	26.00b	2.57

PDA - krompir dekstrozni agar, WA - Waxman podloga, K-kontrola, \*Duncan test-vrednosti obeležene istim slovima se ne razlikuju statistički značajno.

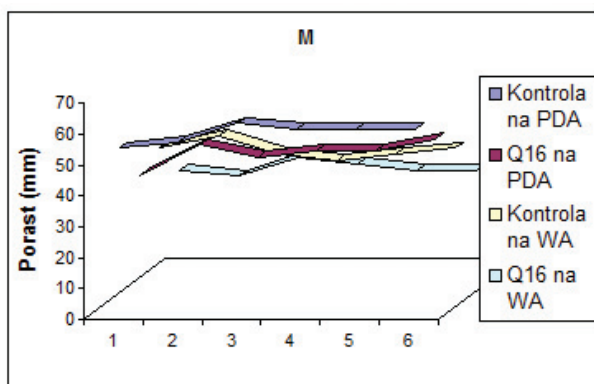
Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su izolati bakterija efikasnije sprečavali porast izolata gljive na WA nego na PDA podlozi (tab.1.). Na osnovu statističkog poređenja dobijenih rezultata najveću efikasnost u sprečavanju porasta izolata gljive pokazao je *Pseudomonas* izolat Q16 (sl.1.), zatim PS2, a najslabiju efikasnost ispoljio je izolat B25. Na osnovu Duncan testa vidi se da je izolat bakterije Q16 ispoljio statistički značajne razlike u odnosu na druga dva izolata u sprečavanju porasta kolonija gljive. Utvrđene su značajne statističke razlike u porastu kolonija gljive u kontroli u odnosu na porast kolonija gljive sa ispitivanim izolatima bakterija. Najveća efikasnost u inhibiciji porasta *V. inaequalis* iskazana je prema izolatu N1, zatim prema izolatima N i M.

Inhibicija porasta kolonija gljive usled primene ispitivanih izolata bakterija data je u tabeli 2. Raspon inhibicije porasta izolata gljive najujednačeniji je kod izolata *Pseudomonas* Q16 i on se na WA podlozi kreće od 24.60-54.36%, dok je kod izolata PS2 i B25 znatno veći raspon inhibicije (13.85-46.30 odnosno 19.22-44.59%). Na PDA podlozi je izolat PS2 pokazao najviši nivo inhibicije kod izolata gljive N (58.33), ali je kod druga dva izolata gljive uzrokovao znatno niži nivo inhibicije. S druge strane, izolat Q16 pokazuje stabilnu, iako malo nižu inhibiciju porasta svih izolata gljive (19.33-27.04). Viši nivo inhibicije porasta kolonija ispoljen je prema izolatima gljive N i N1, što je očekivano s obzirom da su to izolati iz divlje populacije, pa su zato i osetljiviji na delovanje sekundarnih metabolita *Pseudomonas* izolata.



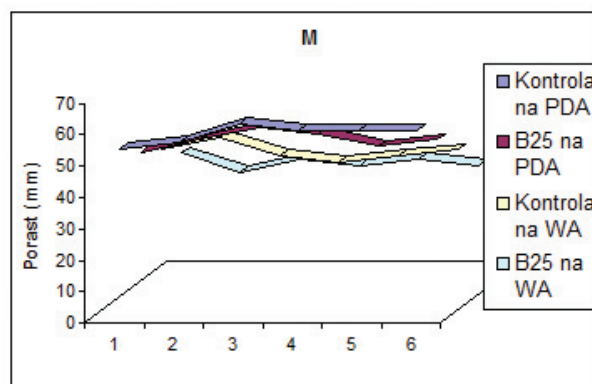
Sl. 1. Antifungalna aktivnost izolata Q16 prema izolatu N *V. inaequalis*.

Fig. 1. Antifungal activity of Q16 isolate against N isolate of *V. inaequalis*.



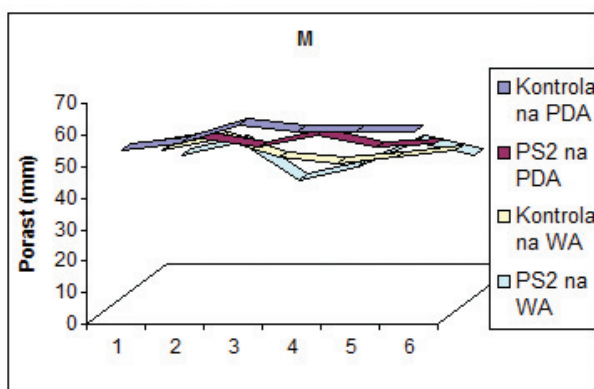
**Graf.1.** *V.inaequalis*. Uticaj izolata Q16 na porast kolonija gljive izolata M.

**Graf.1.** Effect of isolate Q16 on the growth of M fungi isolate.



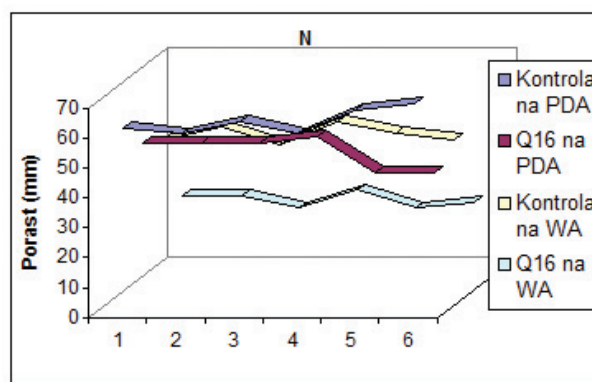
**Graf.2.** *V.inaequalis*. Uticaj izolata B25 na porast kolonija gljive izolata M.

**Graf.2.** Effect of isolate B25 on the growth of M fungi isolate.



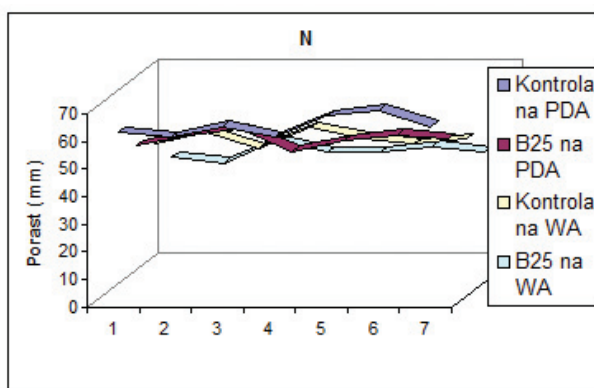
**Graf.3.** *V.inaequalis*. Uticaj izolata PS2 na porast kolonija gljive izolata M.

**Graf.3.** Effect of isolate PS2 on the growth of M fungi isolate.



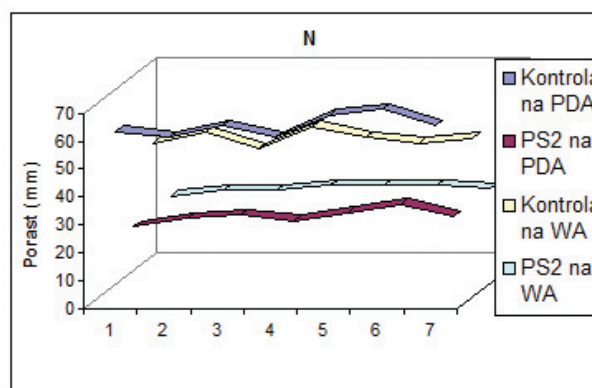
**Graf.4.** *V.inaequalis*. Uticaj izolata Q16 na porast kolonija gljive izolata N.

**Graf.4.** Effect of isolate Q16 on the growth of N fungi isolate.



**Graf.5.** *V.inaequalis*. Uticaj izolata B25 na porast kolonija gljive izolata N.

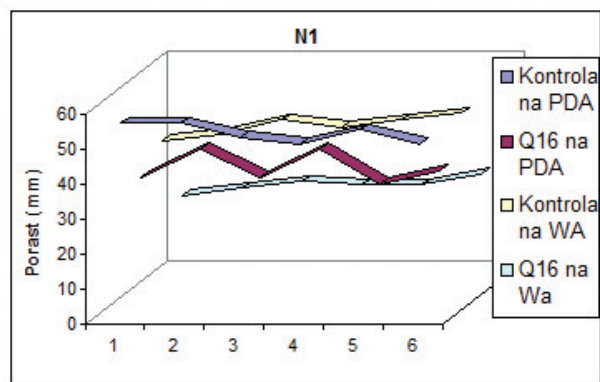
**Graf.5.** Effect of isolate B25 on the growth of N fungi isolate.



**Graf.6.** *V.inaequalis*. Uticaj izolata PS2 na porast kolonija gljive izolata N.

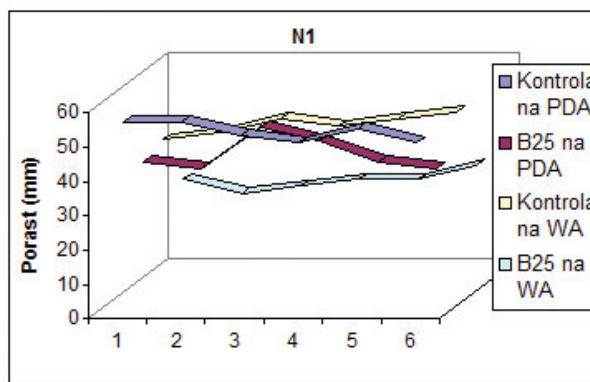
**Graf.6.** Effect of isolate PS2 on the growth of N fungi isolate.





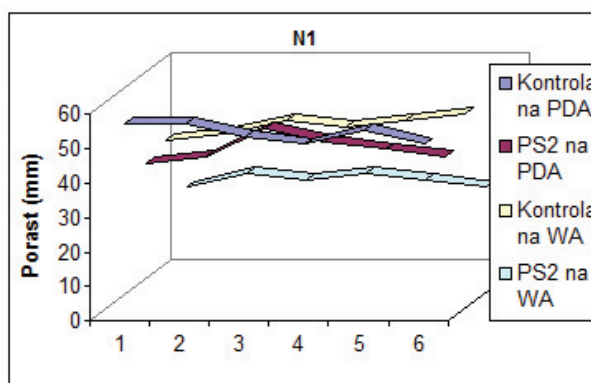
**Graf.7.** *V.inaequalis*. Uticaj izolata Q16 na porast kolonija gljive izolata N1.

**Graf.7.** Effect of isolate Q16 on the growth of N1 fungi isolate.



**Graf.8.** *V.inaequalis*. Uticaj izolata B25 na porast kolonija gljive izolata N1.

**Graf.8.** Effect of isolate B25 on the growth of N1 fungi isolate.



**Graf.9.** *V.inaequalis*. Uticaj izolata PS2 na porast kolonija gljive izolata N1.

**Graf.9.** Effect of isolate PS2 on the growth of N1 fungi isolate.

**Tabela 2.** Inhibicija porasta izolata *V.inaequalis* na različitim podlogama pod uticajem autohtonih izolata *Pseudomonas* sp.

**Table 2.** Growth inhibition of isolates *V.inaequalis* on different surfaces under the influence of indigenous isolates of *Pseudomonas* sp.

<i>V.inaequalis</i>	Inhibicija						*Ms
	Inhibition (%)						
	PDA			WA			
	Q16	B25	PS2	Q16	B25	PS2	
M	19.33	11.37	12.51	24.60	19.22	13.85	16.81
N	23.44	15.11	58.33	54.36	19.47	46.30	36.17
<b>N1</b>	27.04	20.75	16.98	46.04	44.59	43.88	33.21

\*Ms – srednja vrednost inhibicije

Različite vrste roda *Pseudomonas* ispoljavaju širok spektar antifungalne aktivnosti prema različitim fitopatogenim gljivama (Couillerot i sar., 2009; Srivastava i Shalini, 2008). *P. aeruginosa* BFPB9, *P. plecoglossicida* FP12 i *P. mosselli* FP13 su efektni antagonisti *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, i inhibiraju rast micelije u različitom procentu (Jha i sar., 2009). Burr i sar. (1996) su ispitivali uticaj velikog broja rizosfernih izolata na klijanje konidija *V. inaequalis* *in vitro* i supresiju infekcije na mladim sadnicama jabuke, ali nisu ustanovili korelaciju između *in vitro* antibioze i sposobnosti sprečavanja infekcije mladih sadnica jabuke. Jedino izolat koji je identifikovan kao *Pseudomonas syringae* 508 inhibirao je klijanje konidija i efikasno suprimirao čađavu kras-tavost do nivoa uporedivog sa delovanjem fungicida kaptana. Ranija istraživanja (Djurić i sar., 2011; Jošić i sar., 2012b) pokazala su da je autohtoni *Pseudomonas* izolat PS2 efikasan antifungalni agens usled produkcije različitih ekstracelularnih produkata

– hitinaza i siderofora, a sva tri ispitivana izolata produkuju heterociklične antibiotike fenazinskog tipa (PCA i 2-OH-PCA) (Jošić i sar., 2012a). *Pseudomonas* izolati Q16, B25 i PS2 su u različitom, ali visokom procentu (81.5–90.6%) inhibirali infekciju bosiljka (*Ocimum basilicum*) izazvanu veštačkom infekcijom fitopatogenom gljivom *Alternaria tenuissima* u gnotobiotičkim uslovima, iako je inhibicija porasta micelija gljive u *in vitro* uslovima iznosila 27.5–38.75% (Jošić i sar., 2012c). Inhibicija rasta *V. inaequalis* (11.37 do 58.33%) u *in vitro* uslovima koji ne pogoduju rastu bakterija i početna favorizacija razvoja micelije gljive daju dobru osnovu za dalja istraživanja u gnotobiotičkim uslovima sa različitim varijantama koncentracije i učestalosti aplikacije bakterija i njihovih ekstracelularnih produkata.

#### ZAHVALNICA

Ova istraživanja su realizovana u okviru projekata III46007 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

#### LITERATURA

- Aleksić, G. (1996): Karakteristike razvoja *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter (anamorf *Spilopsea pomi* Fr.) *in vitro*. Magistarski rad, 1–68, Poljoprivredni fakultet, Univerziteta u Novom Sadu.
- Aleksić, G., Stojanović, S., Starović, M., Kuzmanović, S., Trkulja, N. (2005): Porast i sporulisanje kolonija *Venturia inaequalis* na različitim temperaturama i podlogama. *Zaštita bilja*, 56(1–4): 77–86.
- Borić, B. (1985): Rast kultura i obrazovanje reproduktivnih organa Plesospora herbarum (Pers. ex Fr.) Rabenh. na različitim temperaturama i pH vrednostima. *Zaštita bilja*, 174:371–377.
- Borić, B. (1987): Identifikacija rasa *Venturia inaequalis* u Jugoslaviji. Savetovanje o biološkoj borbi u zaštiti bilja, Beograd.
- Burr, T.J., Matteson, M.C., Smith, C.A., Corral-Garcia, M.R., Tze-Chung Huang (1996): Effectiveness of Bacteria and Yeasts from Apple Orchards as Biological Control Agents of Apple Scab. *Biological Control*, 6 (2): 151–157.
- Cattelan, A. J., Hartel, P. G. and J. J. Fuhrmann (1999): Screening for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63: 1670–1680.
- Couillerot, O., Prigent-Combaret, C., Caballero-Mellado, J., Y. Moënne-Loccoz (2009): *Pseudomonas fluorescens* and Closely-Related Fluorescent *Pseudomonads* as Biocontrol Agents of Soil-Borne Phytopathogen, *Lett. Appl. Microbiol.*, 48: 505–512.

- De Souza, J. T., M. de Boer, P. de Waard, T. A. van Beek, J. M. Raaijmakers (2003). Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69: 7161–7172.
- Djurić, S., Pavić, A., Jarak, M., Pavlović, S., Starović, M., Pivić, R., D. Jošić (2011): Selection of indigenous fluorescent pseudomonad isolates from maize rhizospheric soil in Vojvodina as possible PGPR. *Rom Biotechnol Lett.*, 16: 6580–6590.
- Gado, E.A.M. (2007): Management of cercospora leaf spot disease of sugar beet plants by some fungicides and plant extracts. *Egypt. J. Phytopathol.*, 35: 1–10.
- Gerhardson, B. (2002): Biological substitutes for pesticides. *Trends Biotechnol.*, 20: 338–343.
- Ivanović, M., Ivanović, D. (2001): Mikoze i Pseudomikoze biljaka. P.P. De-eM-Ve, Beograd.
- Jha B. K., Pragash, M. G., Cletus, J., Raman, G., N. Sakthivel (2009): Simultaneous phosphate solubilization potential and antifungal activity of new fluorescent pseudomonad strains, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. plecoglossicida* and *P. mosselii*. *World J Microbiol Biotechnol.*, 25: 573–581.
- Jošić, D., Protolipac, K., Starović, M., Stojanović, S., Pavlović, D., Miladinović, M., S. Radović. (2012a). Phenazines Producing *Pseudomonas* Isolates Decrease *Alternaria tenuissima* Growth, Pathogenicity and Disease Incidence on Cardoon. *Arch. Biol.Sci., Belgrade* 64(4): 1495–1503.
- Jošić D., Pivić R., Miladinović M., Starović M., Pavlović S., Đurić S., Jarak M. (2012b). Antifungal activity and genetic diversity of selected *Pseudomonas* spp. from maize rhizosphere in Vojvodina. *Genetika, Belgrade*, 44(2): 377–388.
- Jošić D, Pavlović S, Starović M, Stojanović S, Stanojković-Sebić A, Pivić R. (2012c): Biocontrol of *Alternaria tenuissima* originated from *Ocimum basilicum* L using indigenous *Pseudomonas* spp. strains. 7<sup>th</sup> CMAPSEEC, Subotica, Serbia, 27<sup>th</sup>–31<sup>th</sup> May. Proceedings: 195–200.
- Nielsen, T. H., D. Sørensen, C. Tobiasen, J. B. Andersen, C. Christephersen, M. Givskov, J. Sørensen. (2002): Antibiotic and biosurfactant properties of cyclic lipopeptides produced by fluorescent *Pseudomonas* spp. from the sugar beet rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 3416–3423.
- Nielsen, T. H., and J. Sørensen (2003): Production of cyclic lipopeptides by *Pseudomonas fluorescens* strains in bulk soil and in the sugar beet rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69: 861–868.
- Postma, J., M. Montanari, and P. H. J. F. van den Boogert (2003): Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost. *Eur. J. Soil Biol.*, 39: 157–163.
- Raaijmakers, J. M., M. Vlami, and J. T. de Souza. (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Leeuwenhoek* 81:537–547.
- Srivastava, R. and R. Shalini (2008): „Antifungal Activity of *Pseudomonas fluorescens* Against Different Plant Pathogenic Fungi“, *EJEAFChe*, 7, 2881–2889.
- Welbaum, G., A. V. Sturz, Z. Dong, and J. Nowak. (2004). Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. *Crit. Rev. Plant Sci.* 23:175–193.
- Zehnder, G. W., Murphy, J. F., Sikora, E. J. and J. W. Kloepper (2001): „Application of Rhizobacteria for Induced Resistance“, *Eur. J. Plant Pathol.*, 107, 39–50.

(Primljeno: 23.09.2012.)

(Prihvaćeno: 30.10.2012.)



## ANTIFUNGAL ACTIVITY OF INDIGENOUS RHIZOSPHERIC ISOLATES *PSEUDOMONAS* SPP. AGAINST *VENTURIA INAEQUALIS*

GORAN ALEKSIĆ<sup>1</sup>, MIRA STAROVIĆ<sup>1</sup>, SLOBODAN KUZMANOVIĆ<sup>1</sup>, TATJANA POPOVIĆ<sup>1</sup>,  
DOBRIVOJ POŠTIĆ<sup>1</sup>, SNEŽANA PAVLOVIĆ, DRAGANA JOŠIĆ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

<sup>2</sup> Institute for Soil Science, Belgrade

e-mail: [algoran@sezampro.rs](mailto:algoran@sezampro.rs)

### SUMMARY

Plant diseases caused by phytopathogenic fungi are one of the major problems in orchard plants in Serbia. To avoid the use of chemical agents in high percent, biological control is becoming promising method in plant disease management. It has been showed that apple is host of *Venturia inaequalis*, a very aggressive phytopathogenic fungus known for production scab. In search for ecological ways for prevention and reduction of disease symptoms, biological control with indigenous fluorescent *Pseudomonas* isolates has been offered as a possible solution. The aim of this study was to examine antifungal activity of different indigenous fluorescent *Pseudomonas* isolates (Q16, B25 and PS2) against phytopathogenic fungus *V. inaequalis* which had infected apple. Indigenous *Pseudomonas* isolates showed *in vitro* inhibition of fungal growth 13.85 % to 54.36 % on WA and 11.37 % to 58.33% on PDA. These isolates should be further analyzed in order to classify them as promising group of biocontrol agents against diseases of apple scab caused by *V. inaequalis*.

**Key words:** *Venturia inaequalis*, apple, *Pseudomonas*, biological disease control

(Received: 23.09.2012.)

(Accepted: 30.10.2012.)

## MORFOLOŠKE I ODGAJIVAČKE KARAKTERISTIKE IZOLATA *MONILINIA LAXA* SA KOŠTIČAVIH VOĆAKA

ANJA MILOSAVLJEVIĆ, MILOŠ STEVANOVIĆ, TATJANA POPOVIĆ, LANA ĐUKANOVIĆ,  
SVETLANA ŽIVKOVIĆ, MILANA MITROVIĆ, NENAD TRKULJA

Institut za zaštitu bilja i životnu stedinu, Beograd  
e-mail: trkulja\_nenad@yahoo.com

### REZIME

Morfološke i odgajivačke karakteristike izolata *Monilia laxa* proučene su na KDA i MEA hranljivoj podlozi. Determinisani su izgled kolonija (boja, tekstura, rozetavost, formiranje koncentričnih prstenova), kao i dimenzije konidija. Od odgajivačkih karakteristika proučen je porast micelije i sporulacija. Porast micelije je praćen na obe hranljive podloge, a sporulacija samo na podlozi KDA. Svi izolati formiraju vazdušastu miceliju, sa značajnim variranjem u boji na različitim podlogama, ali je variranje u boji prisutno i između izolata gajenih na istoj podlozi. Na MEA podlozi izolati su nešto svetliji u odnosu na izolate sa KDA podloge. Svi izolati su više ili manje intenzivno rozetavi, ali ne formiraju svi prstenove. Veličina konidija je takođe karakteristika koja varira u odnosu na izolat i podlogu. Porast micelije je nešto manji na MEA podlozi.

**Ključne reči:** *Monilinia laxa*, morfologija, boja micelije, porast, sporulacija

### UVOD

*Monilinia laxa* (Aderhold & Ruhland) je jedna od tri najznačajnije vrste roda *Monilinia* (Ioos and Frey, 2000). Rasprostranjena je širom sveta, a kao patogen može prouzrokovati sušenje cvetova, grančica i mrku trulež plodova koštičavih voćaka.

Prisutna je u Evropi i u SAD-u i smatra se da pripada vrstama takozvanog Starog Sveta (van Leeuwen et al., 2002). O rasprostranjenosti *M. laxa* svedoči njeno prisustvo u zasadima koštičavog voća u Grčkoj, Španiji, Švajcarskoj (Zbinden, 1986; Hohn i Siegfried, 1989; Siegfried et al., 1990; Larena et al., 2005). U Kalifornijskoj Centralnoj Dolini, gde se

koštičave voćne vrste (breskva, kajsija, šljiva, nektarina) gaje na preko 100.000 ha dovodi do gubitaka prinosa koji se kreću i do 30% (Ogawa and English, 1991; Hong et al., 1997). Pored koštičavog voća, izaziva velike štete na biljkama iz familije *Rosaceae* (Honey, 1928). U Srbiji, *M. laxa* se redovno javlja na koštičavom voću, najviše na šljivi (*Prunus domestica* L.), višnji (*Prunus cerasus* L.), breskvi (*Prunus persica* (L.) Batsch), kajsiji (*Prunus armeniaca* L.), ali je prisutna i na jabuci (*Malus domestica* Borkh.) i krušci (*Pyrus communis* L.), na kojima dovodi do značajnog smanjenja prinosa (Trkulja et al., 2010).

Identifikacija *Monilinia* spp. nije sasvim pouzdana ukoliko je zasnovana samo na morfološkim karakteristikama izolata, koje mogu značajno varirati i kod izolata koji pripadaju istoj vrsti (Munoz et al., 2008). Identifikaciju je moguće izvršiti ukoliko se kombinuju osobine kao što su stopa porasta kolonije, boja, izgled i karakteristike oboda kolonije, sa drugim morfološkim karakteristikama, pre svega dimenzijom konidija i dužinom klicinog stuba. Međutim, atipični izolati drugih vrsta roda *Monilinia* mogu biti pogrešno identifikovani kao *M. laxa* i obrnuto (van Leeuwen & van Kesteren, 1998; De Cal & Melgarejo, 1999).

Cilj ovog rada je utvrđivanje morfoloških i odgajivačkih karakteristika izolata *M. laxa* poreklom sa šljive, višnje, breskve i kajsije.

## MATERIJAL I METODE

### Uzorkovanje i izolacija

Tokom 2010. i 2011. godine, u cilju ispitivanja prisustva i rasprostranjenosti *M. laxa* u zasadima šljive, višnje, breskve i kajsije, pregledano je više voćnjaka na nekoliko lokaliteta u Srbiji. Tom prilikom, sakupljena su 23 uzorka sa karakterističnim simptomima uvenuća i sušenja cvetova i grančica koji su ukazivali na prisustvo patogena.

Sakupljeni uzorci biljnog materijala najpre su ispirani pod mlazom česmenske vode i površins-

ki sterilisani 2% rastvorom natrijum-hipohlorita. Kao hranljiva podloga za izolaciju korišćena je KDA (krompir-dekstrozni agar, Kiraly et al., 1970). Nakon inkubacije koja je trajala 3 dana iz kolonija koje su se razvile oko izolovanih biljnih fagmenata izdvajane su monosporijalne kulture presejavanjem pojedinačnih konidija na KDA podlogu. Potom su Petri kutije postavljene u termostat, na temperaturi od 25°C bez prisustva svetlosti. Pojava pojedinačnih kolonija praćena je tokom naredna tri dana i novoformirana micelija je presejana na novu KDA podlogu. Ovakve kulture čuvane su 14 dana na temperaturi od 25°C u mraku i korišćene su za dalja proučavanja morfoloških i odgajivačkih karakteristika gljive. Dobijeni izolati *M. laxa* presejani su u epruvete sa zakošenom KDA podlogom i čuvani u frižideru na 4°C.

### Provera patogenosti izolata *M. Laxa*

Patogenost izolata *M. laxa* je ispitivana na plodovima jabuke. Pre inokulacije izvršena je površinska sterilizacija pomoću 95% etanola, a zatim su plodovi isprani sterilnom vodom. Radi lakšeg rukovanja i čuvanja, plodovi su prepolovljeni i svaka polovina je korišćena za testiranje jednog izolata gljive. Pomoću sterilnog bušača na plodovima jabuke su napravljeni iseći (Ø 5 mm) u koje je nanet fragment svakog testiranog izolata gljive. Plodovi su potom prebaćeni u plastične kutije sa navlaženim sterilnim filter papirom. Inkubacija je obavljena na 22°C i pri vlažnosti č97%. Test patogenosti je izveden u 3 ponavljanja, a prečnik lezija formiranih na plodovima je meren 14 dana nakon inokulacije.

### Utvrđivanje morfoloških karakteristika izolata *M.laxa*

U okviru proučavanja morfoloških karakteristika kolonija, proučene su makroskopske i mikroskopske osobine. Od makroskopskih osobina ispitivanih izolata proučene su: izgled, boja i tekstu-

**Tabela 1.** Izolata *M. laxa*, biljka domaćin, geografsko poreklo i godina izolacije.  
**Table 1.** Isolates of *M. laxa*, plant host, geographical origin and year of isolation.

Izolat	Biljka domaćin	Lokalitet	Godina
PSKJ1	Kajsija	Padinska Skela	2011
PSKJ2	Kajsija	Padinska Skela	2011
PSKJ3	Kajsija	Padinska Skela	2011
PSKJ4	Kajsija	Padinska Skela	2011
PSKJ5	Kajsija	Padinska Skela	2011
PSKJ6	Kajsija	Padinska Skela	2011
KJ1	Kajsija	Šabac	2010
KJ2	Kajsija	Šabac	2010
KJ3	Kajsija	Šabac	2010
KJGR	Kajsija	Grocka	2011
VKM2	Kajsija	Vinča	2011
VKM3	Kajsija	Vinča	2011
VBM1	Breskva	Vinča	2011
BRIC	Breskva	Topola	2010
S111	Višnja	Šabac	2011
S112	Višnja	Šabac	2011
SDV1	Višnja	Smederevo	2010
SDV2	Višnja	Smederevo	2010
SDV3	Višnja	Smederevo	2010
RU2	Višnja	Ruma	2010
VNB1	Višnja	Šabac	2010
SJV2	Višnja	Šabac	2010
SD1	Šljiva	Grocka	2010

ra micelije, kao i karakteristike ivične zone. Kolonije su gajene na KDA podlozi i malc-ekstraktnom agaru - MEA. Nakon pripreme i sterilizacije obe podloge su razlivene u Petri kutije (90 mm) u količini od po 20 ml. Iz kultura starih 14 dana gajenih na KDA podlozi uzeti su isečci micelije ( $\varnothing$  5 mm) i zasejani na obe podloge nanošenjem fragmenata za svaki izolat u centar nove Petri kutije. Izolati *M. laxa* su potom inkubirani u termostatu na temperaturi od 25°C u mraku, tokom 14 dana (Muntanola-Cvetković, 1987).

Od mikroskopskih osobina ispitivanih izolata proučene su dužina i širina konidija. Mikroskopski preparati pripremani su tako što je na predmetno staklo naneta kap vode, u koju je sterilnom kopljasom iglom nanet deo micelije svakog ispitivanog izolata. Materijal je potom prekriven pokrovnom ljušpicom i mikroskopiran. Veličina konidija je izračunata kao prosek 100 merenja. Svi ogledi su izvedeni u tri ponavljanja.

#### Utvrđivanje odgajivačkih karakteristika izolata *M. laxa*

Od odgajivačkih karakteristika ispitivanih izolata *M. laxa* praćeni su porast i sporulacija. U cilju praćenja porasta, ispitivani izolati su gajeni KDA i MEA podlozi (Dhingra and Sinclair, 1995). Nakon sterilizacije podloge su razlivene u Petri kutije (90 mm) u količini od po 20 ml, zatim su na njih zasejani fragmenti kolonija ( $\varnothing$  5 mm) iz kultura starih 14 dana. Zasejane Petri kutije inkubirane su u mraku, na 25°C. Ogled je trajao 14 dana i postavljen je u 5 ponavljanja. Rezultati su predstavljeni u vidu prosečnog dnevnog porasta micelije (mm/dan). Sporulacija patogena praćena je samo na KDA podlozi. Sa kolonija starih 14 dana sastrugan je površinski sloj micelije. Struganje je izvršeno pomoću sterilne kopljaste igle sa površine od 1 cm<sup>2</sup>. Tako sakupljen materijal je prebačen u mikrotube zapremine 1,5  $\mu$ l u koje je prethodno pipetiran po 1 ml sterilne de-

stilovane vode. Intenzitet sporulacije je određen pomoću hemocitometra.

## REZULTATI

### Provera patogenosti izolata gljive

Na veštački inokulisanim plodovima jabuke svi ispitivani izolati su izazvali reakciju u vidu truleži koja se javlja 3-5 dana po inokulaciji. Nekroza zahvaćenog tkiva se postepeno širila oko mesta inokulacije i ubrzo dovela do potpunog propadanja plodova (Slika 1). Većina ispitivanih izolata je manifestovala visok stepen patogenosti, izuzimajući izolat SD1 koji je prouzrokovao trulež nešto slabijeg intenziteta.

### Morfološke karakteristike izolata *M.laxa*

Ispitivanjem morfoloških makroskopskih osobina utvrđeno je da izolati na KDA podlozi formiraju vazdušastu miceliju, koja varira u obojenosti (bela, krem, siva, zelena, mrka), (Slika 2). Varijacije u boji su konstatovane i na licu i na naličju ispitivanih kultura gljiva. Rozetavost kolonija je bila je prisutna kod svih izolata, ali u različitom intenzitetu. Pojava prstenova na naličju kolonija je takođe osobina koja varira (kod nekih izolata je prisutna, a kod drugih nije zabeležena njihova pojava), (Tabela 2).

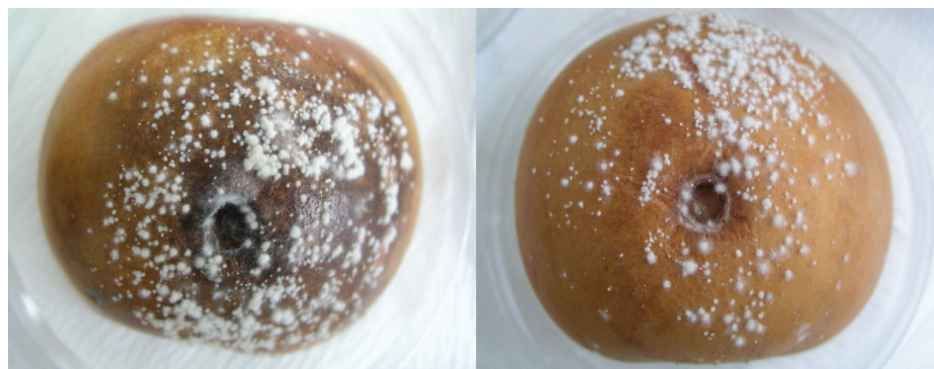
Izolati odgajani na MEA podlozi su uglavnom bele ili krem-bele boje, izuzev micelije izolata PSKJ5 (zeleno-bela), S111 (zeleno-krem-siva) i SDV2 (smeđe-bela). Na naličju ispitivanih kultura je izraženija varijabilnost u boji, pa micelija može biti: bela, krem, zelena ili mrka. Rozetavost je prisutna kod svih izolata u neznatnom, umerenom ili visokom intenzitetu (Slika 3). Kod nekih ispitivanih izolata je sa naličja kultura zabeleženo formiranje koncentričnih prstenova (Tabela 3).

Rezultati merenja dimenzija konidija na podlozi KDA prikazani su u Tabeli 4. Najmanju prosečnu vrednost dužine konidija ima izolat KJGR (2,9  $\mu\text{m}$ ), dok najveću ima izolat VNB1 (22,5  $\mu\text{m}$ ). Pored dužine merena, je i širina konidija, pa najmanju prosečnu širinu konidija ima izolat PSKJ6 (2,6  $\mu\text{m}$ ), dok najveću izolat S112.

Merenjem dužine konidija formiranih na podlozi MEA, utvrđeno je da izolat SJV2 ima najmanju prosečnu vrednost dužine konidija (3,9  $\mu\text{m}$ ), a izolat S112 najveću prosečnu vrednost (32,5  $\mu\text{m}$ ). Izolat KJ2 je imao konidije sa najmanjom prosečnom širinom (1,3  $\mu\text{m}$ ), a izolat PSKJ3 sa najvećom (11,2  $\mu\text{m}$ ), (Tabela 5).

### Odgajivačke karakteristike izolata *M.laxa*

Na KDA podlozi najmanji prosečni dnevni porast ima izolat SDV3 (3,3 mm), a najveći VKM2 (6,9



Slika 1. Simptomi *M. laxa* na inokulisanim plodovima jabuke.

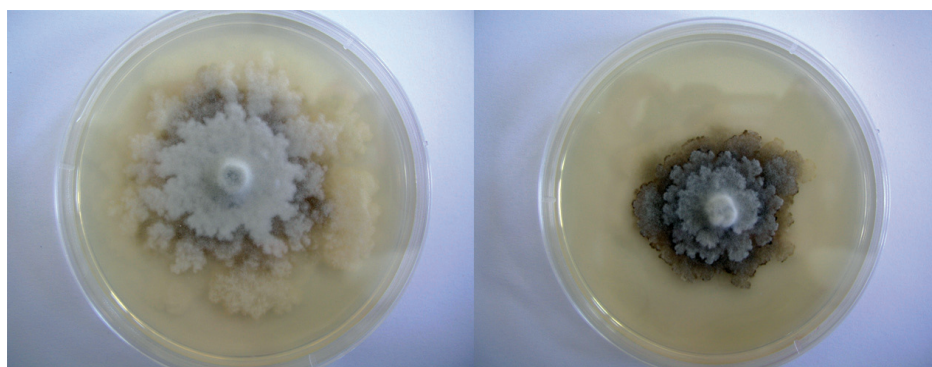
Figure 1. Symptoms of *M. laxa* on inoculated apple fruit.

**Tabela 2.** Morfološke makroskopske karakteristike izolata *M. laxa* na KDA podlozi.  
**Table 2.** Morphological macroscopic characteristics of *M. laxa* isolates on PDA medium.

Šifra izolata	<sup>a</sup> Tekstura micelije	<sup>b</sup> Boja lica	<sup>c</sup> Rozetavost	Boja naličja	Konc. zone na naličju
PSKJ1	Vd	B	I	Zb	Da
PSKJ2	Vd	B	I	Zb	Da
PSKJ3	Vd	Zk	I	Zk	Da
PSKJ4	Vd	Bs	I	Zk	Da
PSKJ5	Vd	Sk	N	Z	Ne
PSKJ6	Vd	Zb	U	Zk	Da
KJ1	Vd	Zk	U	Zk	Da
KJ2	Vd	Bk	U	Zk	Da
KJ3	Vd	Bk	U	Zk	Ne
KJGR	Vd	Zk	N	Zk	Da
VKM2	Vd	Svk	N	K	Da
VKM3	Vd	Bs	N	Zk	Da
VBM1	Vd	B	U	Bk	Da
BRIC	Vd	Bk	N	Zk	Ne
S111	Vd	Z	U	Zk	Ne
S112	Vd	Zks	U	Zk	Ne
SDV1	Vd	Zs	N	Zk	Ne
SDV2	Vd	Bz	I	Tz	Da
SDV3	Vd	Zs	U	Zs	Ne
RU2	Vd	B	N	K	Ne
VNB1	Vd	Tz	N	Tz	Ne
SJV2	Vd	Bk	U	Zk	Da
SD1	Vd	Bk	I	Bk	Da

<sup>a</sup> <b>Tekstura micelije</b> Vd - Vazdušasta	Zk - zeleno-krem Zb - zeleno-bela	Sz - smeđe-zelena Sk - smeđe-krem
<sup>b</sup> <b>Boja</b> B - bela Bs - belo-siva Bk - belo-krem Bz - Belo-zelena K - krem Z - zelena	Zs - zeleno-siva Zn - zeleno-narandžasta Zks - zeleno-krem-siva Tz - tamno zelena Sn - smeđe-narandžasta Sk - smeđe-krem Sb - smeđe-bela	<sup>c</sup> <b>Rozetavost</b> N - neznatna U - umerena I - intenzivna



**Slika 2.** Izolati *M. laxa* na KDA.

**Figure 2.** Isolates of *M. laxa* on PDA.

mm), (Slika 2; Grafik 1). Izolat VKM2 je i na MEA podlozi postigao najveći prosečni dnevni porast (6,0 mm), dok je najmanji prosečni dnevni porast (0,9 mm) zabeležen kod izolata PSKJ2 (Slika 3; Grafik 2).

Intenzitet sporulacije je određen kod izolata odgajenih na KDA podlozi. Utvrđeno je da izolat PSKJ1 naj-



obilnije sporuliše ( $89,9 \times 10^4$  konidija/cm<sup>2</sup>), dok su najmanji broj konidija obrazovali izolati VBM1 i SDV2 ( $2,3 \times 10^4$  konidija/cm<sup>2</sup>), (Grafik 2).

**Tabela 3.** Morfološke makroskopske karakteristike izolata *M. laxa* na MEA.  
**Table 3.** Morphological macroscopic characteristics of *M. laxa* isolates on MEA.

Šifra Izolata	<sup>a</sup> Tekstura micelije	<sup>b</sup> Boja lica	<sup>c</sup> Rozetavost	Boja naličja	Konc. zone na naličju
PSKJ1	Vd	B	N	Sn	Da
PSKJ2	Vd	B	N	Zs	Ne
PSKJ3	Vd	B	U	K	Da
PSKJ4	Vd	B	U	Zk	Da
PSKJ5	Vd	Zb	N	Zn	Ne
PSKJ6	Vd	B	N	Bk	Da
KJ1	Vd	Bk	U	Sk	Da
KJ2	Vd	Bk	I	Sk	Da
KJ3	Vd	Bk	I	Bk	Ne
KJGR	Vd	Bk	I	Bk	Da
VKM2	Vd	B	N	K	Ne
VKM3	Vd	Bk	U	Sk	Da
VBM1	Vd	Bk	U	K	Da
BRIC	Vd	B	N	Zk	Ne
S111	Vd	Bk	U	Sk	Da
S112	Vd	Zks	U	Sk	Da
SDV1	Vd	B	I	Sz	Ne
SDV2	Vd	Sb	U	Sk	Da
SDV3	Vd	Bk	U	Sk	Ne
RU2	Vd	B	N	Tz	Ne
VNB1	Vd	Bk	N	Zks	Ne
SJV2	Vd	Bk	U	K	Da
SD1	Vd	B	I	Sk	Da

<sup>a</sup> **Tekstura micelije**

Vd - Vazdušasta

<sup>b</sup> **Boja**

B - bela

Bs - belo-siva

Bk - belo-krem

Bz - Belo-zelena

K - krem

Z - zelena

Zk - zeleno-krem

Zb - zeleno-bela

Zs - zeleno-siva

Zn - zeleno-narandžasta

Zks - zeleno-krem-siva

Tz - tamno zelena

Sn - smeđe-narandžasta

Sk - smeđe-krem

Sb - smeđe-bela

Sz - smeđe-zelena

Sk - smeđe-krem

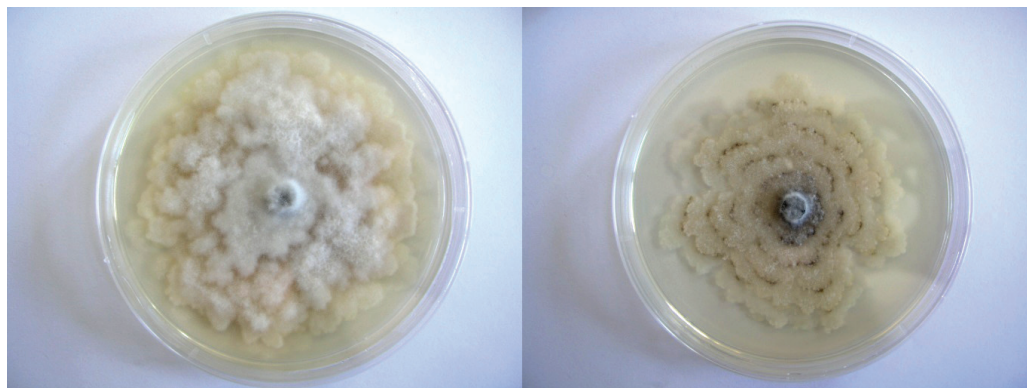
Svk - svetlo krem

<sup>c</sup> **Rozetavost**

N - neznatna

U - umerena

I - intenzivna



**Slika 3.** Izolati *M. laxa* na MEA.

**Figure 3.** Isolates of *M. laxa* on MEA.

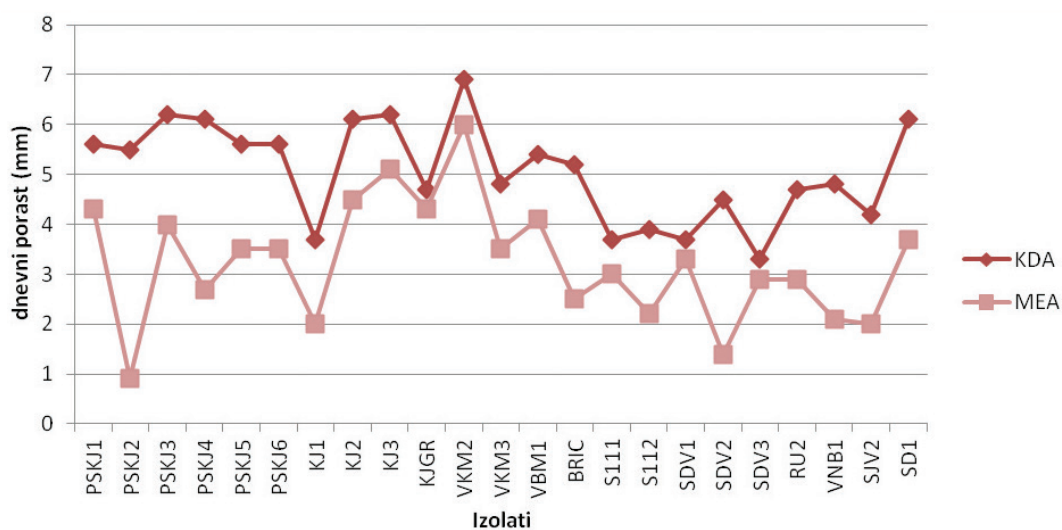
**Tabela 4.** Morfološke mikroskopske karakteristike izolata *M. laxa* na KDA.  
**Table 4.** Morphological microscopic characteristics of *M. laxa* isolates on PDA.

Šifra izolata	Dužina konidija (µm)			Širina konidija (µm)		
	min	prosek	max	min	prosek	max
PSKJ1	5	9,7	20	1,3	4,1	7,5
PSKJ2	5	13	22,5	5	6,3	10
PSKJ3	7,5	12	17,5	3,75	6,1	10
PSKJ4	5	14,2	22,5	5	7,4	10
PSKJ5	6,2	8,5	11,25	3,7	4,4	7,5
PSKJ6	4	7,1	16	2	2,6	4
KJ1	7,5	12,1	23,75	5	7,6	10
KJ2	5	11,7	17,5	3,7	6,4	10
KJ3	5	7,5	12,5	2,5	4,6	7,5
KJGR	2	2,9	3	2	2,7	3
VKM2	8	11,8	17,5	5	6,4	10
VKM3	10	13,92	20	5	8,5	12,5
VBM1	12	19,2	22,5	7,5	8,6	10
BRIC	12,5	18	27,5	7,5	10,6	16,5
S111	8,7	15,2	20	6,2	6,7	7,5
S112	17,5	18,3	22,5	10	15,5	22,5
SDV1	10	16,2	20	8,7	10	12,5
SDV2	12,5	18,2	22,5	10	14,1	17,5
SDV3	13	15,5	20	6,2	9,3	12,5
RU2	3,75	9,8	20	2,5	3,6	6,2
VNB1	15	22,5	28	5	9,4	12,2
SJV2	6,2	8,2	12,5	2,5	4,5	12,5
SD1	6,3	13,25	22,5	3,7	6,5	10

**Tabela 5.** Morfološke mikroskopske karakteristike izolata *M. laxa* na MEA.  
**Table 5.** Morphological microscopic characteristics of *M. laxa* isolates on MEA.

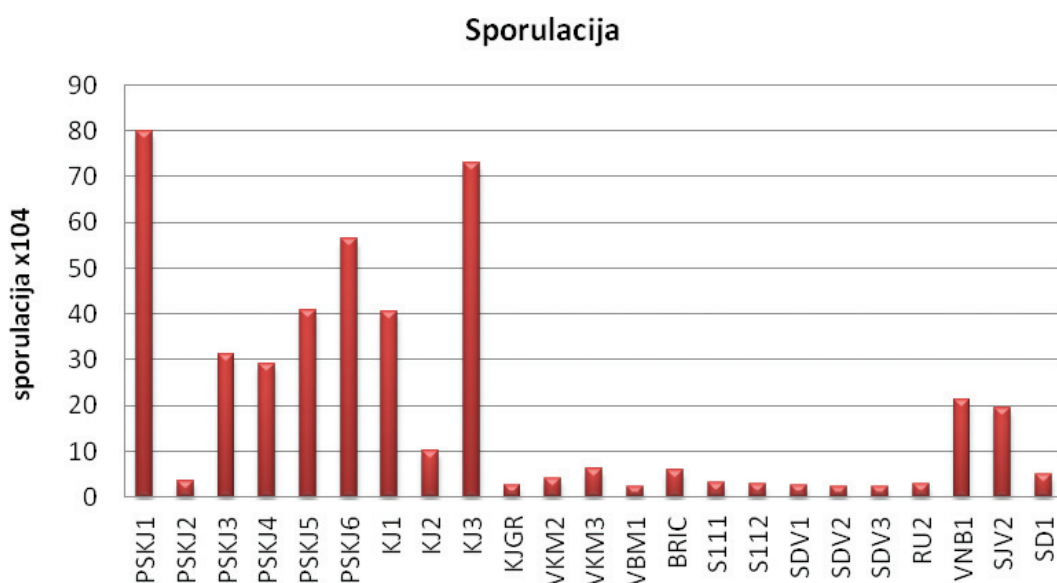
Šifra izolata	Dužina konidija (µm)			Širina konidija (µm)		
	min	prosek	max	min	prosek	max
PSKJ1	7,5	12,1	20	2,5	4,5	5
PSKJ2	7,5	14,8	22,5	5	6,6	15
PSKJ3	8,2	12,5	17,4	7,5	11,2	17,5
PSKJ4	8,7	15	22,5	5	7,1	8,7
PSKJ5	10	16,9	26,2	3,7	5,6	7,5
PSKJ6	10	16,6	22,5	3,7	5,7	12,5
KJ1	10	15,1	20	8,7	10,9	15
KJ2	4	5,3	7	1	1,3	2
KJ3	15	21,0	35	2,5	4,6	7,5
KJGR	15	21,1	25	3,7	4,9	7,5
VKM2	11,2	18,6	27,5	5	5,7	7,5
VKM3	8,75	16	17,5	5	6,1	7,5
VBM1	17,5	30,5	42	3,7	4,9	6,2
BRIC	9	13,8	18	2,5	3,4	5
S111	7,5	17,4	25	5	5,7	7,5
S112	15	32,5	37,5	5	7,5	12,5
SDV1	12,5	25,1	37,5	3,7	5,6	8,75
SDV2	16,2	25,4	42,5	5	6,2	7,5
SDV3	8,7	12,2	18,7	3,7	3,9	5
RU2	5	8,2	12,5	2,5	3,9	6,2
VNB1	13,7	25,4	37,5	3,7	6	8,7
SJV2	2,5	3,9	6,2	2,5	3,9	6,2
SD1	2,6	7,7	12,5	2,5	5,4	10





**Grafik 1.** Prosečan dnevni porast (mm) izolata *M. laxa* na KDA i MEA.

**Chart 1.** Average daily growth (mm) of *M. laxa* isolates on PDA and MEA.



**Grafik 2.** Sporulacija izolata *M. laxa* na KDA.

**Chart 2.** Sporulation of *M. laxa* isolates on PDA.

## DISKUSIJA

Trulež plodova koštičavih voćaka i palež cvetova i grana koje izazivaju vrste roda *Monilinia* spp. predstavlja najznačajnije oboljenje koštičavih voćaka u svetu. Najdestruktivnija vrsta ovog roda je *M. laxa*, a ozbiljne štete mogu da izazovu i *M. fructigena* i *M. fructicola* (Amiri et al., 2009). Kako se štete koje

mogu da izazovu, njihov značaj i karantinski status bitno razlikuju, veoma je važno njihovo razlikovanje i precizna identifikacija. U cilju lakše identifikacije patogena uporedno se proučavaju njihove morfološke i odgajivačke karakteristike. Razlog za to je što nijedna metoda pojedinačno ne zadovoljava sve kriterijume u potpunosti, zbog toga je najbolje koristiti i kombinovati najmanje dve nezavisne metode (Jones et al., 2004).

Proučavane makroskopske i mikroskopske morfološke osobine izolata *Monilinia* spp. ukazale su da ispitivani izolati pripadaju vrsti *M. laxa* uprkos variranju u osobinama. Na KDA podlozi svi izolati poseduju vazdušastu miceliju. Boja micelije varira od bele do tamno zelene i mrke. Izolati na MEA podlozi takođe formiraju vazdušastu miceliju, sa značajno manjim razlikama kada je u pitanju boja formiranih kolonija. Proučavajući morfološke osobine izolata *M. laxa* Hu et al. (2011) su došli do sličnih rezultata. De Cal and Melgarejo (1999) otkrili su značajne razlike u izgledu ivične zone među izolatima *M. laxa*, što je jedna od taksonomskih karakteristika. Rozetavost je osobina koje je prisutna kod svih ispitivanih izolata, odgajenih na KDA i MEA podlozi. Ovo potvrđuje i istraživanje koje su sproveli Hu et al. (2011), gde je utvrđeno da se izolati *M. laxa* razlikuju od ostalih vrsta roda *Monilinia* po pojavi zaobljenih ivica. Formiranje prstenova u kulturi je osobina koja varira od izolata do izolata, bez obzira na vrstu hranljive podloge.

Proučavanjem mikroskopskih osobina izolata gajenih na KDA, utvrđeno je da prosečna dužina konidija varira od 2,9 do 22,5  $\mu\text{m}$ , a da se širina konidija kreće u intervalu od 2,6 do 15,5  $\mu\text{m}$ . Prosečna dužina konidija kod izolata gajenih na MEA podlozi se kretala od 3,9  $\mu\text{m}$  do 32,5  $\mu\text{m}$ , a širina od 1,3 do 11,2  $\mu\text{m}$ . Nasrollanejad and Ghasemnezhad (2009) su takođe ustanovili varijabilnost u veličini konidija *M. laxa* u kulturi.

Ispitivanjem odgajivačkih karakteristika na KDA podlozi utvrđen je prosečan dnevni porast izolata, koji se kretao u intervalu od 3,3 do 6,9 mm. Na MEA podlozi uočen je prosečan dnevni porast nešto slabijeg intenziteta u odnosu na izolate koji su gajani na KDA podlozi, sa porastom od 0,9 do 6,0 mm. Variranja u porastu kolonija izolata *M. laxa* konstatovana su u istraživanjima koja su sproveli De Cal and Melgarejo (1999), pri čemu su detektovane veoma značajne razlike u intenzitetu porasta između izolata *M. laxa* koji vode poreklo sa različitim koštičavih voćnih vrsta. S obzirom da su morfološke i odgajivačke karakteristike gljiva *Monilinia* sp. varijabilne, to može uticati na njihovu adaptibilnost prema drugim biljkama domaćinima, kao i na ispoljavanje patogenosti (Munoz et al., 2008).

Pravovremena i pravilna detekcija i identifikacija predstavljaju preduslov za pronalaženje efikasnog načina suzbijanja *M. laxa*, patogena koji u proizvodnim područjima gajenja koštičavih voćaka u svetu i u našoj zemlji značajno utiče na kvalitet i ekonomsku vrednost voća, a dugoročno nepovoljno deluje na zdrastveno stanje i kondiciju zasada.

## ZAHVALNICA

Istraživanja su realizovana u okviru projekta TR31018 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## LITERATURA

- Amiri, A., Holb, I. J., Schnabel, G. (2009): A new selective medium for the recovery and enumeration of *Monilinia fructicola*, *M. fructigena*, and *M. laxa* from stone fruits. *Phytopathology*, 99: 1199-1208.
- De Cal, A., Melgarejo, P. (1999): Effects of long-wave UV light on *Monilinia* growth and identification of species. *Plant Disease*, 83: 62-65.
- Hohn, H., Siegfried, W. (1989): Aktuelles zum Pflanzenschutz im Obstbau. *Schweiz. Z. Obst- und Weinbau*, 125: 73-76.
- Honey, E. E. (1928): The monilioid species *Sclerotinia*. *Mycologia*, 20:127-157.
- Hong, C. X., Holtz, B. A., Morgan, D. P., Michailides, T. J. (1997): Significance of thinned fruit as a source of the

- secondary inoculum of *Monilinia fructicola* in California nectarine orchards. *Plant Disease*, 81: 519-524.
- Hu M-J, Cox KD, Schnabel G, Luo C-X (2011) *Monilinia* Species Causing Brown Rot of Peach in China. *PLoS ONE* 6(9): e24990. doi:10.1371/journal.pone.0024990.
- Ioos, R., Frey, P. (2000): Genomic variation within *Monilinia laxa*, *M. fructigena* and *M. fructicola*, and application to species identification by PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 106: 373-378.
- Kiraly, Z., Klement, Z., Solymosy, F., Voros, J. (1970): *Methods in Plant Pathology*. Ed. By Z. Kiraly, Akademiai Kiado, Budapest, pp. 237-477.
- Larena, I., Torres, R., De Cal, A., Linñan, M., Melgarejo, P., Domenichini, P., Bellini, A., Mandrin, J. F. (2005): Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia* spp.) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. *Biol Control*, 32: 305-310.
- Munoz, Z., Moret, A., Bech, J. (2008): Morphological and molecular characterization of *Monilinia* sp. Isolates and pathogenicity on apple. *Agrociencia*, 42: 119-128.
- Muntanola-Cvetković, M. (1987): *Opšta mikologija*, Niro Književne novine, Beograd.
- Nasrollanejad i Ghasemnezhad, (2009): Detection and Identification Causal Agent of Stone Fruit Brown Rot in Northern Iran. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3): 2939-2943.
- Ogawa, J. M., English, H. (1991): *Diseases of temperate zone tree fruit and nut crops*. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources Pub., 3345.
- Siegfried, W., Ruegg, J., Grieder, E. (1990): *Moniliajahr 1989*. Unerwartet starkes Auftreten auf Kern- und Steinobst. *Schweiz. Z. Obst- und Weinbau*, 126: 126-133.
- Trkulja, N., Aleksić, G., Starović, M., Dolovac, N., Ivanović, Ž., Savić, D., Gavrilović, V. (2010): Efikasnost preparata za suzbijanje *Monilinia laxa* u zasadu višnje tokom dvogodišnjih ispitivanja - 2008-2009. *Zaštita bilja*, 61: 37-48.
- van Leeuwen, G. C. M., van Kesteren, H. A. (1998): Delineation of the three brown rot fungi of fruit crops (*Monilinia* spp.) on the basis of quantitative characteristics. *Canadian Journal of Botany*, 76: 2042-2050.
- van Leeuwen GCM, Baayen RP, Holb IJ, Jeger MJ (2002) Distinction of the Asiatic brown rot fungus *Monilia polystroma* sp nov from *M. fructigena*. *Mycological Research*, 106: 444-451.
- Zbinden, W. (1986): Die Moniliakrankheit bei der Susskirsche, Beobachtungen aus der Praxis. *Schweiz. Z. Obst- und Weinbau*, 122: 247-248.

**(Priljeno: 03.09.2012.)**

**(Prihvaćeno: 22.10.2012.)**

## MORPHOLOGICAL AND CULTURAL CHARACTERISTICS OF *MONILINIA LAXA* ISOLATES FROM THE STONE FRUITS

ANJA MILOSAVLJEVIĆ, MILOŠ STEVANOVIĆ, TATJANA POPOVIĆ, LANA ĐUKANOVIĆ,  
SVETLANA ŽIVKOVIĆ, MILANA MITROVIĆ, NENAD TRKULJA

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
e-mail: trkulja\_nenad@yahoo.com

### SUMMARY

Morphological and cultural characteristics of *Monilinia laxa* isolates were studied on PDA and MEA media. The appearance of colonies (color, texture, rosettes, rosettes with black arcs), as well as conidial size were identified. Growth of mycelium was monitored on both media, while sporulation was followed on PDA medium. Isolates formed aeriform (puffy) mycelium, with significant variations in color on different mediums, but variations in colour are present within isolates grown on same medium. On MEA medium isolates are somewhat brighter than isolates grown on PDA medium. All isolates are more or less rosette, but not all of them form black arcs. Conidial size is also characteristic that is variable compared to isolates and medium. Mycelial growth is slightly lower on MEA medium.

**Key words:** *Monilinia laxa*, morphology, mycelium color, growth, sporulation

(Received: 03.09.2012.)

(Accepted: 22.10.2012.)

Zaštita bilja  
Vol. 63 (3), № 281, 159-174, 2012, Beograd  
Plant Protection  
Vol. 63 (3), № 281, 159-174, 2012, Belgrade

UDK: 635.21-265.132  
632.651.32  
Pregledni rad  
Review paper

## KARANTINSKE VRSTE NEMATODA KROMPIRA IZ RODA *GLOBODERA* I *MELOIDOGYNE*

JASMINA BAČIĆ

Poljoprivredna stručna služba Institut Tamiš, Pančevo  
e-mail: [jasmina.bacic@jasminabacic.rs](mailto:jasmina.bacic@jasminabacic.rs)

### REZIME

Posebnim nadzorom u usevu semenskog i merkantilnog krompira u okviru godišnjeg programa mera zaštite zdravlja bilja Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije obuhvaćene su četiri vrste karantinskih nematoda: dve vrste iz roda *Globodera* (*Globodera rostochiensis* i *G. pallida* - krompirove cistolike nematode) i dve vrste iz roda *Meloidogyne* (*Meloidogyne chitwoodi* i *M. fallax* - korenove galove nematode). U radu su izložena dosadašnja saznanja o krompirovim cistolikim nematodama u svetu sa posebnim osvrtom na aktuelna ispitivanja njihovog prisustva, metoda identifikacije i mogućnosti suzbijanja u našoj zemlji. Prikazana su i dosadašnja istraživanja karantinskih korenovih galovih nematoda u zemljama u kojima su one prisutne, a koje se odnose na biologiju, metode detekcije i kontrolu ovih vrsta.

**Ključne reči:** biljni karantin, krompir, *Globodera rostochiensis*, *G. pallida*, *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax*

### UVOD

Krompir (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) parazitiraju brojni štetni organizmi među koje se ubrajaju i karantinske nematode zbog čega se u većem

broju zemalja u svetu, uključujući i Srbiju primenjuju administrativne mere suzbijanja ovih vrsta. Ove mere podrazumevaju redovnu godišnju službenu kontrolu uvoznih pošiljaka semenskog krompira i domaće proizvodnje semena i merkantilnog krompira. Ispiti-

vanje zemljišta poreklom sa parcela za proizvodnju semenskog i merkantilnog krompira kao i vizuelni pregled krtola u polju i u skladištima najpouzdaniji su načini da se utvrdi prisustvo ovih vrsta. Godišnjim programom mera zaštite zdravlja bilja Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije (Službeni glasnik RS, 41/2009), predviđen je poseban nadzor u usevu semenskog i merkantilnog krompira za četiri vrste karantinskih nematoda: dve vrste iz roda *Globodera* (*Globodera rostochiensis* Wollenweber i *Globodera pallida* Stone-krompirove cistolike nematode) i dve vrste iz roda *Meloidogyne* (*Meloidogyne chitwoodi* Golden, O'Banon, Santo & Finley i *Meloidogyne fallax* Karssen-korenove galove nematode). Prve dve vrste *Globodera* su široko rasprostranjene i u protekloj deceniji su po prvi put konstatovane u Srbiji. Karantinske vrste iz roda *Meloidogyne* su prisutne na par kontinenata i još uvek nisu registrovane u našoj zemlji. Predstavljaju potencijalnu opasnost i za Srbiju zbog sve većeg uvoza semenskog krompira iz dela Evrope gde su konstatovane. Ključni problemi koji se odnose na navedene karantinske vrste su postojanje mešovityh populacija i teško diferenciranje ovih sestrinskih vrsta. Zato je pouzdana identifikacija u vidu primene kombinacije morfoloških i molekularnih metoda od velikog značaja. Problemi koji se odnose na suzbijanje ovih vrsta vezani su prvenstveno za njihovo lako prenošenje semenom, dugo održanje infektivnosti u zemljištu, postojanje više patotipova ili rasa, visoki stepen reprodukcije i široki spektar biljaka domaćina.

U radu su izložena dosadašnja saznanja o krompirovim cistolikim nematodama u svetu sa posebnim osvrtom na aktuelna ispitivanja njihovog prisustva, metoda identifikacije i mogućnosti suzbijanja u našoj zemlji. Prikazana su i dosadašnja istraživanja *M. chitwoodi* i *M. fallax* u zemljama u kojima su one prisutne, a koje se odnose na biologiju, metode detekcije i suzbijanje ovih karantinskih vrsta.

## KARANTINSKE VRSTE NEMATODA KROMPIRA IZ RODA *GLOBODERA*

### Fitosanitarna kategorizacija *G. rostochiensis* i *G. pallida* (OEPP/EPPO, 2009a)

**Taksonomski položaj:** Nematoda, Tylenchida,  
Heteroderidae

*Globodera rostochiensis*

(Wollenweber, 1923) Skarbilovich, 1959

**Sinonimi:** *Heterodera rostochiensis* Wollenweber, 1923, *Heterodera schachtii solani*, Zimmerman, 1927; *Heterodera schachtii rostochiensis* (Wollenweber) Kemner, 1929

OEPP/EPPO A2 Lista br. 125, EU Aneks oznaka I/A2

*Globodera pallida* (Stone, 1973)

**Sinonimi:** *Heterodera pallida* Stone, 1973

OEPP/EPPO A2 Lista br.124, EU Aneks oznaka I/A2

Krompirove cistolike nematode (KCN), zlatnožuta nematoda (*Globodera rostochiensis*) i bleđožuta nematoda (*Globodera pallida*) ubrajaju se u najopasnije štetočine krompira širom sveta. Obe vrste vode poreklo iz postojbine krompira, sa visokih Anda u Južnoj Americi, odakle su sa svojim domaćinom prenete u Evropu krajem 19. veka, a potom i na ostale kontinente. Prvi podaci o cistolikim nematodama na krompiru datiraju iz 1881. godine kad ih Julius Kühn pominje kao podrasu vrste *Heterodera schachtii* Schmidt. Wollenweber je prvi uočio razlike između repine nematode i krompirove cistolike nematode i 1923. godine opisao novu vrstu *Heterodera rostochiensis*. Pedeset godina kasnije opisana je i druga, veoma bliska vrsta *Heterodera pallida* Stone (Stone, 1972). Obe vrste su 1975. godine priključene rodu *Globodera* zbog značajnih morfoloških i bioloških razlika u odnosu na rod *Heterodera* (Turner and Evans, 1998). Razlike između morfometrijskih karaktera *G. rostochiensis* i *G.*



*pallida* i ostalih vrsta unutar roda *Globodera* su u dužini stileta i obliku bubrešića stileta J2. Kad je u pitanju vulvalno-analni region ciste, razlike se ispoljavaju u broju i strukturi kutikularnih grebena, rastojanju između anusa i najbliže ivice vulvalnog basena i prečniku vulvalnog basena na osnovu kojih se izračunava Granekov indeks.

### Pregled dosadašnjih istraživanja KCN u svetu

Dosadašnja istraživanja KCN u svetu najviše se odnose na njihovu distribuciju, biologiju i mere suzbijanja. Detaljna proučavanja ovih vrsta kompilacijski su sadržana u monografiji Marks i Brodie (1998) koji navode da je u periodu od 1990. do sredine 1997. godine na temu KCN publikovano 155 radova u svetu, od kojih čak 109 u zapadnoj Evropi. Proučavanja obuhvataju istraživanje distribucije na svim kontinentima (Franco et al., 1998; Van Riel and Mulder, 1998; Marks and Rojancovski, 1998; Brodie, 1998; Zaheer, 1998; Kleynhans, 1998; Marshall, 1998), njihove fiziologije (Perry, 1998), patotipova i njihove virulencije (Fleming and Powers, 1998a). Pored toga, razrađeni su efikasni protokoli za uzimanje uzoraka zemljišta (Haydock and Perry, 1998), laboratorijske metode njihovog izdvajanja (Turner, 1998) kao i biohemijske i molekularne metode u identifikaciji ovih vrsta (Fleming and Powers, 1998b). Posebna pažnja posvećena je i proučavanju mehanizama šteta i tolerancije kod krompira (Trudgill et al., 1998), merama suzbijanja i regulatornih strategija kontrole (Whitehead and Turner, 1998) kao i primeni integralnih mera suzbijanja (Phillips and Trudgill, 1998). Jedan deo istraživanja obuhvatio je i proučavanje rezistentnosti KCN (Dale and De Scurrah, 1998), njenoj oceni i trajanju (Fleming, 1998).

### Aktuelni problemi i mogućnosti suzbijanja KCN u svetu

Prema poslednjim zvaničnim podacima, KCN su zabeležene u 65 zemalja gde je *G. rostochiensis*

prisutna u svim zemljama, a *G. pallida* u 41 od njih (Turner and Evans, 1998). Međutim, sumirajući podatke mesečnog OEPP/EPPO (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes/European and Mediterranean Plant Protection Organization) Reporting Service za period od 1998. do 2009. godine o prvim nalazima KCN, broj zemalja u kojima su otkrivene je značajno veći jer je poslednjih desetak godina došlo do otkrića njihovog prisustva u više zemalja, posebno u istočnoj i južnoj Evropi (OEPP/EPPO Reporting Service, 1998, 2000, 2001a, 2001b, 2002, 2006a, 2006b). Prema literaturnim podacima, do otkrića prisustva KCN u bivšim jugoslovenskim republikama Sloveniji i Hrvatskoj dolazi skoro u istom vremenskom periodu kao i u Srbiji (Urek and Lapajne, 2001; Oštrec et al., 2004). Ostojić i sar. (2010) daju podatke za teritoriju BIH o prvom nalazu *G. rostochiensis* na lokalitetu Zapadnohercegovačke i Hercegovačko-neretvanske županije u usevu merkantilnog krompira tokom 2009. godine.

Obe vrste su prisutne u umerenim, ali i tropskim i subtropskim regionima u svetu. *Globodera rostochiensis* ima veći areal rasprostranjenja od svoje sestrinske vrste *G. pallida*, koja je agresivnija i sa kojom se može javiti u mešovitim populacijama. Prema rezultatima istraživanja u Holandiji, *G. pallida* zastupljena je manje od 20%, a u Norveškoj manje od 5% ispitivane površine (Turner and Evans, 1998). Međutim, u većini evropskih zemalja konstatovane su mešovite populacije kao što su pokazala istraživanja u Portugalu gde su one registrovane, ali sa dominantnom vrstom *G. rostochiensis* (De Santos and Fernandes, 1988). Nasuprot tome, prema istraživanjima u Engleskoj i Velsu, *G. pallida* je bila dominantna sa zastupljenošću od 67%, *G. rostochiensis* 8%, a 25% su bile mešovite populacije (Minnis et al., 2002).

Zavisno od klimatskih uslova, obe vrste ostvaruju jednu ili dve generacije godišnje (Greco et al., 1988). Na osnovu internacionalnih šema za

identifikaciju patotipova KCN (Kort et al., 1977), vrsta *G. pallida* ima tri patotipa (Pa1, Pa2 i Pa3), a *G. rostochiensis* pet (Ro1, Ro2, Ro3, Ro4 i Ro5) odnosno tri patotipa (Ro1/Ro4, Ro2/Ro3 i Ro5) prema Nijboer i Parlevliet (1990). U Hrvatskoj je određen patotip za 280 populacija (Oštrec et al., 2004) gde je dominantan Ro1, ali su utvrđeni i patotipovi Ro2, Ro3, Pa2 i Pa3. Prema istraživanjima prisutnosti patotipa u Škotskoj, Ro1 patotip je takođe dominantan. U većini zemalja zapadne Evrope registrovan je Ro1, dok su patotip Ro2 i Ro5 konstatovani u Nemačkoj, Holandiji, Norveškoj i Švedskoj (Pickup and Hockland, 2002).

Biljke krompira mogu na više načina da reaguju na napad KCN. Tokom vegetacije treba obratiti pažnju na ogoljena mesta u usevu i biljke zaostale u porastu, zakržljale sa malo izdanaka i sitnijem lišćem. Takve biljke ako se počupaju u vreme cvetanja krompira, mogu imati na korenovom sistemu beličaste ili zlatnožute tvorevine nalik glavama čioda vidljivim golim okom, veličine oko 0.5 mm koje predstavljaju ženke. To se odražava na veličinu krtola i na prinos (OEPP/EPPO, 2009). Gubici u prinosu na području Evrope prouzrokovani KCN procenjuju se na oko 9% proizvodnje krompira. U drugim regionima sveta gde se ne primenjuju administrativne mere suzbijanja mogu se javiti znatno veći gubici (Turner and Rowe, 2006). Sprečavanje gubitaka u prinosu krompira zavisi od gustine populacije, tipa i pH zemljišta i pravilne primene odgovarajućih mera suzbijanja. Štete su sprečene ako je populacija nematoda u zemljištu smanjena na prag štetnosti koji za osetljive sorte iznosi 2 jaja u 1 ml zemlje. Od mera suzbijanja koje su se pokazale kao uspešne protiv ovih štetočina ubrajaju se plodored, gajenje otpornih sorti, biljaka klopki, sterilizacija zemljišta, primena nematocida i integralnih mera. Od navedenih mera, najmanje se preporučuje primena nematocida od kojih su fumiganti najefektivniji, ali su sa ekonomske strane skupi i za životnu sredinu toksikološki nebezbedni

(Whitehead and Turner, 1998). U okviru integralnih mera zaštite krompira od ovih štetočina, najviše pažnje se posvećuje sprovođenju zakonskih regulativa koje se baziraju na državnoj kontroli proizvodnje i prometa semenskog i merkantilnog krompira. Zbog toga se *G. rostochiensis* i *G. pallida* izdvajaju u najčešće karantinski regulisane vrste nematoda (Lehman, 2002).

*Globodera rostochiensis* i *G. pallida* se razlikuju u mnogim aspektima biologije, a najznačajnije razlike se odnose na genetičke interakcije sa biljkama domaćinima iz roda *Solanum*. Taj interspecijski diverzitet primećen je kod reprodukcije populacija KCN na *Solanum* klonovima koji sadrže rezistentne gene kao što su H1 sa *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* Juz. and Buk. i H2 sa *Solanum multidissectum* Hawkes. Ovi rezistentni geni, poreklom iz kolekcije divljih ili gajenih krompira sa Anda prepoznati su kao potencijalno sredstvo za suzbijanje ovih štetočina. Selekcionari, u pokušaju da proizvedu otporne klonove, glavne rezistentne gene našli su i u drugim vrstama krompira kao što su *Solanum kurtzianum* Bitter and Wittm., *S. spegazzinii* Bitter i *S. vernei* Bitter and Wittm. (Fleming and Powers, 1998a).

Određivanje patotipa presudno je za preporuku adekvatnog sortimenta otpornih sorti krompira za područja u kojima su registrovane KCN radi njihovog suzbijanja i iskorenjivanja. U svetu se već duži niz godina gaje otporne sorte krompira koje su se pokazale uspešne u redukciji brojnosti nematoda. Prema podacima iz 1995. godine, postoji 135 sorti otpornih na *G. rostochiensis* i 22 na *G. pallida* (Whitehead and Turner, 1998). Isti autori navode da otporne sorte kad je u pitanju patotip Ro1 mogu da smanje populaciju nematoda i do 80% godišnje, a u slučaju kontinuiranog gajenja 3-4 godine i do 99%. Međutim, korišćenjem sorti otpornih na *G. rostochiensis* i nedovoljan broj sorti otpornih na *G. pallida* doprineo je da upravo zbog toga vrsta *G. pallida* postane dominantna vrsta u Engleskoj i Velsu (Minnis et al., 2002).

### Pregled dosadašnjih istraživanja KCN u Srbiji

Istraživanja prisustva KCN započeta su u bivšoj Jugoslaviji 60-ih godina prošlog veka. Klindić (1965) na parceli voćnog rasadnika u Fojnici konstatuje po prvi put prisustvo cista *Heterodera rostochiensis* na osnovu čega je ona priključena listi zemalja EPPO/OEPP regiona gde su KCN registrovane. Kasnijim opisom vrste *Heterodera achilleae* (Golden and Klindić, 1972) ovaj nalaz je demantovan. Trideset godina kasnije, istraživanja prisustva ovih vrsta na nekoliko lokaliteta u Vojvodini i u zapadnoj Srbiji bila su bez pozitivnih nalaza (Krnjaić and Krnjaić, 1991). Krajem devedesetih godina prošlog veka započeta je detaljna inventarizacija KCN u Srbiji u vidu redovne godišnje službene kontrole parcela predviđenih za proizvodnju semenskog krompira. Od 2009. godine pristupilo se i ispitivanju njihovog prisustva i u usevu merkantilnog krompira u okviru godišnjeg programa mera zaštite zdravlja bilja. Kao rezultat ovih kontinuiranih ispitivanja usledili su prvi nalazi KCN u našoj zemlji. U periodu od 2000. do 2012. godine, više domaćih autora paralelno je radilo na inventarizaciji, identifikaciji, istraživanju životnog ciklusa, određivanju patotipova kao i mogućnostima suzbijanja ovih vrsta u Srbiji. Objavljeno i saopšteno je preko tridesetak radova u domaćim i međunarodnim časopisima i skupovima.

#### Aktuelni problemi i mogućnosti suzbijanja KCN u Srbiji

Prvi nalazi cista *G. rostochiensis* bili su krajem 1999. godine na teritoriji Mačvanskog i Zlatiborskog okruga u uzorcima zemljišta sakupljenim na planinama Jagodnji i Tari (Krnjaić et al., 2000, 2002; Radivojević et al., 2001). Tokom redovne desetogodišnje kontrole parcela namenjenih proizvodnji semenskog krompira, vrsta *G. rostochiensis* konstatovana je u 3 okruga: Mačvanskom (gde je utvrđen najveći broj zaraženih parcela), Zlatiborskog i

Moravičkom (Bačić, 2010a). Druga vrsta KCN, *Globodera pallida* prvi put je utvrđena 2005. godine u Zlatiborskom okrugu na lokalitetu Javor, na parceli Kladnica u usevu semenskog krompira (Radivojević et al., 2006). Prema pest statusu Ministarstva poljoprivrede Republike Srbije, ova vrsta se još uvek nalazi na A1 listi karantinskih organizama za koje nije poznato da su prisutni na teritoriji naše zemlje, s obzirom da je do sada zvanično konstatovana samo na ovom lokalitetu, a na kome se od 2005. sprovede mere njenog iskorenjivanja (Sl.glasnik RS, 7/2010).

Tokom 2008. sprovedena su istraživanja prisustva KCN poreklom sa parcela pod merkantilnim krompirom na teritoriji planine Jagodnje u Mačvanskom okrugu, sa poteza ranije utvrđenih zaraženih parcela. Registrovano je 5 parcela zaraženim sa *G. rostochiensis* sa gustom populacije od 800 do preko 7000 jaja i jedinki drugog juvenilnog stadijuma (J2) u 100 ml zemljišta (Bačić, 2008b). U okviru državnog nadzora useva merkantilnog krompira na teritoriji Srbije, 2009. godine ispitano je prisustvo KCN u proglašenim karantinskim područjima na teritoriji Mačvanskog, Zlatiborskog i Moravičkog okruga. Laboratorijskom analizom 120 uzoraka zemljišta, u 20,83 % uzoraka utvrđeno je prisustvo vitalnih cista samo vrste *G. rostochiensis*. Ukupno je registrovano 17 zaraženih parcela na ukupnoj površini od 8,70 ha. U Mačvanskom okrugu detektovano je 13, a u Moravičkom 4 zaražene parcele sa gustom populacije od 80 do 6462 jaja i J2 u 100 ml zemlje (Bačić, 2010b). U okviru istraživanja Radivojević i Labudović (2010) u usevu merkantilnog krompira na teritoriji Zlatiborskog okruga zabeležen je i nalaz *G. rostochiensis* na Javoru, na potesu Ograđenik, s obzirom da je na ovom lokalitetu do tada bila registrovana samo vrsta *G. pallida*.

Identifikaciju KCN vrsta u Srbiji izvršilo je paralelno više autora analizom morfoloških diferencijalnih karakteristika vrsta i molekularnim metodama. Analizirane su 2 populacije, poreklom sa planina Jagodnja i Tare konvencijalnim PCR met-

odom kojim je potvrđena morfološka identifikacija *G. rostochiensis* (Radivojević et al., 2001). Izvršena je i identifikacija 7 populacija cista KCN iz Srbije real-time PCR metodom (Kladnica KP6-Kušići, Bašta KP1769, Brdo KP18806, Brdo KP 413, Milatovići KP 1646/2, Ponikve-Panića brdo i Vukovo Voće-Jagodnja). Šest od sedam testiranih uzoraka bili su pozitivni na *G. rostochiensis*. Samo jedna populacija je identifikovana kao *G. pallida* (Kladnica KP6-Kušići). Ovim metodom je potvrđena morfološka identifikacija ovih cista, a mešane populacije nisu detektovane (Bačić, 2008a; Bačić et al., 2008).

Populacije poreklom sa lokaliteta Milatovići i Kladnica su ponovo identifikovane nekoliko godina kasnije morfološkim i molekularnim metodama kao *G. rostochiensis* i *G. pallida*, s ciljem izvođenja identifikacije KCN molekularnim metodama po prvi put u Srbiji (Oro et al., 2010a). U ove analize bile su uključene i populacije, poreklom sa lokaliteta Šanac i Gojna Gora koje su identifikovane kao *G. pallida*. Kod populacije poreklom sa lokaliteta Gojna Gora dobijene su ekstremne vrednosti Granekovog indeksa, broja kutikularnih grebena i dužine stileta ali je srednja vrednost dužine stileta ove populacije bila bliža vrednostima koje su karakteristične za vrstu *G. rostochiensis*. Međutim, u identifikaciji ove populacije uzete su u obzir srednje vrednosti Granekovog indeksa od 2.09 i rezultati molekularne analize na osnovu kojih je zaključeno da je na lokalitetu Gojna Gora prisutna vrsta *G. pallida*. Ovaj nalaz se razlikuje od dobijenih rezultata morfološke analize Krnjaić i sar. (2005, 2006) i Bačić (2010b) za ovaj lokalitet na kome je u usevu semenskog i merkantilnog krompira identifikovana vrsta *G. rostochiensis*.

Tokom poslednjih deset godina, ispitivane su biološke karakteristike odnosno životni ciklus obe vrste KCN u Srbiji. Populacija *G. pallida*, poreklom sa lokaliteta Kladnica praćena je u eksperimentalnim uslovima na temperaturi 18-25 °C. U ovim uslovima prve mlade ženke ove vrste su konstatovane sedam nedelja po invaziji larvi drugog stupnja, a nedelju

dana kasnije i prvi mužjaci (Oro, 2008a, 2008b). Praćeno je i vreme formiranja različitih stadijuma populacije *G. rostochiensis* poreklom sa zaražene parcele sa planine Jagodnja u eksperimentalnim uslovima na području Beograda. U uslovima umereno kontinentalne klime, zlatna cistolika nematoda ostvaruje jednu generaciju godišnje (Bačić et al., 2011).

Istraživanja otpornosti nekih sorti krompira u laboratorijskim uslovima na *G. rostochiensis* poreklom sa lokaliteta Ponikve pokazala su da je ispitivana sorta agria rezistentna što upućuje da je na ovom području verovatno prisutan patotip Ro1 (Radivojević et al., 2007). Rezultati određivanja patotipa dve populacije cista *G. rostochiensis* iz Mačvanskog (Brdo 413 i Vukovo Voće) i jedne iz Moravičkog okruga (Milatovići 1676/2) ukazuju da je i na ovim lokalitetima zastupljen isti patotip Ro1 (Bačić, 2008a). Kad je u pitanju vrsta *G. pallida*, poreklom sa planine Javor određen je patotip Pa3 (Radivojević and Stančić, 2008a).

Rezultati ispitivanja pogodnosti dve domaće sorte krompira (jelica i dragačevka) i jedne autohtone sorte sa Vlasine (goljak) kao biljaka domaćina *G. rostochiensis* patotipa Ro1 u odnosu na kontrolnu osetljivu sortu desirée potvrdili su da se na testiranim domaćim sortama ova vrsta reprodukuje (Bačić, 2008a).

Pored domaćih sorti krompira, ispitivan je i status sedam sorti paradajza koje su komercijalno prisutne u domaćoj proizvodnji: NS jabučar, pokep VF, narvik, saint pierre, marmande, marglobe i mobil kao domaćin Ro1 *G. rostochiensis*. Kao veoma slabi domaćini pokazale su sorte NS jabučar i pokep VF dok kod preostalih pet navedenih sorti nije utvrđeno prisustvo nove generacije nematoda što ukazuje na otpornost ovih sorti na ovaj patotip (Radivojević and Stančić, 2008b).

U ispitivanju otpornosti, odnosno osetljivosti 41 sorte krompira na patotip Ro1 *G. rostochiensis* na parceli Brdo na planini Jagodnji u 2008. godini,

sorte kondor, kennebec, cleopatra i desirée ispoljile su visoki stepen osetljivosti. Sorte deklarirane kao otporne na patotip Ro1 kao što su agria i tresor (Ro1, Ro4) pokazale su visoki stepen otpornosti na ovaj patotip (Krnjajić and Poštić, 2009). Tokom 2002. i 2003. godine na istoj zaraženoj parceli Brdo praćen je uticaj sorti semenskog krompira zavisno od osetljivosti odnosno otpornosti na populaciju *G. rostochiensis*. Osetljive sorte desirée, innovator, kennebec, cleopatra i kondor korišćene su u ogledu kao sorte koje se najčešće gaje na ovom području. Otporne sorte agria, frisia, latona, saturna i tresor odabrane su na osnovu rezultata određivanja patotipa populacije *G. rostochiensis* poreklom sa ove parcele. Ova istraživanja potvrdila su da se smanjenje brojnosti nematoda i povećanje prinosa može postići gajenjem otpornih ex-andigena sorti u slučaju zastupljenosti patotipa Ro 1. To se odrazilo i na prinos koji je u drugoj godini bio veći nego u prvoj godini istraživanja. Najmanji prinos procenjen je kod osetljivih sorti kennebec (8,5 t/ha) i cleopatra (16,9 t/ha), a najveći kod otpornih sorti agria (25,7 t/ha) i frisia (29,1 t/ha). Ovi podaci mogli bi praktično da posluže proizvođačima sa zaraženog područja u Mačvanskom okrugu prilikom izbora sorti krompira za gajenje u cilju iskorenjavanja karantinske nematode *G. rostochiensis*. (Bačić, 2010c).

Ispitivano je i gajenje biljaka krompira kao biljaka klopki uključujući osetljive i otporne sorte. Konstatovano je da ove biljke deluju kao provokator ubrzane aktivacije dormantnih invazivnih larvi KCN koje brzo izumiru u odsustvu domaćina. Čim invazivne larve kolonizuju korenov sistem, uklanjaju se biljke klopke sa zaražene parcele, čime se ove nematode direktno suzbijaju (Radivojević, 2009).

U okviru mogućnosti biološkog suzbijanja u Srbiji, ispitivane su antagonističke interakcije rizobakterija i cistolikih nematoda. Rezultati oglada *in vitro* ukazuju na potencijalnu mogućnost korišćenja rizobakterija u biološkoj kontroli KCN. Zabeleženo je smanjenje piljenja *G. pallida* za dva do tri puta u

periodu od 10 dana kao i sporije piljenje *G. pallida* od *G. rostochiensis*. U sličnom ogledu, zapaženo je redukovano piljenje J2 *G. rostochiensis* u svim bakterijskim suspenzijama u odnosu na kontrolu. Najveći inhibitorni efekat je ispoljio *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) Jordan i *Rhizobium leguminosarum* Frank dok je najmanji efekat pokazao *R. phaseoli* Dangeard (Oro et al., 2009a, 2009b). U okviru antagonista cista KCN, ispitivano je i prisustvo saprofitnih gljiva na cistama *G. rostochiensis* i *G. pallida* kao i njihov taksonomski diverzitet na nekim populacijama iz Srbije. Na cistama, poreklom sa lokaliteta Kladnica, Šanac, Gojna Gora i Milatovići konstatovane su vrste *Geotrichum candidum* Link, *Aspergillus fumigatus* Fresenius, *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Oxysporus latemarginatus* (Durieu and Mont) Donk i *Botrytis cinerea* (De Bary) Whetzel (Oro et al., 2010b, 2012).

Zakonska regulativa za uvoz-izvoz i unutrašnju kontrolu proizvodnje semenskog krompira redovno se primenjuje u Srbiji poslednjih godina i u saglasnosti je sa protokolima Evropske unije za sprečavanje i suzbijanje KCN (Directive 69/465/EEC, Directive 2007/33/EC). Tokom 2002. doneta je naredba o preduzimanju mera radi sprečavanja širenja, suzbijanja i iskorenjavanja *G. rostochiensis* u kojoj su proglašena karantinska područja na planinama Tari i Jagodnji (Sl. List SRJ, 39/2002). Ova naredba je 2005. godine zamenjena naredbom o preduzimanju mera radi sprečavanja širenja i iskorenjavanja krompirovih cistolikih nematoda (Sl. Glasnik RS, 74/2005) koja je još uvek aktuelna. Ovom naredbom je predviđeno da se na zaraženoj parceli od strane nadležnog fitosanitarnog inspektora zabrani proizvodnja osetljivih useva (krompir, paradajz, patlidžan), zatim proizvodnja sadnog materijala i semena čija tehnologija proizvodnje uključuje iznošenja i raznošenje zemljišta sa zaražene zemlje kao i promet kromira i raznošenje zemljišta sa zaražene parcele. Pored ovoga, preporučuje se provera prisustva KCN na zaraženoj parceli laboratorijskom



analizom u roku od pet godina. Program karantinskog nadzora i iskorenjivanja KCN sprovodi se od 2005. na području Mačvanskog, Moravičkog i Zlatiborskog okruga. Međutim, osnovna sistemski mera eradikacije KCN u vidu prestanka gajenja krompira na zaraženoj površini nije se pokazala efikasna zbog postojanja samoniklog krompira na parcelama zaraženim *G. pallida* (Javor) i *G. rostochiensis* (Ponikve) zbog čega se preporučuje njegovo intenzivno uklanjanje (Radivojević, 2008).

### KARANTINSKE NEMATODE KROMPIRA IZ RODA *MELOIDOGYNE*

#### Fitosanitarna kategorizacija *M. chitwoodi* i *M. fallax* (OEPP/EPPO, 2009b)

**Taksonomski položaj:** Nematoda; Tylenchida,  
Meloidogynidae

*Meloidogyne chitwoodi* Golden, O'Banon,  
Santo & Finley 1980

EPPO A2 lista br. 227, EU Aneks oznaka I/A2

*Meloidogyne fallax* Karssen 1996

EPPO A2 lista br. 295, EU Aneks oznaka I/A2

Vrste *Meloidogyne chitwoodi* i *M. fallax* su endoparaziti koje izazivaju gale na podzemnim biljnim delovima. Pripadaju rodu *Meloidogyne*, ekonomski vrlo značajnom rodu obligatnih biljnih patogena od kojih se desetak vrsta ubrajaju u ozbiljne štetočine u poljoprivredi. *Meloidogyne chitwoodi* je opisana kao Kolumbijska korenova galova nematoda 1980. godine. Vodi poreklo iz severozapadnog regiona Pacifika, u blizini reke Kolumbija u SAD. Njena sestrinska vrsta *Meloidogyne fallax* opisana je kao lažna Kolumbijska korenova nematoda. Otkrivena je 1992. u Holandiji u okviru eksperimenta određivanja biljaka domaćina *M. chitwoodi* u okviru kojeg se *Zea mays* L. nije pokazao kao dobar domaćin. Od 1998. godine, *M. chitwoodi* i *M. fallax*

uključene su u evropsku listu karantinskih organizama da bi se sprečilo njihovo dalje širenje u Evropi (Karssen, 2002).

### Pregled dosadašnjih istraživanja

#### *M. chitwoodi* i *M. fallax*

Dosadašnja istraživanja ovih vrsta odnose na njihovu identifikaciju (Karssen, 2002), biologiju (Pinkerton et al., 1991; Wesemael, 2007), određivanje rasa (Santo and Pinkerton, 1985; van der Beek and Karssen, 1997) i mere suzbijanja (Griffin, 1989; Santo and Wilson, 1990; Mojtahedi et al., 1993; Ingham et al., 2000; Hafez and Sundararaj, 2009).

### Aktuelni problemi i mogućnosti suzbijanja

#### *M. chitwoodi* i *M. fallax* u svetu

*Meloidogyne chitwoodi* je prisutna u SAD, Meksiku, južnoj Africi, Novom Zelandu i Australiji. U Evropi je konstatovana u Holandiji, Belgiji, Nemačkoj, Francuskoj i Turskoj (OEPP/EPPO, 2009b; OEPP/EPPO Reporting Service, 2009, 2011a, 2011b). Pretpostavlja se da se ova vrsta pojavila još pre II svetskog rata i da ima znatno širu distribuciju u Evropi. Kao pogodne biljke domaćini u polju izdvajaju se vrste *Solanum tuberosum* i *Lycopersicon esculentum* L.. U Evropi su opisane rase 1 i 2 na osnovu određivanja biljaka domaćina. Od drugih povrtarskih kultura kao biljke domaćini ove vrste u Holandiji su konstatovani *Daucus carota* L., *Pisum sativum* L. i *Phaseolus vulgaris* L. Na osnovu procene analize rizika karantinskih organizama (PRA-pest risk analysis) za teritoriju Finske, poređenjem vrednosti temperatura vazduha sa onim u regionima Evrope gde je *M. chitwoodi* prisutna, zaključeno je da bi ova vrsta mogla da ima 2 generacije u južnom delu ove zemlje. Pored toga, smatra se da su zahtevi ove vrste vezani za temperaturu zemljišta slični onim koje ima *G. rostochiensis*. Pretpostavlja se da bi zemlje u južnoj delu EPPO regiona, u kome



se nalazi i Srbija mogle da imaju klimatske uslove pogodne za razvoj 4 generacije ove vrste godišnje (Tilikkala et al., 1995).

Njena sestrinska vrsta *Meloidogyne fallax* registrovana je u južnom delu Holandije, Belgiji, Nemačkoj i Francuskoj. Kao dobre biljke domaćini ove vrste u polju, pokazali su se krompir, mrkva i paradajz, ali ne i pasulj. Za razliku od *M. chitwoodi*, ova vrsta nije registrovana van Evrope, a rase još uvek nisu opisane (Karssen, 2002).

Malo je podataka o direktnom uticaju ovih vrsta na smanjenje prinosa krompira (Griffin, 1985). Prouzrokuju štete na površini krtola u vidu tumoroznih izraslina u vidu bubuljica (gala) koje usled neugledne kore smanjuju prodajnu vrednost krompira. Simptomi koje izazivaju na krtolama se razlikuju od onih koje prouzrokuju druge vrste *Meloidogyne*. Gale izazvane od strane *M. hapla* Chitwood nisu vidljive, dok vrsta *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood prouzrokuje krupnije gale. Kada je više od 10 % krtola sa tim nedostacima, takav krompir obično nema prodajnu vrednost. Spoljni simptomi na krtolama su vidljivi u slučaju visoke brojnosti. Skladištenjem krtola metodom inkubacije mogu se posle izvesnog vremena u slučaju slabe infestacije dobiti vidljivi simptomi na kori (OEPP/EPPO, 2006). Kod nekih sorti krompira simptomi na kori nisu vidljivi, već se ispoljavaju ispod kore u unutrašnjem tkivu koje je braonkasto i nekrotično.

Ove sestrinske vrste imaju širok spektar domaćina. Parazitiraju mono i dikotiledonske biljke domaćine. Često se javljaju u mešovitim populacijama i morfološki ih je teško razlikovati. Zbog varijacije morfoloških karakteristika i mešovite populacije, identifikacija *M. chitwoodi* i *M. fallax* samo na osnovu analize morfoloških karakteristika je nepouzdana. Razlike između *M. chitwoodi* i *M. fallax* prevashodno se odnose na morfološke karakteristike ženki, mužjaka i J2. Najveće razlike su u dužini stileta kod ženki i mužjaka i obliku bazalnih

bubrešćica stileta. Jedinke J2 se razlikuju po srednjoj dužini tela, repa i hijalinskog dela završetka repa. Međutim, kompletna pouzdana identifikacija ovih vrsta se može izvršiti na osnovu kombinacije morfološke identifikacije, elektroforeze izozomima i molekularne analize (OEPP/EPPO, 2009b).

Hemijske mere suzbijanja koje se koriste protiv drugih korenovih galovih vrsta nematoda su se pokazale manje efektivne protiv *M. chitwoodi*. Tretiranjem aldikarbom, dihlorpropenom, etopropom i metan-natrijum nisu postignuti efekti kao kod *M. hapla* (Pinkerton et al., 1986; Santo and Wilson, 1990).

Plodored, odnosno smena useva žitaricama koja se koristi za smanjenje populacije *M. hapla*, nije ispoljio efekat i na *M. chitwoodi*. Ova vrsta se dobro razmnožava i na pšenici, ovsu, ječmu i kukuruzu. Međutim, kukuruz i žitarice su se pokazale kao slabe biljke domaćini *M. fallax* (OEPP/EPPO, 2004b).

Neki efekti su postignuti korišćenjem sudanske trave (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) i inkorporacijom zelenog đubriva u zemljište kojom se postiže smanjenje populacije *M. chitwoodi* (Mojtahedi et al., 1993). Biomufigacija podrazumeva gajenje i inkorporaciju useva sa zelenim đubrivom. Usevi iz familije *Brassicaceae* (*Brassica juncea* (L.) Czern., *Eruca sativa* Mill.) sadrže glukozinolati koji postaju aktivni posle inkorporacije u zemljište. Korišćenje ovog metoda sprovodi se tkz. biološka dezinfekcija zemljišta uz pokrivanjem plastikom (Korthals, 2011).

#### **Aktuelni problemi vezani za *M. chitwoodi* i *M. fallax* u Srbiji**

Karantinske vrste iz roda *Meloidogyne* još uvek nisu registrovane u Srbiji. Sve su veća opasnost za našu zemlju s obzirom da se iz godine u godinu povećava količina uvezenog semena krompira iz zemalja gde su ove vrste prisutne. Ona je u 2011. iznosila 5.968 tona (Asocijacija »Plodovi Srbije«), a prema podacima fitonematološke laboratorije PSS Instituta Tamiš, broj analiziranih uvoznih pošiljaka

semenskog krompira u istoj godini bio je pet puta povećan u odnosu na prethodne dve godine. Osim toga, nije bio analiziran nijedan uzorak krtola sa sumnjivim simptomima, poreklom iz polja ili skladišta (PSS Institut Pančevo, 2012). U toku iste godine ova laboratorija je bila uključena u EUPHRESKO (European Phytosanitary Research Cooperation) M.

*chitwoodi* i *M. fallax* projektu koji je imao za cilj validaciju metoda detekcije u vidu međulaboratorijskih testova i obuku nematologa iz Evropske unije o načinima uzorkovanja, izdvajanja, indentifikacije i suzbijanja ovih vrsta. U projektu je učestvovalo 35 nematologa iz 18 laboratorija za biljni karantin iz 12 evropskih zemalja (Bačić, 2011).

## LITERATURA

- Bačić, J. (2008a): Osetljivost sorti krompira na ekonomski štetne vrste iz roda *Globodera* spp. (Nematoda). Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1-79.
- Bačić J. (2008b): Prisustvo krompirovih cistolikih nematoda na području Krupnja. IX savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea, 85.
- Bačić, J. (2010a): Krompirova zlatna cistolika nematoda (*Globodera rostochiensis* Woll.) u Srbiji. Biljni lekar, 38, 3: 201-207.
- Bačić, J. (2010b): The occurrence of *Globodera rostochiensis* in Serbia. 30<sup>th</sup> International Symposium of the European Society of Nematologists. Vienna, Proceedings, 163.
- Bačić, J. (2011): Karantinske korenove galove nematode – potencijalna opasnost za krompir u Srbiji. XI savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea, 127.
- Bačić, J. (2010c): Uticaj sorti krompira na populaciju zlatne cistolike nematode (*Globodera rostochiensis*). Pesticidi i fitomedicina, 25 (3): 269-275.
- Bačić J., Geric Stare B., Širca S., Urek, G. (2008): Analyses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* from Serbia by morphometrics and real-time PCR. Russian Journal of Nematology, 16 (1): 63-65.
- Bačić, J., Barsi, L., Štrbac, P. (2011): Life cycle of the potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) grown under climatic conditions in Belgrade. Archives of biological sciences, 63 (4): 1069-1075.
- Brodie, B.B. (1998): Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in Central and North America. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes–Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp. 317-331.
- Dale, M.F.B., De Scurrah, M. M. (1998): Breeding for resistance to the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*: strategies, mechanisms and genetic resources. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes–Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp. 167-197.
- De Santos, M.S., Fernandes, M.M. (1988): The occurrence of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* in Portugal. Nematologica Meditteranea, 16: 145.
- Directive 69/465/EEC (1969): EUR-lex Access to European Union Law–COUNCIL DIRECTIVE of 8 December 1969 on control of Potato Cyst Eelworm (69/465/EEC). <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31969L0465:en:NOT>. Datum pristupa stranici: 8. avgust 2011.
- Directive 2007/33/EC (2007): EUR-lex Access to European Union Law–Council Directive 2007/33/EC of 11 June 2007 on the control of potato cyst nematodes and repealing Directive 69/465/EEC. <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32007L0033:en:NOT>. Datum pristupa stranici: 8. avgust 2011.

- Fleming, C.C. (1998): The evaluation and durability of potato cyst nematode resistance in the potato. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) *Potato Cyst Nematodes—Biology, Distribution, Control*. CAB International, Wallingford (GB), pp. 197-209.
- Fleming, C.C., Powers, T.O. (1998a): Potato cyst nematodes: species, pathotypes and virulence concepts. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) *Potato Cyst Nematodes—Biology, Distribution and Control*. CAB International, Wallingford (GB), pp. 51-59.
- Fleming, C.C., Powers, T.O. (1998b): Potato cyst nematode diagnostics: morphology, differential hosts and biochemical techniques. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) *Potato Cyst Nematodes—Biology, Distribution, Control*. CAB International, Wallingford (GB), pp. 95-99.
- Franco, J., Oros, R., Main, G., Ortuno, N. (1998): Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in South America. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) *Potato Cyst Nematodes—Biology, Distribution, Control*. CAB International, Wallingford (GB), pp. 239-269.
- Golden, A.M., Klindić, O. (1972): *Heterodera achilleae* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) with a key and notes on closely related species. *Journal of Nematology*, 4: 30-37.
- Greco, N., Inserra, R.N., Brandonisio, A., Tirro, A., De Marinis, G. (1988): Life-cycle of *Globodera rostochiensis* on potato in Italy. *Nematologia Meditteranea*, 16: 69-73.
- Griffin, G.D. (1985): Host-parasite relationship of *Meloidogyne chitwoodi* on potato. *Journal of Nematology*, 17: 395-399.
- Hafez, S.L. and Sundararaj, P. (2009): Chemical management practices of *Meloidogyne chitwoodi* in a potato field in USA. *International Journal of Nematology*, 19: 203-207.
- Haydock, P.P.J., Perry, J.N. (1998): The principles and practice of sampling for the detection of potato cyst nematodes. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) *Potato Cyst Nematodes—Biology, Distribution and Control*. CAB International, Wallingford (GB), pp. 61-75.
- Ingham, R.E., Hamm, P.B., Williams, R.E., Swanson, W.H. (2000): Control of *Meloidogyne chitwoodi* in potato with fumigant and nonfumigant nematicides. *Journal of Nematology*, 32 (4S): 556-565.
- Karssen, G. (2002): The plant-parasitic nematode genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in Europe. Leiden; Boston; Kln; Brill, pp. 11-24.
- Kleynhans, K.P.N. (1998): Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in Africa. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) *Potato Cyst Nematodes—Biology, Distribution and Control*. CAB International, Wallingford (GB), pp. 347-351.
- Klindić, O. (1965): Dijagonostičke oznake *Heterodera* vrsta utvrđenih u dosadašnjem radu na analizi uzoraka zemlje u SR BIH. *Agrohemija*, 12: 715-722.
- Kort, J., Ross, H., Rumpfenhorst, H.J., Stone, A.R. (1977): An international scheme for identifying and classifying pathotypes of potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Nematologica*, 23: 333-339.
- Korthals, G. (2011): Management of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. EUPHRESKO *Meloidogyne* Workshop, ILVO, Belgium, pp. 1-13.
- Krnjaić, Đ., Krnjić, S. (1991): Investigation on presence of potato nematodes in Yugoslavia. *Zaštita bilja*, 198: 257-266.
- Krnjaić, Đ., Bačić, J., Krnjić, S., Čalić, R. (2000): Prvi nalaz zlatnožute krompirove nematode u Jugoslaviji. XI jugoslovenski simpozijum o zaštiti bilja i savetovanje o primeni pesticida, Zlatibor, Zbornik rezimeja, 71.
- Krnjaić, Đ., Lamberti, F., Krnjić, S., Bačić, J., Čalić, R. (2002): First record of the potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) in Yugoslavia. *Nematologia Meditteranea*, 30: 11-12.

- Krnjaić, Đ., Oro, V., Gladović, S., Trkulja, N., Šćekić, D., Kecović, V., Aleksić, M., Ćirković, L., Šalinger, V. (2005): Novi nalazi zlatnožute krompripriove nematode u Srbiji. VII savetovanje o zaštiti bilja. Soko Banja, Zbornik rezimea, 169-170.
- Krnjaić, Đ., Oro, V., Gladović, S., Trkulja, N., Šćekić, D., Kecović, V. (2006): Novi nalazi krompirovih nematoda u Srbiji. Zaštita bilja, 53 (4), 243: 147-156 (izdanje 2002).
- Krnjaić, Đ., Poštić, D. (2009): Otpornost sorti krompira na populaciju *Globodera rostochiensis* u lokalitetu Plani-na-Jagodnja u 2008. godini. Zaštita bilja, 60 (2): 91-100.
- Lehman, P. (2002): Nematode in international quarantine legislation. 4<sup>th</sup> International Congress of Nematology. Tenerife, Proceedings, Poster section 412, 268.
- Marks, R.J., Brodie, B.B. (1998): Potato Cyst Nematodes-Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp.1-408.
- Marks, R.J., Rojancovski, E. (1998): Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in central Europe, the Balkans and the Baltic states. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes-Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp. 299-315.
- Marshall, J.W. (1998): Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in New Zealand and Australia.. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes-Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp. 353-394.
- Minnis, S.T., Haydock, P.P.J., Ibrahim, S.K., Grove, I.G., Evans, K., Russell, M.D. (2002): Potato cyst nematodes in England and Wales-occurrence and distribution. Annals of Applied Biology, 140: 187-195.
- Mojtahedi, H., Santo, G.S., Ingham, R.E. (1993): Suppression of *Meloidogyne chitwoodi* with sudangrass cultivars as green manure. Journal of Nematology, 25 (2): 303-311.
- Nijboer, H., Parlevliet, J.E. (1990): Pathotype-specificity in potato cyst nematodes, a reconsideration. Euphytica, 49: 39-47.
- OEPP/EPPO (2009a): *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* PM 7/40 (2). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 39: 354-368.
- OEPP/EPPO (2009b): *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne fallax* PM 7/41 (2). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 39: 5-17.
- OEPP/EPPO (2006): Phytosanitary procedures *Meloidogyne chitwoodi* nad *M. fallax*: sampling potato tubers for detection. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 36: 421-422.
- OEPP/EPPO Reporting Service (1998): *Globodera pallida* occurs in Bulgaria. No.7 /122. [http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/1998/Rse-9807.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/1998/Rse-9807.pdf) Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- OEPP/EPPO Reporting Service (2000): First finding of *Globodera pallida* and *G. rostochienis* in Turkey. No. 9/133 [http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/2000/Rse-0009.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/2000/Rse-0009.pdf). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- OEPP/EPPO Reporting Service (2001a): First report of *Globodera pallida* in Czech Republic. No.8/140..[http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/2001/Rse-0108.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/2001/Rse-0108.pdf). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- OEPP/EPPO Reporting Service (2001b): First report of *Globodera pallida* in Croatia. EPPO No.11/190. [http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/2001/Rse-0111.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/2001/Rse-0111.pdf). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- OEPP/EPPO Reporting Service (2002): First report of *Globodera pallida* in Hungary. No.9/141. [http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/2002/Rse-0209.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/2002/Rse-0209.pdf). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- OEPP/EPPO Reporting Service (2006a): First report of *Globodera pallida* in Ukraine. No.3/061. [http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/2006/Rse-0603.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/2006/Rse-0603.pdf). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.

- OEPP/EPPO Reporting Service (2006b): First report of *Globodera pallida* in USA. No.6/125. [http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/2006/Rse-0606.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/2006/Rse-0606.pdf). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- OEPP/EPPO Reporting Service (2009): First report of *Meloidogyne chitwoodi* in Turkey. No.4/063. [http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/2009/Rse-0904.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/2009/Rse-0904.pdf). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- OEPP/EPPO Reporting Service (2011a): *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax* detected in France. No.2/030. [http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/2011/Rse-1102.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/2011/Rse-1102.pdf). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- OEPP/EPPO Reporting Service (2011b): *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne fallax* found in Germany. No.5/109. [http://archives.eppo.org/EPPO Reporting/2011/Rse-1105.pdf](http://archives.eppo.org/EPPO%20Reporting/2011/Rse-1105.pdf). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- Oro, V. (2008a): Životni ciklus karantinske nematode krompira *Globodera pallida* Stone. IX savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea, 81.
- Oro, V. (2008b): Ispitivanje bioloških karakteristika blede krompirove cistolike nematode (*Globodera pallida* Stone). Biljni lekar, 36 (5):320-325.
- Oro, V., Živković, S., Ivanović, Ž. (2009a): Preliminary in vitro investigations of suppression of *Globodera rostochiensis* Wollenweber (Nematoda: Heteroderidae) by some rhizobacteria. VI Congress of Plant Protection (Book II), Zlatibor, Abstract book II. 93-94.
- Oro, V., Živković, S., Ivanović, Ž. (2009b): Antagonističke interakcije rizobakterija i cistolikih nematoda krompira. Biljni lekar, 37 (6): 605-608.
- Oro, V., Ivanović, Ž, Nikolić, B., Barszi, L., Radivojević, M., Jovčić, B.(2010a): Morphological and molecular identification of potato cyst nematode populations in Serbia. Archives of Biological Sciences, 62 (3): 747-754.
- Oro, V., Trkulja, N., Tosi, S. (2010b): Mycobiota of potato cyst nematode populations from Serbia. 30<sup>th</sup> International Symposium of the European Society of Nematologists, Vienna, Austria, Proceedings, 188.
- Oro, V., Bošković, J., Milenković, S., Tosi, S. (2012): Taxonomic Diversity of Fungi Associated with Some PCN Populations from Serbia. Pesticide and Phytomedicine, 27 (1): 41-47.
- Ostojić, M., Miličević, T., Zovko, M. (2010): Prvi nalaz zlatnožute krompirove cistolike nematode (*Globodera rostochiensis*) u BiH. VII Simpozijum o zaštiti bilja u Bosni i Hercegovini, Teslić. [http://dzbbih.org/VII\\_simpozijum/VIIsimpozijum15.html](http://dzbbih.org/VII_simpozijum/VIIsimpozijum15.html). Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- Oštrec, Lj., Grubišić, D., Poje, I., Mikec, I. (2004): Zlatna krompirova cistolika nematoda (*Globodera rostochiensis* Woll.) u Hrvatskoj. Znanstveni skup hrvatskih agronoma, Opatija, Zbornik rezimea. <http://www.povrce.com/?A=ZNR&P=gen&SIFRA=1080&GOD=2004&TXT=nematoda&MJESTO=51410&ZBORNIK=39>, Datum pristupa stranici: 6. avgust 2011.
- Perry, R.N. (1998): The physiology and sensory perception of potato cyst nematodes, *Globodera* species. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes-Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), 27-51.
- Phillips, M.S., Trudgill, D.L. (1998): Population modelling and integrated control options for potato cyst nematodes. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.). Potato Cyst Nematodes-Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp. 153-165.
- Pickup, J., Hockland, S. (2002): Potato cyst nematodes-technical overview for Scotland. pp.1-14. [http://www.scotland.gov.uk/consultations/agriculture/PCN\\_Technical\\_Paper\\_Scotland\\_SEERAD.pdf](http://www.scotland.gov.uk/consultations/agriculture/PCN_Technical_Paper_Scotland_SEERAD.pdf). Datum pristupa stranici: 8. avgust 2011.
- Pinkerton, J.N., Santo, G.S., Ponti, R.P., Wilson, J.H. (1986): Control of *Meloidogyne chitwoodi* in commercially grown Russet Burbank potatoes. Plant Disease, 70: 860-863.



- Pinkerton, J.N., Santo, G.S., Mojtahedi, H. (1991): Population dynamics of *Meloidogyne chitwoodi* on Russet Burbank potatoes in relation to degree-day accumulation. *Journal of Nematology*, 23: 283-290.
- PSS Institut Tamiš (2012): Izveštaj o radu fitonematološke laboratorije u 2011. godini. Uprava za zaštitu bilja, pp.1-40.
- Radivojević, M. (2008): Krompirove cistolike nematode u Srbiji-početna iskustva sa eradikacijom i štetama. IX savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 79-80.
- Radivojević, M. (2009): Biološko suzbijanje krompirovih cistolikih nematoda pomoću biljaka. *Biljni lekar*, 37, 6: 587-604.
- Radivojević, M., Krnjaić, Dj., Krnjaić, S., Bačić, J., Subbotin, S.A., Madani, M., Moens, M. (2001): Molecular methods confirming the presence of *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) in Yugoslavia. *Russian Journal of Nematology*, 9: 139-141.
- Radivojević, M., Krnjaić, Dj., Grujić, N., Oro, V., Gladović, S., Madani, M. (2006): The first record of potato cyst nematode *Globodera pallida* (Stone, 1973) from Serbia. 58th International Symposium on Crop protection, 2006a, Ghent, Belgium, Book of Abstract: 203.
- Radivojević, M., Čalić, A., Grujić, N. (2007): Otpornost nekih sorata krompira prema zaltnožutoj krompirovoj cistolikoj nematodi na području Ponikava. XIII simpozijum sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 95-96.
- Radivojević, M., Stančić, T. (2008a): Patotip Pa3 nematode *Globodera pallida* prisutan u Srbiji. IX savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 80-81.
- Radivojević, M., Stančić, T. (2008b): Status nekih sorata paradajza kao domaćina krompirove cistolike nematode *Globodera rostochiensis*. IX savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 82.
- Radivojević, M., Labudović, T. (2010): Novi nalaz *Globodera rostochiensis*. X savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 94-95.
- Santo, G.S., Pinkerton, J.N. (1985): A second race of *Meloidogyne chitwoodi* discovered in Washington State. *Plant Disease*, 69: 261.
- Santo, G.S., Wilson, J.H. (1990): Evaluation of ethoprop and cadjsafos for control of *Meloidogyne chitwoodi* on potato. *Nematropica*, 20: 137-142.
- Službeni glasnik Republike Srbije (74/2005): Naredba o preduzimanju mera radi sprečavanja širenja i iskorenjivanju krompirovih cistolikih nematoda, 11.
- Službeni glasnik Republike Srbije (41/2009): Zakon o zaštiti zdravlja bilja (član 31, stav 1-Pravilnik o utvrđivanju godišnjeg programa mera zaštite zdravlja bilja. <http://www.mpt.gov.rs/postavljen/125/4827012.0064.25-1.pdf>. Datum pristupa stranici: 20.decembar 2012.
- Službeni glasnik Republike Srbije (7/2010): Pravilnik o listama štetnih organizama i listama bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata, 1-55.
- Službeni list SRJ (39/2002): Naredba o preduzimanju mera radi sprečavanja širenja, suzbijanja i iskorenjivanja krompirove cistolike nematode (*Globodera rostochiensis*) i proglašenju područja zaraženih ovim štetnim organizmom, 4-5.
- Stone, A.R. (1972): *Heterodera pallida* n. sp. (Nematoda:Heteroderidae), a second species of potato cyst nematode. *Nematologica*, 18: 591-606.
- Tilikkala, K., Carter, T., Heikinheimo, M., Veölöinen, A. (1995): Pest risk analysis of *Meloidogyne chitwoodi*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 25: 419-436.



- Trudgill, D.L., Evans, K., Phillips, M.S. (1998): Potato cyst nematodes: damage mechanisms and tolerance in the potato. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes–Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp.117-135.
- Turner, S.J. (1998): Sample preparation, soil extraction and laboratory facilities for the detection of potato cyst nematodes. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes–Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp.75-91.
- Turner, S.J., Evans, K. (1998): The origins, global distribution and biology of potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis* (Woll.) and *G. pallida* Stone). In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes–Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp. 20-21.
- Turner, S.J., Rowe, J.A. (2006): Cyst Nematodes. In: Perry R. N. and Moens M. (eds.) Plant Nematology. CAB International, Wallingford (GB), pp. 91-122.
- Urek, G., Lapajne, S. (2001): The incidence of potato nematode, *Globodera rostochiensis* (Woll.,1923) Behrens, 1975, in Slovenia. Zbornik Bioteh. Fak. Univ.Ljublj. Kmet, 77-1: 49-58.
- Van der Beek, J.G., Karssen, G. (1997): Interspecific hybridization of meiotic parthenogenetic *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. Phytopathology, 87: 1061-1066.
- Van Riel, H.R., Mulder, A. (1998): Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in western Europe. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes–Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp. 271-298.
- Wesemael, W. (2007): Biology and management of the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi* in field vegetable crops. PhD Thesis, Ghent University, Ghent, Belgium, pp.1-124.
- Whitehead, A.G., Turner, S.J. (1998): Management and regulatory control strategies for potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*). In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes–Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp.135-153.
- Zaheer, K. (1998): Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in Asia. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) Potato Cyst Nematodes–Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp.333-345.

**(Primljeno: 23.08.2012.)**

**(Prihvaćeno: 01.10.2012.)**

## POTATO QUARANTINE NEMATODES OF THE GENUS *GLOBODERA* AND *MELOIDOGYNE*

JASMINA BAČIĆ

*Agricultural Extension Service Institute Tamiš, Pančevo*

*e-mail: jasmina.bacic@jasminabacic.rs*

### SUMMARY

Monitoring of seed and ware potato crops by annual plant health program of Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management of Republic of Serbia includes four quarantine species of nematodes: two species of the genus *Globodera* (*Globodera rostochiensis* and *G. pallida*-potato cyst nematodes) and two species of the genus *Meloidogyne* (*Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*-root-knot nematodes). This paper deals with the present knowledge of potato cyst nematodes in the world with the special reference to the actual research of their occurrence, methods of identification and possibility of control in Serbia. It also presents the current investigation on *M. chitwoodi* and *M. fallax* in the countries where they occur, related to their biology, methods for detection and management.

**Key words:** plant quarantine, potato, *Globodera rostochiensis*, *G. pallida*, *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax*

**(Received: 23.08.2012.)**

**(Accepted: 01.10.2012.)**



## 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 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 Drajzera 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





