

UDK 632.9

YU ISSN 0372-7866

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

ZAŠTITA BILJA PLANT PROTECTION

VOL. 62 (2), № 276, 2011.

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 500,00 dinara, za ustanove i preduzeća u Srbiji 800,00 dinara. Za pojedince u inostranstvu 40 USD, za preduzeća i ustanove u inostranstvu 80 USD.

Subscription – Individuals: 500,00 din. per year. Companies, institutions: 800,00 din. per year, in Serbia. Individuals: 40 USD per year. Companies, institutions: 80 USD per year, for abroad.

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

All correspondence and subscription orders should be addressed to the publisher (FOR JOURNAL).

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, 2660-079, 2663-672
Fax: +381 11 2669-860

UDK 632.9

YU ISSN 0372-7866

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

ZAŠTITA BILJA PLANT PROTECTION

VOL. 62 (2), № 276, 2011.

Dr Nenad Dolovac
Glavni i odgovorni urednik – Editor-in-Chief

Urednici – Editors

Božidar Manojlović

Ivan Sivčev

Saša Stojanović

Redakcioni odbor – Editorial Board

Jelica Balaž – Novi Sad

Franja Bača – Beograd

Harald Berger – Austria

Jan Boczek – Poland

Richard Ford – USA

Stevan Jasnić – Novi Sad

Hartmut Kegler – Germany

Zoltan Klement – Hungary

Branko Konstantinović – Novi Sad

Božidar Manojlović – Beograd

Ljubodrag Mihajlović – Beograd

Snežana Rajković – Beograd

Ivan Sivčev – Beograd

Radoslava Spasić – Beograd

Sreten Stamenković – Novi Sad

Mira Starović – Beograd

Saša Stojanović – Beograd

Srbobran Stojanović – Kragujevac

S A D R Ź A J

N a u č n i r a d o v i

*Nenad Trkuljak, Nenad Dolovac, Erika Pfaf-Dolovac, Miloš Stevanović,
Žarko Ivanović, Ratibor Štrbanović, Svetlana Živković*

UČESTALOST REZISTENTNOSTI *CERCOSPORA BETICOLA* (SACC.)
PREMA BENZIMIDAZOLIMA I DMI FUNGICIDIMA 109

*Veljko Gavrilović, Žarko Ivanović, Svetlana Živković,
Dobrivoj Poštić, Miloš Stevanović, Nenad Trkulja*

ETIOLOŠKA PROUČAVANJA BAKTERIOZNE PEGAVOSTI
PLODOVA VIŠNJE NA PODRUČJU JUŽNOG BANATA. 119

Ivo Toševski

SYNANTHEDON RUBROCIINGULATA SP. N. – NOVA VRSTA
STAKLOKRILCA (LEPIDOPTERA, SESIIDAE)
IZ SEVEROZAPADNOG PAKISTANA 129

*Dobrivoj Poštić, Nebojša Momirović, Željko Dolijanović, Zoran Bročić,
Ratibor Štrbanović, Tatjana Popović, Veljko Gavrilović*

UTICAJ POREKLA SADNOG MATERIJALA
I VELIČINE SEMENSKE KRTOLE
NA PRODUKTIVNE OSOBINE KROMPIRA 135

*Nikolić Bogdan, Ivanović Žarko, Đurović Sanja,
Starović Mira, Zoran Milićević*

PRELIMINARNA ZAPAŽANJA O PRIMENI METODE
FLUORESCENCIJE HLOROFILA U FITOPATOLOGIJI KOD NAS. 147

CONTENTS

Scientific papers

*Nenad Trkulja, Nenad Dolovac, Erika Pfaf-Dolovac, Miloš Stevanović,
Žarko Ivanović, Ratibor Štrbanović, Svetlana Živković*

FREQUENCY OF RESISTANCE *CERCOSPORA BETICOLA* (SACC.)
POPULATIONS TO BENZIMIDAZOLE AND DMI FUNGICIDES. 109

*Veljko Gavrilović, Žarko Ivanović, Svetlana Živković, Dobrivoj Poštić
Miloš Stevanović, Nenad Trkulja*

ETIOLOGICAL STUDY OF SOUR CHERRY FRUITS
BACTERIAL NECROSIS IN SOUTH BANAT 119

Ivo Toševski

SYNANTHEDON RUBROCINGULATA SP. N. – A NEW SPECIES
OF CLEARWING MOTHS FROM NORTH-WESTERN
PAKISTAN (LEPIDOPTERA, SESIIDAE) 129

*Dobrivoj Poštić, Nebojša Momirović, Željko Dolijanović, Zoran Bročić,
Ratibor Štrbanović, Tatjana Popović, Veljko Gavrilović*

THE EFFECT OF THE SIZE OF POTATO TUBERS
ORIGINATING FROM DIFFERENT ALTITUDES
ON THE PRODUCTIVE PROPERTIES OF POTATO 135

*Nikolić Bogdan, Ivanović Žarko, Đurović Sanja,
Starović Mira, Zoran Milićević*

PRELIMINARY REMARKS ABOUT USE OF FLUORESCENCE
OF CHLOROPHYLL IN PHYTOPATOLOGY IN SERBIA 147

Zaštita bilja
Vol. 62 (2), № 276, 109-117, 2011, Beograd

UDK: 633.65-226
632.934
Naučni rad

UČESTALOST REZISTENTNOSTI *CERCOSPORA BETICOLA* (SACC.) PREMA BENZIMIDAZOLIMA I DMI FUNGICIDIMA

NENAD TRKULJA*, NENAD DOLOVAC, ERIKA PFAF-DOLOVAC,
MILOŠ STEVANOVIĆ, ŽARKO IVANOVIĆ,
RATIBOR ŠTRBANOVIĆ, SVETLANA ŽIVKOVIĆ

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd, Srbija

*e-mail: trkulja_nenad@yahoo.com

Pegavost lišća šećerne repe je najznačajnija bolest koja se javlja na šećernoj repi u svetu. Štete koje nastaju usled pojave bolesti mogu smanjiti prinos i do 50%. Prema fungicidima iz grupe benzimidazola rezistentnost je utvrđena 1976. godine. Poslednjih dvadeset godina njihova upotreba je redukovana, ali se i dalje koriste uglavnom formulisani u mešavini sa fungicidima inhibitorima sinteze sterola (DMI). Fungicidi inhibitori demetilacije sterola (DMI), se zadnje dve decenije intenzivno koriste za suzbijanje *C. beticola* u svetu, a pojava rezistentnosti prema njima konstatovana je 2000. godine. Rezultati istraživanja su pokazali da su populacije *C. beticola* rezistentne prema benzimidazolima prisutne na poljima šećerne repe i čine dominantnu populaciju uz učestalost rezistentnosti 83.87 – 94.28 %. Učestalost rezistentnosti prema DMI fungicidima je manja, ali veoma značajna i iznosi 12.90 – 14.29 %.

Ključne reči: *Cercospora beticola*, fungicidi, benzimidazoli, DMI, rezistentnost.

UVOD

Cercospora beticola (Sacc.), prouzrokovatelj pegavosti lišća šećerne repe je patogen koji se redovno javlja na poljima gde se šećerna repa intenzivno gaji. Štete koje nastaju usled intenzivne pojave ove bolesti smanjuju kvalitet i prinos korena šećerne repe od 25% do 50% (Shane i Teng 1992). Povoljni vremenski

uslovi, visoka relativna vlažnost vazduha $RH > 95\%$, temperatura u intervalu 20-30 °C i česte padavine su glavni faktori koji utiču na razvoj bolesti (Wolf and Verreet 2004).

Fungicidi iz grupe benzimidazola su prvi sistemični fungicide koji su se koristili za zaštitu šećerne repe protiv *C. beticola* u svetu. Na početku primene oni su imali veoma visoku efikasnost u suzbijanju *C. beticola* (Solel, 1970). Međutim kao posledica specifičnog mehanizma dejstva, intenzivna primena benzimidazola izaziva jak selekcionu pritisak na rezistentne populacije favorizujući njihov razvoj. Prvi put rezistentnost *C. beticola* prema benzimidazolima utvrđena je u Grčkoj 1972. godine posle samo dve godine primene (Georgopoulos and Dovas 1973), nakon prvog nalaza rezistentnosti prema benzimidazolima je detektovana i u drugim državama u svetu u kojima su se benzimidazoli koristili za zaštitu šećerne repe protiv *C. beticola* kao što su Italija (D'Ambra et al., 1974) i USA (Ruppel and Scott, 1974).

Nakon benzimidazola u primenu se uvode i inhibitori sinteze ergosterola (DMI) fungicidi. Svoje fungicidno dejstvo DMI fungicidi ispoljavaju inhibicijom citohroma P-450 od koga zavisi aktivnost 14 α -demetilaze sterola, odnosno C-14 demetilacija u ciklusu sinteze sterola. Razvoj rezistentnosti u prirodi je postepen i naziva se kvantitativnom ili poligenetskom rezistentnošću koja je pod kontrolom više gena. Pod selekcionim pritiskom DMI fungicida, deo populacije sa smanjenom osetljivošću se postepeno povećava, dovodeći do postepenog smanjenja efikasnosti fungicida za kontrolu bolesti (Karaoglanidis et al., 2003).

Cilj ovog rada je bio da se utvrdi učestalost rezistentnih izolata poreklom sa lokaliteta gde se šećerna repa intenzivno gaji prema benzimidazolima i DMI fungicidima.

MATERIJAL I METODE

Sakupljanje uzoraka. Tokom 2007. godine sa polja šećerne repe iz lokaliteta Erdevik i Padinska skela sakupljeni su listovi šećerne repe sa simptomima *C. beticola*. Listovi su pakovani u papirne kese i u ručnom frižideru prenošeni do laboratorije Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu u Beogradu. Sa lokaliteta Erdevik izolovano je 35 izolata, a sa lokaliteta Padinska skela 31 izolat.

Izolacija patogena. U laboratoriji je obavljena izolacija patogena po metodi Karaoglanidis et al., (2000). Vrhom igle iz jedne pege sa jednog lista prenošena je po jedne konidija *C. beticola* u Petri šolju sa PDA podlogom. Inkubacija je vršena dva dana u tami na temperaturi 25°C. Nakon dva dana kolonije su prenošene na svežu PDA podlogu gde su inkubirane deset dana pod istim uslovima. Kolonije su zatim korišćene za dalja ispitivanja.

Diskriminativna koncentracija za benzimidazole. Fungicidi korišćeni za testiranje su komercijalne formulacije koje kao aktivnu materiju sadrže karbendazim (Galofungin 500 SC, Galenika fitofarmacija, Srbija) i tiofanat-metil (Galofungin T 450 SC, Galenika fitofarmacija, Srbija).

Na osnovu ranijih istraživanja diskriminativna koncentracija koja se pokazala kao odgovarajuća za karbendazim je 1 mg/l (Karaoglanidis et al., 2003). Diskriminativna koncentracija korišćena za tiofanat-metil po metodi koju su opisali Weiland i Halloin (2001) iznosi 5 mg/l.

Fungicidi su razređivani u sterilnoj destilovanoj vodi do koncentracije aktivne materije u razređenju od 1%. Podloga korišćena za ispitivanje je bila krompir dekstrozni agar (KDA). Nakon pripreme, podloga je autoklavirana na temperaturi od 120 C°, uz pritisak od 1,2 atm. Nakon hlađenja do 40-50 C°, u podlogu je dodavana određena količina razređenja fungicida da bi se dobila koncentracija aktivne materije od 1 mg/l za karbendazim, odnosno 5 mg/l za tiofanat-metil. Kao kontrola su korišćene Petri kutije u koje je umesto razređenja fungicida dodavana sterilizovana destilovana voda. Podloga je razlivana u sterilizovane Petri kutije, a nakon hlađenja na nju su zasejavani iseći micelije veličine 5mm u prečniku od svakog pojedinačnog izolata sa svih lokaliteta. Iseći su uz pomoć bušača uzeti sa ivice kolonije starosti 14 dana i postavljeni na podlogu sa fungicidom na taj način da micelijski isečak bude celom svojom površinom u kontaktu sa podlogom. Zasejavanje isečaka vršeno je u četiri ponavljanja, a ogled je ponavljen dva puta.

Nakon postavljanja isečaka u Petri kutije vršena je inkubacija u termostatu na temperaturi od 25 C°, bez prisustva svetlosti u trajanju od 7 dana. Poprečni porast izračunavan je kao srednji porast svakog izolata (umanjen za prečnik isečka) na osnovu merenja porasta izolata iz dva pravca. Relativni porast (RG) izolata izražavan je u procentima u odnosu na kontrolu. Izračunavanje relativnog porasta vršeno je po formuli:

$$RG = (\text{srednji porast izolata sa fungicidom} / \text{porast izolata u kontroli}) \times 100$$

Izolati koji su na diskriminativnim koncentracijama imali relativni porast $RG \geq 50\%$ klasifikovani su kao rezistentni, dok su svi ostali izolati klasifikovani kao osetljivi (Russell, 2004).

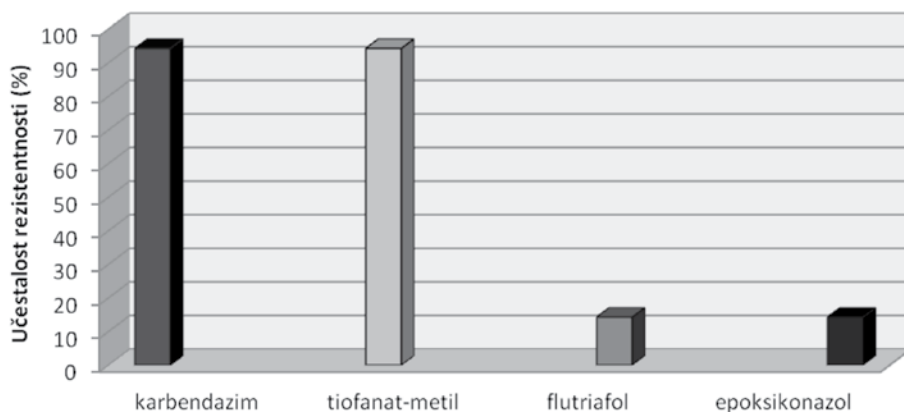
Diskriminativna koncentracija za DMI fungicide. Fungicidi korišćeni u testiranju su komercijalne formulacije koje kao aktivnu materiju sadrže flutriafol (Impact 25-SC, Cheminova, Danska) i tetraokonazol (Eminent 125-ME, Isagro, Italija).

Diskriminativna koncentracija koja se pokazala kao odgovarajuća u ispitivanjima kako kod drugih gljiva tako i kod *C. beticola* za DMI fungicide je 1 mg/l (Georgopoulos, 1987; Karaoglanidis et al., 2003). Dalje ispitivanje obavljeno je na isti način kao i za fungicide iz grupe benzimidazola.

REZULTATI

Ukupno je izolovano 35 izolata sa lokaliteta Erdevik iz pojedinačnih pega sa zaraženih listova šećerne repe. Na osnovu porasta micelije na diskriminativnoj koncentraciji karbendazima od 1mg/l od ukupno 35 ispitanih izolata samo su dva bila osetljiva. Frekvencija rezistentnosti na karbendazim bila je veoma visoka 94.28 %, dok je procenat osetljivih izolata bio veoma mali 5.72 %. Isti izolati koji su imali intenzivan porast na diskriminativnoj koncentraciji karbendazima rasli su i na diskriminativnoj koncentraciji tiofanat metila 5 mg/l (Graf. 1).

Učestalost rezistentnih izolata *C. beticola* utvrđena na lokalitetu Erdevik za flutriafol iznosi 14.29 %, dok je učestalost osetljivih izolata prema flutriafolu iznosila 85.71 %. Isti izolati koji su bili rezistentni prema flutriafolu ispoljili su rezistentnost prema epoksikonazolu tako da je učestalost rezistentnosti bila identična kao i za flutriafol (Graf. 1).

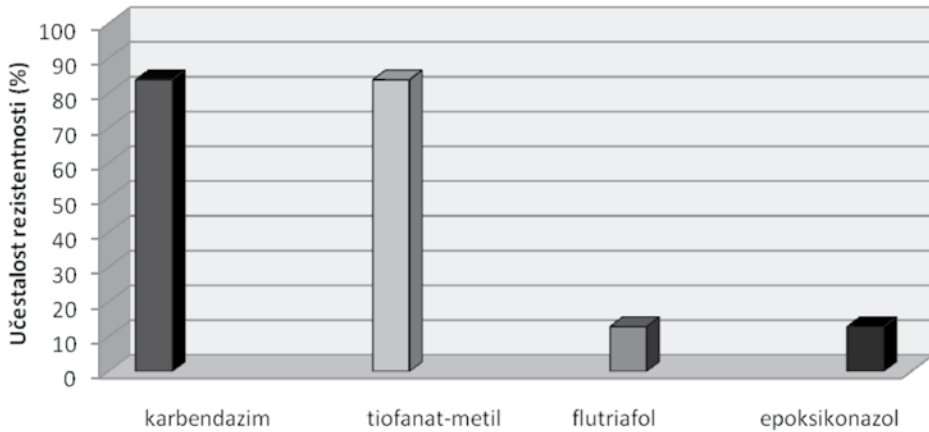


Graf. 1 - Učestalost rezistentnosti (%) izolata sa lokaliteta Erdevik na benzimidazole (karbendazim i tiofanat metil) i DMI (flutriafol i epoksikonazol) fungicide.

Chart 1 - Frequency of resistant isolates (%) on locality Erdevik to benzimidazole (carbendazim and thiophanate methyl) and DMI (flutriafol i epoxiconazole) fungicides.

Sa lokaliteta Padinska skela izolovan je 31 izolat *C. beticola*. Rezistentnost prema karbendazimu ispoljilo je 26 izolata *C. beticola*, isti izolati intenzivno su rasli i na diskriminativnoj koncentraciji tiofanat metila. Pet izolata ispoljilo je osetljivost prema diskriminativnoj koncentraciji karbendazima. Utvrđena učestalost rezistentnih izolata prema karbendazimu i tiofanat metilu na lokalitetu Padinska skela iznosi 83.87 % (Graf. 2).

Prema flutriafolu od ukupno 31 izolata četiri su ispoljila rezistentnost na diskriminativnoj koncentraciji, ista četiri izolata bila su rezistentna i na epoksikonazol. Učestalost rezistentnih izolata prema DMI fungicidima flutriafolu i epoksikonazolu na lokalitetu Padinska skela iznosi 12.90 % (Graf. 2).



Graf. 2 - Učestalost rezistentnosti izolata sa lokaliteta Padinska skela na benzimidazole (karbendazim i tiofanat metil) i DMI (flutriafol i epoksikonazol) fungicide.

Chart 2 - Frequency of resistant isolates (%) on locality Erdevik to benzimidazole (carbendazim and thiophanate methyl) and DMI (flutriafol i epoxiconazole) fungicides.

DISKUSIJA

Prvi put rezistentnost populacija *C. beticola* prema fungicidima konstatovana je u Grčkoj (Georgopoulos i Dovas, 1973). Primena benzimidazola protiv *C. beticola* u Grčkoj počela je 1971. godine nakon dve godine izuzetno visokog nivoa efikasnosti došlo je do naglog smanjenja efikasnosti u svim oblastima gde su se benzimidazoli koristili više puta u toku godine. Pojava rezistentnosti utvrđena je i u drugim delovima sveta gde se za suzbijanje *C. beticola* koristio benomil. Ruppel i Scott (1974) su utvrdili pojavu rezistentnosti na benomil u svim regionima gde se gaji šećerna repa u SAD.

U Srbiji benomil je počeo intenzivno da se koristi 1971. godine već tokom 1974. i 1975. godine na nekoliko lokaliteta konstatovan je slab efekat zaštite na poljima šećerne repe na kojima se za zaštitu koristio benomil i do tri puta uzastopno. Potvrdu da se radi o rezistentnosti dao je Marić (1976) nakon provere osetljivosti izolata uzetih sa polja šećerne repe tokom 1974-1975 godine. U narednom

periodu benomil se koristio u kombinaciji sa organokalajnim jedinjenjima, da bi se smanjio selekcionni pritisak na rezistentne populacije.

Benomil je prvi fungicid prema kome je *C.beticola* razvila rezistentnost, učestalost rezistentnosti koja je tada zabeležena u Grčkoj bila je u intervalu 80-90% (Georgopoulos i Dovas, 1973). Nakon konstatovanja rezistentnosti benomil u narednom periodu nije primenjivan za suzbijanje *C.beticola*. Sredinom devedesetih godina prošloga veka u Grčkoj je obavljen monitoring rezistentnosti na benzimidazole i utvrđena učestalost rezistentnosti (20-25%) je bila znatno manja nego ona iz 1973. godine (Karadimos et al., 2000).

U Srbiji početkom sedamdesetih godina prošlog veka kada je benomil intenzivno korišćen za suzbijanje *C.beticola* došlo je do naglog razvoja rezistentnosti (Marić, 1976). Takvo stanje konstatovano je i 1991. godine kada se benzimidazoli nisu intenzivno koristili već je njihova upotreba bila ograničena na jedan tretman godišnje (Gavran, 1991). Komercijalne formulacije fungicida koje se danas koriste za suzbijanje *C. beticola* su dvojne formulacije benzimidazola i DMI fungicida. Rezultati ovog istraživanja ukazuju da se rezistentne populacije održavaju zahvaljujući upotrebi fungicida koji u svom sastavu sadrže neku od aktivnih materija iz grupe benzimidazola.

U Srbiji DMI fungicidi su u upotrebi od početka 80-tih godina. Marić i sar. (1981) su utvrdili visok stepen efikasnosti preparata iz grupe triazola. U narednom periodu zaštita šećerne repe od *C.beticola* zasnivala se na jednom tretmanu u toku godine sa benomilom, a ostala tretiranja su se izvodila sa DMI fungicidima i organo kalajnim preparatima (Gavran, 1991). Opsežnih ispitivanja osetljivosti populacija *C.beticola* prema DMI fungicidima u Srbiji do sada nije bilo. Trkulja i sar. (2008) su ukazali na postojanje smanjene osetljivosti *C. beticola* prema benzimidazolima i DMI fungicidima. Dobijeni rezultati ukazuju na postojanje rezistentnih populacija prema DMI fungicidima na poljima šećerne repe u Srbiji.

Obzirom da rezistentnost prema DMI fungicidima zavisi od promena na više gena (poligenetska rezistentnost). Dugotrajna upotreba DMI fungicida menja odnos rezistentnih i osetljivih populacija tako što rezistentna populacija postepeno raste i postaje dominantna. Dalja upotreba DMI fungicida bez primene antirezistentne strategije može indukovati drastično povećanje rezistentnih populacija *C. beticola* na poljima šećerne repe.

ZAHVALNICA

Rad je realizovan u okviru Projekta TP 31018 Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije.

LITERATURA

- D'Ambra, V., Mutto, S., and Carula, G. (1974): Sensibilita e tolleranza di isolati di *Cercospora beticola* sensibili e tolleranti al benomyl. L'Industria Saccarifera Italiana No 1, 11-13.
- Gavran, S. M. (1991): Rezistentnost *Cercospora beticola* (Sacc.) na benzimidazole. Magistarska teza. Brograd.
- Georgopoulos, S. G., and Dovas, C. (1973): A serious outbreak of strains of *Cercospora beticola* resistant to benzimidazole fungicides in Northern Greece. Vol. 57, No.4 Plant disease reporter, 321:324.
- Georgopoulos, S. G. 1987. The development of fungicide resistance. Pages 239-251 in: Populations of plant pathogens: their dynamics and genetics. M. S. Wolfe, and C. E. Caten, eds. Blackwell Scientific Publications, Oxford, U.K.
- Giannopolitis, C. N. (1978): Occurrence of strains of *Cercospora beticola* resistant to triphenyltin fungicides in Greece. Plant Disease Reporter. No. 3. Vol. 62: 205-208.
- Karadimos, D.A., Ioannidis, P.I. and Thanassouloupoulos, C. C. (2000): The response of *Cercospora beticola* to benomyl. Phytopathol. Mediterr. 39 .329.
- Karaoglanidis, S, G., Ioannidis, P. M. and Thanassouloupoulos, C. C. (2000): Reduced sensitivity of *Cercospora beticola* isolates to sterol-demethylation-inhibiting fungicides. Plant Pathology 49, 567-572.
- Karaoglanidis, S. G., Menkissoglu-Spiroudi, U. I and Thanassouloupoulos, C. C. (2003): Sterol composition of DMI-resistant and sensitive field isolates of *Cercospora beticola*. J. Phytopathology 151, 431-435.
- Karaoglanidis, G. S., Karadimos, D. A., Ioannidis, P. M., and Ioannidis, P.I. (2003): Sensitivity of *Cercospora beticola* populations to fentin-acetate, benomyl and flutriafol in Greece. Crop Prot. 22: 735-740.
- Marić, A., Petrov, M. and Maširević, S. (1976): Pojava tolerantnosti kod *Cercospora beticola* Sacc. prema benomilu u jugoslaviji i mogućnosti suzbijanja ovog parazita. Zaštita bilja. Vol. XXVII (3-4), No. 137-138 (1976):227-236.
- Marić, A., Kosovac, V., Maširević, S. and Radulović, R. (1981): Efikasnost nekih fungicida u suzbijanju pegavosti lišća (*C. beticola*) i pepelnice (*E. Betae*) šećerne repe u mikro i makroogledima tokom 1981. godine. Jugoslovensko savetovanje o primeni pesticida. Zbornik radova. Opatija. 175-180.
- Russell, P. E. (2004): Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management. Brussels: Global Crop Protection Federation FRAC Monograph No. 3, pp. 34-38.

- Ruppel, E. G. and Scott, P. R. (1974): Strains of *Cercospora beticola* resistant to benomyl in The U.S.A. Plant Disease Reporter 58: 434-436.
- Shane, W. W. and Teng, P. S. (1992): Impact of *Cercospora* Leaf spot on root weight, sugar yield, and purity of Beta vulgaris. Plant Disease. No. 8. Vol. 76: 812-820.
- Solel, Z. (1970): The systemic fungicidal effect of benzimidazole derivatives and thiophanate against *Cercospora* leaf spot of sugar beet. Phytopathology 60: 1186-1190.
- Trkulja, N., Živković, S., Ivanović, Žarko., Dolovac, N., Starović, M., and Vukša, P. (2008): Osetljivost izolata *Cercospora beticola* (Sacc.) na karbendazim i flutriafol. IX Savetovanje o zaštiti bilja. Zlatibor 24- 28. 11. 2008.
- Weiland, J.J. (2000): A survey for the prevalence and distribution of *Cercospora beticola* to triphenyltin hydroxide and mancozeb and resistant to thiophanate methyl in 2000. USDA, Agricultural research service. Northern Crop Science Laboratory.
- Weiland, J. J., and Halloin, J. M. (2001): Benzimidazole resistance in *Cercospora beticola* sampled from sugarbeet fields in Michigan, U.S.A. Can. J. Plant Pathol. 23: 78-82.
- Wolf, P.F.J. and Werreet, J.A. (2004): Factors affecting the onset *Cercospora* leaf spot epidemics in sugar beet and establishment of disease-monitoring thresholds. Phytopathology 95:269-274.

(Primljeno: 04.08.2011.)

(Prihvaćeno: 22.08.2011.)

FREQUENCY OF RESISTANCE *CERCOSPORA BETICOLA* (SACC.) POPULATIONS TO BENZIMIDAZOLE AND DMI FUNGICIDES

NENAD TRKULJA*, NENAD DOLOVAC, ERIKA PFAF-DOLOVAC,
ŽARKO IVANOVIĆ, SVETLANA ŽIVKOVIĆ

Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia
*e-mail: trkulja_nenad@yahoo.com

SUMMARY

Cercospora leaf spot is the most important disease that occurs on sugar beet in the world. Damages caused by this disease can reduce yields up to 50 %. Resistance to the group of benzimidazole fungicide was determined in 1976. Last twenty years their use has been reduced but they're still used, mainly formulated in mixture with fungicides - sterol demethylation inhibitors (DMI). Sterol demethylation inhibitors (DMI) have been used extensively in the last two decades to control *C. beticola* in the world, and resistance to them was observed in 2000.

The results showed that populations of *C. beticola* resistant to benzimidazole are present in sugar beet fields and are the dominant population, with the prevalence of resistance 83.87 - 94.28 %. The frequency of resistance to DMI fungicides is smaller, but highly significant and amounts to 12.90 - 14.29 %.

Key words: *Cercospora beticola*, fungicides, benzimidazoles, DMI, resistance.

(Received: 04.08.2011.)

(Accepted: 22.08.2011.)

ETIOLOŠKA PROUČAVANJA BAKTERIOZNE PEGAVOSTI PLODOVA VIŠNJE NA PODRUČJU JUŽNOG BANATA

VELJKO GAVRILOVIĆ*, ŽARKO IVANOVIĆ, SVETLANA ŽIVKOVIĆ,
DOBRIVOJ POŠTIĆ, MILOŠ STEVANOVIĆ, NENAD TRKULJA

Institut za zaštitu biljai životnu sredinu, Beograd, Srbija

*e-mail: vgavrilo@yahoo.com

U radu su saopštene karakteristike izolata bakterije *Pseudomonas syringae* izolovane iz nekrozom zahvaćenih plodova višnje (Kelleris 14) na području Južnog Banata. Simptomi sa karakterističnim crnomrkim ulegnutim nekrozama prikupljeni su u periodu 2008-2010 godine. Iz obolelog tkiva izolavani su gramnegativni, fluorescentni sojevi bakterija, koji glukozu metabolišu isključivo u aerobnim uslovima (oksidativno); prouzrokuju HR duvana i stvaraju levan, ali ne proizvode oksidazu, pektinazu i arginindehidrolazu (LOPAT I). Proučeni izolati prouzrokuju nekrozu plodova višnje, trešnje, kruške i limuna, listova jorgovana i mahuna boranije. U pogledu diferencijalnih testova za patogene varijetete *P.syringae*, rezultati ukazuju da dobijeni sojevi hidrolizuju želatin i eskulin, ali ne stvaraju tirozinazu i ne metabolišu tartarate. Na osnovu dobijenih rezultata i odlika izolovanih sojeva zaključeno je, da nekrozu plodova višnje veoma visokog intenziteta, zapaženu poslednjih godina u Južnom Banatu, prouzrokuje bakterija *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

Ključne reči: višnja, nekroza ploda *Pseudomonas syringae*, patogenostbiohemijske odlike, GATT.

UVOD

Gajenje i proizvodnja višnje u Srbiji ima veoma dugu tradiciju i od velikog je ekonomskog značaja. Najzastupljenija je autohtona sorta oblačinska višnja, poreklom iz jugoistočne Srbije. Gaji se u svim područjima u Srbiji naročito u njenom centralnom delu sa prosečnom godišnjom proizvodnjom od 90 000 t (Sredojević, 2011). U znatno manjoj meri su zastupljene i druge sorte (Keleris

14, Reksele, Hajmanova konzervna Hajmanov rubin i dr). Poslednjih godina su sve zastupljenije i sorte mađarske kolekcije (Erdi botermo, Ujhiferti firtoš, Erdi jubileum i dr).

Tokom 2008-2010. godine primećena je masovna pojava nekroze plodova višnje (cv.Kelleris 14) u severoisitočnom delu Srbije blizu granice sa Rumunijom (Bela Crkva). Početni simptomi se ispoljavaju u vidu vlažnih, tamno zelenih pega koje vremenom postaju mrke i zahvataju polovinu ili čak dve trećine ploda. Daljim razvojem bolesti plod potpuno nekrotira i postaje crne boje, ali ne opada.. Intenzitet bolesti zavisi od ekoloških uslova. Pri ekstremno vlažnim uslovima tokom, maja i početkom juna, nekrozom bude zahvaćeno 60-80 % plodova višnje. Pojava bolesti je zapažena u starijim zasadima (preko 20 godina) u kojima nisu sprovedene mere zaštite. Simptomi nekroze mladara, višegodišnjih grana i i pupljaka nisu primećeni, kao ni pegavost ili rešetavost lišća.

Gram negativne, fluorescentne bakterije su izolovane iz nekrotičnog tkiva i one prouzrokuju nekroze inokulisanih plodova višnje ove sorte. Stoga je cilj ovog rada bio da se izvrši detaljna karakterizacija izolovanih sojeva na bazi njihove patogenosti i biohemijskih testova.

MATERIJAL I METODE

Uzorci obolelih plodova višnje prikupljeni su u periodu 2008-2010 u vreme pojave karakterističnih simptoma (maj i početak juna). Plodovi su površinski dezinfikovani potapanjem u 1% rastvor natrijum hipohlorita a potom ispirani pod snažnim mlazom tekuće vode. Izolovanje patoge na je vršeno na dve široko korišćene podloge u fitobakteriologiji : King podlozi b (KB) i hranljivoj podlozi obogaćenoj saharozom (NSA) (King et al., 1954; Rudolph , 1990). Pojedinačne kolonije bakterije su prenošene na hranljivu podlogu obogaćenu sa 2 % glicerola radi kraćeg održavanja u lolekciji (Gavrilović, 2006) .

Patogenost proučavanih izolata proverena je veštačkom inokulacijom plodova višnje Kelleris 14, metodom infiltracije suspenzije bakterija koncentracije 10^8 cfu/ml medicinskim špricem. Pored ove sorte inokulisani su i plodovi Oblačinske višnje, autohtone sorte najzastupljenije u Srbiji ali i novijih sorata, koje se sve više gaje (Erdi botermo, Ujhiferti firtoš), u cilju dobijanja preliminarnih rezultata o osetljivosti različitih sorata višnje prema patogenu. U ove svrhe korišćena je suspenzija bakterija napravljena od nekoliko najvirulentnijih sojeva, a inokulacija je obavljena metodom uboda pomoću medicinskog šprica.

Inokulacija mladara i grana kao i lisitova višnje Kelleris 14 nije vršena tokom ovih istraživanja. U cilju provere patogenosti takođe su inokulisani i nesazreli plodovi trešnje (Burlat), kruške (Williams), limuna te listovi jorgovana i mahune boranije (Gilbert et al., 2009; Kaluzna et al., 2009; Scortichini, 2003; Gavrilovic, 2006).

Od bakterioloških testova su proučeni stvaranje levana, oksidaze, pektinaze i arginin dehidrolaze, HR duvana (LOPAT) (Lelliot et al., 1966). Proučeni su i diferencijalni testovi za razlikovanje patogenih varijeteta *Pseudomonas syringae* (pv. *syringae* i pv. *morsprunorum*) koji su rasprostranjeni i ekonomski štetni patogeni koštičavih voćaka: hidroliza želatina i eskulina, stvaranje tirozinaze i metabolizam tartarata (GATT) (Latore and Jones 1979; Burkowitz and Rudolph, 1994; Kiernick Brown and Sands 2001; Gavrilović, 2006; Kaluzna et al., 2010.

REZULTATI

Uspješna izolacija bakterija je ostvarena korišćenjem napred navedenih podloga. Na hranljivoj podlozi obogaćanoj sa 5 % saharoze (SNA), posle 2-3 dana razvoja pri 26°C razvijaju se karakteristične blede sive ispupčene sluzave kolonije levan tipa. Na KB se razvijaju kolonije izražene sposobnosti stvaranja fluorescentnog pigmenta posmatrane pod UV svetlom.

Znaci bolesti na inokulisanim plodovima višnje se uočavaju posle 24 časa od inokulacije i ispoljavaju se u vidu vlažnih tamno zelenih pega; kasnije one dobijaju mrku boju u zoni inokulisanog tkiva i ovi simptomi su identični onima zapaženim pri prirodnim infekcijama. Proučavani izolati prouzrokuju nekroze inokulisanih plodova trešnje (Burlat), kruške (Vilijamova), limuna te listova jorgovana i mahuna boranije (Tabela 1).

Prvi simptomi na ubodom inokulisanim plodovima trešnje se uočavaju već 24 sata od inokulacije i ispoljavaju se u vidu krupnih ulegnutih nekrotičnih pega crne boje. Slične nekroze se na inokulisanim plodovima kruške i limuna uočavaju 2 dana od inokulacije. Na inokulisanim listovima jorgovana se najpre uočava nekroza lisnih drški koje su potopljene u suspenziju bakterija, a kasnije se širi zahvatajući lisne nerve. Agresivniji sojevi bakterije prouzrokuju i nekrozu tkiva mezofila listova jorgovana. Na inokulisanim mahunama boranije se posle 24 sata pojavljuju mrke nekroze sa karakterističnim oreolom crveno narandžaste boje, što je smatrano kao znak pozitivne reakcije. Identično se pri sprovedenim testovima patogenosti ponašao i kontrolni izolat *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (CFBP 11), izolovan sa kruške.

Rezultati veštačkih inokulacija raznih sorata višnje, pokazuju razlike u njihovoj osetljivosti prema izolovanim sojevima bakterije. Tako su se osetljivim pokazale pored Kelleris 14 i sorte Erdi botermo i Hajmanov rubin. Simptomi nekroze se nisu uočavali na inokulisanim plodovima sledećih sorata: Oblačinska višnja, Gorsemska i Ujhiferti firtoš. Simptomi na inokulisanim plodovima osetljivih sorata su identični onima zapaženim pri prirodnim infekcijama.

Tabela 1 - Patogene odlike sojeva *P. syringae* poreklom iz nekrotičnih plodova višnje.

Table 1 - Pathogenic characteristics *P. syringae* strains originated from necrotic sour cherry fruits.

| Patogenost- pathogenicity | Proučavani izolati Investigated strains | CFBP 11* | CFBP 2119** |
|------------------------------------|--|----------|-------------|
| HR duvana- HR in tobacco | + | + | + |
| Plodovi- Fruits | | | |
| Trešnja-Cherry | + | + | + |
| Kruška-Pear | + | + | - |
| Trešnja- Cherry | + | + | - |
| Limun- Lemon | + | + | - |
| Listovi jorgovana -Lilac leaves | + | + | - |
| Mahune boranije - Bean pods | + | + | - |

*CFBP 11 kontrolni soj *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

*CFBP 11 check strain of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

**CFBP 2119 kontrolni soj *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*

**CFBP 2119 check strain of *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*

+ pozitivan rezultat; - negativan rezultat

+ positive result; - negative results

Za razliku od proučavanih izolata kontrolni soj *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* (CFBP 2119), poreklom iz trešnje na inokulisanim plodovima trešnje prouzrokuje svetlo mrke površinske pege, dok je pri ostalim testovima patogenosti zabeležen negativan rezultat.

Proučavani izolati prouzrokuju HR duvana, i kao što je napred napomenuto stvaraju levan ali ne i oksidazu, arginindehidrolazu i pektolitičke fermente (Tabela 2). Tako je na osnovu LOPAT testova zaključeno da izolovani sojevi pripadaju grupi I fluorescentnih bakterija roda *Pseudomonas*, tj. vrsti *P. syringae*.

Rezultati diferencijalnih testova za patogene varijetete *P. syringae* pokazuju da izolovani sojevi hidrolizuju želatin i eskulin, dok negativno reaguju pri testovima stvaranja tirozinaze i tartarata (GATT) (tab. 2). Ovakve rezultate ispoljava i kontrolni soj *P.s.* pv. *syringae* (CFBP 11), dok kontrolni soj *P. s.* pv. *morsprunorum* (CFBP 2119) ne hidrolizuje želatin i eskulin ali stvara tirozinazu i metaboliše tartarate. Na osnovu rezultata ovih testova zaključeno je da naši izolati ispoljavaju odlike patogenog varijeteta *syringae*.

Tabela 2 - Biohemijsko-fiziološke odlike proučavanih izolata.**Table 2** - Biochemical-physiological characteristics of investigated strains.

| Patogenost- pathogenicity | Proučavani izolati Investigated strains | CFBP 11* | CFBP 2119** |
|---|--|----------|-------------|
| Gram-Gram | - | - | - |
| Fluorescentnost- Fluorescence | + | + | + |
| O/F test | O | O | O |
| LOPAT | | | |
| Levan-Levan | | | |
| Oksidaza-Oxidase | + | + | + |
| Pektinaza-Pectinase | - | - | - |
| Arginindehidrolaza- Arginindehidrolase | - | - | - |
| Hidroliza-Hydrolyses | | | |
| Želatin-Gelatine | + | + | - |
| Eskulin – Esculine | + | + | - |
| Stvaranje-Production: | | | |
| Tirozinaze-Tyrosinase | - | - | + |
| Korišćenje- Utilization | | | |
| Tartarata-Tartrate | - | - | + |

*CFBP 11 kontrolni soj *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

*CFBP 2119 check strain *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*

**CFBP 2119 kontrolni soj *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*

**CFBP 2119 check strain of *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*

+ pozitivan rezultat; - negativan rezultat

+ positive result; - negative results

Imajući u vidu rezultate testova patogenosti, i biohemijskih testova smatramo da nekrozu plodova višnje sorte Keleris 14, prouzrokuje bakterija *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

DISKUSIJA

Fitopatogena bakterija *Pseudomonas syringae* je veoma rasprostranjen i ekonomski štetan patogen voćaka širom sveta (Little et al., 1998; Kenelly et al., 2007; Renick et al., 2008). U našoj zemlji ova bakterija parazitira krušku, jabuku, malinu, kajsiju, šljivu, višnju, trešnju i breskvu, a simptomi bolesti se ispoljavaju u vidu paleži cvasti, nekroze pupoljaka i plodova, nekroze grana na kojima se obrazuju rak rane, plamenjače mladara i sl. (Gavrilović, 2006; Obradović et al., 2008; Gavrilović, 2009). Velike štete koje bakterija posljednjih godina

prouzrokuje na plodovima nekih sorata višnje, su nas podstakle da preduzmemo istraživanja u cilju što boljeg poznavanja ove bakterije, strukture njene populacije u Srbiji, njene epidemiologije i razrade mera uspešnog suzbijanja.

Sojevi ove bakterije identičnih patogenih i biohemijskih odlika izolovani su i ranije sa plodova višnje Hajmanova konzervna i Hajmanov rubin na području zapadne i jugoistočne Srbije (područja Šapca i Leskovca). Masovna pojava bolesti je takođe usledila tokom izrazito vlažnog perioda u maju i junu mesecu. Tada je takođe zaključeno na osnovu karakteristika izolata, da je bakterija *P.s. pv. syringae* prouzrokovatelj ovog oboljenja (Gavrilović, 2006). Ipak, konačni sud o prirodi prouzrokovatelja bolesti se ne može doneti samo na osnovu simptoma, pošto i neke fitopatogene gljive (*Phoma sp.*, *Colletotrichum spp.*), mogu na plodovima višnje prouzrokovati veoma slične simptome (Arsenijević, 1984; Gavrilović and Arsenijević, 2006).

Ova istraživanja su pokazala da postoji osetljivost različitih sorata višnje prema ovom patogenu, što je od velikog značaja za razradu mera njenog suzbijanja. Posebno je značajno što se prema bakteriji, pri veštačkim inokulacijama, otpornom pokazala autohtona sorta Oblačinaska višnja koja se u Srbiji gaji na velikim površinama i ima veliki ekonomski značaj. Takođe, u regionima zapadne i jugoistočne Srbije gde je ranije uočena bakteriozna nekroza plodova nekih sorata višnje, simptomi bolesti nisu primećeni na plodovima ove sorte (Gavrilović, 2006).

Rezultati testova patogenosti ukazuju da se oni mogu koristiti za diferencijaciju patogenih varijeteta *P. syringae* (tab 1). Diferencijalnim se sa velikom pouzdanošću mogu koristiti testovi veštačkih inokulacija plodova kruške, limuna i listova jorgovana. Međutim, iako oba patogena varijeteta prouzrokuju nekroze inokulisanih plodova trešnje, između tipova nekroze postoje jasne razlike. Patogeni varijetet *syringae* prouzrokuje izražanije nekroze tamnije boje i ulegnute, nasuprot patogenom varijetetu *morsprunorum* koji na inokulisanim plodovima trešnje prouzrokuje svetlo mrke površinske pege. Pogodnost testova patogenosti za diferenciranje varijeteta *P.syringae* ističu i drugi autori (Gavrilović, 2006; Bultreys and Kaluzna 2009; Kaluzna and Sobiczewski, 2009; Gilbert et al., 2010).

Od biohemijskih testova za diferencijaciju patogenih varijeteta *P. syringae*, pouzdanim su se pokazali GATT testovi (hidroliza želatina, eskulina, stvaranje tirozinaze i metabolizam tartarata). Proučavani sojevi hidrolizuju želatin i eskulin ali ne stvaraju tirozinazu i ne metabolišu tartarate (Tabela 2). Nasuprot njima kontrolni soj *P.s. pv. morsprunorum* ne hidrolizuje želatin i eskulin ali stvara tirozinazu i metaboliše tartarate. O pouzdanosti ovih testova pri diferencijaciji varijeteta *P. syringae* nalazimo brojne podatke u literaturi (Lattore and Jones, 1979; Burkowicz and Rudolph, 1994; Gavrilović, 2006; Gavrilović et al., 2008; Kaluzna et al., 2010).

Ipak, detaljnija slika o strukturi populacije ove bakterije izolovane iz nekrotičnih plodova višnje, može se dobiti samo primenom molekularnih metoda. Dosadašnja proučavanja populacije *P. syringae* korišćenjem BOX i REP PCR metoda pokazuju izrazitu heterogenost sojeva poreklom sa voćaka u zavisnosti od domaćina, ali i lokaliteta sa kog su izolovani, kao i u pogledu posedovanja gena za stvaranja siringomicina (Ivanović et al., 2009; Ivanović, 2011). Stoga će proučavanje izolata *P. syringae* poreklom iz nekrozom zahvaćenih plodova višnje (Kelleris 14) biti nastavljeno primenom molekularnih metoda radi što detaljnijeg upoznavanja populacije ove bakterije, što bi bilo od velikog značaja za razradu mera suzbijanja.

Rezultati ovih proučavanja potvrđuju prethodna saznanja da je *P. syringae* ekonomski sve značajniji patogen voćaka u Srbiji i da ispoljava tendenciju širenja. Stoga je, radi dobijanja sveobuhvatne slike o njenom prisustvu potrebno nastaviti sa proučavanjem njenih bioloških karakteristika, utvrđivanja spektra domaćina, osetljivosti sorata prema patogenu i uticaju ekoloških uslova na njen razvoj. Prisustvo epifitne populacije bakterije i njena sezonska dinamika, što je od velikog značaja u proučavanju epidemiologije patogena i razrade mera suzbijanja, biće predmet budućih istraživanja (Renick et al., 2008).

ZAHVALNICA

Rad je realizovan u okviru Projekta TP 31018 Ministarstva za prosvetu i nauku Republike Srbije.

LITERATURA

- Arsenijević, M. (1984): *Glomerela cingulata* (Ston) Spauld et Schrenk (konidijski stadijum *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.&Sacc.) kao parazit plodova višnje. Jugoslovensko voćarstvo, 69-70: 45-49.
- Bultreys A., Kaluzna M. (2010): Bacterial cankers caused by *Pseudomonas syringae* on stone fruit species with special emphasis on the pathovars *syringae* and *morsprunosrum* race 1 and race 2. Journal of Plant Pathology, 92: (1, Supplement): 21-33.
- Brown-Kiewnick, A. and Sands D.C. (2001): *Pseudomonas*. In: Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. (Eds. N. Schaad, J. B. Jones, and W.Chun), 84-117. APS PRESS The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Burkowicz, A and Rudolph, K. (1994): Evaluation of pathogenicity and of cultural and biochemical tests for identification of *Pseudomonas syringae* pathovars *syringae*, *morsprunorum* and *persicae* from fruit trees. J. Phytopathology, 141: 59-76.
- Endert Elke, Ritchie, D. F. (1984): Detection of pathogenicity, measurement of virulence, and determination of strain variation in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Plant Disease, 68: 677-680.
- Gavrilović, V. (2006): Patogene i biohemijsko fiziološke karakteristike bakterija roda *Pseudomonas* parazita voćaka, Zaštita bilja, 255-258, 5-55.
- Gavrilović, V. Arsenijević, M. (2006): Tissue necrosis of od sour cherry, an unusual disease occurrence caused by *Phoma* sp. in Serbia. Plant Disease, 90, 680.
- Gavrilović V., Živković S., Trkulja N., Ivanović M. (2008): Karakteristike sojeva bakterije roda *Pseudomonas* izolovanih iz obolelih grana šljive. Pestic. Phytomed., 23, 25-31, 2008.
- Gilbert V., Planchon V., Legros, F., Maraite H., Bultreys A. (2010): Pathogenicity and aggressiveness in populations of *Pseudomonas syringae* from Belgian fruits orchards. European Journal of Plant Pathology, 126: 263-277.
- Ivanović, Ž., Živković, S., Starović, M., Jošić, D. , Stanković, S., and Gavrilović V. (2009) : Diversity among *Pseudomonas syringae* strains originating from fruit trees in Serbia. Archives of Biological Science, 61 (4): 863-870.
- Ivanović, Ž. (2011): Molekularna karakterizacija prirodnih izolata bakterije *Pseudomonas syringae* i identifikacija agenasa za njihovu biološku kontrolu. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Biološki fakultet pp.105.
- Kaluzna M., Sobiczewski, P. (2009). Virulence of *Pseudomonas syringae* pathovars and races originating from stone fruits trees. Phytopathologia, 54: 71-79.

- Kalužna, M., Ferrante, P., Sobiczewski, P., Scortichini, M. (2010): Characterization and genetic diversity of *Pseudomonas syringae* isolates from stone fruits and hazelnut using repetitive-PCR and MLST. *Journal of Plant Pathology*, 92: 781-787.
- Kenelly, M., K., Cazorla, F., M., deVicente, A., Ramos, C., and Sundin, G.,W. (2007): *Pseudomonas syringae* disease of fruit trees. Progress toward understanding and control. *Plant Disease*: 91, 4-17.
- King E.O., Ward, W.K., Raney D.E. (1954): Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 44: 301-307.
- Latorre, B., A., and Jones A.L. (1979) : *Pseudomonas morsprunorum*, the Cause of Bacterial Canker of Sour Cherry in Michigan, and its Epiphytic Association with *P. syringae*. *Phytopathology*. 69, 335-339.
- Lelliott, R.A., Billing, Eve, Hayward, A.C.: (1966): A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic Pseudomonads. *J.Appl. Bact.* 29: 470-489.
- Litle, E., L., Bostock, R., M., and Kirkpatrick, B., C. (1998): Characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* Strains from Stone Fruits in California *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 3818-3823..
- Obradović, A., Gavrilović, V., Ivanović, M. And Gašić, K. (2008): *Pseudomonas* blight of raspberry in Serbia. In: Fatmi, B., Collmer, A., Iacobellis, N.S., Mansfield, J.W, Murill, J., Schaad, N.W, and Ullrich, M. (Eds): *Pseudomonas syringae* pathogens and related pathogens. 413-417, 2008.
- Renick L.J., Cogal, A.G., Sundin, G.W. (2008). Phenotypic and genetic analysis of epiphytic *Pseudomonas syringae* population from sweet cherry in Michigan. *Plant Disease* 92: 372-378.
- Rudolph K., Roy M.A., Sasser M., Stead D.E., Davis M., Swings J., Gossele F.,(1990). Isolation of bacteria. *Methods in Phytobacteriology*. pp 43-94. Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary.
- Scortichini, M., Marchesi, U., Dettori, M., T., and Rossi, M.P. (2003): Genetic diversity, presence of *syrB* gene, host preference and virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains from woody and herbaceous host plants. *Plant Pathology* 82: 277-286.
- Sredojević, Z. (2011): Ekonomska evaluacija proizvodnje trešnje i višnje u Srbiji. Inovacije u voćarstvu. III Savetovanje. Poljoprivredni fakultet Beograd, 5-21.
- Rudolph K., Roy M.A., Sasser M., Stead D.E., Davis M., Swings J., Gossele F. (1990): Isolation of bacteria. *Methods in Phytobacteriology*, pp. 43-94. Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary.

(Primljeno: 22.12.2011.)

(Prihvaćeno: 27.01.2012.)

ETIOLOGICAL STUDY OF SOUR CHERRY FRUITS BACTERIAL NECROSIS IN SOUTH BANAT

VELJKO GAVRILOVIĆ*, ŽARKO IVANOVIĆ, SVETLANA ŽIVKOVIĆ,
DOBRIVOJ POŠTIĆ, MILOŠ STEVANOVIĆ, NENAD TRKULJA
Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia
*e-mail: vgavrilo@yahoo.com

SUMMARY

Characteristics of pathogenic *Pseudomonas* bacterial strains isolated from necrotic sour cherry fruits (Kelleris 14) in region of south Banat. First symptoms of disease appeared as dark green wet spot. Later on it turns to brown or black sunken necrosis. During rainy spring percent of affected fruits reached up 60-80.

Gram negative, fluorescent, oxidative bacterial strains were isolated from the margin of necrotic tissue. All investigated strains are levan and HR positive, while negative results are recorded in oxidase, pectinase and arginin dihydrolase tests (LOPAT+- - - +). Investigated strains cause severe necrosis of artificially sour cherry fruits (Kelleris 14) as well as necroses on artificially inoculated cherry, pear and lemon fruits, lilac leaves and bean pods. Positive results were recorded in gelatin and aesculin hydrolysis tests while, tyrosinase and tartrate tests were negative (typical characteristics of *P.s. pv.syringae*). According the obtained results it was concluded that severe necrosis of sour cherry fruits (Kelleris 14) in South Banat is caused by *Pseudomonas syringae* pv *syringae*

Key words: sour cherry, fruit necrosis, *Pseudomonas syringae*, pathogenicity, GATT tests.

(Received: 22.12.2011.)

(Accepted: 27.01.2012.)

***SYNANTHEDON RUBROCIINGULATA* SP. N. – A NEW SPECIES OF CLEARWING MOTHS FROM NORTH-WESTERN PAKISTAN (LEPIDOPTERA, SESIIDAE)**

IVO TOŠEVSKI*

Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia

*e-mail: tosevski_ivo@yahoo.com

A new species, *Synanthedon rubrocingulata* sp. n., is described. It is similar to the West Palearctic species *Synanthedon stomoxyformis* (Hübner, 1790). The new species is collected in north-western Pakistan, Chitral province using pheromone trap. Bionomics and host plant are unknown.

Key words: *Synanthedon rubrocingulata* sp. n., Sesiidae, Lepidoptera, Chitral, Pakistan.

INTRODUCTION

The genus *Synanthedon* (sensu auctorum) comprises an extensive group of clearwing moths which inhabit practically all zoogeographic regions. It includes mainly xylophagous species and so far represents the most species-rich genus within family of clearwing moths. Within Palearctic fauna, most of the members of this genus can be placed into species groups partly containing large numbers of closely related species which are often found only in small distribution ranges, suggesting relatively recent species radiations (Kallies, 2003). While the rhizophagous genera from the tribe Synanthedonini Niculescu 1964 are mainly well defined monophyletic groups, the genus *Synanthedon* in the present concept, is likely to be paraphyletic (Lastuvka 1992, Kallies 2003). In most cases, Palearctic *Synanthedon* species can be differentiated clearly by external and genitalic characters.

A comprehensive study of strictly allopatric species from *S. culiciformis* group gave new insights into species radiation within some group species from the genus

Synanthedon (Kallies, 2003). The Holarctic *Synanthedon culiciformis* shows circumpolar distribution with records from all over Palearctic and west part of North America, while closely related species south-western Caspian *S. talishensis* and the south Anatolian *S. pamphyla* are restricted to the Talish, south of the Caspian Sea and to the southern Toros Mts of Anatolia, respectively (Kallies 2003). In addition, Kallies, 2003, assumed that glacial oscillations and geographic separation may lead to differentiation of the particular populations inside narrow geographic range, supporting this statement with significant genetic divergence between them. In this paper we describe new species from North West Pakistan which is related with red-banded species group from the genus *Synanthedon*.

***Synanthedon rubrocingulata* sp. n.**

M a t e r i a l. Holotypus, male, North West Pakistan, Chitral, Kalam, 2500 m, 1.07.2006, lgt. Jerome Pages., in collection of MNHN (Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France)

Description of holotype, (Picture 1). Alar expanse 32 mm, body length 18 mm, forewing length 14 mm, antenna 10 mm.



Picture 1 – *Synanthedon rubrocingulata* sp. n., Holotypus, North West Pakistan, Chitral, Kalam, 2500 m, 1.07.2006, lgt. Jérôme Pagés.

Slika 1 – *Synanthedon rubrocingulata* sp. n., Holotip, Severozapadni Pakistan, Čitral, Kalam, 2500 m, 1.07.2006, lgt. Jérôme Pagés.

Antenna: black with blue sheen. Head: black almost throughout; frons black, pericephalic scales black, posteriorly gray-brown; labial palpus black.

Thorax: black with orange-red scapular spot; mesothorax with black-grayish hairlike scales dorso-laterally. Legs: entirely black with discrete bluish sheen;

Abdomen: black with discrete blue sheen; tergites 2, 4, 6 and 7 dorsally with a wide red orange band along posterior margin, laterally with orange red spots; tergites 3 and 5 with a broad orange-red posterior margin; sternites 2-7 entirely orange-red; anal tuft completely black.

Forewing: black with transparent areas well-developed; discal spot of the forewing black, relatively large, a bit longer than wide; ATA (anterior transparent area) entirely transparent reaching discal spot; PTA (posterior transparent area) well-developed, transparent, reaching under discal spot; ETA (external transparent area) elongated round, relatively large, about twice broader than discal spot, divided into five transparent cells; apical area black; veins, costal and anal margins dorsally and ventrally black; fringe black.

Hindwing: transparent with black with relatively narrow discal spot which reaches M₃; ventrally basal portion of the costal margin black with scarce orange scales.

Genitalia of the holotype (Picture 2). Scopula androconialis large, well developed; gnathos distinct with all three crista well developed; crista medialis of the gnathos is as twice as broad than lateral crista, distally ending rectangular to its ventral margin. Valva trapeziform, with long and somewhat raised crista sacculi, obliquely situated, nearly reaching 1/2 of valva length, slightly hook-shaped apically. Aedeagus bulbous basally, as long as valva length.

Differential diagnosis: *S. rubrocingulata* sp. n. is very distinct species possessing red banded abdominal segments. Habitually the newly described species is similar to *S. stomoxiformis*, which possesses only single red band on 4th abdominal tergite. The difference on genital morphology are even more distinct, with crista medialis of the gnathos which is significantly narrow comparing well developed and broad in *S. rubrocingulata* sp.n. Topology of crista sacculi is also distinct. In *S. tomoxiformis*, crista sacculi forming a slightly convex twisted line reaching nearly apex valvae, while in *S. rubrocingulata* sp.n. crista sacculi is oblique situated reaching 1/2 of valva length.

Bionomics. The single specimen (holotypus) of the new species has been collected using commercial pheromone traps (Wageningen, Netherlands) The life cycle is probably biannual due to fact that species inhabit altitudes over 2500m. The host plant and biology is unknown.

Etymology. The new species is named after distinct red bands on the abdominal segments.



Picture 2 - *Synanthedon rubrocingulata* sp. n., male genitalia: aedeagus (left), uncus-tegumen (middle), valva (right).

Slika 2 - *Synanthedon rubrocingulata* sp. n., genitalije mužjaka: aedeagus (levo), uncus-tegumen (sredina), valva (desno).

REFERENCES

- Kallies, A. (2003): *Synanthedon pamphyla* sp. n. from southern Turkey with a comparative analysis of mitochondrial DNA of related species (Sesiidae). *Nota lepidopterologica* 26 (1/2), 35–46.
- Laštůvka, Z. (1992): Zur Systematik der paläarktischen Gattungen der Tribus *Synanthedonini*. 1. Morphologie und Klassifikation (Lepidoptera, Sesiidae). *Acta Universitatis Agricolae, Brno (A)* 38(1990), 221–233.
- Špatenka, K., Gorbunov, O.G., Laštůvka, Z., Toševski, I., Arita, Y. (1999): Sesiidae – Clearwing Moths. In: C. M. Naumann (ed.), *Handbook of Palearctic Macrolepidoptera*. Vol. 1, 569 pp. – Gem Publishing, Company, Wallingford, England.

(Received: 10.05.2011.)

(Accepted: 17.06.2011.)

SYNANTHEDON RUBROCIINGULATA SP. N. – NOVA VRSTA STAKLOKRILCA (LEPIDOPTERA, SESIIDAE) IZ SEVEROZAPADNOG PAKISTANA

IVO TOŠEVSKI*

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd, Srbija

*e-mail: tosevski_ivo@yahoo.com

REZIME

U ovom radu prikazan je opis vrste *Synanthedon rubrocingulata* sp. n. Novoopisana vrsta je slična vrsti *S. stomoxyformis* (Hübner, 1790) iz zapadnog Palearktika. Nova vrsta je ulovljena na feromonske klopke u Čitral provinciji (severno-zapadni Pakistan). Biologija i biljka domaćin novoopisane vrste je nepoznata.

Ključne reči: *Synanthedon rubrocingulata*, Sesiidae, Lepidoptera, Chitral, Pakistan.

(Primljeno: 10.05.2011.)

(Prihvaćeno: 17.06.2011.)

Zaštita bilja
Vol. 62 (2), № 276, 135-146, 2011, Beograd

UDK: 635.21.073
631.543
Naučni rad

UTICAJ POREKLA SADNOG MATERIJALA I VELIČINE SEMENSKE KRTOLE NA PRODUKTIVNE OSOBINE KROMPIRA

DOBRIVOJ POŠTIĆ *¹, NEBOJŠA MOMIROVIĆ²,
ŽELJKO DOLIJANOVIĆ², ZORAN BROČIĆ², RATIBOR ŠTRBANOVIĆ¹,
TATJANA POPOVIĆ¹, VELJKO GAVRILOVIĆ¹

¹Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd, Srbija

²Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun, Srbija

*e-mail: pdobrivoj@yahoo.com

Cilj rada je bio da se utvrdi uticaj porekla sadnog materijala i veličine semenske krtole na produktivne osobine četiri najčešće gajene sorte krompira Cleopatra, Jaerla, Desiree i Kennebec u uslovima zapadne Srbije (Mačve). Proizvodnja sadnog materijala krompira izvedena je 2006. godine u dva lokaliteta različite nadmorske visine (nv): ravničarskom 72m i planinskom regionu 1100m (nv). Ocena prisustva dva i najraširenija virusa krompira u našim uslovima (PYV) i (PLRV) izvršeno je ELISA testom. Istraživanja su izvedena sadnjom semenskih krtola mase $50 \pm 5g$, $70 \pm 5g$, $90 \pm 5g$ i $110 \pm 5g$ tokom 2007. godine.

Najveći ukupan prinos krtola od $36,10 t/ha^{-1}$ ostvarila je rana sorta Cleopatra na varijantama gde je sadena najkrupnija frakcije (110g) poreklo sa planinskog područja. Veći prinosi krtola krompira u uslovima prirodnog vodnog režima zapadne Srbije (Mačve) postižu se sadnjom zdravih semenskih krtola veće mase poreklom sa ravničarskog regiona i sorti kraće vegetacije.

Ključne reči: Poreklo sadnog materijala, krtola, prinos, virusi krompira

UVOD

Poreklo sadnog materijala, odnosno nadmorska visina i agroekološki uslovi proizvodnje određuju vigor semenskih krtola (Beukema & van der Zaag, 1990; Poštić i sar., 2009) koji igra odlučujuću ulogu u rastu i razvoju useva krompira (Ewing, 1981).

Na većim nadmorskim visinama veći je intenzitet svetlosti (Van der Zaag, 1992), veća je iskorišćenost sunčevog zračenja (Pereira et al., 2008), izmenjeni spektralni sastav svetlosti (Bročić i sar., 2002), niže dnevne temperature vazduha i zemljišta odlažu zrenje i produžavaju vegetaciju što pogoduju za dobijanje semena dobre biološke sposobnosti odnosno fiziološki mlađih krtola. Na većim nadmorskim visinama formiraju se fiziološki "mlađe" krtole koje niču sporije, formiraju manje stabala po semenskoj krtoli, kasnija je inicijacija i tuberizacija krtola, kasnije sazrevanje i veći prinos kada se gaje do pune zrelosti (Iritani & Thorton, 1984, Struik, 2007).

Na manjim nadmorskim visinama slabiji je intenzitet svetlosti (Van der Zaag, 1992), efekat iskorišćavanja sunčevog zračenja je manji zbog viših temperatura (He et al., 1998) vazduha i zemljišta koji ubrzavaju zrenje i skraćuju vegetaciju useva krompira. Nizak intenzitet svetlosti favorizuje izduživanje stabla, smanjuje i debljinu lista (Burton, 1989) zajedno sa višim temperaturama (Reust, 1982) skraćuju trajanje dormancije (Van Ittersum, 1992), jer utiču da biljke sintetišu veće količine hormona rasta giberalina i citokinina (Van der Plas, 1987; Ewing & Struik, 1992). Uslovi proizvodnje useva krompira tokom vegetacije koji mogu smanjiti biološku sposobnost krtola, odnosno povećati fiziološku starost krtola su toplo vreme, svetla (peskovita) zemljišta, niska vlažnost (Karafyllidis et al., 1991) i plodnost (N) zemljišta (Sturz et al., 2000; Lamont, 2002; Johnson, 2004). Dakle uslovi proizvodnje utiču na osobine semenskih krtola koje utiču na broj klica i primarnih nadzemnih izdanaka (Wurr et al., 2001). Na manjim nadmorskim visinama obrazuju se fiziološki »starije« krtole koje niču brže, brži je rani razvoj, obrazuje više stabala po biljci, inicijacija krtola je brža i veći je rani prinos, (Iritani & Thorton, 1984; Grice, 1993).

Masa matične krtole je važna osobina i merljiva komponenta kvaliteta semena krompira koja utiče na biološku sposobnost krtola (Poštić i sar., 2011a) od koje direktno zavisi stepen razvoja klica, broj klica po krtoli i vigor (Beukema and van der Zaag, 1990; Poštić i sar., 2012a), razvoj useva u polju i broj primarnih nadzemnih izdanaka (PNI) po biljci (Van der Zaag, 1992; Khan et al., 2004; Poštić i sar., 2012a). Broj PNI po biljci značajno utiče na razvoj nadzemne mase odnosno asimilacione površine (Van der Zaag, 1992; Struik, 2007), broj zametnutih krtola po biljci, odnosno ukupan prinos krtola (Khan et al., 2004; Poštić i sar., 2012a).

Istraživanja obuhvaćena ovim radom sprovedena sa ciljem utvrđivanja uticaja različitog porekla sadnog materijala krompira na prinos i pronalazjenja optimalne veličine semenske krtole koja će u agroekološkim uslovima prirodnog vodnog režima zapadne Srbije (Mačve) dati najveći ukupan prinos krtola krompira.

MATERIJAL I METODE

Istraživanja uticaja porekla sadnog materijala i veličine semenske krtole na produktivne osobine krompira izvedena su sa četiri sorte Cleopatra, Jaerla, Desiree i Kennebec tokom 2007. godine na lokalitetu zapadne Srbije (selo Badovinci, KO Bogatić), na zemljištu tipa recentnog aluvijalnog nanosa (tabela 1).

Tabela 1 - Osobine zemljišta na oglednom polju

Table 1 - Properties of soil at the experimental plot

| Dubina (Depth) (cm) | pH | | CaCO ₃ (%) | Humus (%) | Zemljište (Soil) mg /100g | |
|------------------------|------------------|------|--------------------------|--------------|-------------------------------|------------------|
| | H ₂ O | nKCL | | | P ₂ O ₅ | K ₂ O |
| 0-40 | 6,85 | 6,45 | 0,00 | 2,44 | 13,94 | 15,00 |

Proizvodnja sadnog materijala četiri sorte krompira izvedena je 2006. godine u dva lokaliteta različite (nv): ravničarskom 72m i planinskom regionu 1100m (nv). Dobijen sadni materijal semenske frakcije 35-55mm je kalibriranjem podeljen u četiri veličine prema masi: $50 \pm 5g$, $70 \pm 5g$, $90 \pm 5g$ i $110 \pm 5g$. Vizuelnom metodom ocenjivana je zdravstvena ispravnost uzoraka sadnog materijala krompira na prisustvo bakterija, gljiva i štetočina. Prisustvo dva najdestruktivnija i najraširenija virusa u našim uslovima, i to virusa crtičastog mozaika (PVY) i virusa uvijenosti lišća (PLRV) krompira izvršeno je enzimskom imunoapsorpcionom metodom ELISA (Clark and Adams, 1977). Formirani uzorci čuvani su tokom zime u mraku u uslovima ($t=2-4^{\circ}C$, $RH=95\%$). Polovinom februara uzorci su stavljeni na naklijavanje standardnom evropskom metodom (Poštić i sar. 2009). Poljski mikroogledi postavljeni su kao trofaktorijalni metodom podeljenih parcela, u četiri ponavljanja. Sadnja krtola krompira je izvedena ručno u prvoj dekadi aprila. Tokom vegetacije primenjene su agrotehničke mere koje spadaju u standardnu tehnologiju gajenja krompira. Ručno vađenje krompira obavljeno je u prvoj dekadi septembra, nakon potpunog sazrevanja cime. Ocenjivane su sledeće produktivne osobine krompira: broj krtola po biljci, prosečna masa krtole po biljci i ukupan prinos krtola.

Rezultati istraživanja obrađeni su metodom trofaktorijalne analize varijance (ANOVA) korištenjem statističkog paketa Statistics 5.5 (Windows, analitički

softver), a ocena razlika između srednjih vrijednosti urađena je LSD testom. Meteorološki podaci tokom izvođenja ogleda prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2 - Meteorološki uslovi tokom vegetacije krompira 2007. godine i višegodišnji podaci (1975-2006) za područje zapadne Srbije

Table 2 - Meteorological conditions during the potato growing season 2007 year and longtherm data (1975-2006) for the area western Serbia

| Godina (Year) | Mesec (Month) | | | | | Prosek (Average) |
|---|------------------|--------------|--------------|---------------|--------------------|---------------------|
| | April (April) | Maj (May) | Jun (Jun) | Jul (July) | Avgust (August) | |
| Temperatura vazduha (Air temperature) (°C) | | | | | | |
| 2007 | 13.0 | 18.5 | 22.0 | 22.6 | 22.3 | 19.68 |
| 1975-2006 | 11.1 | 16.7 | 19.9 | 20.9 | 20.7 | 17.86 |
| Količina padavina (Amount precipitation) (mm) | | | | | | Ukupno (Total) |
| 2007 | 0 | 79.0 | 75.2 | 38.7 | 62.5 | |
| 1975-2006 | 48.5 | 53.4 | 81.9 | 63.3 | 46.8 | 293.9 |

REZULTATI

Analiza broja krtola po biljci godini pokazala statistički vrlo značajne razlike pod uticajem porekla sadnog materijala faktor (A), veličine semenske krtole faktor (B) i sorte faktor (C), (tabela 3). Vrlo značajna odstupanja dobijena su u pogledu broja krtola po biljci kod međusobnog uticaja porekla sadnog materijala i veličine semenske krtole, veličine semenske krtole i sorte i interakcije drugog reda. Broj krtola po biljci po pravilu najveći je kod najkrupnije frakcije 110g i opada sa smanjenjem veličine matične krtole kod svih ispitivanih sorti poreklom sa lokaliteta 72m nv., dok je primećeno odstupanje kod sorte Desiree poreklom sa lokaliteta 1100m nv. da se najveći broj krtola po biljci formira sađenjem frakcija od 90g.

Prosečno najveći broj krtola po biljci (6,98) sorta Cleopatra (tabela 3), dok je najmanje formirala sorta Jaerla (5,52). Biljke ispitivanih sorti su formirale vrlo značajno veći broj krtola po biljci sađenjem matičnih krtola poreklom sa 72m nv. u odnosu na biljke razvijene iz sađenih krtola poreklom sa lokaliteta 1100m nv. Sađenjem krtola poreklom sa 72m nv. dobijen je prosečan broj krtola po biljci od (6,67), bio je vrlo značajno veći u odnosu na (5,79) ostvaren sađenjem krtola poreklom sa lokaliteta 1100m nv.

Tabela 3 - Prosečan broj krtola po biljci u 2007. godini**Table 3** - Average tuber number per plant in 2007 years

| Veličina semenske krtole(B) (Seed size) | Sorta (Cultivar) (C) | | | | | | | | | | | | Veličina sem. krtole X (B) (Seed size) |
|---|---|------|------|--------|------|------|---------|------|-----------|----------|------|------|--|
| | Cleopatra | | | Jaerla | | | Desiree | | | Kennebec | | | |
| | Poreklo sadnog materijala (Origin of planting material) (m) (A) | | | | | | | | | | | | |
| | 72 | 1100 | X(C) | 72 | 1100 | X(C) | 72 | 1100 | X(C) | 72 | 1100 | X(C) | |
| 110g | 9.05 | 7.30 | 8.17 | 6.10 | 6.22 | 6.16 | 8.02 | 6.57 | 7.29 | 7.62 | 5.45 | 6.53 | 7.05 |
| 90g | 7.27 | 6.72 | 6.99 | 5.75 | 5.37 | 5.56 | 6.52 | 6.80 | 6.66 | 6.75 | 4.95 | 5.85 | 6.26 |
| 70g | 6.70 | 6.40 | 6.55 | 5.90 | 4.90 | 5.40 | 7.05 | 6.66 | 6.85 | 6.15 | 4.97 | 5.56 | 6.09 |
| 50g | 6.67 | 5.72 | 6.19 | 5.17 | 4.72 | 4.94 | 5.92 | 5.43 | 5.67 | 6.07 | 4.52 | 5.29 | 5.52 |
| X(B) | 7.42 | 6.53 | 6.98 | 5.73 | 5.30 | 5.52 | 6.88 | 6.36 | 6.62 | 6.65 | 4.97 | 5.81 | 6.23 |
| LSD _{0.05} | A | | B | C | AB | AC | BC | ABC | X (m) (A) | | | | |
| LSD _{0.01} | 0.21 | | 0.28 | 0.30 | 0.59 | 0.42 | 0.41 | 0.84 | 72 | | 1100 | | |
| | 0.36 | | 0.49 | 0.51 | 1.01 | 0.72 | 0.71 | 1.43 | 6.67 | | 5.79 | | |

Analiza prosečne mase krtole po biljci (tabela 4) pokazala je vrlo značajne razlike pod uticajem porekla sadnog materijala i sorte, i svih međusobnih interakcija ispitivanih faktora (A x B), (A x C), (B x C) i interakcije drugog reda (A x B x C). Vrlo značajna odstupanja dobijena su u pogledu prosečne mase krtola pod uticaje veličine semenske krtole. Sađenjem krtola različite veličine dobijaju se statistički značajne razlike u okviru jedne sorte. Razlike se kreću u intervalu od 29g kod sorte Kenebec do 7g kod sorti Jaerla i Cleopatra poreklom sa lokaliteta 72m nv. Prosečna masa krtole po biljci nije opadala sa smanjenjem veličine sadene semenske krtole. Sorte Cleopatra i Desiree na varijantama posađenim iz krtola poreklom sa lokaliteta 1100m nv. ostvarile najveću prosečnu masu krtole sađenjem krtola frakcije (110g), u svim ostalim varijantama najveću prosečnu masu krtole ostvarile sitnije frakcije. Sorte Cleopatra i Kennebec sađenjem krtola poreklom sa lokaliteta 1100m nv. postigle su vrlo značajno veću za 36g odnosno 21g prosečnu masu krtole po biljci u odnosu na biljke obrazovane iz krtola poreklom sa lokaliteta 72m nv., dok je kod sorti Jaerla i Desiree bila obrnuta situacija i postignuta neznatno veća prosečna masa krtola po biljci za 2-3g. Najveću prosečnu masu krtole po biljci ostvarila je sorta Kennebec (94g), dok je najmanju postigla sorta Desiree (68g). Biljke formirane iz krtola poreklom sa lokaliteta 1100 m nv. obrazovale prosečno značajno veću masu krtole za (13g) u odnosu na biljke formirane iz krtola poreklom sa lokaliteta 72m nv.

Tabela 4 - Prosečna masa krtole (g) po biljci u 2007. godini**Table 4** - Average tuber mass (g) per plant in 2007 years

| Veličina semenske krtole (B) (Seed size) | Sorta (Cultivar) (C) | | | | | | | | | | | | Veličina sem. krtole X (B)(Seed size) |
|---|---|----------|------|----------|-------|----------|---------|-------|-----------|----------|------|------|--|
| | Cleopatra | | | Jaerla | | | Desiree | | | Kennebec | | | |
| | Poreklo sadnog materijala (Origin of planting material) (m) (A) | | | | | | | | | | | | |
| | 72 | 1100X(C) | 72 | 1100X(C) | 72 | 1100X(C) | 72 | 1100 | X(C) | 72 | 1100 | X(C) | |
| 110g | 64 | 104 | 84 | 84 | 76 | 80 | 64 | 74 | 69 | 64 | 109 | 86 | 80 |
| 90g | 66 | 101 | 83 | 88 | 84 | 86 | 68 | 69 | 68 | 87 | 110 | 98 | 84 |
| 70g | 59 | 88 | 73 | 91 | 89 | 90 | 71 | 61 | 66 | 93 | 101 | 97 | 82 |
| 50g | 50 | 90 | 70 | 90 | 96 | 93 | 78 | 66 | 72 | 90 | 97 | 93 | 82 |
| X(B) | 60 | 96 | 78 | 88 | 86 | 87 | 70 | 67 | 68 | 83 | 104 | 94 | 82 |
| | | A | B | C | AB | AC | BC | ABC | X (m) (A) | | | | |
| LSD _{0,05} | | 3.14 | 4.41 | 4.44 | 6.26 | 6.29 | 8.89 | 12.57 | 72 | 1100 | | | |
| LSD _{0,01} | | 5.38 | 7.57 | 7.60 | 10.72 | 10.75 | 15.21 | 21.50 | 75 | 88 | | | |

Analiza ukupnog prinosa krtola (tabela 5) pokazala je vrlo značajne razlike pod uticajem veličine semenske krtole i sorte i međusobnih interakcija svih ispitivanih faktora prvog reda (A x B) (A x C), (B x C), i drugo reda (A x B x C). Vrlo značajna odstupanja dobijena su u pogledu ukupnog prinosa krtola pod uticajem porekla sadnog materijala faktor (A). Sađenjem najkrupnije semenske frakcije (110g) postiže se najveći ukupan prinos krtola, i prinos opada sa sađenjem krtola manje veličine. Do odstupanja od ovog pravila došlo je u dva slučaja kada je najveći prinos krtola dobijen sađenjem krtola mase 70g i 90g poreklom sa lokaliteta 72m nv. kod sorti Jaerla i Kennebec. Najveći ukupan prinos krtola krompira ostvarila je sorta Cleopatra (25,5 t/ha⁻¹), dok je najmanji (21,4 t/ha⁻¹) postigla sorta Desiree.

Samo je sorta Cleopatra na varijantama gde su sađene krtole poreklom sa 1100m nv. ostvarila veći prinos krtola, dok su sorte Jaerla, Desiree i Kennebec sađenjem krtola poreklom sa lokaliteta 72m nv. postigle veći ukupan prinos krtola. Prosečno veći ukupan prinos krtola za (0,70 t/ha⁻¹) ostvaren je sađenjem krtola poreklom sa lokaliteta 1100m nv. u odnosu na varijante gde su sađene krtole poreklom sa lokaliteta 72m nv.

Tabela 5 - Ukupan prinos krtola (t/ha^{-1}) u 2007. godini**Table 5** - Total yields of (t/ha^{-1}) in 2007 years

| Veličina semenske krtole(B) (Seed size) | Sorta (Cultivar) (C) | | | | | | | | Veličina semenske krtole X (B) (Seed size) | | | | |
|---|----------------------|-----------|--------|-----------|---------|-----------|----------|-----------|--|------|------|------|------|
| | Cleopatra | | Jaerla | | Desiree | | Kennebec | | | | | | |
| | 72 | 1100 X(C) | 72 | 1100 X(C) | 72 | 1100 X(C) | 72 | 1100 X(C) | | | | | |
| 110g | 27.6 | 36.1 | 31.9 | 24.1 | 22.6 | 23.3 | 23.9 | 22.9 | 23.4 | 23.1 | 28.2 | 25.7 | 26.1 |
| 90g | 22.3 | 32.1 | 27.2 | 24.1 | 21.4 | 22.7 | 21.1 | 21.9 | 21.5 | 27.6 | 25.9 | 26.7 | 24.6 |
| 70g | 18.9 | 26.6 | 22.8 | 25.4 | 20.7 | 23.1 | 23.6 | 19.2 | 21.4 | 27.3 | 23.8 | 25.6 | 23.2 |
| 50g | 15.6 | 24.3 | 19.9 | 22.1 | 21.4 | 21.8 | 21.6 | 17.0 | 19.3 | 26.0 | 20.7 | 23.3 | 21.1 |
| X(B) | 21.1 | 29.8 | 25.5 | 23.9 | 21.5 | 22.7 | 22.5 | 20.3 | 21.4 | 26.0 | 24.6 | 25.3 | 23.7 |
| LSD _{0,05} | A | B | C | AB | AC | BC | ABC | X (m)(A) | | | | | |
| LSD _{0,01} | 0.76 | 1.05 | 1.08 | 1.52 | 1.56 | 2.16 | 3.06 | 72 | 1100 | | | | |
| | 1.31 | 1.82 | 1.85 | 2.60 | 2.64 | 3.69 | 5.23 | 23.4 | 24.1 | | | | |

DISKUSIJA

Kao što je očekivano sa povećanjem veličine sadene semenske krtole broj krtola po biljci raste kod svih sorti (tabela 3) (Poštić i sar., 2012b). Iz dobijenih rezultata vidi se da su najveći prosečan broj krtola po biljci formirale sorte sadenjem najkrupnije frakcije 110g, dok najmanji gde su sadene krtole najsitnije semenska frakcija 50g (tabela 3). Broj krtola po biljci je sortna osobina, ali u velikoj meri zavisi od broja glavnih stabljika po biljci (Bokx and van der Want, 1987; Poštić i sar., 2012b), tako da se pri povećanju broja stabljika formira veći prinos krtola ali ne i njihova prosečna težina, i obrnuto. Broj krtola po biljci predstavlja sortnu osobinu, ali zavisi od veličine krtole, agroekoloških uslova (Struik et al., 1989; Van Dam et al., 1996; Poštić i sar., 2012a). Broj krtola po biljci se smatra tipičnom karakteristikom za svaku sortu u odgovarajućem reonu i varira po godinama zavisno od agroekoloških uslova. Najveći broj krtola po biljci obrazovale su sorte Cleopatra (6,98) i Desiree (6,62) tabela 3.

Prosečna masa krtola je sortna odlika, ali zavisi veličine semenske krtole, uslova proizvodnje (Van Dam et al., 1996; Tadesse et al., 2001; Jovović, 2011; Poštić i sar., 2012a), veličine vegetacionog prostora, primenjene agrotehnike, od načina formiranja kućice (gnezda), broja krtola po biljci, dužine stolona (Ilin,

1993). Najveću prosečnu masu krtola obrazovale su sorte Kennebec (94g) i Jaerla (87g) tabela 4, što je sortna karakteristika ove dve sorte da obrazuju manji broj krupnijih krtola.

Dobro je poznato da je prinos bilo koje kultivirane vrste, kao najznačajnija kvantitativna karakteristika, jako varijabilan i podložan jačim uticajima agrotehničkih i agroekoloških faktora. Povećanje rodnosti je jedna od najvažnijih osobina kojoj teži savremena intenzivna poljoprivreda. Kao što je očekivano, za sve sorte i četiri veličine semenske krtole najveći prinos je postignut sadnjom najkrupnije frakcije (110g) što se poklapa s rezultatima (Bročić i sar., 2000; Poštić i sar., 2012a; Poštić i sar., 2012b). Bokx and van der Want (1987) smatraju da prinos krtola zavisi od dužine vegetacionog perioda ali i od prosečnog prirasta krtola na dan. Kada je u pitanju izbor sorte za sadnju prednost treba dati onim sortama koje imaju visok i postojan potencijal rodnosti u različitim agroekološkim uslovima. Broj stabljika zavisi od veličine zasađenih krtola (Bokx and van der Want, 1987; Poštić i sar., 2012a; Poštić i sar., 2012b). Sorte sa dužim vegetacionim periodom odlikuju se većom prosečnom težinom krtola, što je i logično jer se krtole nalivaju duži vremenski period. Zato najveći prosečni prinos možemo očekivati kod sorata koje imaju najveću prosečnu težinu krtola i najduži vegetacioni period, što znači da u uslovima dužeg nalivanja krtola dobijaju krupnije krtole i veći ukupan prinos. Međutim, ovo često ne mora biti potvrđeno u praksi, jer rane i srednje rane sorte koje se odlikuju ranom tuberizacijom i brzim nalivanjem krtola u uslovima sušnih leta najčešće daju veće prinose od rodnih srednje kasnih i kasnih sorti. Ova pretpostavka se i ispostavila kao tačna, jer je rana sorta Cleopatra postigla najveći prinos krtola 36,10 t/ha⁻¹ na varijanti gde su sadene krtole 110g poreklom sa 1100m nv. (tabela 5). Jedino je sorta Cleopatra poreklom sa planinskog regiona 1100m uspela da ostvari svoju veću biološku sposobnost u potpunosti, brza inicijacija i nalivanje krtola i izbegavanje nepovoljnih uslova tokom jula i avgusta (suša, visoke temperature vazduha i zemljišta). Sorte Jaerla, Desiree i Kennebec poreklom sa ravničarskog 72m nv. postigle su veći prinos jer je sezonska stimulacija fiziološke starosti krtola bila veća, koja je potencirala bržu inicijaciju i nalivanje krtola.

Na osnovu ostvarenih rezultata istraživanja u agroekološkim uslovima prirodnog vodnog režima zapadne Srbije (Mačve) za postizanje viših prinosa krompira se preporučuje korišćenje zdravog sadnog materijala poreklom sa ravničarskog regiona, sorti sa kraćom vegetacijom i sadnjom krupnijih semenskih krtola.

ZAHVALNICA

Rad je realizovan u okviru Projekta TP 31018 i III 46007 Ministarstva za prosvetu i nauku Republike Srbije.

LITERATURA

- Beukema, H.P., Van der Zaag, D.E. (1990): Introduction to potato production. Pudoc, Wageningen, The Netherlands, 1-208.
- Bokx de J.A., J.P.H. van der Want, (1987): Viruses of potatoes and seed-potato production, Secund edition. Pudoc Wageningen, Netherlands.
- Bročić, Z., Momirović, N., Biljana, Barčik, Đekić, R. (2000): Ispitivanje tehnologije gajenja i produktivnosti ranih sorata krompira. Arhiv za poljoprivredne nauke 61, 215 (vanr. sv.), 131-141.
- Bročić, Z., D. Živković, P. Munčan, R. Stefanović, (2002): Nivo agrotehničkih mera u proizvodnji krompira u Jugoslaviji. Tematski zbornik – Proizvodnja hrane, 273-282, Beograd.
- Burton, W.G. (1989): The potato. Third edition, Longman Group, UK.
- Clarke, R.G., Adams, A.N. (1977): Characteristics of Microplate Method of Enzyme-Liked Immunosorbent Assay for Detection of Plant Viruses. J. of Gen. Virol., 34, 475-483.
- Ewing, E.E. (1981): Heat stres and tuberization stimulus. American Potato Journal, 58: 31-49.
- Ewing, E.E., Struik, P.C. (1992): Tuber formation in potato: Induction, initiation and growth. Horticultural Reviews, 14.
- Grice, M.S. (1993): Phyological age of seed potatoes, its effect on growt and yield of subsequentcrops. Peelings 38: 8-10.
- He, W., Struik, P.C., Wang, J., Zhang, X. (1998): Potencial and actual yilds of potato etdifferentelevations and in different seasons in subtropical southwest China. Journal of Agronomy and Crop Science, 180: 93-99.
- Ilin, Ž. (1993): Uticaj đubrenja i navodnjavanja na prinos i kvalitet krompira. Univerzitet u Novom Sadu, Polj. fak., Doktorska disertacija.
- Iritani, W.M., Thorton, R.E. (1984): Potatoes: Influencing seed tuber behavior. Pacific North West # 248.
- Johnson, S.B. (2004): Selecting, Cutting and Handling Potato seed.University of Maine System.
- Jovović, Z. (2011): Utjecaj gustoće sadnje na prinos i druga produktivna svojstva krompira. Proceedings. 46th Croatian and 6th International Simposium on Agriculture. Opatija. 672-676.

- Karafyllidis, D.I., Georgakis, D.N., Stauropolus, N.I., Luizakis, A. (1991): Effect of water stress during growing season on potato seed tubers dormancy period. ISHS Acta Horticulturae 449. II Inter. Symp. on Irrigation of Horticultural Crops.
- Khan, I.A., Deadman, M.L., Al-Nabhani, H.S., Al-Habsi, K.A. (2004): Interactions between temperature and yield components in exotic potato cultivars grown in Oman. Plant Breeding Abstracts, Vol. 74, No.6, pp. 1011.
- Lamont, B. (2002): Physiological Age of potato seed. The Vegetable and Small Fruit Gazette. Vol. 6, No. 4. Pennsylvania State University.
- Pereira, A.B., Villa Nova, N.A., Ramos, V.J. (2008): Potato potential yield based on climatic elements and cultivar characteristics. Bragantia, v.67, n.2, p.327-334.
- Poštić, D., Sabovljević, R., Ikanović, J., Davidović, M., Goranović, Đ., (2009): Uticaj agroekoloških uslova proizvodnje i predtretmana na životnu sposobnost semenskih krtola krompira sorte Desiree. Zb. Nauč. radova XXIII Savet. Agron., vet. i tehn., Vol. 15, br. 1-2, 99-111.
- Poštić, D., Momirović, N., Bročić, Z., Dolijanović, Ž., Aleksić, G., Ivanović, Ž. (2011a): Ocjena kvalitete sjemenskog krumpira. Proceedings. 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture. Opatija. 477-480.
- Poštić D, Momirović N, Bročić Z, Dolijanović Ž (2011b): Uticaj kategorije sadnog materijala na prinos sorte Desiree u agroekološkim uslovima zapadne Srbije. Međunarodni naučni simpozijum agronoma "Agrosym Jahorina 2011", Zbornik radova, 269-275.
- Poštić, D., Momirović, N., Koković, N., Oljača, J., Jovović, Z. (2012a): Prinos krompira (*Solanum tuberosum* L.) u zavisnosti od uslova proizvodnje i mase matične krtole. Zbornik Naučnih radova XXVI Savet. agronoma, veterinara i tehn., Vol. 18, br. 1-2, 99-107.
- Poštić, D., Momirović, N., Bročić, Z., Dolijanović, Ž., Jovović, Z. (2012b): Utjecaj mase sjemenskog gomolja na prinos različitih sorti krumpira u uvjetima zapadne Srbije. Proceedings. 47th Croatian and 7th International Symposium on Agriculture. Opatija. 530-534.
- Reust, W. (1982): Contribution a l'appréciation de l'âge physiologique des tubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et étude de son importance sur le rendement. These no. 7046 présentée a l'École Polytechnique Fédérale, Zurich, pp. 113.
- Struik, P.C. (2007): The Canon of Potato Science: 40. Physiological age of seed tubers. Potato Research 50, 375-377.
- Sturz, A.V., Arsenault, W., Sanderson, B. (2000): Production of Processing Potatoes from Whole Seed. Agriculture, Fisheries and Aquaculture. P. E. Island, Canada.

- Tadesse, M., Lommen, W.J.M., and Struik, P.C. (2001): Development of micropropagated potato plants over three phases of growth as affected by temperature in different phases. *Netherland Journal of Agricultural Science*, 49, 53-66.
- Van der Zaag, D.E. (1992): Potatoes and their cultivations in the Netherlands, ed. NIVAA, The Hague, The Netherlands, pp. 1-76.
- Van Dam, J., Kooman, P.L., Struik, P.C. (1996): Effects of temperature and photoperiod on early growth and final number of tubers in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Potato Research* 39: 51-62.
- Van der Plas, L.H.W. (1987): Potato tuber storage: Biochemical and physiological changes. In: Y.P.S. Bajaj (Ed.), *Biotechnology in agriculture and forestry*. 3 Potato. Springer-Verlag, Berlin, pp.109-135.
- Van Ittersum, M.K. (1992): Relation between growth conditions and dormancy of seed potatoes. 3. Effect of light. *Potato Research*, 35: 377-387.
- Wurr, D.C.E., Fellows, J.R., Akehurts, J.M., Hambidge, A.J., Lynn, J.R. (2001): The effect of cultural and environmental factors on potato seed tuber morphology an subsequent sprout and stem development. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 136, 55-63.

(Primljeno: 25.10.2011.)

(Prihvaćeno: 06.12.2011.)

THE EFFECT OF THE SIZE OF POTATO TUBERS ORIGINATING FROM DIFFERENT ALTITUDES ON THE PRODUCTIVE PROPERTIES OF POTATO

DOBRIVOJ POŠTIĆ *¹, NEBOJŠA MOMIROVIĆ²,
ŽELJKO DOLIJANOVIĆ², ZORAN BROČIĆ², RATIBOR ŠTRBANOVIĆ¹,
TATJANA POPOVIĆ¹, VELJKO GAVRILOVIĆ¹

¹Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia

²Faculty of agriculture, Belgrade-Zemun, Serbia

*e-mail: pdobrivoj@yahoo.com

SUMMARY

The aim of this study was to determine the impact of the size of tubers originating from different altitudes, on the yield of most commonly grown potato cultivars Cleopatra, Jaerla, Desiree and Kennebec in western Serbia (Macva). Potato seed-producing crop, from which the planting material came from, was grown during 2006 at two sites with different altitude: a plain region 72m a.s.l. and a mountainous region 1100m a.s.l. Evaluating the presence of the two most widespread potato virus (PVY) and (PLRV) in our conditions was performed by ELISA test. The investigation was carried out by planting the following mass of planted material: 50 ± 5 g, 70 ± 5 g, 90 ± 5 g and 110 ± 5 g in 2007 year.

Higher yields of potato tubers in moist conditions in western Serbia (Macva) was achieved by planting larger mass of tubers originating from the lower altitude and shorter growing season varieties.

Key words: mass of tuber, yield, altitude, potato virus

(Received: 25.10.2011.)

(Accepted: 06.12.2011.)

Zaštita bilja
Vol. 62 (2), № 276, 147-152, 2011, Beograd

UDK 576.385
57.044:544.526.1
Naučni rad

PRELIMINARNA ZAPAŽANJA O PRIMENI METODE FLUORESCENCIJE HLOROFILA U FITOPATOLOGIJI KOD NAS

NIKOLIĆ BOGDAN*, IVANOVIĆ ŽARKO, ĐUROVIĆ SANJA,
STAROVIĆ MIRA, ZORAN MILIĆEVIĆ

Institut za zastitu bilja i zivotne sredine, Beograd

* e-mail: bogdannik@mail2world.com

Među brojnim biohemijskim, mikrobiološkim, a odskora i molekularnim metodama, koje se koriste u fitopatološkoj praksi u nas, nismo zapazili primenu biofizičkih metoda, koje se široko primenjuju u ekofiziologiji biljaka, fundamentalnoj disciplini. U svetskoj literaturi postoje primeri za aplikaciju biofizičkih metoda, a posebno fluorescencije hlorofila, u detekciji patogenih simptoma gajenih biljaka *in situ*. Zato smo testirali metodu tzv. nedomulisanu fluorescenciju hlorofila za detekciju fizioloških promena (uzrokovanih fitopatološkim razlozima) na dve sorte vinove loze (*Vitis vinifera* L), Game Bojadiser i Frankovka, zaražene biljnim virusima. Prisustvo tih virusa detektovano je uobičajenim mikrobiološkim metodama.

Ključne reči: nedomulisana fluorescencija hlorofila, vinova loza, Game Bojadiser, Frankovka, biljni virusi.

UVOD

Paraziti pri interakciji sa biljkom inhibiraju i fotosintezu (van Kooten i sar., 1990; Bowden i sar., 1990; Koh i sar., 1994; Peterson i Aylor, 1995; Gurney i sar., 1995; Allen i sar., 1999). Razmatrani su mehanizmi koji dovode do ove inhibicije fotosinteze. Razlikujemo fizičke fa-ktore inhibicije i inhibiciju ćelijskih i metaboličkih procesa (Scholes, 1992). Tako, fitopatogena gljiva *Cercospora* remeti fotosintezu produkcijom fungotoksina cercosporina (Foyer i sar., 1994), dok parazitska osa *Vespa lewisii to radi* pomoću mastoparana-elicitora hiper-

senzitivne reakcije (Allen i sar., 1999), a TMV virus vrši inhibiciju fotosinteze inkorporacijom DNK (sintetisana reverznom transkriptazom iz virusne RNK) u hloroplastni genom domaćina (van Kooten i sar., 1990). Inhibicija fotosinteze takođe je uzrokovana i smanjenjem količine i/ili aktivnosti Rubisco-a (ključni enzim u fotosintetskoj fiksaciji CO₂), degradacijom drugih fotosintetskih struktura, povratnom (*feedback*) inhibicijom, usled nagomilavanja ugljenih hidrata i fungalnog sekvestracijom neorganskog fosfata iz citosola, što remeti odvijanje Kalvinovog ciklusa (fotosintetska fiksacija CO₂; Scholes, 1992). Nije jasno koji je od ovih procesa primarni uzrok inhibicije fotosinteze, ali u praktičnom pogledu značajno je da se većina ovih simptoma javlja pre vidljivog dejstva parazita na domaćina (van Kooten i sar., 1990; Bowden i sar., 1990; Koh i sar., 1994; Peterson i Aylor, 1995; Allen i sar., 1999). Znači, metode detekcije fotosinteze (npr. fluorescencija hlorofila) mogu se koristiti i u fitopatologiji.

MATERIJAL I METODE

Kao ogledne biljke korišćene su dve sorte vinove loze (*Vitis vinifera* L), Game Bojadiser i Frankovka, zaražene biljnim virusima (GfKv, GLRa-1, GLRa-3). Merenje parametara indukcije fluorescencije hlorofila (definisani saglasno: Strasser et al., 1995) obavljeno je na mladim listovima sa vrha čokota (*vrsni* (**v**) *listovi*, nemaju vidljivih simptoma), kao i na starijim listovima (*donji* (**s**) *listovi*, imaju vidljivih simptoma) iz srednjeg dela čokota, pomoću *Handy PEA* fluorometra (*Hansatech*, UK), posle jednog časa zatamnjenja listova (lisnom viljuškom). Merena je i temperatura vazduha (26-28 °C ±15%) i intenzitet sunčeve svetlosti (PAR: oko 1800 tj. 1200 (μmol m⁻²s⁻¹ na **v** listovima sorti Game Bojadiser tj. Frankovka, kao i oko 550 μmol m⁻² s⁻¹ na **s** listovima obe sorte) na površini merenih listova. Merenje parametara fluorescencije Chla izvršeno 23.VIII 2006 g. Rezultati su dati kao srednje vrednosti sa standardnim devijacijama. Kao interni standard za kontrolne biljke poslužile su nam vrednosti Fv/Fm parametra fluorescencije Chla zdravih biljaka vinove loze u stakleniku Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu (0,797±10%, tj. 0,775±2% kod **v** tj. **s** listova), kao i nalaz Bjorkman-a i Demmig-ove (1987), da vrednost Fv/Fm kod većine zdravih C₃ biljaka iznosi 0,832±0,004. Uzimanje uzoraka odgovarajućih listova za fitopatološku analizu izvršeno je oko 30 dana kasnije, sa istih čokota i ekvivalentnih (**v**, **s**) listova pomenutih sorti vinove loze. Prisustvo biljnih virusa u listovima vinove loze određivano je na osnovu vrednosti apsorpcije (A₄₅₀) u DAS i TAS ELISA imuno-hemijском testu za navedene viruse.

REZULTATI I DISKUSIJA

Primetno je da Fv/Fm parametar kvantne efikasnosti PS II kod sorte Frankovka ima više vrednosti u odnosu na sortu Game Bojadiser, što važi i kod ostalih praćenih parametara fluorescencije hlorofila (Tabela 1). Ta razlika je posebno značajna kada poredimo listove iz srednjeg dela čokota (s), koji pokazuju vidljive simptome viroze. To ukazuje na veću osetljivost fotosinteze lista sorte Game Bojadiser prema biljnim virusima u odnosu na sortu Frankovka. Zanimljivo je i da vrednost parametra *area* (koji se odnosi na redoks stanje pula plastohinona, tj. status fotosintetskog transporta elektrona posle PS II) odgovarajuća vrednostima Fv/Fm parametra kvantne efikasnosti PS II (Tabela 1). Naime ti parametri opisuju različite procese u fotosintezi (Krause i Weis, 1991). Mišljenja smo da se ovi parametri mogu koristiti u alternaciji i/ ili zajedno i da su pogodni za primenu i u fitopatologiji. Prisustvo biljnih virusa (GFkV, GLRa-1, GLRa-3) u ovim biljkama potvrđeno je klasičnim fitopatološkim metodama (Tabela 2). Naznačeni virusi su prisutniji u s (donjim), nego u v (vršnim) listovima, što se slaže sa prethodnim zapažanjem o većoj fotosintetskoj aktivnosti mladih (vršnih) listova. Mišljenja smo da se parametri indukcije fluorescencije Chla mogu koristiti u prethodnim fitopatološkim ispitivanjima. Prednost ove metode zasniva se na objektivnom i nedestruktivnom merenju pokazatelja fiziološkog statusa biljaka.

Tabela 1 - Parametri fluorescencije hlorofila. Merenje izvršeno 23.08. 2006 g. na vršnim (v) i donjim (s) listovima Game Bojadiser i Frankovka sorata vinove loze.

Table 1 – Parameters of fluorescence of chlorophyll. Measurement conducted on 23.08. 2006. on upper (v) and lower (s) leaves of Game Bojadiser and Frankovka cultivars of grapevine.

| Parametri fluorescencije hlorofila/ parameters of fluorescence of chlorophyll | Sorta loze Game Bojadiser/ Vine Cultivar Game Bojadiser | | Sorta loze Frankovka/ Vine Cultivar Frankovka | |
|---|---|----------------------|---|-----------------------|
| | v | s | v | s |
| F ₀ | 414.33 ±73.70 | 287.67 ±8.33 | 402.33 ±22.19 | 318.00 ±60.11 |
| F _m | 1484.00 ±201.13 | 943.67 ±193.87 | 1849.67 ±126.98 | 1403.33 ±466.61 |
| Fv/Fm | 0.715 ±0.076 | 0.686 ±0.071 | 0.782 ±0.014 | 0.764 ±0.044 |
| Pindex | 1.749 ±0.814 | 0.695 ±0.373 | 3.013 ±0.772 | 3.532 ±2.715 |
| T _{fm} (ms) | 323.33 ±68.07 | 460.00 ±163.70 | 363.33 ±118.46 | 500.00 ±200.00 |
| Area (bms) | 32866.67 ±10477.28 | 19733.33 ±4801.39 | 45000.00 ±5257.38 | 36666.67 ±12512.93 |

Tabela 2 – Prosečne vrednosti apsorpcije (A_{450}) u DAS i TAS ELISA testu na GFkV, GLRa-1, i GLRa-3 viruse u listovima Game Bojadiser (GB) i Frankovka (F) sorti vinove loze. Prisustvo virusa u uzorku označeno sa »+«, a odsustvo sa »-«. Broj reda i čokota u vinogradu dati u zagradi, a položaj listova sa v (vrsni) i s (donji). Date su vrednosti pozitivne (»+«) i negativne (»-«) kontrole (Ctrl) izraženo u vrednostima apsorpcije (A_{450}).

Table 2 – Averaged values of absorption (A_{450}) in DAS and TAS ELISA tests on GFkV, GLRa-1 and GLRa-3 viruses in leaves of Game Bojadiser (GB) and Frankovka (F) grapevine cultivars. Position of grapevine plants (number of row and plant in row) and leaves (v, s) are given in parenthesis. Presence or absence of viruses in leaf sample designed by »+« and by »-«. Values of positive (»+«) and negative (»-«) control (Ctrl) provided by values of absorption (A_{450}).

| Sorta loze (red/ čokot), pozicija lista; vine cultivar (number of row and plant in row), position of leaf | virus tipa; type of viruses GFkV | virus tipa; type of viruses GFLV | virus tipa; type of viruses ArMV | virus tipa; type of viruses GLR a-1 | virus tipa; type of viruses GLR a-2 | virus tipa; type of viruses a-3 | virus tipa; type of viruses GLR a-5 | virus tipa; type of viruses GLR a-7 | virus tipa; type of viruses GVA |
|---|--|--|--|---|---|---------------------------------------|---|---|---------------------------------------|
| F (5;3) s | (0.210) «-« | - | - | (1.404) «+« | - | (1.331) «-« | - | - | - |
| F (5;3) v | (0.251) «-« | - | - | (1.449) «+« | - | (1.356) «-« | - | - | - |
| F (5;8) s | 1.072 «+« | - | - | 1.459 «+« | - | 1.353 «-« | - | - | - |
| F (5;8) v | (1.004) «+« | - | - | (1.358) «+« | - | (1.331) «-« | - | - | - |
| F (5;16) s | (0.322) «-« | - | - | (1.408) «+« | - | (1.315) «-« | - | - | - |
| F (5;16) v | (0.266) «-« | - | - | (1.427) «+« | - | (1.354) «-« | - | - | - |
| GB (3; 9) s | (0.726) «+« | - | - | (1.483) «+« | - | (1.286) «-« | - | - | - |
| GB (3; 9) v | (0.302) «-« | - | - | (1.363) «-« | - | (1.457) «+« | - | - | - |
| GB (3; 6) s | (0.247) «-« | - | - | (1.406) «+« | - | (1.299) «-« | - | - | - |
| GB (3; 6) v | (0.240) «-« | - | - | (1.456) «+« | - | (1.303) «-« | - | - | - |
| GB (3; 4) s | (1.013) «-« | - | - | (1.373) «-« | - | (1.424) «+» | - | - | - |
| GB (3; 4) v | (0.509) «-« | - | - | (1.375) «-« | - | (1.302) «-» | - | - | - |
| Ctrl «+» | 0.700- 2.600 | | | 1.400- 1.600 | | 1.400- 1.600 | | | |
| Ctrl «-» | 0.09 | | | 0.09 | | 1.09 | | | |

LITERATURA

- Allen L.J., MacGregor K.B., Koop R.S., Bruce D.H., Karner J., Bown A.W. (1999): The Relationship between Photosynthesis and a Mastoparan-Induced Hypersensitive Response in Isolated Mesophyll Cells. *Plant Physiology*, 119: 1233-1241.
- Bjorkman O., Demmig B. (1987): Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170: 489-504.
- Bowden R.L., Rouse D.I., Sharkey T.D. (1990): Mechanism of Photosynthesis Decrease by *Verticillium dahliae* in Potato. *Plant Physiology*, 94: 1048-1055.
- Foyer C.H., Lelandais M., Kunert K.-J. (1994): Photooxydative stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 92: 696-717.
- Gurney A.L., Press M.C., Ransom J.K. (1995): The parasitic angiosperm *Striga hermontica* can reduce photosynthesis of its sorghum and maize hosts in the field. *Journal of Experimental Botany*, 46: 1817-1823.
- Koh C, Noga G., Strittmatter G. (1994): Photosynthetic electron transport is differentially affected during early stages of cultivar/ race specific interactions between potato and *Phytophthora infestans*. *Plants*, 193: 551-557.
- Krause G.H., Weis E. (1991): Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42: 313-349.
- Peterson R.B., Aylor D.E. (1995): Chlorophyll Fluorescence Induction in Leaves of *Phaseolus vulgaris* Infected with Bean Rust (*Uromyces appendiculatus*). *Plant Physiology*, 108: 163-171.
- Scholes J.D. (1992): Photosynthesis: cellular and tissue aspect in diseased leaves. in: Pests and Pathogens: plant responses to foliar attack, str. 85-106. (βios Scientific Publishers, Oxford, UK).
- Strasser, R., Srivastava, A., Govindjee (1995): Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochemistry and Photobiology*, 61: 32-34.
- van Kooten O., Meurs C., van Loon L.C. (1990): Photosynthetic electron transport in tobacco leaves infected with tobacco mosaic virus. *Physiologia Plantarum*, 80: 446-452.

(Primljeno: 08.05.2011.)

(Prihvaćeno: 29.06.2011.)

PRELIMINARY REMARKS ABOUT USE OF FLUORESCENCE OF CHLOROPHYLL IN PHYTOPATOLOGY IN SERBIA

NIKOLIĆ BOGDAN, IVANOVIĆ ŽARKO, ĐUROVIĆ SANJA,
STAROVIĆ MIRA, ZORAN MILIĆEVIĆ

Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia
*e-mail: bogdannik@mail2world.com

SUMMARY

Between many biochemical, microbiological, and (in contemporary time) molecular methods, all of them were broadly used in phytopathological practice in our country, we are not see use of biophysical methods for this reason, although this methods are very valuable in plant ecophysiology, as a science discipline of fundamental importance! In world literature existed examples for application biophysical methods, particularly fluorescence of chlorophyll in detection of symptoms of pathogenic attack on cultural plants *in situ*. Because of that reason we tested method of so called non-modulated fluorescence of chlorophyll for detection of physiological changes (induced by phytopathological factors) on two cultivars of grapevine (*Vitis vinifera* L): Game Bojadiser and Frankovka, infected by plant viruses. Existence of those viruses also detected by common microbiological methods.

Key words: non-modulated fluorescence of chlorophyll, grapevine, Game Bojadiser, Frankovka, plant viruses.

(Received: 08.05.2011.)

(Accepted: 29.06.2011.)

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 opširni rezime (1-2 stranice) na srpskom jeziku. Rukopis otkucan sa duplim proredom sadrži: zaglavlje, naslov, imena autora i adrese, apstrakt, ključne reči, tekst rada (sa poglavljima: uvod, materijal i metode, rezultati, diskusija, 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. Imena autora i adrese centrirati prema najdužoj adresi. 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. Rukopis pripremiti u MS Word for Windows (.doc) ili Rich Text Formatu (.rtf). Pored toga, dostaviti dva primerka rukopisa. Ukoliko je rad na engleskom jeziku, uz dva primerka rukopisa dostaviti i jedan primerak teksta na srpskom. 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.

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 long summary (1-2 pages) in Serbian is also printed along with the papers in 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, 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. The names of the authors and addresses should be centred according to the longest address.

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: Arsenjjević, 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 centred 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 discette labelled with the name of the author and a file. 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. If the paper is in English one copy of the text in Serbian should be delivered together with two copies of manuscript. 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.

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 : BIG
štampa). - 24 cm

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