

PATOGENOST IZOLATA *Fusarium* spp. PREMA ŠEĆERNOJ REPI

Stojšin Vera, Balaž, F., Bagi, F., Keljački Ivana

REZIME

*Veštačkom inokulacijom sterilisanog i nestrerilisanog zemljišta ispitana je patogenost 15 izolata gljiva iz roda *Fusarium* poreklom sa korena šećerne repe u kontrolisanim uslovima. Proučavan je uticaj izolata na procenat nicanja, na visinu biljaka i intenzitet nekroze korena. Pri veštačkim inokulacijama nesterilisanog zemljišta dva izolata *F. oxysporum*, a pri inokulacijama sterilnog zemljišta jedan izolat vrste *F. graminearum* je statistički značajno uticao na smanjenje broja niklih biljaka. U pogledu visine biljaka nisu konstatovane značajne razlike između tretmana sa izolatima iz roda *Fusarium* i kontrole. Svi ispitivani izolati vrsta *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *F. solani* i *F. equiseti* su ispoljili visok nivo patogenosti na korenu šećerne repe.*

Ključne reči: *patogenost, *Fusarium*, šećerna repa, trulež korena*

UVOD

Na korenu šećerne repe mogu se javiti patološke promene uzrokovane parazitnim i neparazitnim faktorima. Utvrđivanje etiologije ovih oboljenja je vrlo složen proces koji zahteva dugotrajna istraživanja i znatno iskustvo. Promene na korenu su često kompleksnog karaktera. Primarnu ulogu u nastajanju ovih oboljenja u nekim slučajevima imaju fitopatogene gljive. Kao najznačajnije prouzrokovaoče truleži korena šećerne repe u Jugoslaviji, Marić (1974, 1992, 1995) navodi *Macrophomina phaseolina*, Tassi Goidanich., *Fusarium oxysporum* Schlecht i *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kuhn., *Corticium solani* Bourd, Galtz, *Rhizoctonia violacea* Kuhn., *Helicobasidium purpureum* Tul.Pet., *Phoma betae* Oud.Frank, *Verticillium albo-atrum* Rein. Opšte je poznato da su ekonomski najznačajnije fitopatogene gljive na korenu šećerne repe *Macrophomona phaseolina*, Tassi Goidanich i *Fusarium* spp.

Gljive iz roda *Fusarium* su široko rasprostranjeni patogeni biljaka. Simptomi na šećernoj repi koji se javljaju kao posledica delovanja ovih parazita su u početku hloroza, a zatim uvenuće i uginjavanje lišća. Ovi simptomi se javljaju uglavnom u drugom delu vegetacije šećerne repe i to prvo na starijim, a zatim i na mlađim listovima. U sušnim uslovima hloroza lišća se javlja polovinom jula, a u vlažnijim tokom avgusta. Na korenu hlorotičnih i uvenulih biljaka duže vreme se ne uočavaju vidljive promene. Simptomi na korenu se javljaju u uslovima kada duži sušni period zameni vlažni. Veći, ili manji delovi površinskog tkiva korena postaju najčešće sive do sivo mrke. U vlažnim uslovima dolazi do razmekšavanja tkiva. Ispod zaraženog površinskog sloja tkiva postaju sivomrka. Zona sudovnih snopića često dobija sivkastu, a ostala tkiva žutomrku boju. Na korenu obolelih biljaka često se javlja veći broj bočnih korenčića. U vlažnim uslovima jače zaražen koren truli i propada.

Tokom sušnih 1992, 1995, a posebno 2000. godine došlo je do značajne pojave truleži korena šećerne repe u Vojvodini. Etiologiju ove pojave ispitali su: Balaž i dr. (2002), Stojšin (1993), Stojšin i dr. (1998, 2000), Jasnić i dr. (2000) i ukazali na prvorazredni značaj vrsta iz roda *Fusarium* koji u slučaju deficita lako pristupačne vode prouzrokuju trulež.

Zadatak ovog rada je da se proverí patogenost izolata iz roda *Fusarium* poreklom sa korena šećerne repe putem veštačkih inokulacija da bi se se ukazalo na njihov značaj u etiologiji oboljenja.

MATERIJAL I METOD RADA

Za ova ispitivanja izdvojeno je petnaest izolata gljiva iz roda *Fusarium* poreklom sa korena šećerne repe sa stacionarnog ogleda na Rimskim Šančevima. Šest izolata su determinisana kao *F. graminearum* Schwabe (Šr-53, 54, 55, 15, 21, 50), od kojih je za Šr-15, 21, i 50 PCR metodom dokazano da pripadaju grupi 2 ove vrste (Obradović, dr., 1999). Šest izolata je determinisano kao *F. oxysporum* Schlecht. emend. Snyder & Hans. (Šr-32, Šr-37, Šr-52, Šr-60, Šr-48, Šr-70), a dva kao *F. solani* (Mart) Appel & Wolleuw. emend. Snyder & Hans. (Šr-30, Šr-46). Jedan od ispitivanih izolata pripadao je vrsti *F. equiseti* (Corda) Sacc. (Šr-92).

Radi umnožavanja inokuluma izolati su presejani u po dve Petri kutije na podlogu od krompira i nakon 7 dana rasta izolata na temperaturi od 25 °C napravljena je suspenzija gljive u sterilnoj vodi. Koncentracija inokuluma – konidija i fragmenata hifa podešena je na 11×10^5 /ml. Veštačke inokulacije zemljišta izvedene su homogenizacijom zemljišta sa suspenzijom svakog navedenog izolata u četiri ponavljanja (saksije zapremine 500 ml zasejane su sa 6 semena šećerne repe sorte Dana). Patogenost izolata ispitavana je kako u sterilisanom, tako i u nesterilisanom zemljištu. Ogled je postavljen u Botaničkoj bašti Poljoprivrednog fakulteta marta meseca u preporučenom vremenu za setvu šećerne repe.

Razvoj biljaka (nicanje, visina biljaka i uginjavanje) je praćen tokom tromesečnog perioda. Visina biljaka po tretmanima je merena 48. dana od setve. Dva meseca nakon setve skalpelom je načinjen vertikalni rez kroz zemljište (na udaljenosti 1 cm od biljke), sa ciljem povređivanja korena, radi omogućavanja ostvarivanja

infekcije parazitima slabosti među koje se mogu svrstati i vrste iz roda *Fusarium*. U cilju stvaranja sličnih uslova za razvoj biljaka iz ogleda u odnosu na biljke u proizvodnji kod kojih se u našim proizvodnim uslovima često javlja deficit lako pristupačne vode u letnjim mesecima, biljke iz ogleda su u junu zalivane dva puta nedeljno sa po 150 ml vode.

Nakon tromesečnog perioda izvršena je ocena nekroze korena i reizolacija sa nekrotiranih delova. Determinacija reizolata starih 7 dana izvršena je po metodici Nelson, (1983) i Burgess, (1994). Rezultati su se statistički analizirani pomoću Duncan's višestrukog testa intervala.

REZULTATI RADA I DISKUSIJA

Uticaj veštačke inokulacije zemljišta *Fusarium spp.* na nicanje biljaka

Nakon četrnaest dana od setve konstatovano je nicanje biljaka u svim tretmanima ogleda.

U ogledu izvedenom u sterilisanom zemljištu samo je u slučaju izolata vrste *F. graminearum* Šr 55 broj niklih biljaka bio statistički značajno niži u odnosu na kontrolu. U slučaju ostalih izolata nije došlo do značajnog uticaja na nicanje.

Za razliku od ogleda sa sterilisanom zemljom, u nesterilisanom zemljištu statistički značajan uticaj na nicanje ispoljili su izolati *F. graminearum* Šr 54, Šr 53 i Šr 15. Među izolatima vrste *F. oxysporum* patogenost su ispoljili izolati Šr 32 i Šr 52. Izolati vrsta *F. solani* i *F. equiseti* nisu znatno uticali na broj niklih biljaka (Tab.1).

Uporednim posmatranjem procenta niklih biljaka u tretmanima sa sterilnom i nesterilnom zemljom, može se konstatovati da je u sterilnoj varijanti samo jedan izolat, a u nesterilisanom zemljištu 5 izolata ispoljio negativan uticaj na nicanje, iako je ukupna prosečna vrednost niklih biljaka u nesterilisanom zemljištu veća.

Relativno slab uticaj ispitivanih izolata na nicanje se može objasniti povoljnim uslovima (vlaga, temperatura) za početni porast biljaka. Pošto se radi o parazitima slabosti, pretpostavka je da bi se intenzivnija patogenost ispoljila u ekstremnim uslovima gajenja.

Uticaj veštačke inokulacije zemljišta sa izolatima vrste *Fusarium* na visinu biljaka

U slučaju visine biljaka nisu konstatovane značajne razlike između tretmana i kontrole, ni u sterilisanom ni u nesterilisanom zemljištu.

Poznato je da u slučaju truleži korena pšenice prouzrokovane od strane vrste *F. graminearum* dolazi do smanjenja visine biljaka u odnosu na zdrave (Tomasović i dr. 1994; Mesterhazy, 1975; Weste, 1975; loc cit. Bagi, 1999). U slučaju šećerne repe ne postoje literaturni podaci o uticaju prouzrokovala trulež korena šećerne repe na visinu biljaka.

Tabela 1. Uticaj veštačke inokulacije zemljišta *Fusarium spp.* na nicanje biljaka (%)

Table 1. Influence of artificial inoculation with *Fusarium spp.* on plant emergence (%)

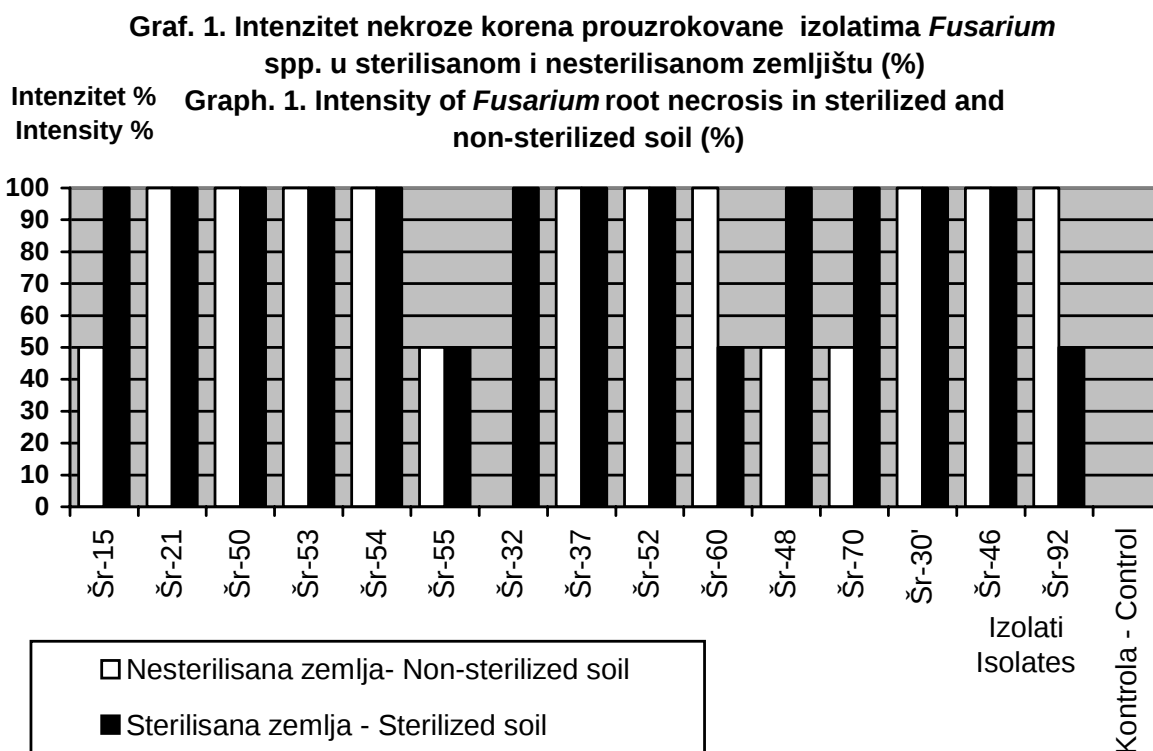
Vrsta Species	Izolati Isolate	Prosek nicanja u sterilnom zemljištu Emergence average in sterilized soil	Nivo značajnosti Significance level	Prosek nicanja u nesterilnom zemljištu Emergence average in non- sterilized soil	Nivo značajnosti Significance level
<i>F. graminearum</i>	Šr-15	54,1	ab	50,0	e
	Šr-21	75,0	a	83,3	b
	Šr-50	58,3	ab	83,3	b
	Šr-53	50,0	ab	33,3	f
	Šr-54	50,0	ab	66,7	d
	Šr-55	33,3	b	100,0	a
<i>F. oxysporum</i>	Šr-32	62,5	ab	66,7	d
	Šr-37	58,3	ab	83,3	b
	Šr-52	75,0	a	50,0	e
	Šr-60	75,0	a	100,0	a
	Šr-48	75,0	a	100,0	a
	Šr-70	58,3	ab	83,3	b
<i>F. solani</i>	Šr-30'	66,7	a	66,7	d
	Šr-46	83,3	a	83,3	b
<i>F. equiseti</i>	Šr-92	70,8	a	66,7	d
Nesterilna kontrola Non-sterilized control				75,0	c
Sterilna kontrola Sterilized control		75,0	a		
Ukupan prosek Total average		63,8		74,4	

LSD 0,05%=28,4

LSD 0,05%=3,4

Uticaj veštačke inokulacije zemljišta sa izolatima vrste *Fusarium* na nekrozu korena biljaka

Svi ispitivani izolati su ispoljili patogenost na korenu mladih biljaka šećerne repe koja se ispoljavala u vidu nekroze vršnog dela primarnog i sekundarnih korena (Graf. 1). Patogenost je dokazana kako u sterilisanom, tako i u nesterilisanom zemljištu kod svih izolata, sem kod izolata vrste *F. oxysporum* Šr-32 kod koga nije dokazana patogenost u nesterilisanom zemljištu.



Reizolacijama iz nekrotiranih korena repe na podlogu od krompira dobijeni su reizolati koji su determinisani na osnovu morfoloških i odgajivačkih karakteristika. Poređenjem početnih izolata i dobijenih reizolata utvrđena je podudarnost u pripadnosti datoj vrsti iz roda *Fusarium*.

U slučaju izolata Šr 15, Šr 48 i Šr 70 patogenost u sterilisanom zemljištu je bila veća u odnosu na patogenost u nesterilisanom zemljištu, dok je kod izolata Šr 60 i Šr 92 bio obrnut slučaj. Kod većine izolata zabeležen je intenzitet nekroze od 100% u obe varijante ogleda.

Ispitivani izolati nisu ispoljili značajnu patogenost u početnom periodu razvoja biljaka, tako da nije došlo do ispoljavanja većih razlika između nesterilisane i sterilisane varijante zemljišta. Patogenost se intenzivno ispoljila tek tri meseca nakon postavljanja ogleda, kada je mikrobiološka ravnoteža verovatno ponovo uspostavljena i u sterilisanom zemljištu. Do ispoljavanja patogenosti, odnosno nekroze korena je došlo u junu mesecu, mesec dana nakon povređivanja biljaka, u uslovima visokih temperatura i nedovoljne obezbeđenosti vodom. Poznato je da u takvim stresnim uslovima biljke gube vitalnost i postaju osetljive prema parazitima slabosti iz roda *Fusarium* (Balaž, 1982, Stojšin, 1993, 2000). Brojni autori navode (Muravev i dr., 1959; Ševčenko i Požar, 1957; Ševčenko i Singoaevskaia, 1962; Doncova, 1955, loc. cit. Marić, 1970) da ovi mikroorganizmi vrše infekciju početkom leta na oslabljenim biljkama naročito u sušnim periodima, kada znatnije pada turgor biljaka. Slabljenje biljaka, uslovljeno bilo kojim faktorom dovodi do aktiviranja korenske mikroflore i nastajanja oboljenja.

Ovim ogledom dokazana je patogenost izolata koji pripadaju vrstama *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. solani* i *F. equiseti*. Na ovaj način je potvrđena patogenost ovih vrsta i u uslovima koji su približni proizvodnim. Patogenost navedenih izolata je već uvrđena prethodnim istraživanjima u laboratorijskim uslovima metodom inokulacije korena nakon vađenja repe (Stojšin i dr., 2000), kada su vrste *Fusarium graminearum* i *Fusarium equiseti* prvi put opisane kao patogeni šećerne repe.

Za vrstu *F. oxysporum* je poznato da je primarni prouzrokovatelj truleži korena šećerne repe (Maxon, 1948; Doncova, 1955; Ševčenko i Požar, 1957; Muravev i dr., 1959; Ševčenko i Singoaevskaia, 1962; Marić, 1974; Stojšin i dr., loc. cit. 2000). Harverson i Rush (1998) su ispitivali patogenost teksaskih izolata *Fusarium oxysporum* f.sp. *betae*. Na bazi ispoljenih simptoma, morfoloških i odgajivačkih karakteristika odredili su dve specijalizovane forme: *Fusarium oxysporum* f.sp. *betae* i *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-betae*. Ruppel (1991) daje pregled patogenih vrsta na mladim biljkama šećerne repe i navodi *F. oxysporum*, *F. acuminatum*, *F. avenaceum* i *F. solani*.

U našoj zemlji fuzariozno uvenuće biljaka i trulež korena prvi put je opisano od strane Marića i dr., 1970. Ovi autori su konstatovali masovnu pojavu uvenuća i truleži korena šećerne repe u periodu 1967-1969. godine u Vojvodini. U radu su opisana dva osnovna tipa oboljenja: ugljenasta trulež (*Sclerotium bataticola*), koja se intenzivnije javljala u godinama sa sušnim letima i fuzariozna trulež (*Fusarium* spp.) nastala kao posledica slabljenja vitalnosti biljaka u uslovima jake suše tokom prvog dela vegetacije. Po ovim autorima godine sa dovoljnom količinom i optimalnim rasporedom padavina tokom vegetacije nisu povoljne za razvoj ovih oboljenja.

Stojšin (1993) i Stojšin i dr. (1994, 1998, 2000) su ispitivali uticaj suše, visokih temperatura i mineralne ishrane na zdravstveno stanje korena šećerne repe. U tretmanima bez primene azota naročito u stresnim uslovima konstatuju jak intenzitet truleži prouzrokovan *Fusarium* spp. i *Macrophomina phaseolina*.

Ova istraživanja potvrđuju da i u slučaju fuzariozne truleži korena šećerne repe nedovoljna obezbeđenost biljaka vodom doprinosi slabljenju vitalnosti i nastajanju oboljenja.

ZAKLJUČAK

Kod većine izolata u uslovima veštačke inokulacije u sterilisanom, kao i nesterilisanom zemljištu nisu utvrđene značajne razlike u broju niklih biljaka. Pri veštačkim inokulacijama nesterilisanog zemljišta dva izolata *F. oxysporum*, a pri inokulacijama sterilnog zemljišta jedan izolat vrste *F. graminearum* je statistički značajno uticao na smanjenje broja niklih biljaka. Izolati vrsta *F. solani* i *F. equiseti* nisu uticali na broj niklih biljaka ni u jednoj varijanti ogleda.

U pogledu visine biljaka nisu konstatovane značajne razlike između izolata iz roda *Fusarium* i kontrole.

Svi ispitivani izolati vrsta *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *F. solani* i *F. equiseti* su ispoljili patogenost na korenu mladih biljaka šećerne repe koja se ispoljavala u vidu nekroze vršnog dela primarnog i sekundarnih korena. Reizolacijom patogena dokazana je fuzariozna priroda truleži korena.

LITERATURA

1. Bagi, F. (1999): Ispitivanje heterogenosti populacije gljive *Fusarium graminearum* Schwabe patogena pšenice i kukuruza. Magistarska teza, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, 1- 130.
2. Balaž, F. (1982): Proučavanje pojave fuzariozne truleži stabla kukuruza u zavisnosti od stanja vodnog režima zemljišta i biljaka u raznim agroekološkim uslovima. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, 1-132.
3. Balaž, F., Stojšin, Vera, Bagi, F., (2002): Bolesti šećerne repe u 2000. godini. XXIII Seminar iz zaštite bilja Vojvodine, Novi Sad, 12-13 februar, Biljni lekar, vanredni broj, 62-67.
4. Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P. and Backhouse, D., (1994): Laboratory manual for *Fusarium* research. University of Sydney and Royal Botanic Gardens, Sydney.
5. Harveson, R. M., Rush, C. M., (1998): Characterization of *Fusarium* root rot isolates from sugar beet by growth and virulence at different temperatures and irrigation regimes. Plant Disease, vol.82. No. 9, 1039-1042.
6. Jasnić, S., Đurić, Tatjana, Jelinčić, K. (2000): Pojava truleži korena šećerne repe u Vojvodini. XI Jugoslovenski simpozijum o zaštiti bilja sa međunarodnim učešćem, Zbornik rezimea 30, Zlatibor, 4- 9 decembar.
7. Marić, A., Rudić, Etelka., Avdalović, T. (1970): Problem uvenuća biljaka i truleži korena šećerne repe u nekim rejonima Jugoslavije. Savremena poljoprivreda, XVIII (11- 12), 241-252.
8. Marić, A. (1974): Bolesti šećerne repe, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
9. Marić, A. (1992): Šećerna repa, monografija, "Jugošećer" DD, Beograd.
10. Marić, A., Stojšin Vera, (1995) : Rasprostranjenost, štetnost, etiologija i suzbijanje bolesti korena šećerne repe. Zbornik radova, IX Savetovanje agronoma i tehnologa, 73- 83., Beograd.
11. Nelson, P.E., Tousson, T.A. and Marasas, W.F.O. (1983): *Fusarium* species, an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press.
12. Obradović, D., Bagi, F., Kevrešan, S., Petrović, T., Balaž, F. (1999): Identifikacija *Fusarium graminearum* Grupe 2 metodom PCR. 6 Jugoslovenski Simpozijum Biohemije, Beograd, 15-17 oktobar, 1999. Izvodi radova, p: 70.
13. Ruppel, E G. (1991): Pathogenicity of *Fusarium spp.* from diseased sugar beets and variation among sugar beet isolates of *Fusarium oxysporum*. Plant Disease, vol.75, No.5, 486-489.
14. Stojšin, Vera (1993): Uticaj mineralne ishrane na pojavu bolesti šećerne repe. Magistarska teza, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, 1- 160.

15. Stojšin, Vera, Marić, A., (1994) : The effect of mineral nutrition on the occurrence of sugar beet root diseases. Proceedings, 95-96. 9 th Congress of the mediterranean Phytopathological union, Turkiye, Kusadasi- Aydin, 18-24 September.
16. Stojšin, Vera., Marić,A., Marinković. B., Balaž, F. (1998): Effect of drought, high temperature and mineral nutrition on the occurrence of charcoal root rot (*Macrophomina phaseolina* Tassi Goidanich) of sugar beet. International symposium on integrated protection of field crops. Book of abstracts, 199, Vrnjačka Banja, 21- 26 September.
17. Stojšin, Vera, Balaž, F., Lević, Jelena, Petrović, Tijana, Bagi, F., Atlas, Sonja, (2000): Fusarium root rot of sugar beet, 6'th European seminar & Third COST 835 Workshop of Agriculturally important Toxigenic Fungi, Book of Abstract: 87p, Berlin, Germany, 11 – 16 September.
18. Stojšin, Vera, Marić, A., Balaž, F., Marinković, B., Jasnić, S., (2000): Uticaj suše i visokih temperatura na pojavu bolesti korena šećerne repe, XI Jugoslovenski simpozijum o zaštiti bilja sa međunarodnim učešćem, Zbornik rezimea 44, Zlatibor, 4- 9 decembar.

PATHOGENICITY OF *FUSARIUM SPP.* ISOLATES TO SUGAR BEET

by

Stojšin Vera, Balaž, F., Bagi, F., Keljački Ivana

SUMMARY

Pathogenicity of 15 Fusarium isolates from sugar beet root was investigated by artificial inoculations in sterilized and non-sterilized soil in controlled environment. It was determined the effect on emergence percentage, plant height and root necrosis intensity. In non-sterilized soil inoculation with two F. oxysporum isolates and in sterilized soil inoculations with one F. graminearum isolates significantly reduced number of emerged plants. In aspect of plant height were not determined any significant differences between inoculated treatments and control. All the investigated isolates of F. oxysporum, F. graminearum, F. solani and F. equiseti species showed high level of pathogenicity on sugar beet root rot.

Key words: *pathogenicity, Fusarium, sugar beet root rot*

Primljeno: 15.06.2002.
Prihvaćeno: 25.06.2002.