

Zaštita bilja

Vol. 63 (1), N^o 279, 7-21, 2012, Beograd

UDK: 632.482.31;

582.282.31

Naučni rad

PATOGENOST IZOLATA *COLLETOTRICHUM* SPP. – PROUZROKOVAČA ANTRAKNOZE

SVETLANA ŽIVKOVIĆ, NENAD DOLOVAC, TATJANA POPOVIĆ, SAŠA STOJANOVIĆ

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

e-mail: zivkovicsvetla@gmail.com

REZIME

U radu su prikazane patogene karakteristike 20 izolata *Colletotrichum* spp. poreklom sa plodova kruške, jabuke, višnje i paradajza, kao i referentnih sojeva *C. acutatum* (CBS 294.67) i *C. gloeosporioides* (CBS 516.97). U proučavanju kruga domaćina izolata *Colletotrichum* spp. uključeno je 17 biljnih vrsta. Devet dana nakon veštačkih inokulacija svi testirani izolati prouzrokovali su antraknozne lezije na plodu jabuke, kruške, kajsije, trešnje, višnje, šljive, jagode, grožđa, paradajza, paprike, plavog patlidžana, krastavca, tikvice i boranije. Izolati *Colletotrichum* spp. poreklom sa istog domaćina pokazuju izvesne razlike u stepenu agresivnosti, što se može tumačiti genetskom varijabilnošću populacija. Rezultati jednofaktorijske analize varijanse ukazuju na statistički značajne razlike u patogenosti izolata *Colletotrichum* spp. na nezrelim i zrelim plodovima kruške, jabuke, višnje i paradajza. Poređenjem stepena nekroze utvrđena je slaba do umerena osetljivost nezrelih plodova. Zreli plodovi su manifestovali jaku osetljivost prema svim testiranim izolatima *Colletotrichum* spp.

Ključne reči: antraknoza, *Colletotrichum* spp., patogenost, nezreo i zreo plod

UVOD

Gljive roda *Colletotrichum* – prouzrokovalači antraknoze su kosmopolitske i izrazito agresivne vrste, prisutne gotovo na svim meridijanima. Kao patogeni voćaka, povrtarskih, ratarskih, industrijskih, krmnih, ukrasnih, lekovitih, šumskih i biljaka korovske flore, mogu prouzrokovati značajne ekonomske gubitke (Bailey et al., 1992). U uslovima subtropske i tropske klime simptomi se manifestuju u toku vegetacije, a u umerenoj klimatskoj zoni je češći slučaj ostvarivanja latentnih infekcija koje nakon berbe plodova i tokom naedekvatnih uslova skladištenja kulminiraju pojavom nekroze i truleži ploda.

Osim rasprostranjenosti na velikom broju vrsta iz botanički udaljenih familija, za gljive roda *Colletotrichum* je karakteristična i nespecificnost prema biljkama domaćinima. Mogućnost unakrsnih infekcija, kao i činjenica da u velikom broju slučajeva više različitih vrsta istovremeno parazitira istog domaćina umnogome otežava proces pravilne identifikacije i diferencijacije patogena ovog roda (Freeman et al., 1998).

U Srbiji je tokom poslednjih godina utvrđena antraknoza ploda kruške, jabuke, višnje i paradajza. Tipični simptomi na plodovima su nekrotične, tamne, ulegnute, kružne lezije, koje se vremenom povećavaju i u okviru kojih dolazi do formiranja acervula – reproduktivnih organa gljiva *Colletotrichum* spp. Antraknoza je progresivna i u većini slučajeva dovodi do potpune truleži ploda (Živković, 2011).

S obzirom na ekonomski značaj gljiva *Colletotrichum*, kao i činjenice da su dve dominantne vrste ovog roda *C. acutatum* i *C. gloeosporioides* izrazito polifagni patogeni, osnovni ciljevi rada su: definisati krug domaćina, utvrditi infekcioni potencijal izolata sa ovog područja i ispitati dali na pojavu simptoma antraknoze osim ekoloških faktora utiče i fiziološka zrelost ploda.

MATERIJAL I METODE

Primenom standardnih fitopatoloških metoda iz plodova sa karakterističnim simptomima antraknoze dobijen je veliki broj izolata *Colletotrichum* spp. Za proučavanja patogenih osobina odabrano je 6 izolata sa ploda kruške (KC-6, KC-9, KC-12, KC-21, KC-23 i KC-82); 4 sa ploda jabuke (JC-4, JC-5, JC-6 i JC-7); 4 sa ploda višnje (VC-3, VC-5, VC-7 i VC-9); 6 sa ploda paradajza (PC-1, PC-2, PC-3, PC-4, PC-5 i PC-6), kao i 2 referentna soja: *C. gloeosporioides* (CBS 516.97) i *C. acutatum* (CBS 294.67) iz kolekcije Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Holandija.

Proučavanje kruga domaćina

Proučavanje kruga domaćina izolata *Colletotrichum* spp. obavljeno je veštačkim inokulacijama plodova voća i povrća koji se u našoj zemlji intenzivno gaje, čuvaju u skladištima i prodaju na tržištu. U ispitivanja je uključeno 17 biljnih vrsta iz sledećih familija: Rosaceae: *Malus domestica*, jabuka (sorta zlatni delišes), *Pyrus communis*, kruška (sorta viljamova), *Prunus persica*, breškva (sorta redhaven), *Prunus armeniaca*, kaj-sija (sorta novosodska rodna), *Prunus cerasus*, višnja (sorta oblačinska), *Prunus avium*, trešnja (sorta burlat), *Prunus domestica*, šljiva (sorta stanley), *Fragaria vesca*, jagoda (sorta madeleine); Vitaceae: *Vitis vinifera*, grožđe (sorte muskat hamburg i gročanka); Solanaceae: *Lycopersicon esculentum*, paradajz (sorta saint pierre), *Capsicum anuum*, paprika (sorta župska rana), *Solanum melongena*, plavi patlidžan (sorta jubilej), *Solanum tuberosum*, krompir (sorta riviera); Cucurbitaceae: *Cucumis sativus*, krastavac (sorta pariski kornišon), *Cucurbita pepo*, tikvica (sorta beogradska); Fabaceae: *Phaseolus vulgaris*, boranija (sorta darina), Alliaceae: *Allium*

cepa, crni luk (sorta holandski žuti).

Zdravi plodovi su površinski sterilisani potapanjem u 70% etanol u trajanju od 1 min, potom u 0,5% rastvor NaOCl 20 min, nakon čega su isprani u destilovanoj vodi i ostavljeni na filter papir da se osuše (Smith and Black, 1990). Inokulacije plodova su obavljene prema metodi Jones et al. (1996). Kontrolni plodovi su tretirani na isti način, ali su za njihovu inokulaciju korišćeni fragmenti podloge, bez micelije gljiva. Inokulisani plodovi su postavljeni u vlažne komore tokom 48 h, a nakon toga izneti i ostavljeni na sobnoj temperaturi. Ogled je postavljen u 3 ponavljanja, a devetog dana su izvršena merenja prečnika antraknozних lezija prema sledećoj skali: – bez pojave nekroze; + nekroza vrlo slabog intenziteta (na krupnim plodovima \varnothing do 10 mm, na sitnim plodovima \varnothing do 5 mm); ++ nekroza slabog intenziteta (na krupnim plodovima \varnothing 10-20 mm, na sitnim plodovima \varnothing 5-10 mm); +++ nekroza srednjeg intenziteta (na krupnim plodovima \varnothing 20-30 mm, na sitnim plodovima \varnothing 10-15 mm); ++++ nekroza jakog intenziteta (na krupnim plodovima \varnothing >30 mm, na sitnim plodovima \varnothing >15 mm).

Ispitivanje uticaja zrelosti ploda na osetljivost prema izolatima *Colletotrichum* spp.

Za ispitivanja uticaja zrelosti ploda na osetljivost prema izolatima *Colletotrichum* spp. korišćeni su zdravi nezreli i zreli plodovi kruške (sorta viljamova), jabuke (sorta zlatni delišes), višnje (sorta oblačinska) i paradajza (sorta saint pierre). Plodovi su inokulisani prema prethodno navedenoj metodi Jones et al. (1996). Ogled je postavljen u tri ponavljanja, a očitavanje rezultata, odnosno merenje prečnika nekroze obavljeno je nakon devet dana.

Intenzitet sporulacije na formiranim nekrotičnim površinama ocenjen je dve nedelje nakon veštačkih inokulacija, prema sledećoj skali:

– bez pojave sporulacije; + vrlo slaba sporulacija (pojava konidijalne mase neposredno oko mesta inokulacije); ++ slaba sporulacija (do 1/4 nekrotične površine pokriveno konidijalnom masom); +++ umerena sporulacija (do 1/2 nekrotične površine pokriveno konidijalnom masom); ++++ jaka sporulacija (> od 1/2 nekrotične površine pokriveno konidijalnom masom); +++++ vrlo jaka sporulacija (potpuna pokrivenost nekrotične površine konidijalnom masom).

Statistička obrada rezultata

Patogenost izolata *Colletotrichum* spp. na inokulisanim nezrelim i zrelim plodovima analizirana je preko osnovnih pokazatelja deskriptivne statistike (aritmetičke sredine, standardne devijacije i standardne greške aritmetičke sredine) i grafički predstavljena u vidu box-plotova. U slučaju homogenih podataka u uzorcima ($C_v \leq 30\%$) i homogenih varijansi uzoraka primenjen je parametarski model analize varijanse (ANOVA), dok je za uzorke sa varijabilnim vrednostima ($C_v > 30\%$) i heterogenim varijansama primenjen Kruskal Wallisov model ANOVA. Provera adekvatnosti ovih modela za konkretnu analizu sprovedena je na osnovu vrednosti koeficijenta varijacije (C_v) i Leveneovog testa za homogenost varijansi. Statistička obrada rezultata obavljena je upotrebom paketa STATISTICA v. 6 (StatSoft, Inc.).

REZULTATI

Proučavanje kruga domaćina

Rezultati proučavanja kruga domaćina ukazuju na izrazitu polifagnost izolata *Colletotrichum* spp. (Tabela 1).

Devet dana nakon obavljenih veštačkih inokulacija izolati sa ploda kruške, KC-6, KC-9 i KC-12, ispoljavaju nekrozu jakog intenziteta i obilno formiranje reproduktivnih organa na plo-

dovima breskve i kajsije. Na jabuci, krušci, višnji, trešnji, jagodi i grožđu ovi izolati manifestuju patogenost srednje jačine i masovnu produkciju acervula, a slabu nekrozu i fruktifikaciju na plodovima šljive, paradajza i paprike. Na krastavcima (Sl. 1I), tikvicama i mahunama boranije konstatovana je veoma slaba nekroza, neposredno oko mesta inokulacije i bez formiranih reproduktivnih organa. Najjači stepen nekroze i formiranje velikih antraknoznih površina, kao i karakterističnu smežuranost plodova većine testiranih biljnih kultura manifestuju izolati KC-21, KC-23 i KC-82 (Sl. 1E;1G). Do intenzivnog obrazovanja acervula i masovnog oslobađanja konidija u vidu žutonandžastog matriksa dolazi nakon 7 dana. Na mahunama boranije ovi izolati prouzrokuju jaku unutrašnju nekrozu i dezorganizaciju tkiva koja se progresivno širi i nakon dve nedelje u potpunosti zahvata mahunu i seme boranije (Sl.1H). Na plodovima krastavca inokulisanim izolatima KC-21, KC-23 i KC-82, konstatovana je slaba, a na tikvicama veoma slaba nekroza, bez sporulacije patogena. Ovim izolatima je po tipu simptoma i ispoljenoj patogenosti najbliži referentni soj *C. acutatum* (CBS 294.67), (Sl. 1.D).

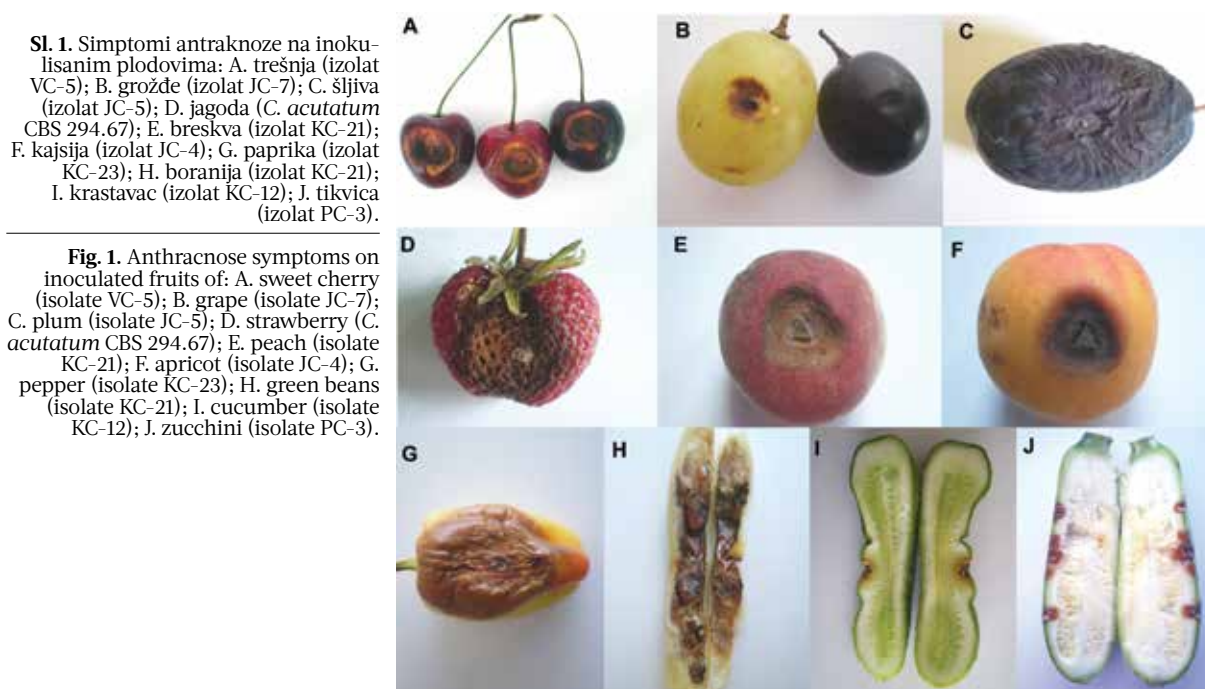
Izolati sa ploda jabuke, JC-4, JC-5, JC-6 i JC-7 ispoljavaju umerenu patogenost na inokulisanim plodovima kruške, šljive (Sl. 1C) i grožđa (Sl. 1B). Veoma jaku nekrozu i obilno formiranje reproduktivnih organa navedeni izolati manifestuju na jabuci, breskvi i kajsiji (Sl. 1F). Nekroza slabog i veoma slabog intenziteta uočena je na paradajzu i paprici, krastavcima, tikvicama i boraniji. Izolati poreklom sa ploda jabuke na plodovima povrtarskih kultura ne formiraju acervule i njima je po ispoljenoj agresivnosti najbliži referentni soj *C. gloeosporioides* (CBS 516.97). Izolat JC-4 je u poređenju sa ostalim izolatima ove grupe, nešto agresivniji prema plodovima višnje, trešnje i jagode.

Izolati sa višnje, VC-3, VC-5, VC-7 i VC-9 su prilično ujednačene patogenosti. Na većini testiranih kultura izazivaju nekrozu srednjeg ili slabog intenziteta. Izrazite antraknozne pege i formiranje acervula konstatovani su jedino na plodovima višnje i trešnje (Sl. 1A). Jedva primetne nekrotične promene bez sporulacije patogena, zabeležene su na boraniji.

Najjači stepen antraknoze i masovnu fruktifikaciju izolati sa ploda paradajza, PC-1, PC-2, PC-3, PC-4, PC-5 i PC-6 manifestuju na jabuci, jagodi i paradajzu. Nekroza nešto manjeg intenziteta zabeležena je na inokulisanim plodovima paprike. Na mahunama boranije ovi patogeni izazivaju nekrotične promene slabog, a na krastavcima i tikvicama (Sl. 1J) veoma slabog intenziteta. Od svih ispitivanih izolata *Colletotrichum* spp., jedino izolati poreklom sa paradajza izazivaju veoma slabu nekrozu plavog patlidžana. Na mestu inokulacije gotovo da nisu uočeni vidljivi simptomi antraknoze, ali je na preseku konstatovana blaga nekroza tkiva koja se širila ka unutrašnjosti ploda.

Kohovi postulati su zadovoljeni reizolacijama sa inokulisanih plodova. Nijedan od ispitivanih izolata *Colletotrichum* spp., uključujući i referentne sojeve *C. acutatum* i *C. gloeosporioides*, ne prouzrokuje antraknozu krtola krompira i lukovica crnog luka.

Devet dana nakon veštačkih inokulacija svi izolati *Colletotrichum* spp., kao i referentni *C. acutatum* (CBS 294.67) i *C. gloeosporioides* (CBS 516.97), na nezrelim i zrelim plodovima jabuke, kruške, višnje i paradajza prouzrokuju nekrozu i sporulaciju različitog intenziteta. Na kontrolnim plodovima nije utvrđena pojava nekroze.



Uticaj zrelosti ploda kruške na osetljivost prema izolatima *Colletotrichum* spp.

Na nezrelim i zrelim plodovima kruške najjaču nekrozu manifestuju izolati KC-21, KC-23 i KC-82. Na nezrelim plodovima, svi ostali ispitivani izolati *Colletotrichum* spp. prouzrokuju nekrotični proces neposredno oko mesta inokulacije (Sl. 2 i 3).

Izuzimajući izolate KC-21, KC-23 i KC-82, koji obilno formiraju plodnosna tela u vidu koncentrično raspoređenih prstenova, sporulacija ostalih patogena na inokulisanim nezrelim plodovima nije utvrđena. Na antraknoznim površinama zrelih inokulisanih plodova, svi ispitivani izolati *Colletotrichum* spp. u manjem ili većem stepenu produkuju acervule iz kojih se oslobađa žutonarandžasti matriks (Tabela 2).

Na osnovu Leveneovog testa utvrđeno je da su varijanse ispitivanih izolata homogene (za zelene plodove $F=1,527$, $p=0,112$; za zrele plodove $F=1,222$, $p=0,277$), pa je primenjen parametarski model ANOVE. Rezultati jednofaktorijalne analize varijanse pokazuju da postoje statistički

značajne razlike u pogledu patogenosti ispoljene na nezrelim i zrelim plodovima kruške (za zelene plodove: $F=102,134$; $p<0,001$; za zrele plodove $F=806,989$; $p<0,001$).

Uticaj zrelosti ploda jabuke na osetljivost prema izolatima *Colletotrichum* spp.

Merenjem prečnika nekroze nezrelih i zrelih plodova jabuke devet dana nakon veštačkih inokulacija, utvrđeno je da su najagresivniji izolati sa jabuke, JC-5, JC-6 i JC-7. Najmanji stepen antraknoznih promena na inokulisanim nezrelim i zrelim plodovima manifestuju izolati poreklom sa ploda višnje (Sl. 4 i 5).

Na nekrotičnim površinama veštački inokulisanih nezrelih plodova jabuke, jedino izolati KC-6, KC-9 i KC-12 ne formiraju reproduktivne organe. Svi ostali patogeni, uključujući i referentne sojeve CBS 294.67 i CBS 516.97, dve nedelje nakon postavljanja eksperimenta manifestuju vrlo slabu ili slabu fruktifikaciju. Obrazovani reproduktivni organi su sitni, tamno mrke boje i koncentrično raspoređeni oko

Tabela 2. Sporulacija izolata *Colletotrichum* spp. na nezrelim i zrelim plodovima kruške, jabuke, višnje i paradajza.
Table 2. Sporulation of isolates of *Colletotrichum* spp. on immature and mature fruits of pear, apple, sour cherry and tomato.

Izolat Isolate	Sporulacija Sporulation							
	kruška pear		jabuka apple		višnja sour cherry		paradajz tomato	
	NZ* IF*	ZP** MF**	NZ IF	ZP MF	NZ IF	ZP MF	NZ IF	ZP MF
KC-6	-	++++	-	++	++	++	+	+++
KC-9	-	++++	-	++	++	++	+	+++
KC-12	-	++++	-	++	++	++	+	+++
KC-21	++++	+++++	++	+++	+++	++++	+	+++
KC-23	++++	+++++	++	+++	+++	++++	+	+++
KC-82	++++	+++++	++	+++	+++	++++	+	+++
JC-4	-	++++	++	+++	++	+++	+	++
JC-5	-	++++	++	+++	++	+++	+	++
JC-6	-	++++	++	+++	++	+++	+	++
JC-7	-	++++	++	+++	++	+++	+	++
PC-1	-	++	++	++	+	+++	+	++++
PC-2	-	++	++	++	+	+++	+	++++
PC-3	-	++	++	++	+	+++	+	++++
PC-4	-	+++	+	++	+	+++	+	++++
PC-5	-	+++	+	++	+	+++	+	++++
PC-6	-	+++	+	++	+	+++	+	++++
VC-3	-	+++	+	+++	++++	++++	-	++
VC-5	-	+++	+	+++	++++	++++	-	++
VC-7	-	+++	+	+++	++++	++++	-	++
VC-9	-	+++	+	+++	++++	++++	-	++
CBS 294.67	-	+++++	+	++	+++	+++	+	++
CBS 516.97	-	+++	+	++	++++	++++	+	++

*NP - nezreo plod; *IF - immature fruit

**ZP - zreo plod; **MF - mature fruit

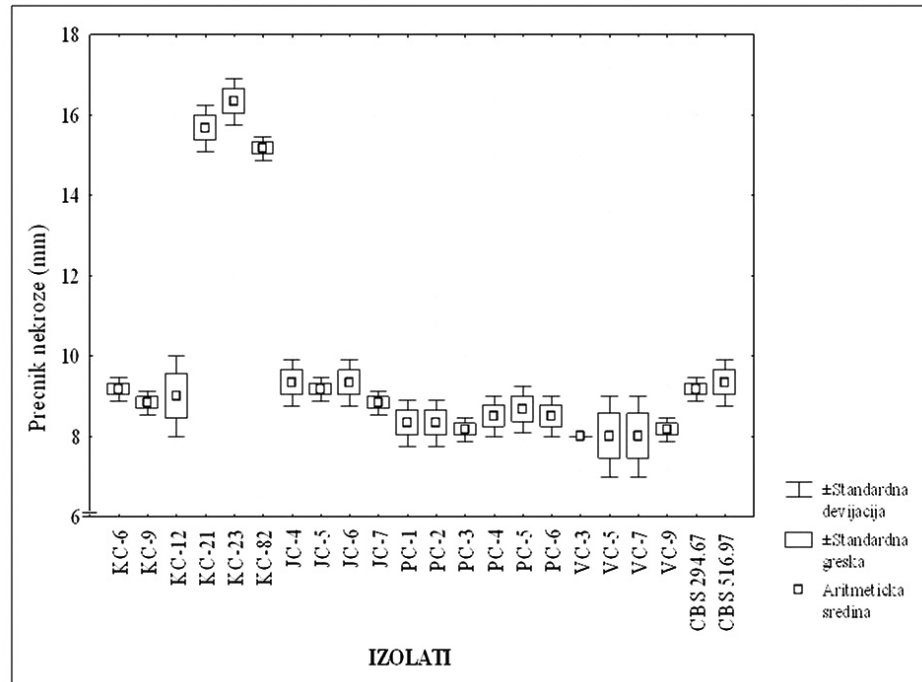
mesta inokulacije. Na zrelim plodovima jabuke izolati KC-21, KC-23 i KC-82, kao i svi izolati sa ploda jabuke i višnje ispoljavaju fruktifikaciju umerenog intenziteta. Ostali ispitivani patogeni u znatnu slabijem stepenu produkuju plodonosna tela (Tabela 2). Na antraknoznom pegama formirani acervuli su crne boje i većih dimenzija, a mogu biti nepravilno razbacani ili raspoređeni u vidu koncentričnih prstenova. U većini slučajeva iz plodonosnih tela dolazi do oslobađanja konidija u obliku narandžaste želatinozne mase.

Leveneovim testom je utvrđeno da vari-

janse izolata *Colletotrichum* spp. u eksperimentu provere patogenosti na nezrelim plodovima jabuke nisu homogene ($F=3,166$, $p=0,00006$), pa je primenjen Kruskal-Wallisov neparametarski tip ANOVE. Potvrđeno je postojanje statistički vrlo značajnih razlika u patogenosti svih ispitivanih kultura gljiva ($H=61,593$). U ogledu provere patogenosti na plodovima zrele jabuke Leveneovim testom konstatovana je homogenost ispitivanih varijansi ($F=1,444$, $p=0,145$), pa je stoga za analizu korišćen parametarski model analize varijanse i utvrđene statistički vrlo značajne razlike u stepenu agresivnosti izola-

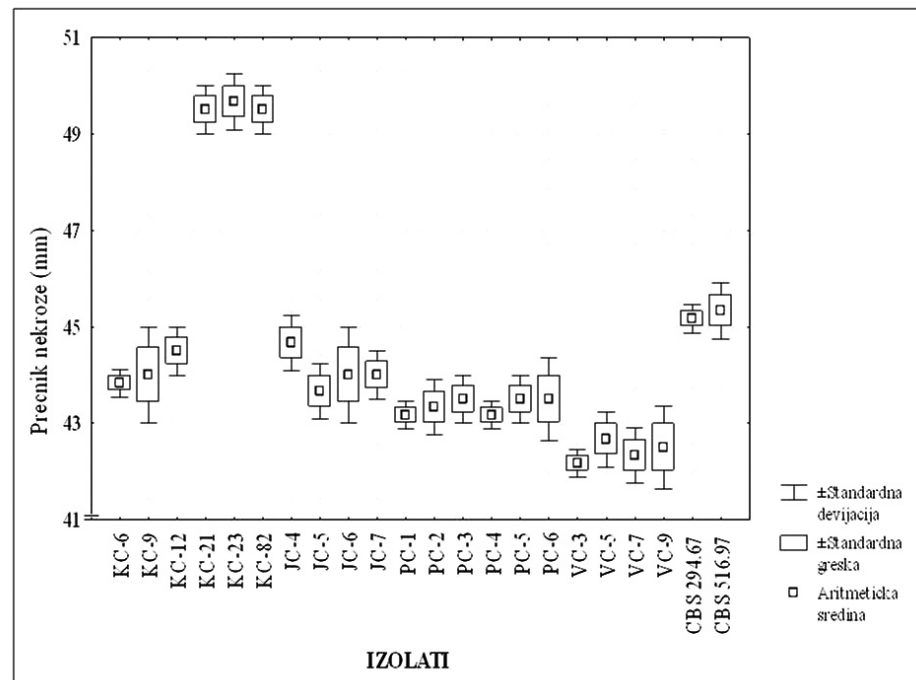
Sl. 2. Patogenost izolata *Colletotrichum* spp. na nezrelim plodovima kruške.

Fig. 2. Pathogenicity of isolates of *Colletotrichum* spp. on immature pear fruits.



Sl. 3. Patogenost izolata *Colletotrichum* spp. na zrelih plodovima kruške.

Fig. 3. Pathogenicity of isolates of *Colletotrichum* spp. on mature pear fruits.



ta *Colletotrichum* spp. u odnosu na kontrolu ($F=992,366$, $p<0,001$).

Uticaj zrelosti ploda višnje na osetljivost prema izolatima *Colletotrichum* spp.

Na veštački inokulisanim nezrelim i zre-

lim plodovima višnje najjaču patogenost manifestuju izolati poreklom sa ovog domaćina, ali i referentni soj *C. gloeosporioides*. Najmanji prečnik nekroze u oba testa provere patogenosti, prouzrokuju izolati *Colletotrichum* spp. sa ploda jabuke (Sl. 6 i 7).

Izolati VC-3, VC-5, VC-7, VC-9 i referentni soj CBS 516.97, najobilne formiraju plodonosna tela na površini antraknoznih pega nezrelih i zrelih plodova višnje. Patogene kulture poreklom sa paradajza najmanji stepen fruktifikacije ispoljavaju na nezrelim, a izolati KC-6, KC-9 i KC-12 na zrelim inokulisanim plodovima višnje (Tabela 2). Acervuli na antraknoznom površinama su sitni, crne boje i u većini slučajeva koncentrično raspoređeni. Iz plodonosnih struktura formiranih dolazi do oslobađanja žutonarandžaste mase konidija.

Na osnovu Leveneovog testa konstatovana je nehomogenost ispitivanih varijansi u oba testa patogenosti (test na nezrelim plodovima: $F=3,069$, $p=0,001$; test na zrelim plodovima: $F=2,999$, $p=0,001$). Rezultati Kruskal-Wallisovog model ANOVE ukazuju na postojanje statistički značajnih razlika u pogledu patogenosti izolata *Colletotrichum* spp. na inokulisanim nezrelim i zrelim plodovima višnje (test na nezrelim plodovima: $H=65,311$; test na zrelim plodovima: $H=65,106$).

Uticaj zrelosti ploda paradajza na osetljivost prema izolatima *Colletotrichum* spp.

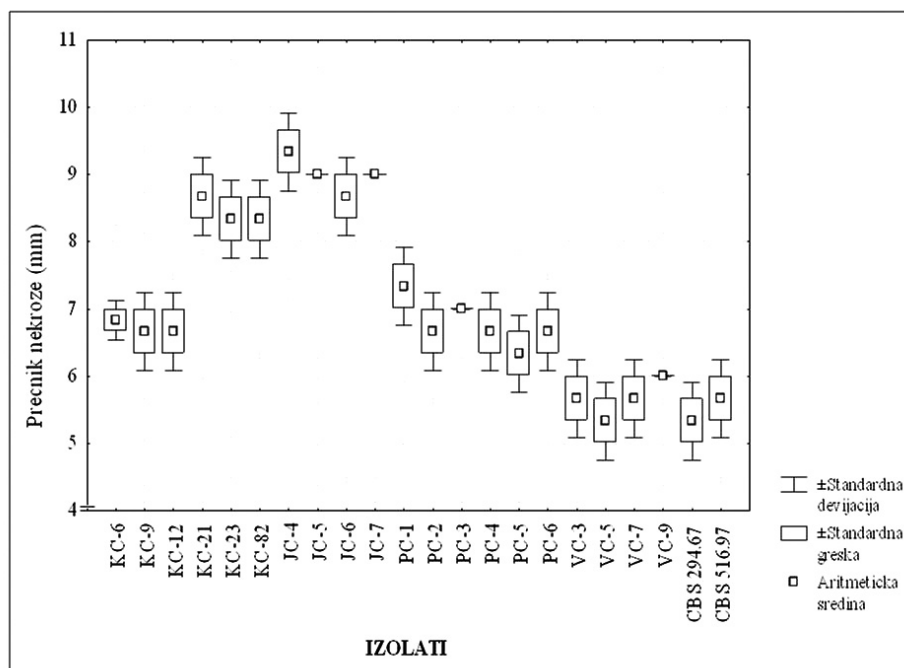
Na nezrelim plodovima paradajza najveću patogenost ispoljava izolat KC-12, a na veštački inokulisanim zrelim plodovima referentni soj *C. gloeosporioides* (CBS 516.97). Najmanji prečnik nekroze u oba testa provere patogenosti manifestuje izolat VC-3 (Sl. 8 i 9).

Na veštački inokulisanim nezrelim plodovima paradajza izolati poreklom sa višnje ne obrazuju acervule, a ostali ispitivani patogeni *Colletotrichum* spp. manifestuju veoma slabu fruktifikaciju. Na nezrelim plodovima ove povrtnarske kulture, izolati sa paradajza intenzivno formiraju plodonosna tela, dok je nešto slabija produkcija acervula konstatovana na plodovima inokulisanim izolatima sa kruške. Na antraknoznom površinama zrelih plodova paradajza, izolati poreklom sa jabuke i višnje slabo fruktificiraju (Tabela 2).

U oba eksperimenta provere patogenosti izolata *Colletotrichum* spp., Leveneovim testom je utvrđena homogenost ispitivanih varijansi, (test na nezrelim plodovima: $F=1,455$, $p=0,145$;

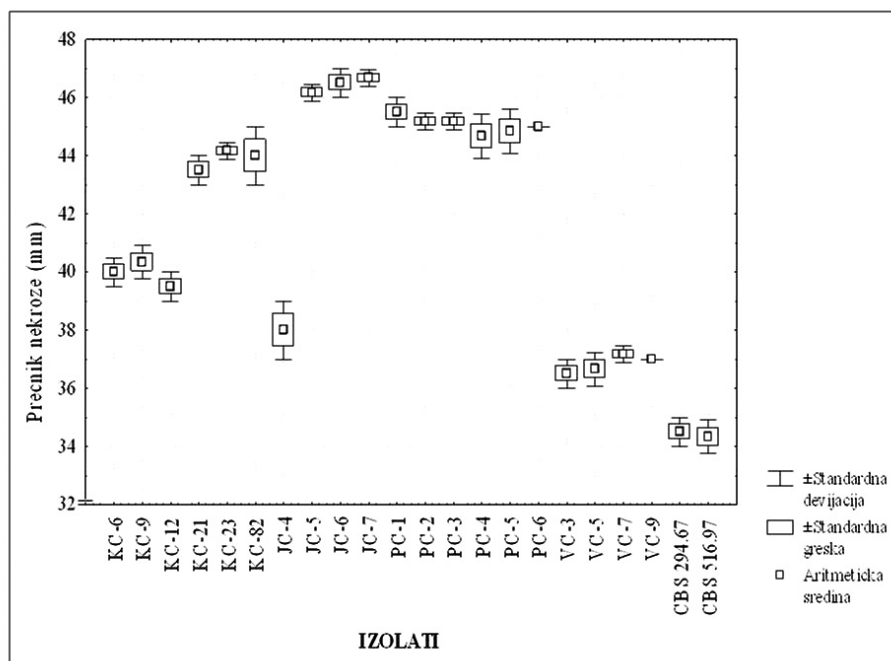
Sl. 4. Patogenost izolata *Colletotrichum* spp. na nezrelim plodovima jabuke.

Fig. 4. Pathogenicity of isolates of *Colletotrichum* spp. on immature apple fruits.



Sl. 5. Patogenost izolata *Colletotrichum* spp. na zrelim plodovima jabuke.

Fig. 5. Pathogenicity of isolates of *Colletotrichum* spp. on mature apple fruits.



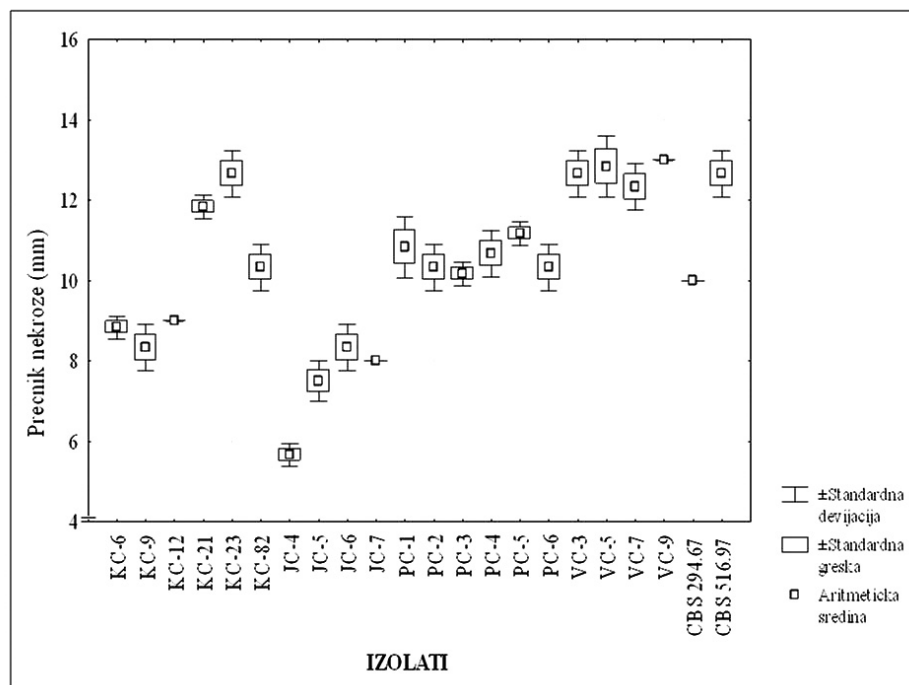
test na zrelim plodovima: $F=1,226$, $p=0,274$), pa je za statističku analizu primenjen parametarski model ANOVE. Rezultati jednofaktorijske analize varijanse pokazuju da postoje statistički značajne razlike u pogledu patogenosti ispoljene na nezrelim i zrelim plodovima paradajza (za zelene plodove: $F=183,249$, $p<0,001$; za zrele plodove $F=731,826$, $p<0,001$).

DISKUSIJA

Zbog izrazite polifagnosti gljiva roda *Colletotrichum* od velikog je značaja utvrditi njihov potencijal za unakrsne infekcije, odnosno odrediti krug biljaka domaćina. Veštačkim inokulacijama je utvrđeno da izolati *Colletotrichum* spp. poreklom sa ploda kruške, jabuke, višnje i paradajza, od 17 testiranih biljnih vrsta ne prouzrokuje jedino antraknozu krtola krompira i lukovica crnog luka. Na ostalim inokulisanim plodovima, konstatovana je nekroza i fruktifikacija patogena različitog intenziteta, što ukazuje na visok stepen polifagnosti i mogućnost ostvarenja unakrsnih infekcija. U najvećem broju

slučajeva izolati poreklom sa istog domaćina manifestuju ujednačen intenzitet nekroze na plodovima testiranih kultura, a izvesna odstupanja se mogu tumačiti genetskom varijabilnošću ispitivanih populacija.

Širok krug biljaka domaćina za izolate *C. acutatum* i *C. gloeosporioides*, dobijenih sa plodova raznog tropskog, subtropskog i kontinentalnog voća, ustanovili su u svojim istraživanjima Adaskaveg and Hartin (1997) i Freeman et al. (1998). Unakrsnim inokulacijama dokazana je polifagnost patogena, bez obzira na njihovo poreklo, tj. udaljenu botaničku pripadnost biljaka sa kojih su izolovani. Slične rezultate navode i Bompeix et al. (1988). Ovi autori konstatuju da *C. acutatum* i *C. gloeosporioides* sa antraknoznih plodova jabuke, višnje, trešnje, badema i kruške nisu usko specijalizovani, odnosno da su sve kombinacije unakrsnih veštačkih inokulacija imale pozitivan ishod. Nasuprot navedenim rezultatima, Dycos and Mordue (1979) govore o izvesnoj specijalizovanosti izolata *C. acutatum* poreklom sa leguminoza, paradajza i bora. Unakrsnim inokulacijama utvrđen je slab infektivni potencijal proučavanih izolata prema kulturama koje nisu

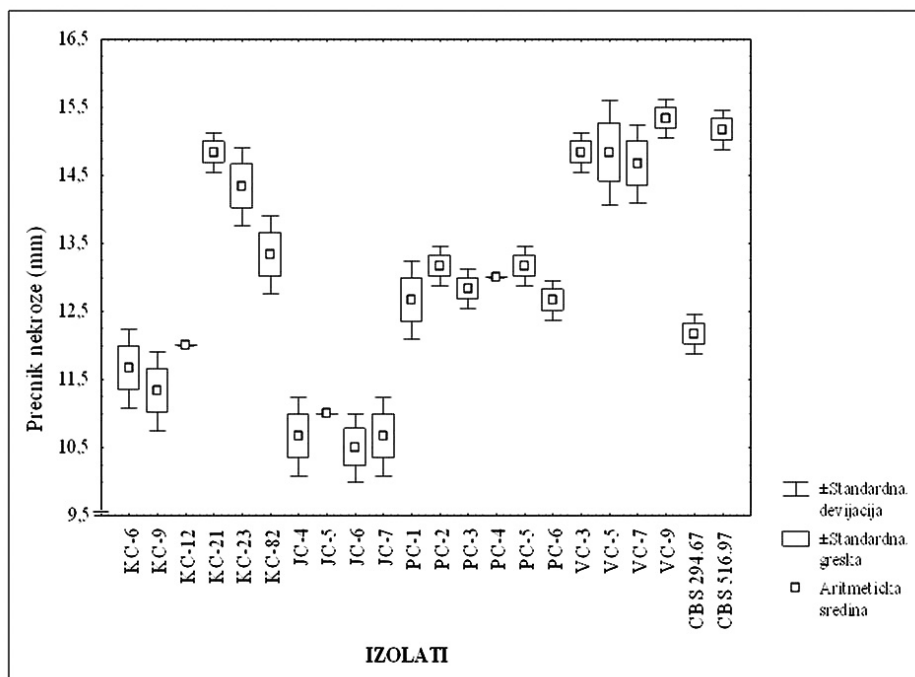


Sl. 6. Patogenost izolata *Colletotrichum* spp. na nezrelim plodovima višnje.

Fig. 6. Pathogenicity of isolates of *Colletotrichum* spp. on immature sour cherry fruits.

njihovi prirodni domaćini. Prilikom određivanja spektra domaćina izolata *C. gloeosporioides* poreklom sa jabuke, paprike i grožđa, Ahn et al. (2003) su utvrdili postojanje *forma specialis*, koje u većini slučajeva patogenost manifestuju samo na plodo-

vima primarnih biljaka domaćina. S obzirom na izrazito komplikovani taksonomski status vrsta *C. acutatum* i *C. gloeosporioides*, Jonston (2000) ističe da nema opštih pravila koja se tiču odnosa patogen - domaćin, a Freeman et al. (1998) naglašavaju

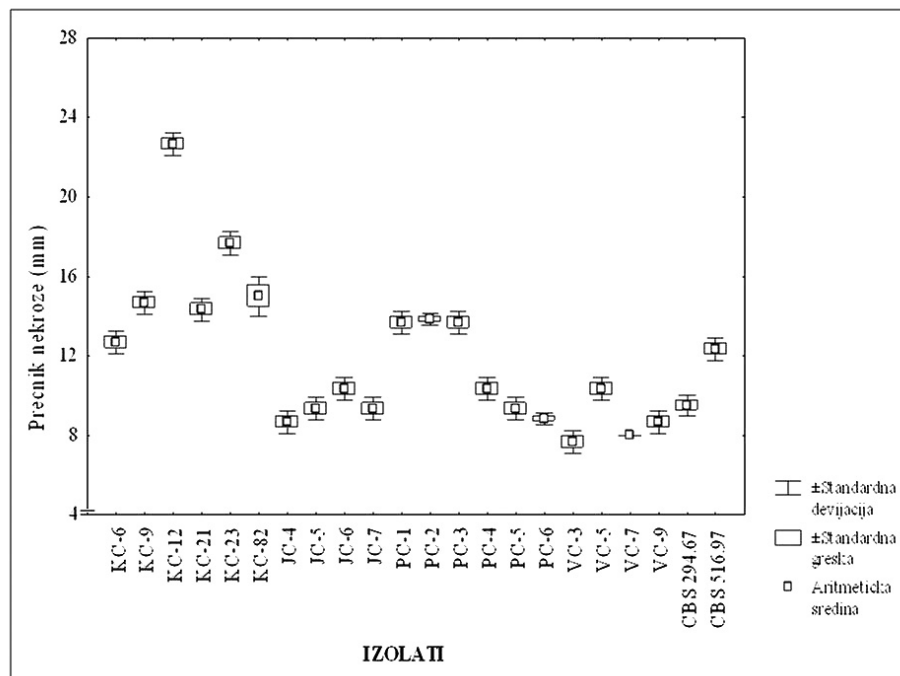


Sl. 7. Patogenost izolata *Colletotrichum* spp. na zrelim plodovima višnje.

Fig. 7. Pathogenicity of isolates of *Colletotrichum* spp. on mature sour cherry fruits.

Sl. 8. Patogenost izolata *Colletotrichum* spp. na nezrelim plodovima paradajza.

Fig. 8. Pathogenicity of isolates of *Colletotrichum* spp. on immature tomato fruits.



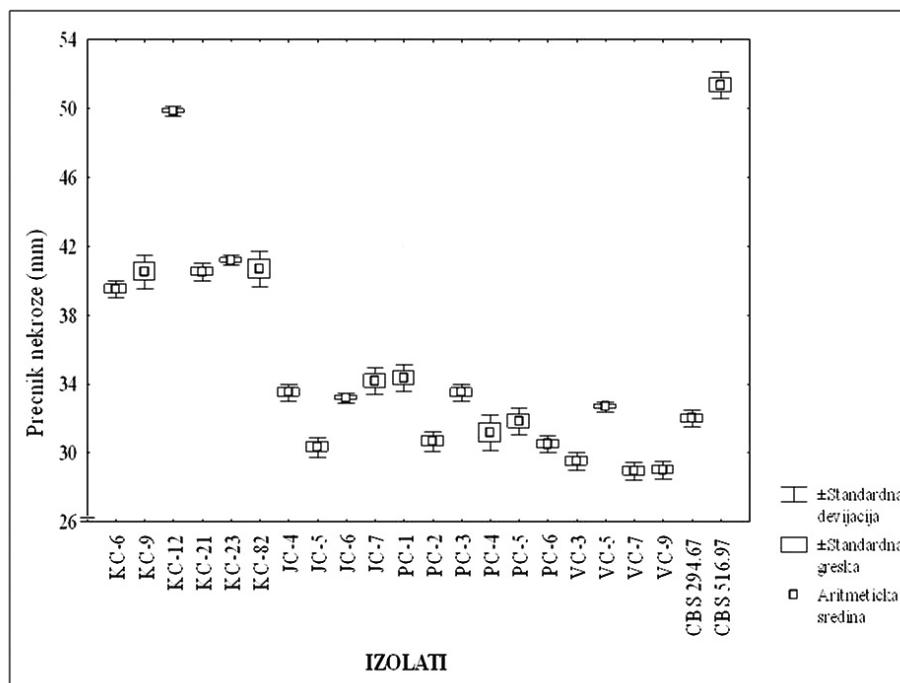
da diferencijacija vrsta zasnovana na poreklu izolata nije pouzdan kriterijum, naročito kada su u pitanju polifagne i kosmopolitske vrste. Autori takođe navode da su varijacije u intenzitetu patogenosti unutar *C. acutatum* i *C. gloeosporioides* često praćene i fenotipskim varijacijama, pa se može govoriti o da-

ljem diferenciranju ovih vrsta u odgovarajuće *forme specialis*.

Simptomi antraknoze na plodovima voća i povrtarskih kultura se uglavnom manifestuju u kasnim fazama vegetacije na već sazrelim plodovima, ali je veštačkim inokulacijama u polju utvrđe-

Sl. 9. Patogenost izolata *Colletotrichum* spp. na zrelih plodovima paradajza.

Fig. 9. Pathogenicity of isolates of *Colletotrichum* spp. on mature tomato fruits.



na osetljivost i nezrelih plodova prema patogenima *Colletotrichum* spp. (Shane and Sutton, 1981; Noe and Starkey, 1982; Zaitlin et al., 2000). Navedeni autori konstatuju da vrste roda *Colletotrichum* mogu inficirati plodove u ranim fazama vegetacije, ukoliko postoji dovoljno inokuluma i povoljni meteorološki uslovi. Na osnovu poljskih i oglada sprovedenih u laboratoriji, Trkulja (2004) takođe konstatuje da *C. acutatum* i *C. gloeosporioides* mogu inficirati jabuke u svim fenofazama njihovog razvoja, ali da je stepen ispoljene antraknoze najjači na zrelih plodovima. Rezultati našeg eksperimenta potvrđuju prethodnu tezu, jer je nakon statističke analize utvrđeno da postoje značajne razlike u pogledu patogenosti koje izolati *Colletotrichum* spp. manifestuju na nezrelim i zrelih plodovima kruške, jabuke, višnje i paradajza. Komparacijom dobijenih vrednosti konstatovana je slaba ili umerena osetljivost nezrelih i istovremeno jaka osetljivost zrelih plodova navedenih biljnih vrsta prema testiranim patogenima.

Osim uslova spoljne sredine koji imaju važnu ulogu u formiranju i disperziji konidija, kasna pojava simptoma antraknoze u prirodnim uslovima se može dovesti u vezu i sa razlikom u veličini nezrelih i zrelih plodova, odnosno sa povećanjem potencijalne infekcione površine (Shane and Sutton, 1981). Razvoj gljive u nesazrelim plodovima i zelenim biljnim organima ograničen je i usled nedostatka hranljivih i energetskih izvora (Wharton and Uribeondo, 2004). Sitterly and Shay (1960) ističu da je jedan od najznačajnijih faktora veće osetljivosti zrelih plodova voća i povrća povećanje sadržaja saharoze i drugih šećera u procesu zrenja. Ova energetska jedinjenja su osim za biljku domaćina, osnovni preduslov opstanka i razvoja patogena *Colletotrichum* spp.

ZAHVALNICA

Rad je realizovan u okviru Projekta TR 31018 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA

- Adaskaveg, J.E., and Hartin, R.J. (1997): Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. *Phytopathology*, 87: 979-987.
- Ahn, I.P., Kim, S., Im, K.H., Lee, Y.H. (2003): Vegetative compatibility grouping and pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from different host plants. *Plant Pathol. J.*, 19: 269-273.
- Bailey J.A., O'Connell, R.J., Pring, R.J., Nash, C. (1992): *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. J.A. Bailey and M.J. Jeger, eds. CAB Int., Wallingford, UK.
- Bompeix, G., Julio, E.V.R., Phillips, D.H. (1988): *Glomerella cingulata* (Ston.) Spauld. & Schrenk. In *European Handbook of Plant Diseases* (Eds. Smith et al.), pp. 454-455. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- Dyko, B.J., and Mordue, J.E.M. (1979): *Colletotrichum acutatum*. CMI Description of Pathogenic Fungi and Bacteria. No. 630. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England.
- Jones, A.L., Ehret, G.R., Mayer, M.P., Shane, W.W. (1996): Occurrence of bitter rot on apple in Michigan. *Plant Disease*, 80: 1294-1297.
- Johnston, P.R. (2000): The importance of phylogeny in understanding host relationships wi-

thin *Colletotrichum*. In: *Colletotrichum*, Host Specificity, Pathology, and Host –Pathogen Interaction (Eds. Prusky, D., Freeman, S. and Dickman, M.B.), pp. 21–28. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.

Freeman, S., Katan, T., Shabi, E. (1998): Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose disease of various fruits. *Plant Disease*, 82: 596–605.

Noe, J.P., and Starkey, T.E. (1982): Relation of apple fruit maturity and inoculum concentration to infection by *Glomerella cingulata*. *Plant Disease*, 66: 379–381.

Shane, W.W., and Sutton, T.B. (1981): Germination, appressorium formation and infection of immature and mature apple fruit by *Glomerella cingulata*. *Phytopathology*, 71: 454–457.

Smith, B.J., and Black, L.L. (1990): Morphological, cultural and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. *Plant Disease*, 74: 69–76.

Sitterly, W.R., and Shay, J.R. (1960): Physiological factors affecting the onset of susceptibility of apple fruit to rotting by fungus pathogens. *Phytopathology*, 50: 91–93.

Trkulja, V. (2004): Patogene, morfološke i odgajivačke odlike *Colletotrichum* spp. prouzrokovala gorke truleži ploda jabuke. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Beograd.

Wharton, P.S., and Uribeondo J.D. (2004): The biology of *Colletotrichum acutatum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 61: 3–22.

Zaitlin, B., Zehr, E.I., Dean, R.A. (2000): Latent infection of peach caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum acutatum*. *Can. J. Plant Pathol.*, 22: 224–228.

Živković S. (2011): Usporedna proučavanja izolata *Colletotrichum* spp. prouzrokovala antraknoze. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

(Primljeno: 10.08.2012.)

(Prihvaćeno: 07.09.2012.)

PATHOGENICITY OF ISOLATES OF *COLLETOTRICHUM* SPP. – THE CAUSAL AGENTS OF ANTHRACNOSE

SVETLANA ŽIVKOVIĆ, NENAD DOLOVAC, TATJANA POPOVIĆ, SAŠA STOJANOVIĆ

Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia

e-mail: zivkovicsvetla@gmail.com

SUMMARY

The pathogenic characteristics of 20 isolates of *Colletotrichum* spp. originating from pear, apple, sour cherry and tomato fruits, as well as reference strains of *C. acutatum* (CBS 294.67) and *C. gloeosporioides* (CBS 516.97) are presented in this paper. In the studies of host range of isolates of *Colletotrichum* spp. were included 17 plant species. Nine days after artificial inoculation all tested isolates were caused anthracnose lesion on fruits of apple, pear, peach, apricot, sour cherry, sweet cherry, plum, strawberry, grape, tomato, pepper, eggplant, cucumber, zucchini, and green beans. Isolates of *Colletotrichum* spp. originating from the same host showed some differences in the degree of aggressiveness, which can be interpreted as the genetic variability of populations. The results of one-way analysis of variance indicate that the pathogenicity of isolates of *Colletotrichum* spp. is statistically significantly different on immature and mature fruits of pear, apple, sour cherry and tomato. Low to moderate sensitivity of immature fruits was confirmed by comparison of the degree of necrosis. Mature fruits were manifested a strong sensitivity to all tested isolates of *Colletotrichum* spp.

Key words: anthracnose, *Colletotrichum* spp., pathogenicity, immature and mature fruit

(Received: 10.08.2012.)

(Accepted: 07.09.2012.)