

Zaštita bilja

Vol. 63 (3), № 281, 148–158, 2012, Beograd

Plant Protection

Vol. 63 (3), № 281, 148–158, 2012, Belgrade

UDK: 634.2-248.214

582.282.14

Naučni rad

Scientific paper

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

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

Institut za zaštitu bilja i životnu stedinu, Beograd

e-mail: trkulja_nenad@yahoo.com

REZIME

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

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

UVOD

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

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

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

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

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

MATERIJAL I METODE

Uzorkovanje i izolacija

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

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

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

Provera patogenosti izolata *M. Laxa*

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

Utvrđivanje morfoloških karakteristika izolata *M.laxa*

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

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

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

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

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

Utvrđivanje odgajivačkih karakteristika izolata *M.laxa*

Od odgajivačkih karakteristika ispitivanih izolata *M. laxa* praćeni su porast i sporulacija. U cilju praćenja porasta, ispitivani izolati su gajeni KDA i MEA podlozi (Dhingra and Sinclair, 1995). Nakon sterilizacije podloge su razlivene u Petri kutije (90 mm) u količini od po 20 ml, zatim su na njih zasejani fragmenti kolonija (\varnothing 5 mm) iz kultura starih 14 dana. Zasejane Petri kutije inkubirane su u mraku, na 25°C. Ogled je trajao 14 dana i postavljen je u 5 ponavljanja. Rezultati su predstavljeni u vidu prosečnog dnevног porasta micelije (mm/dan). Sporulacija patogena praćena je samo na KDA podlozi. Sa kolonija starih 14 dana sastrugan je površinski sloj micelije. Struganje je izvršeno pomoću sterilne kopljaste igle sa površine od 1 cm². Tako sakupljen materijal je prebačen u mikrotube zapremine 1,5 µl u koje je prethodno pipetiran po 1 ml sterilne de-

stilovane vode. Intenzitet sporulacije je određen po-moću hemocitometra.

REZULTATI

Provera patogenosti izolata gljive

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

Morfološke karakteristike izolata *M.laxa*

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

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

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

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

Odgajivačke karakteristike izolata *M.laxa*

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



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

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

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

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

^aTekstura micelije

b Vd – Vazdušasta

b Boja

B – bela
Bs – belo-siva
Bk – belo-krem
Bz – Belo-zelena
K – krem
Z – zelena

Zk – zeleno-krem

Zb – zeleno-bela

Zs – zeleno-siva

Zn – zeleno-narandžasta

Zks – zeleno-krem-siva

Tz – tamno zelena

Sn – smede-narandžasta

Sk – smede-krem

Sb – smede-bela

Sz – smede-zelena

Sk – smede-krem

Svk – svetlo krem

c Rozetavost

N – neznatna

U – umerena

I – intenzivna



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

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

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

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

obilnije sporulište ($89,9 \times 10^4$ konidija/cm²), dok su najmanji broj konidija obrazovali izolati VBM1 i SDV2 ($2,3 \times 10^4$ konidija/cm²), (Grafik 2).

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

| Šifra Izolata | aTekstura micelije | bBoja lica | cRozetavost | Boja naličja | Konc. zone na naličju |
|---------------|--------------------|------------|-------------|--------------|-----------------------|
| PSKJ1 | Vd | B | N | Sn | Da |
| PSKJ2 | Vd | B | N | Zs | Ne |
| PSKJ3 | Vd | B | U | K | Da |
| PSKJ4 | Vd | B | U | Zk | Da |
| PSKJ5 | Vd | Zb | N | Zn | Ne |
| PSKJ6 | Vd | B | N | Bk | Da |
| KJ1 | Vd | Bk | U | Sk | Da |
| KJ2 | Vd | Bk | I | Sk | Da |
| KJ3 | Vd | Bk | I | Bk | Ne |
| KJGR | Vd | Bk | I | Bk | Da |
| VKM2 | Vd | B | N | K | Ne |
| VKM3 | Vd | Bk | U | Sk | Da |
| VBM1 | Vd | Bk | U | K | Da |
| BRIC | Vd | B | N | Zk | Ne |
| S111 | Vd | Bk | U | Sk | Da |
| S112 | Vd | Zks | U | Sk | Da |
| SDV1 | Vd | B | I | Sz | Ne |
| SDV2 | Vd | Sb | U | Sk | Da |
| SDV3 | Vd | Bk | U | Sk | Ne |
| RU2 | Vd | B | N | Tz | Ne |
| VNB1 | Vd | Bk | N | Zks | Ne |
| SVJ2 | Vd | Bk | U | K | Da |
| SD1 | Vd | B | I | Sk | Da |

a **Tekstura micelije**

Vd – Vazdušasta

b **Boja**

B – bela

Bs – belo-siva

Bk – belo-krem

Bz – Belo-zelena

K – krem

Z – zelena

Zk – zeleno-krem

Zb – zeleno-bela

Zs – zeleno-siva

Zn – zeleno-narandžasta

Zks – zeleno-krem-siva

Tz – tamno zelena

Sn – smeđe-narandžasta

Sk – smeđe-krem

Sb – smeđe-bela

Sz – smeđe-zelena

Sk – smeđe-krem

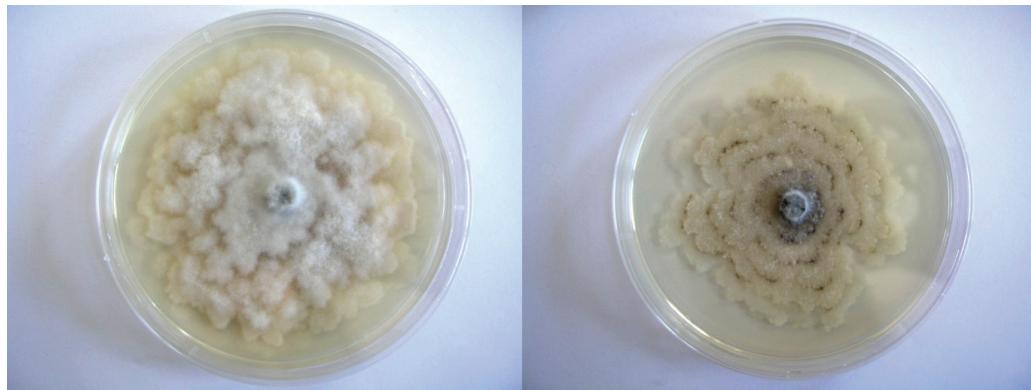
Svk – svetlo krem

c **Rozetavost**

N – neznatna

U – umerena

I – intenzivna



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

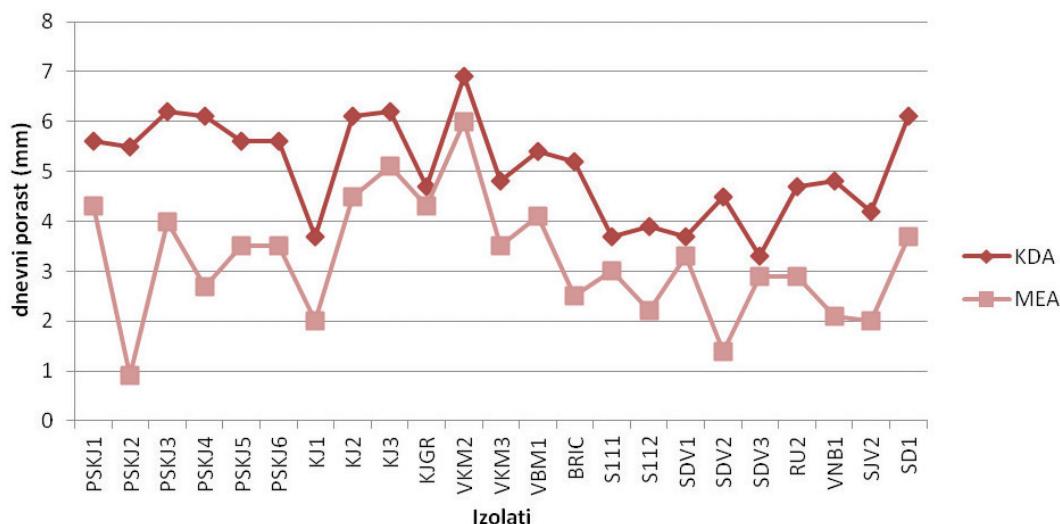
Figure 3. Isolates of *M. laxa* on MEA.

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

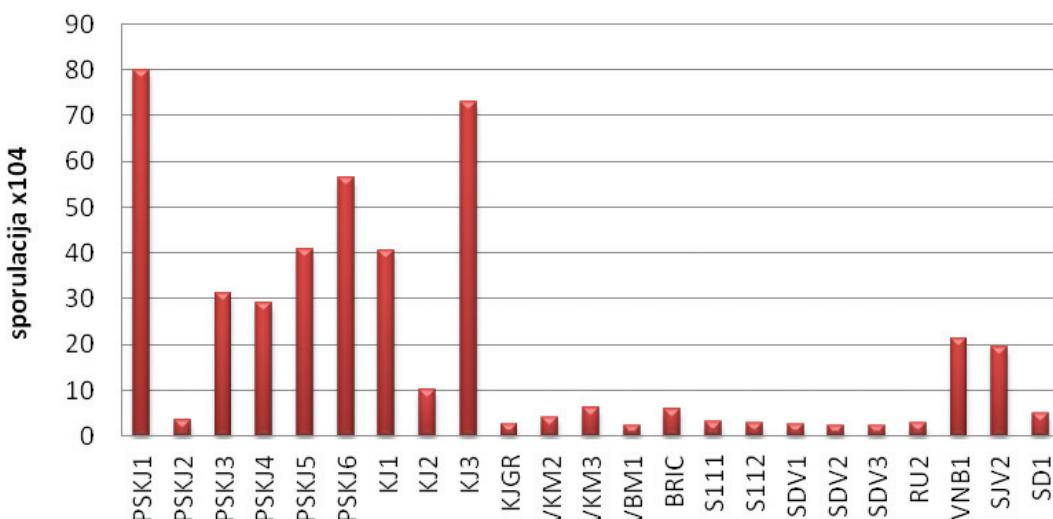
| Šifra izolata | Dužina konidija (μm) | | | Širina konidija (μm) | | |
|---------------|----------------------|--------|-------|----------------------|--------|------|
| | min | prosek | max | min | prosek | max |
| PSKJ1 | 5 | 9,7 | 20 | 1,3 | 4,1 | 7,5 |
| PSKJ2 | 5 | 13 | 22,5 | 5 | 6,3 | 10 |
|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

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

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

Grafik 1. Prosečan dnevni porast (mm) izolata *M. laxa* na KDA i MEA.Chart 1. Average daily growth (mm) of *M. laxa* isolates on PDA and MEA.

Sporulacija

Grafik 2. Sporulacija izolata *M. laxa* na KDA.Chart 2. Sporulation of *M. laxa* isolates on PDA.

DISKUSIJA

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

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

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

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

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

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

ZAHVALNICA

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

LITERATURA

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

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

(Primljeno: 03.09.2012.)

(Prihvaćeno: 22.10.2012.)

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

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

Institut za zaštitu bilja i životnu stedinu, Beograd

e-mail: trkulja_nenad@yahoo.com

SUMMARY

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

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

(Received: 03.09.2012.)

(Accepted: 22.10.2012.)