

MIKOPOPULACIJA RAZLIČITIH GENOTIPOVA GRAHORICE U SRBIJI

TANJA VASIĆ¹, JASMINA MILENKOVIĆ¹, ZORAN LUGIĆ¹, DRAGAN TERZIĆ¹, RADE STANISAVLJEVIĆ²,
MILOMIR BLAGOJEVIĆ¹, DRAGOSLAV ĐOKIĆ¹

¹Institut za krmno bilje, Kruševac

²Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd
e-mail: tanja.vasic@ikbks.com

REZIME

Grahorica (*Vicia sativa* L.) je jednogodišnja biljka iz porodice mahunarki (*Fabaceae*). Potiče iz umerenog klimatskog pojasa Evrope i Azije. Ima posebno mesto u obezbeđenju kabašte stočne hrane (krme) u zoni umerenog klimata. Pripada visokokvalitetnim proteinskim krmnim biljkama.

Sistematskih istraživanja mikoflore grahorice u Srbiji do sada nije bilo. U ovome radu iznosimo rezultate preliminarnih istraživanja mikopopulacije 15 različitih genotipova grahorice. Ukupno je pregledano 600 biljnih delova sa kojih je izolovano 9 rodova gljiva: *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Phoma*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Botrytis* i *Ascochyta*. Na biljkama iz kojih su izolovane gljive bili su jasno vidljivi makroskopski simptomi zaraze.

Ključne reči: grahorica, mikopopulacija

UVOD

Krma grahorice se odlikuje vusokom hranljivom vrednošću i svarljivošću. Hranljiva vrednost obične grahorice veća je od graška, esparzete, ovsa, sudanske trave i drugih krmnih biljaka. Grahorice su najzastupljenije na Evropskom kontinentu oko 52% od ukupnih površina pod grahoricom u svetu, dok je preostali deo površina pod grahoricom u Aziji. Najveće površine grahorice u svetu su u Turskoj, zatim Rusiji, Španiji i Ukrajini (Erić i sar. 2007). Procenjuje se da površine pod jednogodišnjim krmnim leguminozama u Srbiji zauzimaju oko 30.000 ha (Karagić i sar., 2011). Najzastupljenija je jara, a zatim ozima forma obične grahorice (*V. sativa* L.), dok se ozima maljava (*V. villosa* Rpth.) i panonska grahorica (*V. pannonica* Grantz.) kod nas gaje veoma sporadično. U našoj zemlji se isključivo gaji obična grahorica (jara i ozima forma) (Erić i sar. 2007).

Bolesti mahunarki uzrokovane fitopatogenim gljivama javljaju se, u jačem ili slabijem intenzitetu, redovno svake godine u svim područjima sveta i značajno utiču na sniženje potencijalnog roda tih kultura, ali i na kvalitetu konačnoga proizvoda, trgovinu biljnim materijalom i širenje mahunarki u

nova područja (Porta-Puglia and Aragona, 1997). Antraknozu grahorice i pasulja, izaziva gljiva *Ascochyta fabae* Speg. (teleomorph *Didymella fabae* G.J. Jellis & Punith.) (Tivoli et al., 2006). *Uromyces viciae-fabae* (Pers.) J. Schröt. je uzročnik rđe grahorica i pasulja i ima širok krug domaćina koje može da inficira i to su biljne vrste iz rodova *Pisum*, *Lathyrus* and *Lens* (Sillero and Rubiales, 2014). Na semenu grahorica utvrđene su dve vrste iz roda *Fusarium*, *F. verticillioides* i *F. proliferatum* (Miličević i sar., 2013). Isto tako prouzrokovaci bolesti kao što su *Erysiphe pisi*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Cercospora medicaginis*, *Pseudopeziza medicaginis*, *Sclerotinia trifoliorum*, *Stemphylium botryosum*, *Verticillium albo-atrum*, *Aphanomyces euteiches* kao i vrste iz roda *Phytium*, *Leptosphaerulina*, *Phoma*, *Phytophthora* i *Alternaria* su značajni prouzrokovaci bolesti grahorice, rašreni u svim arealima njenog gajenja (Morgan and Johnson, 1965; Stovold and Walker, 1980; Hughes and Grau, 2007; Villegas-Fernández and Rubiales, 2011; Salam et al., 2011; Sillero et al., 2014).

S obzirom na značaj grahorice kao krmne kulture u Srbiji, cilj ovog rada je determinacija fitopatogenih gljiva prouzrokovaca bolesti na grahorici

i sagledavanje problema (izumiranje biljaka, smanjenje prinosa, pogoršavanje kvaliteta krme i drugo) koji mogu nastati kao posledica njihovog prisustva na ovoj biljnoj kulturi.

MATERIJAL I METODE

Za proučavanje mikopopulacije prikupljeni su uzorci više eksperimentalnih genotipova biljaka grahorice (*Vicia sativa* L.) poreklom iz Australije i 5 divljih genotipova iz Srbije sa teritorije Rasinskog okruga. Uzorci su prikupljeni u periodu maj-jun. 2015. godine na lokaciji Instituta za Krmno bilje u Globoderu. Biljni delovi su pažljivo isprani pod tekućom vodom. Nakon ispiranja, delovi stabla i korena izrezani su na komadiće dimenzija 0,5-1 cm. Tako pripremljeni uzorci dezinfikovani su sa 96% etanolom 10 sekundi, 1% natrijum-hipokloritom (NaOCl) 1 min. i isprani tri puta u sterilnoj destilovanoj vodi. Potom su prosušeni na sterilnom filter papiru i stavljeni na krompir dekstrozni agar (KDA) sa streptomycinom. U svaku Petri kutiju stavljeno je po 5 biljnih delova, u četiri ponavljanja. Držani su u termostatu na 22°C i svetlosnom režimu 12 sati dan/12 sati noć. Pregled se obavljao svaka 3 dana, a na većini uzoraka micelija se razvila do 14. dana. Razvijene micelije presejane su na novu KDA podlogu te je, nakon početnoga porasta, vršni dio micelija ponovno presejan na KDA.

Mikroskopski pregled obavljen je pomoću mikroskopa marke Olympus CX31. Morfološka identifikacija gljiva do roda obavljena je pomoću standardnih ključeva. Izračunata je učestalost izolacije u % prema formuli (Vrandečić i sar., 2011):

$$\text{Učestalost izolacije} = \frac{\text{broj kolonizovanih delova sa gljivama}}{\text{ukupan broj analiziranih biljnih delova}} \times 100$$

REZULTATI I DISKUSIJA

U ovim istraživanjima mikopopulacije genotipova grahorice ukupno je pregledano 600 biljnih delova. Na svim biljkama sa kojih su izolovane gljive bili su jasno izraženi simptomi na stabljikama u vidu nekrotičnih pega i lezija. Sa tih biljaka izolovane su gljive iz rodova *Fusarium* i *Alternaria*. Isto tako kod velikog broja biljaka, na stablima su uočene nekroze sa prisutnom belom vazdušastom micelijom, u donjoj trećini stabla i iz tih biljaka su izolovane gljive iz roda *Sclerotinia*. Samo kod jedneog genotipa sa stabla izolovana je gljiva iz roda *Ascochyta* sp. Takođe, kod genotipova koji vode poreklo iz Srbije na stablu su uočeni simptomi

sive truleži i za njih je utvrđeno da pripadaju rodu *Botrytis*. Kod nekih biljaka na stablu uočena su crna plodonosna tela-piknidi, za koje je utvrđeno da pripadaju rodu *Phoma* (tabela 1).

Na korenovom sistemu biljaka bili su prisutni simptomi u vidu svetlo do tamno braon nekroza i iz ovih biljaka su izolovane gljive iz rodova *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp. i *Rhizoctonia* sp. Takođe kod većeg broja biljaka na korenovom sistemu uočeno je obezbojavanje sprovodnog tkiva i iz tih biljaka su izolovane gljive iz roda *Verticillium*.

Dobijeni rezultati ukazuju da je grahorica podložna napadu velikog broja fitopatogenih gljiva koje mogu značajno da utiču na smanjenje njenih prinosa i kvaliteta.

Na svim biljkama sa kojih su rađene izolacije bili su prisutni jasno vidljivi simptomi oboljenja. U ovim istraživanjima uočena je razlika u učestalosti izolacije pojedinih rodova fitopartogenih gljiva kako kod australijskih tako i srpskih genotipova. Uočeno je da su kod genotipova koji vode poreklo iz Srbije učestalije izolovane gljive iz roda *Botrytis*. Isto tako rodovi *Alternaria* i *Ascochyta* su učestalije izolovani kod australijskih genotipova. Što se tiče preostalih sedam rodova izolovanih fitopatogenih gljiva zastupljene su kod svih proučavanih genotipova grahorica.

Rodovi *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Phoma*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Botrytis* i *Ascochyta* su dominantni na jednogodišnjim i višegodišnjim grahoricama u svetu (Tivoli et al., 2006; Villegas-Fernández and Rubiales, 2011; Salam et al., 2011; Sillero et al., 2014). Miličević i sar. (2013) su u Hrvatskoj su na semenu grahorica deternimisali dve *Fusarium* vrste, *F. verticillioides* i *F. proliferatum*. Dok Salam et. al. (2011) u Australiji navode rodove *Ascochyta* i *Botrytis*, posebno vrste *Ascochyta fabae* Speg. (teleomorph: *Didymella fabae*) i *Botrytis fabae*, *B. cinerea* kao značajne patogene na bobu. Značajno je napomenuti da paraziti iz roda *Botrytis* prezimljavaju u vidu sklerocija ili kao micelija u biljnim ostacima u zemljištu (Davidson et al., 2004). Pa su iz tih razloga preporuke da se poštuje plodored od četiri godine, kada je upitanju setva grahorice posle boba i graška (Salam et al., 2011). Salam et. al. (2011) takođe, navode *Phoma medicaginis* var. *pinodella* i *Ascochyta pisi* kao značajne patogene na grašku. *Phytophthora medicaginis* je zabeležena na leblebiji u Australiji, takođe je utvrđeno da ovim parazitom pri jačim zarazama, mogu biti inficirane i druge vrste mahunarki (Salam et al., 2011). *Sclerotinia trifoliorum* Eriks., često nanosi ozbiljne probleme na mnogim mahunarkama u Grčkoj (Lithourgidis, 2005). *Rhizoctonia solani*

Tabela 1. Učestalost izolacije gljiva na grahorici.
Table 1. Frequency of fungal isolation on vetch.

Genotipovi Genotypes	Broj uzoraka Number of samples		Vrsta gljive (stablo) Fungi sp.(stem)	Učestalost izolacije (%) Isolation frequency	Vrsta gljive (koren) Fungi sp. (root)	Učestalost izolacije (%) Isolation frequency
	Biljni deo-stabljika Plant part-stem	Biljni deo-koren Plant part-root				
SA-1	20	20	<i>Fusarium</i> sp.	35	<i>Fusarium</i> sp.	15
			<i>Alternaria</i> sp.	20	<i>Rhizoctonia</i> sp.	30
SA-2	20	20	<i>Phytophthora</i> sp.	30	<i>Phytophthora</i> sp.	30
			<i>Alternaria</i> sp.	20	<i>Rhizoctonia</i> sp.	40
			<i>Fusarium</i> sp.	10	<i>Fusarium</i> sp.	20
SA-3	20	20	<i>Fusarium</i> sp.	20	<i>Rhizoctonia</i> sp.	40
			<i>Alternaria</i> sp.	30	<i>Fusarium</i> sp.	5
SA-4	20	20	<i>Fusarium</i> sp.	35	<i>Verticillium</i> sp.	25
			<i>Sclerotinia</i> sp.	30	<i>Fusarium</i> sp.	40
			<i>Alternaria</i> sp.	20	<i>Verticillium</i> sp.	30
SA-5	20	20	<i>Fusarium</i> sp.	40	<i>Fusarium</i> sp.	30
			<i>Alternaria</i> sp.	30	<i>Rhizoctonia</i> sp.	40
SA-6	20	20	<i>Ascochyta</i> sp.	15	<i>Rhizoctonia</i> sp.	40
			<i>Phoma</i> sp.	35	<i>Fusarium</i> sp.	35
			<i>Fusarium</i> sp.	15		
SA-7	20	20	<i>Sclerotinia</i> sp.	20	<i>Fusarium</i> sp.	30
			<i>Fusarium</i> sp.	20	<i>Rhizoctonia</i> sp.	40
			<i>Phoma</i> sp.	30		
SA-8	20	20	<i>Sclerotinia</i> sp.	40	<i>Fusarium</i> sp.	35
			<i>Phoma</i> sp.	30	<i>Rhizoctonia</i> sp. <i>Verticillium</i> sp.	30
SA-9	20	20	<i>Sclerotinia</i> sp.	30	<i>Rhizoctonia</i> sp.	35
			<i>Fusarium</i> sp.	35	<i>Phytophthora</i> sp.	20
			<i>Fusarium</i> sp.	20		
SA-10	20	20	<i>Alternaria</i> sp.	30	<i>Verticillium</i> sp.	40
			<i>Phoma</i> sp.	15	<i>Fusarium</i> sp.	15
			<i>Phytophthora</i> sp.	20		
SR-1	20	20	<i>Botrytis</i> sp.	40	<i>Rhizoctonia</i> sp.	75
			<i>Sclerotinia</i> sp.	15		
			<i>Fusarium</i> sp.	10		
SR-2	20	20	<i>Fusarium</i> sp.	15	<i>Fusarium</i> sp.	40
			<i>Sclerotinia</i> sp.	30	<i>Phytophthora</i> sp.	25
			<i>Phytophthora</i> sp.	20		
SR-3	20	20	<i>Fusarium</i> sp.	35	<i>Fusarium</i> sp.	55
			<i>Phoma</i> sp.	20		
SR-4	20	20	<i>Sclerotinia</i> sp.	40	<i>Rhizoctonia</i> sp.	70
			<i>Fusarium</i> sp.	30		
SR-5	20	20	<i>Botrytis</i> sp.	30	<i>Rhizoctonia</i> sp.	30
			<i>Sclerotinia</i> sp.	35	<i>Fusarium</i> sp.	40

Kühn je zemljišni parazit koji može da izazove ozbiljne probleme na mnogim mahunarkama posebno na bobu (Assunção, 2011). U Kanadi, je testirano 304 genotipova boba na otpornost prema *R. solani* samo ih je pet identifikovano sa visokom otpornošću (Rashid and Bernier, 1993). Ligoxigakis et al. (2002) su u Grčkoj determinisali *V. dahliae* kao parazita na grahorivi i drugim mahunarkama.

U ovom radu su prikazani preliminarni rezultati mikopopulacije 15 eksperimentalnih genotipova grahorice. Grahorica je veoma značajna krmna kulture i sve veći značaj zauzima u našoj

zemlji, kao stočna hrana. Ovaj rad je početak sveobuhvatnijeg proučavanja fitoparogenih gljiva na grahpriči. Do sada u Srbiji nije bilo značajnijih istraživanja u ovom pravcu tako da će buduća istraživanja vezana za grahoricu ići u pravcu selekcije radi dobijanja genotipova sa pojačanom tolerancijom prema bolestima.

ZAHVALNICA

Munistarstvo prosvete, nauke u tehnološkog razvoja Republike Srbije, projekat TR 31057.

LITERATURA

- Assunção, I. P., Nascimento, L.D., Ferreira, M.F.; Oolivira, F.J., Michereff, S.J., Lima, G.S.A. (2011): Reaction of faba bean genotypes to *Rhizoctonia solani* and resistance stability. *Horticultura Brasileira*, 29: 492–497.
- Davidson, J.A., Pande, S., Bretag, T.W., Lindbeck, K.D., Krishna-Kishore, G. (2004): Biology and Management of *Botrytis* spp. in legume crops. In: Elad Y, Williamson B, Tudzynski P, Delen N (eds) *Botrytis: biology, pathology and control*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 295–318.
- Erić, P., Mihajlović, V., Čupina, B., Mikić, A. (2007): *Jednogodišnje krmne mahunarke*. Graf Style, Novi Sad.
- Hughes, T. J., C. R. Grau (2007): *Aphanomyces* root rot or common root rot of legumes. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2007-0418-01.
- Karagić, Đ., Mihailović, V., Katić, S., Milošević, B., Pataki, I. (2011): Prinos i kvalitet semena NS sorti krmnih biljaka u periodu 2007–2010. *Zbornik referata sa 45. Savetovanje agronoma Srbije, Zlatibor, 30.januar–05. Februar*: 143–153.
- Kushwaha, C., Chand, R., Srivastava, C. (2006): Role of aeciospores in outbreaks of pea (*Pisum sativum*) rust (*Uromyces fabae*). *European Journal of Plant Pathology*, 115: 323–330.
- Ligoxigakis, E. K., Vakalounakis, D. J., Thanassoulopoulos, C. C. (2002): Host Range of *Verticillium dahliae* in cultivated species in Crete. *Phytoparasitica*, 30(2):141–146.
- Lithourgidis, A. S., Roupakias, D. G., Damalas, C. A. (2005): Inheritance of resistance to sclerotinia stem rot (*Sclerotinia trifoliorum*) in faba beans (*Vicia faba* L.). *Field Crops Research*, 91, (2–3): 125–130.
- Miličević, T., Kaliterna J., Ivić, D., Stričak, A. (2013): Identifikacija i zastupljenost *Fusarium* vrsta na sjemenu grahorice, Bijele Vučike te nekih samoniklih mahunarki. *Poljoprivreda*, 19 (1): 25–32.
- Morgan, F. L., Johnson, H. W. (1965): *Phytophthora* root and crown rot of Vetch. *Plant Disease Reporter*, 49 (1): 84–88.
- Nash, P., Verrell, A. (2011): Advances in winter pulse pathology research in Australia. *Australasian Plant Pathol*, 40: 549–567.
- Porta-Puglia, A., Aragona, M. (1997): Improvement of grain legumes - General part: diseases. *Field Crops Research*, 53: 17–30.
- Rashid, K. Y., Bernier, C. C. (1993): Genetic diversity among isolates of *Rhizoctonia solani* and sources of resistance in *Vicia faba*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 15: 23–28.
- Salam, M. U., Davidson, J. A., Thomas, G. J., Ford, R., Jones, R. A. C., Lindbeck, K. D., MacLeod, W. J., Kimber, R. B. E., Galloway, J., Mantri, N., van Leur, J. A. G., Coutts, B. A., Freeman, A. J., Richardson, H., Aftab, M., Moore, K. J., Knights, E., J., Sillero, J. C., Rojas-Molina M. M., Emeran, A. A., Rubiales, D. (2011): Rust resistance in faba bean. *Grain Legumes*, 56: 27–28.
- Sillero J.C., Rubiales D. (2014): Response of *Vicia* species to *Ascochyta fabae* and *Uromyces viciae-fabae*. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 50: 109–115.
- Stovold, G., Walker, J. (1980): A preliminary note on *Botrytis* spp. affecting *Vicia* in Australia. *Australasian Plant Pathology*, 9 (2): 10.
- Tivoli B., Baranger A., Avila C.M., Banniza S., Barbetti M., Chen W.D., Davidson J., Lindeck K., Kharrat M., Ru-

biales D., Sadiki M., Sillero J.C., Sweetingham M., Muehlbauer F.J. (2006): Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. *Euphytica*, 147: 223–253.

Villegas-Fernández, A. M., Rubiales, D. (2011): Chocolate spot resistance in faba bean. *Grain Legumes*, 56: 29–30.

Vrandečić, K., Ćosić, J., Jurković, D., Poštić, J. (2011): Mikopopulacija ljekovitog bilja u Hrvatskoj. *Poljoprivreda*, 17 (2) 18–21.

(Primljeno: 17.07.2015.)
(Prihvaćeno: 10.08.2015.)

MYCOPOPULATION OF DIFFERENT VETCH GENOTYPES IN SERBIA

TANJA VASIĆ¹, JASMINA MILENKOVIĆ¹, ZORAN LUGIĆ¹, DRAGAN TERZIĆ¹, RADE STANISAVLJEVIĆ²,
MILOMIR BLAGOJEVIĆ¹, DRAGOSLAV ĐOKIĆ¹

¹*Institute for Forage Crops, Kruševac, Serbia*

²*Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia*
e-mail: tanja.vasic@ikbks.com

SUMMARY

Vetch (*Vicia sativa* L.) is annual plant from the legume family (Fabaceae) and originates from the temperate zone of Europe and Asia. It has a special place in the provision of animal feed (fodder) in the zone of moderate climate. It belongs to high-quality protein fodder plants.

There has not been a systematic research of vetch mycoflora in Serbia. This research aims to present the results of preliminary research of mycopopulation of 15 different genotypes of vetch. Total of 600 plant parts has been examined and 9 genera of fungi were isolated: *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Phoma*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Botrytis* and *Ascochyta*. On the plants from which the fungi were isolated, there were macroscopically clearly visible symptoms of infection.

Key words: mycopopulation, vetch

(Received: 17.07.2015.)

(Accepted: 10.08.2015.)