

Zaštita bilja  
Vol. 63 (4), Nº 282, 192-197, 2012, Beograd  
Plant Protection  
Vol. 63 (4), Nº 282, 192-197, 2012, Belgrade

UDK: 633.11-154.71  
632.482.31  
Naučni rad  
Scientific paper

## UTICAJ *ALTERNARIA ALTERNATA* NA KLIJAVOST SEMENA PŠENICE

LANA ĐUKANOVIĆ<sup>1</sup>, VESNA VUGA JANJATOV<sup>2</sup>, IVANA VRHOVAČ<sup>3</sup>, ANJA MILOSAVLJEVIĆ<sup>1</sup>,  
DOBRIVOJ POŠTIĆ<sup>1</sup>, MILANA MITROVIĆ<sup>1</sup>, NENAD TRKULJA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

<sup>2</sup>Poljoprivredna stručna služba, Sremska Mitrovica

<sup>3</sup>Visoka poljoprivredna škola strukovnih studija, Šabac

e-mail: djukanoviclana@gmail.com

### REZIME

Ispitivanje uticaja gljive *Alternaria alternata* na klijavost semena pšenice testirano je na tri sorte Pobeda, Renesansa i NS 40 S. Prema ISTA pravilima, a u cilju utvrđivanja uticaja primarne i sekundarne infekcije patogena *A. alternata* na klijavost naturalnog i dorađenog semenskog materijala, postavljeni su testovi sa semenom bez tretiranja, tretirano sa NaOCl i fungicidom Tycoon-om. Visoka stopa klijavosti semena je utvrđena u sva tri eksperimenta. Koeficijent korelacije između sekundarne zaraze klijanaca sa *A. alternata* i klijavosti semena pšenice iznosio je -0.69 do -0.76 u zavisnosti od sorte, ukazujući da infekcija nema značajan uticaj na klijavost semena.

**Ključne reči:** *Alternaria alternata*, seme pšenice, klijavost

### UVOD

Tehnologija gajenja semenske pšenice ima niz specifičnosti u odnosu na merkantilnu proizvodnju i od tih specifičnosti zavisi i uspeh semenske proizvodnje (Milošević i Malešević, 2004). Jedna od važnijih je kontrola semenskih useva koja se obavlja u vreme klasanja i fiziološke zrelosti, kada se osim utvrđivanja sortne čistoće utvrđuje i zdravstveno stanje useva (Marić, 2005). Za dobijanje visokih prinosa i kvalitetnog semena potrebno je posedovati semenski materijal visokog potencijala rodosti i

dobrog zdravstvenog stanja. Zdravstveno stanje semenskog materijala treba da bude u granicama dozvoljenog prisustva patogena (parazita i saprofita).

*Alternaria* spp. su kosmopolite široko rasprostranjene vrste intenzivno prisutne u vlažnom i umerenom klimatskom pojasu. One su deo prirodne mikropopulacije zemljišta, endofiti biljaka i saprofiti, a veliki broj vrsta su patogeni biljka. Fito-patogene vrste roda *Alternaria* su izuzetno značajne jer dovode do velikih oštećenja biljaka i značajnog smanjenja prinosa. Na gajenim kulturama na kojima ostvaruju infekcije pripadaju grupi najštetnijih

patogena kao što je *A. solani* na krompiru i paradajzu i *A. brasicae* na kupusnjačama. Većina vrsta koje se javljaju kao saprofiti ili vrste koje su prisutne na biljnom tkivu i mogu se sa njega izolirati nemaju ekonomski značaj (Simmons, 2007).

*Alternaria alternata* Keisler, je kosmopolita saprofitska vrsta koja se može izolirati sa različitih supstrata uključujući i seme gajenih biljaka. Na semenu pšenice je redovno prisutna i najčešće se izoluje u odnosu na sve ostale vrste iz roda *Alternaria* i ostale kontaminante kao što su vrste roda *Fusarium* i *Aspergillus* (Broggi et. al. 2007). Prema nekim istraživanjima *A. alternata* na žitaricama može dovesti do bolesti koja se naziva "crna tačka", a manifestuje se diskoloracijom semena i klice (Conner and Thomas, 1985).

Ovo istraživanje imalo je za cilj da se utvrdi uticaj *A. alternata* na klijavost semena pšenice.

## MATERIJAL I METODE

Za istraživanja su korištene tri sorte pšenice: Pobeda, Renesansa i NS 40 S. Sve sorte su bile prve sortne reprodukcije (C1), proizvedene na parcelama Mitrosrema u Sremskoj Mitrovici u 2012. godini. Ispitivanje i naturalnog i doradenog semenskog materijala za sve tri sorte pšenice obavljeno je na po tri partije semena od svake sorte i to u četiri ponavljanja. Klijavost semena pšenice ispitivana je sa prethodnim hlađenjem radi prekidanja mirovanja semena (dormantnost) u trajanju od sedam dana na temperaturi do 5°C, na filter papiru kao podlozi. Posle hlađenja seme je izlagano temperaturi od 20°C, u mraku, u trajanju od osam dana. Posle osam dana ocenjivano je prisustvo normalnih klijanaca, nenormalnih klijanaca i neklijalog (mrtvog) semena. Ispitivanje klijavosti obavljeno je prema ISTA pravilima. U cilju utvrđivanja uticaja primarne i sekundarne infekcije patogena *A. alternata* na klijavost naturalnog i doradenog semenskog materijala sorti pšenice Renesansa, Pobeda i NS 40S, postavljeni su testovi u uslovima: a) bez tretiranja, b) tretiranja sa NaOCl i c) tretiranja sa Tycoon-om.

Za izračunavanje koeficijenta korelacije oda-

bran je Pearson-ov *r* koeficijent, a korišten je program STATISTICA 8 (StatSoft, Inc. 1984-2007).

## Izolacija i identifikacija patogena

Pre zasejavanja na hranljivu podlogu seme se dezinfikuje u 5% rastvor natrijum-hipohlorita (NaOCl) u trajanju od jednog minuta nakon čega se ispira sterilnom destilovanom vodom. Sto semena se stavlja u Petri kutije na KDA podlogu sa 10 mg/l streptomycin sulfata da bi inhibirao razvoj bakterija. Petri kutije su zatim inkubirane 7 dana na sobnoj temperaturi (č 22°C) na prirodnom svetlu i u mraku u ciklusima od č 12h. Nakon inkubacije seme je pregledano pod binokularom, a sa zaraženog semena mikrobiološkom iglom skidana je micelijska prevlaka i u kapi vode pregledana pod mikroskopom Olympus BX 51 na uvećanju 400x. Sa svakog inficiranog semena prenošena je po jedna konidija na KDA podlogu u cilju izolacije patogena. Identifikacija vrste utvrđena je na osnovu morfoloških karaktera veličine i izgleda konidija direktno sa napadnutog semena i sa izolovanih kolonija na KDA podlozi (Simmons, 2007).

## REZULTATI

### Identifikacija patogena

Na osnovu izgleda i veličine konidija u uzorcima sa biljnog materijala i iz kulture gajene na KDA podlozi, identifikovana je vrsta *A. alternata* (Slika 1 i 2). Na osnovu rezultata dobijenih ispitivanjem zdravstvenog stanja naturalnog semenskog materijala utvrđeno je prisustvo vrste *A. alternata* na mrtvom (zaraženom) semenu od 2,7% do 4,6%, dok se primarna zaraza na klijancima kretala od 2 % do 4,3% u zavisnosti od sorte pšenice. Razlika u stepenu zaraženosti *A. alternata* mrtvog semena i ostvarene primarne zaraze su neznatne u zavisnosti od primenjenog tretmana (bez i sa NaOCl). Kod sorte Renesansa, zaraza na mrtvom semenu iznosila je od 2.7-2.9%, a na klijancima koji su primarno zaraženi od 2.0-2.3%. Kod sorte Pobeda,

utvrđena je zaraza na mrtvom semenu u intervalu od 3.4-3.6%, a na klijancima koji su primarno zaraženi od 3.1-4.3%. Kod sorte NS 40S zaraza na mrtvom semenu varirala je od 3.7 do 4.6%, a na klijancima koji su primarno zaraženi od 3-4% (Tabela 1.).

Prisustvo vrste *A. alternata* bilo je izuzetno visoko kod ocenjivanja sekundarne zaraze klijanaca, od 37,1% do 47,6%, kod semena koje nije tretirano NaOCl. Procenat sekundarne zaraze je bio znatno smanjen kod naturalnog semena, koje je prethodno potapano u NaOCl, smanjenje je iznosilo i 30%.

Posle dorade i tretiranja semena fungicidom Tycoon-om smanjio se procenat zaraženosti kod mrtvog semena i klijanaca. Kod sorte Renesansa procenat zaraženosti mrtvog semena je redukovan na 2.0%, što je neznatno u odnosu na vrednosti koje su dobijene na naturalnom semenu (2.7-2.9%). Procenat primarne zaraze je izuzetno nizak (0.2%), dok je sekundarna

zaraza utvrđena na klijancima smanjena sa 47.6% (bez tretmana) i 12.7% (NaOCl) na 2.6%. Kod sorte Pobeda procenat zaraženosti mrtvog semena se smanjio na 2.9%, dok su vrednosti na naturalnom semenu iznosile od 3.4-3.6%. Primarna zaraza iznosila je 0.4%, dok je sekundarna zaraza na klijancima smanjena sa 37.1% (bez tretmana) i 12.0% (NaOCl) na 1.6%. Procenat zaraženosti mrtvog semena kod sorte NS 40S se smanjio na 2.0% dok su vrednosti na naturalnom semenu iznosile od 3.7-4.6%. Primarna zaraza iznosila je 0.4%, dok je sekundarna zaraza na klijancima smanjena sa 41.2% (bez tretmana) i 12.5% (NaOCl) na 2.2%. Klijavost tretiranog semena Tycoon-om je povećana za 2-3% u odnosu na početne vrednosti i to u zavisnosti od sorte (Tabela 1). Koeffcijent korelacije između sekundarne zaraze klijanaca sa *A. alternata* i klijavosti semena pšenice iznosio je -0.69 za sortu Renesansa, -0.71 za sortu Pobeda i -0.76 za sortu NS 40 S.

**Tabela 1.** Rezultati ispitivanja prisustva *A. alternata* na klijavost naturalnog i doradenog semenskog materijala pšenice (%).  
**Table 1.** The results of testing the presence of *A. alternata* on seed natural and conditioned wheat seeds (%).

	Sorta Renesansa											
	bez tretiranja				tretman NaOCl				tretman Tycoon-om			
	1	2	3	prosek	1	2	3	prosek	1	2	3	prosek
<b>mrtvo seme (zaraženo)</b>	3.3	3.5	2.0	<b>2.7</b>	2.8	3.5	2.3	<b>2.9</b>	1.5	2.5	2.0	<b>2.0</b>
<b>primarna zaraza klijanaca</b>	2.5	3.0	1.5	<b>2.3</b>	2.0	3.0	1.0	<b>2.0</b>	0.0	0.5	0.0	<b>0.2</b>
<b>sekundarna zaraza klijanaca</b>	53.5	45.8	50.5	<b>47.6</b>	13.0	15.5	9.5	<b>12.7</b>	3.0	2.5	2.3	2.6
<b>klijavost semena</b>	93.5	92.0	93.0	<b>92.8</b>	93.3	93.5	93.0	<b>93.3</b>	95.0	95.5	95.0	<b>95.2</b>
	Sorta Pobeda											
	bez tretiranja				tretman NaOCl				tretman Tycoon-om			
	1	2	3	prosek	1	2	3	prosek	1	2	3	prosek
<b>mrtvo seme (zaraženo)</b>	4.0	4.3	2.5	<b>3.6</b>	3.3	4.0	3.0	<b>3.4</b>	2.8	2.8	3.0	<b>2.9</b>
<b>primarna zaraza klijanaca</b>	3.8	4.5	4.5	<b>4.3</b>	3.0	3.5	2.8	<b>3.1</b>	0.0	0.5	0.8	<b>0.4</b>
<b>sekundarna zaraza klijanaca</b>	37.0	39.8	41.5	<b>37.1</b>	11.5	13.0	11.5	<b>12.0</b>	1.5	1.0	2.5	<b>1.6</b>
<b>klijavost semena</b>	92.3	91.0	92.5	<b>91.9</b>	93.0	92.5	92.5	<b>92.6</b>	95.5	95.3	96.5	<b>95.8</b>
	Sorta NS 40 S											
	bez tretiranja				tretman NaOCl				tretman Tycoon-om			
	1	2	3	prosek	1	2	3	prosek	1	2	3	prosek
<b>mrtvo seme (zaraženo)</b>	3.5	4.8	5.5	<b>4.6</b>	3.3	3.0	4.8	<b>3.7</b>	2.2	2.0	1.8	<b>2.0</b>
<b>primarna zaraza klijanaca</b>	3.3	3.5	5.3	<b>4.0</b>	3.0	2.5	3.5	<b>3.0</b>	0.3	0.5	0.3	<b>0.4</b>
<b>sekundarna zaraza klijanaca</b>	34.5	49.0	41.0	<b>41.2</b>	11.0	13.0	13.5	<b>12.5</b>	1.0	3.0	2.5	<b>2.2</b>
<b>klijavost semena</b>	91.5	91.5	92.8	<b>91.9</b>	92.5	92.5	93.5	<b>92.8</b>	95.0	95.3	94.5	<b>94.9</b>



**Slika 1.** Pojedinačne konidije *A. alternata* sa biljnog materijala.

**Figure 1.** Single conidia of *A. alternata* from plant material.

## DISKUSIJA

Kod sve tri sorte pšenice zabeležena je približno ista incidenca mrtvog semena u sve tri varijante testiranja, nezavisno od tretiranja semena. Primarna zaraza klijanaca je bila niska i kod naturalnog i doradenog semenskog materijala, a najniže vrednosti registrovane su u testu sa semenima tretiranim Taycoon-om kod sve tri ispitivane sorte pšenice.

Sekundarna infekcija se značajno razlikovala u uslovima sa i bez tretiranja, što ukazuje da naturalni semenski materijal treba izlagati predtretmanu radi lakšeg ocenjivanja stepena zaraženosti semena i klijanaca gljivama iz roda *Alternaria*. Evidentna je tendencija opadanja stope sekundarne zaraze, sa najvećom ekspresijom u slučaju netretiranog semena. U uslovima tretiranja semena, stopa sekundarne infekcije je bila od 5 do čak 10 puta veća kada su tretirani sa NaOCl u poređenju sa Taycoon-om. S druge strane, visoka stopa klijavosti semena je utvrđena u sva tri eksperimenta, u sva četiri ponavljanja.

Koeficijent korelacije između sekundarne zaraze klijanaca sa *A. alternata* i klijavosti semena pšenice iznosio je -0.69 za sortu Renesansa, -0.71 za sortu Pobeda i -0.76 za sortu NS 40 S. Kod sve tri sorte pšenice, koeficijent korelacije je približno iste vrednosti, i značajno manji od 1, što ukazuje da stopa infekcije nema značajan uticaj na klijavost se-



**Slika 2.** Formiranje konidija *A. alternata* na KDA podlozi nakon 7 dana.

**Figure 2.** The formation of conidia *A. alternata* on PDA medium after 7 days.

mena. Obzirom da prisustvo *A. alternata* na semenu i klijanacima nije uticao na smanjenje klijavosti može se zaključiti da prisustvo ove gljive ne remeti osnovne fiziološke procese u semenu i klijanacima, odnosno ova vrsta nema patogeni uticaj na seme i klijanac pšenice. Na osnovu uticaja na biljku, toksini koje sintetizuju gljive roda *Alternaria* se svrstavaju u specifične i nespecifične prema biljci domaćinu (Thomma, 2003). Da bi se ostvario patogeni efekat gljive na biljku neophodno je prisustvo specifičnih toksina, koji obezbeđuju povoljne uslove za razvoj gljive (Nishimura et. al. 1983., Otani et. al. 1995).

Na osnovu rezultata dobijenih ispitivanjem zdravstvenog stanja tretiranog semena može se zaključiti da su i primarna i sekundarna zaraza na klijanacima parametri koje ne treba uzimati u obzir kod ocenjivanja jer ne utiču na krajnji rezultat. Ovo je naročito važno sa gledišta prijema naturalnog semenskog materijala na doradne centre jer pogrešno ocenjenom analizom odbijamo semenski materijal pre dorade. Zato je potrebno upoređivati klijavost i zdravstveno stanje u toku samog ocenjivanja.

## ZAHVALNICA

Istraživanja su realizovana u okviru projekta TR31018 i III43001 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

**LITERATURA**

- Broggi, L.E., Horacio, H., Gonzalez, L., Resnik, S. L., Pacin, A. (2007). *Alternaria alternata* prevalence in cereal grains and soybean seeds from Entre Rios, Argentina. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 24: 47-51.
- Conner, R. L., Thomas, J.B. (1985). Genetic variation and screening techniques for resistance to black point in soft white spring wheat. *Canadian Journal Plant Pathology* 1: 402-407.
- Milošević, M., Malešević, M. (2004): *Semenarstvo*, Vol. II, Naučni Institut za ratarstvo i povrtarstvo Novi Sad.
- Marić, M. (2005): *Semenarstvo*, Izdavačka kuća Draganić, Beograd
- Nishimura, S., Kohmoto, K. (1983). Host-specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. *Annual Review of Phytopathology*, 21:87-116.
- Otani, H., Kohmoto, K., Kodama, M. (1995). *Alternaria* toxins and their effects on host plants. *Canadian Journal of Botany* 73 (Suppl.1): S543-S458.
- Simmons, E.G. (2007). *Alternaria*. An identification manual. Utrecht, the Netherlands: CBS Biodiversity Series 6. pp. 1-775.
- Thomma, H. J. (2003). *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. In *Molecular Plant Pathology*, vol. 4, pp. 225-236.

**(Priljeno: 10.10.2012.)**

**(Prihvaćeno: 05.12.2012.)**

## IMPACT OF *ALTERNARIA ALTERNATA* ON SEED GERMINATION WHEAT

LANA ĐUKANOVIĆ<sup>1</sup>, VESNA VUGA JANJATOV<sup>2</sup>, IVANA VRHOVAČ<sup>3</sup>, ANJA MILOSAVLJEVIĆ<sup>1</sup>,  
DOBRIVOJ POŠTIĆ<sup>1</sup>, MILANA MITROVIĆ<sup>1</sup>, NENAD TRKULJA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade*

<sup>2</sup>*Agricultural expert service Sremska Mitrovica*

<sup>3</sup>*High Agricultural School of Professional Studies Šabac*

*e-mail: djukanoviclana@gmail.com*

### SUMMARY

Investigation of the effect *Alternaria alternata* on seed germination of wheat were tested on three varieties of Victory, Renaissance and NS 40 S. Seed germination is the ISTA rules, in order to elucidate the effect of primary and secondary infection pathogen *A. alternata* on seed natural and conditioned seeds were placed tests with seeds untreated, treated with NaOCl and fungicide Tycoon included. The high rate of seed germination was found in all three experiments. The correlation coefficient between secondary infection of seedlings with *A. alternata* and germination of wheat was -0.69 to -0.76, depending on the variety, indicating that the rate of infection has no significant effect on seed germination.

**Key words:** *Alternaria alternata*, seed of wheat, germination

**(Received: 10.10.2012.)**

**(Accepted: 05.12.2012.)**