



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

***PHOMA MACDONALDII* ВОЕРЕМА, ПРОУЗРОКОВАЧ  
ЦРНЕ ПЕГАВОСТИ СТАБЛА СУНЦОКРЕТА –  
ВАРИЈАБИЛНОСТ ПОПУЛАЦИЈЕ И ИЗНАЛАЖЕЊЕ  
ИЗВОРА ОТПОРНОСТИ**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментор: Проф. др Стеван Маширевић

Кандидат: мр Бошко Дедић

Нови Сад, 2016.

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Кључна документацијска информација

Редни број: РБР	
Идентификациони број: ИБР	
Тип документације: ТД	Монографска документација
Тип записа: ТП	Текстуални штампани материјал
Врста рада: ВР	Докторска дисертација
Име и презиме аутора: АУ	мр Бошко Дедић
Ментор: МН	др Стеван Маширевић, редовни професор Пољопривредни факултет, Нови Сад
Наслов рада: НР	<i>Phoma macdonaldii</i> Воегета, проузроковач црне пегавости стабла сунцокрета – варијабилност популације и изналажење извора отпорности
Језик публикације: ЈП	Српски
Језик извода: ЈИ	Српски/Енглески
Земља публиковања: ЗП	Република Србија
Уже географско подручје: УГП	АП Војводина
Година: Г	2016.
Издавач: ИЗ	Ауторски репринт
Место и адреса: МА	Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет, Департман за фитомедицину и заштиту животне средине, Трг Доситеја Обрадовића 8, 21000 Нови Сад
Физички опис рада: ФО	9 поглавља и прилог/168 страна/57 табела/32 графикона/15 слика/214 навода литературе/биографија
Научна област: НО	Биотехничке науке
Научна дисциплина:	Фитопатологија

НД	
Предметна одредница, кључне речи: ПО	<i>Phoma macdonaldii</i> , отпорност, феноли, агресивност изолата, варијабилност популације
УДК:	633.85 :547.56(043.3)
Чува се: ЧУ	Библиотека пољопривредног факултета, Нови Сад
Важна напомена: ВН	-
Извод: ИЗ	<p>Болести представљају један од најважнијих фактора који утиче на успешност производње сунцокрета. Црна пегавост стабла сунцокрета, коју проузрокује патогена гљива <i>Phoma macdonaldii</i>, представља болест која у појединим регионима распрострањења значајно смањује принос и квалитет сунцокрета. Ранија истраживања спроведена у агроколошким условима Србије су идентификовала ову болест као широко распрострањену. Истовремено је утврђено да знатан број генотипова сунцокрета био осетљив.</p> <p>Циљ рада је био да се установи степен отпорности инбред линија и хибрида према овој болести као и постојање извора отпорности код популација врста из рода <i>Helianthus</i>. Вишегодишње праћење болести на више локалитета и на већем броју хибрида за циљ је имало одређивање утицаја генотипа и спољашње средине на појаву и развој болести. Тестирана је могућност кориштења ергостерола као индикатора постојања отпорности. Праћењем концентрације фенолних једињења тестирана је реакција домаћина на присуство патогена са акцентом на период непосредно након инокулације. Други део истраживања је био фокусиран на патогена са циљем утврђивања варијабилности популације кориштењем различитих метода. Утврђена је агресивност изолата и генетска варијабилност патогена помоћу RAPD маркера. Постојање варијабилности је проверено и помоћу одгајивачких особина.</p> <p>Тестирањем генотипова сунцокрета, применом метода вештачке инокулације у току четворогодишњег периода, утврђено је постојање статистички значајних разлика између генотипова. Од седамдесет инбред линија отпорност на највећем броју локалитета где је вршено тестирање испољиле су линије DOP-32-08, Ph-BC1-162, Ph-BC1-53, IMI-AB-12, CMS-3-8, VT-VL-2, DOP-33-08, VT-VL-24 и OD-DI-98. Реакција хибрида је варијабилна у односу на годину тестирања. Највећи степен отпорности су испољили хибриди Баћа и НС Брилијант. Смањење у напредовању болести у години са израженим дефицитом у падавинама је забележено код линија гајених у условима сувог ратарења. Тестирањем 181 популације 9 једногодишњих врста рода <i>Helianthus</i> у условима природне инфекције, утврђене су популације код свих одабраних врста код којих болест није била присутна. Утврђивањем количине ергостерола у оквиру симптома болести код биљака инбред линија у контролисаним условима утврђено је повећање количина овог једињења код осетљиве инбред линије у поређењу са линијама са одређеним степеном отпорности. Резултатима гајења 16 хибрида на већем броју локалитета у току четири године, установљено је постојање значајног утицаја средине и генотипа на појаву и интензитет</p>

болести. Највећу отпорност у природним условима су испољили хибриди Баћа, НС-Х-111 и НС Фантазија. Гајењем биљака у условима различитог времена сетве, појава и интензитет црне пегавости стабла су имали тенденцију опадања са каснијом сетвом. Примена само азотних ђубрива највише је допринела порасту појаве и интензитета болести, а исти параметри су били највећи код најмање густине гајења биљака. Анализом фенолних једињења у ткиву листа, у одређеним временским интервалима, након вештачке инокулације биљака инбред линија са различитим степеном осетљивости, утврђен је повећан садржај хлорогене киселине у току прва 24 сата код узорака листа отпорне линије. Четири линије различитог степена осетљивости су инокулисане у контролисаним условима са различитим изолатама патогена. Установљено је постојање варијабилности у погледу агресивности, док су 4 четири од укупно 56 тестираних изолата испољили висок степен агресивности. Груписање изолата сличног степена агресивности према географском пореклу није установљено. Анализом генетске варијабилности помоћу RAPD маркера утврђен је висок степен полиморфизма код употребљених изолата. Од употребљених прајмера највећу информативност је имао прајмер OPE-04. Висок степен варијабилности је потврђен кластер анализом. AMOVA анализом утврђено је да се генетска варијабилност изолата гљиве односи највећим делом на варијабилност између изолата. Генетска варијабилност између изолата груписаних по регионима и агресивности је била занемарљива.

Слични обрасци су запажени и након утврђивања одгајивачких особина „in vitro“. Најбољи раст и продукција пикнида је забележена на подлози од овса. Између изолата су забележене значајне разлике у пречнику колонија и продукцији пикнида, али те разлике нису биле повезане са географским пореклом изолата.

Црна пегавост сунцокрета у Србији је сталан пратилац сунцокрета. Интензитет болести је значајно условљен степеном отпорности генотипова сунцокрета, агресивношћу изолата и временским условима. Патоген испољава велик степен генетске варијабилности што га чини прилагодљивим за измене у генетској структури домаћина и средини. Однос сунцокрет-*Phoma macdonaldii* представља динамичан систем који захтева наставак истраживања уз мониторинг.

Датум прихватања теме од стране НН: ДП	
Датум одбране: ДО	
Чланови комисије: КО	<p>Ментор:</p> <p>Проф. др Стеван Маширевић, редовни професор УНО Фитопатологија Пољопривредни факултет, Нови Сад</p> <hr/> <p>Председник:</p> <p>Проф. др Мирко Ивановић, редовни професор у пензији УНО Фитопатологија Пољопривредни факултет, Београд</p> <hr/> <p>Члан:</p> <p>др Владимир Миклич, научни саветник УНО Семенарство Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад</p>

UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF AGRICULTURE

Key words documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monographic documentation
Type of record: TR	Printed text maeterial
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Mr Boško Dedić
Menthor: MN	Dr Stevan Maširević, professor Faculty of Agriculture, Novi Sad
Наслов рада: HP	<i>Phoma macdonaldii</i> Boerema, causal agent of Phoma black stem on sunflower – population variability and sources of resistance
Language of publication: LP	Serbian
Language of text: LT	Serbian/English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	AP Vojvodina
Publication year: PY	2016.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place:	University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department for Environmental and Plant Protection, Dositeja Obradovića sq. 8, 21000 Novi Sad
Physical description: PD	9 chapters and attachment/168 pages/57 tables/32 graphs/15 pictures/214 references/biography
Scientific field: SF	Biotechnical Sciences
Scientific discipline: SD	Phytopathology
Subject, Key words: SKW	<i>Phoma macdonaldii</i> , resistance, phenols, isolate aggressivness, RAPD, population

	variability
UDC:	633.85 :547.56(043.3)
Holding data: HD	Library of the Faculty of Agriculture, Novi Sad
Note: N	-
<p>Abstract: A</p> <p>Diseases are a major constraint in sunflower production. Phoma black stem, caused by pathogenic fungus <i>Phoma macdonaldii</i>, is widely distributed disease known in some regions for extensive damage to sunflower yield and quality. Previous research conducted in Serbia and testing for resistance with isolates of pathogen coming from this region identified disease as common. At the same time, reports on resistance to this disease suggested majority of tested genotypes to be susceptible.</p> <p>Aim of this research was to quantify level of resistance in selected inbred lines and hybrids as well as to find sources of resistance in species from genus <i>Helianthus</i>. Multiyear monitoring of disease on different hybrids and locations was conducted to determine significance of genotype and environment influence on incidence and severity of disease. Usage of ergosterol as indicator of resistance was also tested. Host reaction to disease was monitored by quantification of total soluble phenols and different phenolic compounds known to be impacted during disease progress in other host-pathogen systems. In this part of research emphasis was particularly on period of time following the inoculation. Second part of research was focused on pathogen. Aim was to determine variability of pathogen population using several methods. Four inbred lines varying in level of susceptibility were used for determination of isolate aggressiveness and RAPD markers were used for genetic variability determination. Distinctions among isolates were defined using cultural characteristics. Results of sunflower genotypes survey after application of artificial inoculation methods during 4-year period confirmed presence of significant differences in resistance to phoma black stem among tested genotypes. Out of 70 tested sunflower, inbred lines with the highest level of resistance on majority of localities were DOP-32-08, Ph-BC1-162, Ph-BC1-53, IMI-AB-12, CMS-3-8, BT-VL-2, DOP-33-08, BT-VL-24 и OD-DI-98. Resistance of hybrids varied in each year with the highest level of resistance manifested by hybrids Baća and NS Brilijant. Differences between irrigated and rainfed trials were found in year characterized with drought periods after inoculation with decreased disease severity in rain fed experiment. Total of 181 populations of 9 <i>Helianthus</i> species was surveyed for disease incidence. Among the populations of each species ones without symptoms of disease were found. Positive correlation was found between quantity of ergosterol and level of resistance in selected sunflower inbred lines. Disease incidence and severity data of 16 hybrids from number of locations during 4-year period showed significant influence of both genotype and environment. Highest level of resistance had hybrids Baća, HS-H-111 and NS Fantazija.</p> <p>Crop production practices influenced disease incidence and progress. Plants in experiment with different sowing times expressed different disease intensity. Both disease incidence and severity decreased along sowing timeline. Solely application of nitrogen fertilizers most enhanced disease intensity, and the same parameters were highest in plots with lowest plant density.</p>	

Analysis of phenolic compounds in leaf tissue revealed a significant increase in concentration of chlorogenic acid in first 24 h after inoculation of resistant genotype. In susceptible genotypes that parameter remained unchanged. Patterns of reaction of four inbred lines to disease revealed differences in aggressiveness, with 4 out of 56 tested isolates regarded as highly aggressive. Isolates with similar aggressiveness did not cluster according to geographic origin. Genetic variability analysis using RAPD markers on collected isolates revealed significant level of polymorphism, with primer OPE-04 as the most informative one. High level of genetic variability was confirmed after cluster analysis. Genetic variability among groups with similar aggressiveness and geographic origin was insignificant while variability among isolates inside each group was significant according to AMOVA analysis. Similar pattern was observed after determination of culturing characteristics „in vitro“. Pathogen growth and development was best on oat agar medium. Testing various isolated for growth and production of picnidia revealed significant difference without correlation to geographic origin.

In conclusion, phoma black stem occurrence on sunflower in Serbia is common. Disease incidence and severity depend on host resistance, isolate aggressiveness and environmental conditions. As a result of high level of genetic variability pathogen is adaptable to changes in host susceptibility and environment. Pathosystem sunflower-*Phoma macdonaldii* is highly dynamic and requires continuation of research and monitoring.



Accepted on Scientific Board on: ASB	
Defended: DE	
Thesis Defended Board: DB	<p data-bbox="772 383 884 416"><b>Mentor:</b></p> <p data-bbox="772 645 1222 752">Stevan Maširević, PhD, Professor Scientific Field - Phytopathology Faculty of Agriculture, Novi Sad</p> <hr data-bbox="772 757 1445 761"/> <p data-bbox="772 801 916 835"><b>President:</b></p> <p data-bbox="772 1025 1305 1133">Mirko Ivanović, PhD, Professor, retired Scientific Field - Phytopathology Faculty of Agriculture, Belgrade</p> <hr data-bbox="772 1137 1445 1142"/> <p data-bbox="772 1182 900 1216"><b>Member:</b></p> <p data-bbox="772 1447 1426 1554">Vladimir Miklič, PhD, Principal Research Fellow Scientific Field – Seed Production Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad</p>

*У настојању да у својим излагањима идем у корак са најсавременијим открићима, користио сам у мањој или већој мери, податке из доступне литературе. Ако су моје грешке, остале у границама толерантности, онда за то дугујем многим пријатељима и колегама, који су ми дозволили да тражим разне услуге и да са њима дискутујем о спорним тачкама. Нарочито много дугујем свом ментору, проф. др Стервану Маширевићу на несебичној помоћи. Породици, хтео бих да одам велико признање на љубави и подршци, коју су ми пружали протеклих година.*

## Садржај

1. Увод .....	1
2. Циљ истраживања .....	3
3. Преглед литературе .....	5
3.1. Црна пегавост стабла сунцокрета .....	5
3.1.1. Гљиве рода <i>Phoma</i> .....	5
3.1.2. <i>Phoma macdonaldii</i> Boerema ( <i>Plenodomus lindquistii</i> (Frezzi) Gruyter, Aveskamp & Verkley) - систематика гљиве.....	5
3.1.3. Распрострањеност патогена .....	6
3.1.4. Симптоми болести.....	7
3.1.5. Циклус развоја болести.....	9
3.1.6. Опис патогена .....	10
3.1.7. Утицај услова гајења <i>in vitro</i> на раст и развој гљиве .....	11
3.1.8. Утицај фактора средине на развој болести у пољским условима .....	12
3.1.9. Утицај агротехничких мера на развој болести.....	13
3.1.10. Облици и висина штете.....	13
3.2. Отпорност сунцокрета према црној пегавости стабла.....	15
3.2.1. Отпорности биљака према болестима и интеракција биљка-патоген.....	15
3.2.2. Отпорност сунцокрета према црној пегавости стабла .....	16
3.2.3. Варијабилност популације патогена.....	18
3.2.4. Улога фенолних једињења у интеракцији домаћин патоген .....	19
4. Материјал и метод .....	24
4.1. Биљни материјал .....	24
4.2. Вештачка инокулација биљака у пољским условима .....	24
4.3. Вештачка инокулација биљака у контролираним условима .....	26
4.4. Отпорност генотипова сунцокрета у условима природне инфекције .....	29
4.5. Отпорност популација дивљих врста сунцокрета према црној пегавости стабла.....	30
4.6. Утицај агротехничких мера на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета .....	31
4.7. Изолација гљиве.....	32
4.8. Одгајивачке особине.....	34
4.9. Преношење патогена семеном и презимљавање на зараженим биљним остацима ..	35
4.10. Одређивање садржаја фенолних једињења .....	36

4.11. Одређивање садржаја ергостерола .....	40
4.12. Одређивање агресивности изолата патогена.....	42
4.13. Анализа варијабилности патогена коришћењем RAPD маркера.....	42
4.14. Обрада података .....	44
5. Радна хипотеза .....	46
6. Резултати истраживања .....	48
6.1. Метеоролошки подаци.....	48
6.2. Резултати тестирања генотипова сунцокрета.....	49
6.2.1. Резултати тестирања хибрида сунцокрета.....	49
6.2.2. Резултати тестирања инбред линија сунцокрета .....	53
6.2.3. Резултати тестирања отпорности популација врста рода <i>Helianthus</i> .....	65
6.3. Појава црне пегавости стабла у Србији .....	73
6.4. Утицај ђубрења на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета .....	91
6.5. Утицај времена сетве на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета.....	94
6.6. Утицај склопа биљака на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета.....	99
6.7. Преношење патогена семеном и презимљавање .....	101
6.8. Анализа садржаја фенолних једињења .....	103
6.9. Одређивање садржаја ергостерола у ткиву сунцокрета са симптомом болести.....	105
6.10. Одгајивачке особине гљиве .....	107
6.11. Агресивност изолата <i>P. macdonaldii</i> .....	117
6.12. Генетска варијабилност популације <i>P. macdonaldii</i> .....	122
7. Дискусија.....	130
9. Литература .....	146
10. Прилози .....	166
Прилог 1. Фазе развоја сунцокрета.....	166
11. Биографија .....	168

## 1. Увод

Сунцокрет (*Helianthus annuus* var. *macrocarpus* (DC) Skll.) је једна од ретких широко распрострањених гајених биљних врста пореклом из источног дела Северне Америке (Smith, 2014). Према систематици Heiser *et al.* (1969) род *Helianthus* је подељен у три секције (*Annui*, *Ciliares* и *Divaricati*) са укупно 14 једногодишњих и 39 вишегодишњих врста (Schilling, 2006). Сунцокрет (*Helianthus annuus* L.) је биљка висине 1-3 m, неграната или граната, стабла обично прекривеног длачицама; лист је јајаст или јајасто копљасти, длакав, са фино назубљеним ивицама; величина цвасти се креће од 2 cm и може достићи много већи пречник, језичастих цветова има најмање 17, унутар цвасти се налазе трубасте цветови; плод је ахенија (Heiser *et al.*, 1969; Rogers *et al.*, 1982).

Доместификован је од стране староседелачког становништва и употребљаван у исхрани за производњу брашна и уља. Варијетети са великим садржајем антоцијана су кориштени за бојење. На европски континент су ову биљну врсту донели шпански конквистадори у XVI веку, одакле се шири и гаји у почетку искључиво као украсна биљка. Екстракција уља из семена сунцокрета је у Европи почела у Русији првенствено као резултат потребе замене животињске масти за време трајања поста. За производњу уља су бирани варијетети са већим садржајем уља који се и данас користе у програмима оплемењивања. Проналазак цитоплазматске мушке стерилности од стране Leclercq (1969) и гена за рестаурацију фертилности означио је прекретницу у гајењу сунцокрета стварањем хибрида и коришћењем појаве хетерозиса.

Данас су највећи произвођачи сунцокрета Аргентина, Украјина и Русија са око 70% од укупних површина у свету. Светска производња сунцокрета прелази 30 милиона тона са тенденцијом пораста. Пројекције до 2050. године предвиђају пораст производње сунцокрета до 60 милиона тона на годишњем нивоу и производње уља до 22,4 милиона метричких тона (Dominguez *et al.*, 2012). На основу хемијског састава, биомаса гајеног сунцокрета се може користити за добијање биодизела (Ziebell *et al.*, 2013).

Болести су један од главних ограничавајућих фактора количине и квалитета приноса сунцокрета. Биљка сунцокрета представља еколошку нишу

у којој је могућ развој већег броја патогених микроорганизама (<http://www.apsnet.org/publication/commonnames/Pages/Sunflower.aspx>).

Поједине врсте патогених микроорганизама су уско специјализоване и сунцокрет је њихов једини домаћин док је за одређене врсте, један од неколико стотина могућих домаћина. Присуство патогена и домаћина у одређеној комбинацији еколошких услова доводи до почетака интеракције која често као резултат има појаву симптома болести. Ткива корена сунцокрета су повољна средина за раст и развој фитопатогених гљива *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Macrophomina phaseolina*, *Plasmopara spp.*, проузрокујући симптоме типа увенућа и некрозе. Надземни део биљке насељавају патогени проузроковачи различитих типова трулежи и пегавости од којих су нарочито значајни *Phomopsis helianthi*, *S. sclerotiorum*, *Phoma macdonaldii* и *Alternaria spp.*. Поред микроорганизама, нарочито деструктивна према сунцокрету је и паразитна биљка воловод. До данас је описано низ болести сунцокрета које проузрокују вируси, бактерије и микоплазме.

Патогени сунцокрета су распрострањени у читавом свету што је првенствено условљено великом површином гајења, која је у просеку за период 2005-2009. година прелазила 23 милиона хектара (ФАО, 2011).

## 2. Циљ истраживања

Црна пегавост стабла сунцокрета се јавља у свим производним подручјима у Србији. Проузроковач болести је добро адаптирана и широко распрострањена гљива *Phoma macdonaldii* Воегета. Узимајући у обзир ранија истраживања болести и реакцију генотипова сунцокрета гајених на подручју тадашње СФРЈ, први циљ истраживања рада је било утврђивање разлика у осетљивости генотипова сунцокрета према овој болести применом више метода тестирања и одређивањем садржаја ергостерола. Појаву болести је превасходно било потребно утврдити у оквиру популација дивљих врста сунцокрета које важе као исходишни материјал за гене отпорности за низ других болести сунцокрета, а затим код инбред линија сунцокрета. У оквиру овог циља посебан део је представљао узорак хибрида који се комерцијално гаје дужи низ година и хибрида који су новостворени.

Следећи циљ истраживања је било утврђивање појаве и интензитета болести на већем броју хибрида и локалитетима који би представљали репрезентативан узорак преовлађујућих услова у подручјима Србије где се сунцокрет гаји. Патогени проузроковачи болести биљака у свакој фази свог животног циклуса захтевају постојање одређених климатских услова. Поред тога што временски обрасци директно одређују успешност инфекције, утичу и на развој болести на биљци.

Климатски услови имају пресудну улогу у ифекцији домаћина у присуству довољне количине инокулума. Иако важе за фактор који није могуће контролисати, одређене агротехничке мере мењају микроклиматске услове у усеву сунцокрета и тиме подстичу или отежавају појаву и развој болести. Један од циљева истраживања је утврђивање утицаја различитих рокова сетве сунцокрета и утицај различог броја биљака по јединици површине на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета. У оквиру агротехничких мера, ђубрење представља меру која директно утиче на раст и развој сунцокрета, а посредно, на патогена са којим ступа у однос. Квантификација овог утицаја је била следећи циљ истраживања.

Популације патогена на одређеном простору и времену су подложне променама као резултат адаптације на променљиве услове средине. Дистинкције унутар врсте патогена се могу пратити на основу више параметара од којих је од изузетног значаја вирулентност и агресивност. Природа односа сунцокрет-*Phoma macdonaldii* предпоставља постојање популација гљиве различитог степена агресивности. Утврђивање овог параметра је био један од циљева истраживања.

Следећи циљ истраживања је био утврђивање генетске варијабилности употребом молекуларних маркера.

Истраживањем је обухваћено одређивање процента семена са патогеном и испитивање презимљавања гљиве на зараженим биљним остацима.

Развој патогена доводи до одређених физиолошких промена што је потврђено низом модела патоген-домаћин. Разлике на физиолошком нивоу су нарочито значајне између генотипова са различитим степеном осетљивости. За испитивање ових промена је изабрано више фенолних киселина и флавоноида.

Раст и развој гљива као хетеротрофних организама директно је условљен супстратом. *Phoma macdonaldii* у природним условима расте и развија се на остацима биљака и у живом ткиву. Утврђивање захтева патогена за хранљивим елементима је нужно за боље разумевање потреба за раст и репродукцију. Овај циљ истраживања је гајење гљиве на подлогама различитог састава и при различитим условима.



## 3. Преглед литературе

### 3.1. Црна пегавост стабла сунцокрета

#### 3.1.1. Гљиве рода *Phoma*

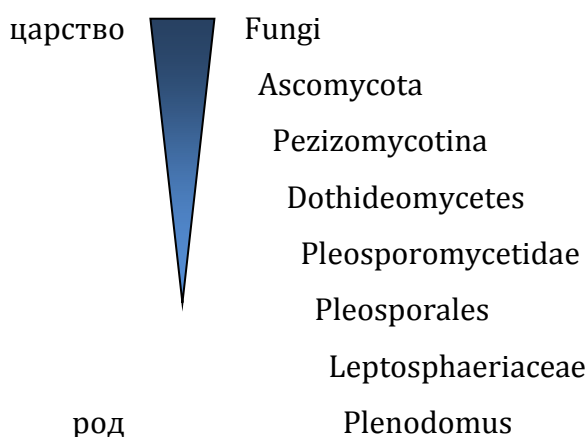
У роду *Phoma* описано је преко 220 врста, али се претпоставља да је тај број значајно већи (Aveskamp *et al.*, 2008). У оквиру овог рода преко 50% до сада описаних врста поседује способност раста и развоја у живим ткивима као опортунисти или пак као примарни патогени. Остале врсте су прилагођене животу на различитим супстратима у које се убрајају и неоргански материјали попут азбеста, цемента, малтера и различитих боја (Aveskamp *et al.*, 2008). Неке врсте овог рода попут *P. exigua* (Balis *et al.*, 2006), *P. minutella* (Baker *et al.*, 1987) и *P. sorghina* (Rai, 1989) представљају патогене човека.

Највећи број врста представља патогене биљака различитог нивоа специјализације. Неке врсте попут *P. tracheiphilla* патогена цитруса (Gentile *et al.*, 2006), *P. lingam* проузроковача црне ноге врста рода *Brassicaceae* (Hammoudi *et al.*, 2012) и *P. medicaginis* патогена легуминоза (Barbetti, 2007; Djebali, 2013), проузрокују значајне економске штете. Један од патогена из овог рода, проузроковач црне пегавости стабла сунцокрета, је *Phoma macdonaldii* Boerema (телеоморф *Plenodomus lindquistii* (Frezzi) Gruyter, Aveskamp & Verkley). Поред ове врсте, у Индији је изолована *P. exigua* и описана као проузроковач пегавости листа сунцокрета (Raut, 1977).

#### 3.1.2. *Phoma macdonaldii* Boerema (*Plenodomus lindquistii* (Frezzi) Gruyter, Aveskamp & Verkley) - систематика гљиве

Патогена гљива која на стаблу сунцокрета проузрокује појаву некротичних пега у близини лисне дршке идентификована је истовремено у

Аргентини (Frezzi, 1964) и Канади (McDonald, 1964) под називом *Phoma oleracea* var. *helianthi-tuberosi* Sacc.. Садашњи назив анаморфног стадијума *P. macdonaldii* добија 1970. године (Аћимовић, 1998). Савршен стадијум је описао Frezzi (1968) на основу морфолошких особина под називом *Leptosphaeria lindquistii*. Након опсежних филогенетских истраживања гљива рода *Phoma*, базираних на анализи 28S nrDNA (LSU), 5,8S nrDNA (ITS) и ITS региона 1 и 2, телеморф *L. lindquistii* је према измењеној класификацији сврстан у род *Plenodomus* те је нови назив врсте *P. lindquistii* (Графикон 1.)(Gruyter et al., 2012).



Графикон 1. Класификација врсте *Plenodomus lindquistii* у оквиру царста Fungi (Gruyter et al., 2012)

### 3.1.3. Распрострањеност патогена

Патоген је присутан у Мађарској, Румунији, Бугарској, Италији, Француској (Марић и сар., 1988), Турској (Аћимовић, 1998), САД-у (Gulya et al., 1997), Канади (McDonald, 1964), Аргентини (Frezzi, 1964), Ирану (Madjidieh-Ghassemi, 1988), Пакистану (Siddique-Mirza et al., 1988) и државама које су биле део СССР-а (Yakutkin, 2005). Присуство патогена је потврђено у Кини (Jianyu et al., 2012) и Аустралији (Miric et al., 1999). У Србији је први пут гљива описана као *Phoma* sp. (Аћимовић, 1965), а у каснијим истраживањима је доказано да се ради о патогеној врсти *P. macdonaldii* (Marić i Schneider, 1979).

На подручју држава где је утврђено присуство патогена појава болести је неравномерна. У европским земљама болест је утврђена на мање од 25% повшина на којима се гаји сунцокрет у Италији, Португалу и Турској, између 25 и 50% у Бугарској, Чешкој, Мађарској и Румунији, а на преко 50% у Француској (Ricroch *et al.*, 2014). На подручју САД-а учестала појава болести је у државама Средњег запада док се на подручју Калифорније и Канзаса спорадично јавља (Gulya *et al.*, 1997). У државама где је *P. macdonaldii* интродукована релативно касно ареал распрострањења је ограничен (Miric *et al.*, 1999; Wu *et Du*, 2012).

### 3.1.4. Симптоми болести

Симптоми болести се могу појавити на свим деловима биљке током целог вегетационог периода. Развој гљиве на клијанцима често доводи до њиховог пропадања. На листовима се симптоми појављују у виду црних пега различите величине. Обликом и бојом ове пеге подсећају на симптоме других болести сунцокрета што може довести до грешке при дијагнози болести. Сличне пеге се могу уочити и на лисним дршкама (Слика 1а). Уколико пеге прстенасто захвати лисну дршку, долази до сушења листа који виси на стаблу (Слика 1б). Са лисне дршке болест се шири на стабло на коме се јављају карактеристични симптоми у виду јасних црних пега величине најчешће око 5 cm, које у зависности од преовладавајућих временских услова и степена осетљивости домаћина, могу прстенасто захватити стабло. Гљива се развија најчешће у ткивима коре стабла. Међутим, код појединих генотипова сунцокрета примећени су симптоми болести и унутар стабла што може резултирати ломљењем биљака. Симптоми на главици сунцокрета се појављују у виду мрких пега у којима се лако уочавају пикниди. Нарочито велике пеге се могу појавити на делу где се спајају стабло и главица. Развој болести у приземном делу стабла доводи до појаве црних пега које обухватају стабло (Слика 2). Оболеле биљке заостају у порасту, имају смањен пречник стабла, унутрашњост приземног дела стабла је тамне боје и имају краћи вегетациони период (McDonald, 1964; Kolte, 1981; Марић и сар., 1988; Аћимовић, 1998; Gulya *et al.*, 1998; ).



*Слика 1. Симптом црне пегавости стабла сунцокрета на лисној дршци (а) и стаблу (б)*

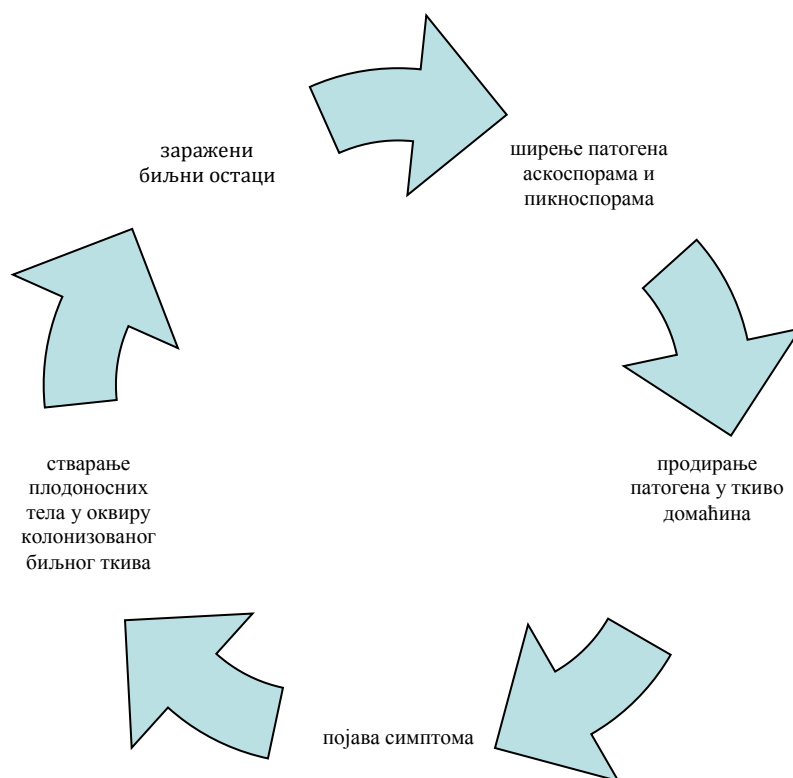


*Слика 2. Симптом црне пегавости на приземном делу стабла*

### 3.1.5. Циклус развоја болести

Патоген презимљава у зараженим биљним остацима у виду пикнида и мицелије. Виталност пикнида и пикноспора је највећа на жетвеним остацима из претходног вегетационог периода и временом се смањује. У агроколошким условима Војводине, утврђено је да виталност конидијског стадијума гљиве нагло опада након три године (Марић и сар., 1981). Исти аутори су у својим истраживањима утврдили да на деловима биљака након три године долази до формирања полног стадијума *P. lindquistii*. Формиране пикноспоре цуре из пикнида и доспевају на биљке сунцокрета помоћу кишних капи, док аскоспоре разноси киша и ветар и омогућава ширење патогена на већа растојања (Марић и сар., 1988). У неким подручјима гајења сунцокрета инсекти могу бити вектори патогена. У САД је утврђено да на местима исхране инсекта *Apion occidentale* долази до појаве карактеристичних симптома болести као и да својом исхраном овај штетни инсект може допринети значајнијој појави болести (Gaudet i Schulz, 1981). Патоген се може појавити у виду мицелије и пикнида на семену који тако учествују у одржавању и ширењу инокулума (Maširević *et al.*, 2014).

Гљива продире механички у ткива кроз кутикулу или стоме домаћина након адхезије и клијања спора без формирања апресоријума (Roustae *et al.*, 2000; Abou Al Fadil *et al.*, 2011). По продирању гљива колонизира ткиво што резултира појавом симптома болести. Патоген продукује и токсин зиниол који код осетљивих генотипова доводи до појаве улегнутих безбојних лезија (Sugawara и Strobel, 1986). У почетним фазама гљива расте у међућелијским просторима биљног ткива при чему нема појаве симптома. Касније долази до одумирања ћелија домаћина што се визуелно манифестује појавом некрозе (Aveskamp *et al.*, 2008). У оквиру некротичних делова ткива развијају се пикниди. По завршетку вегетационог периода заражени делови биљака и семе сунцокрета доспевају у/на површину земљишта чиме се завршава циклус развоја гљиве (Графикон 2).



Графикон 2. Циклус развоја болести

### 3.1.6. Опис патогена

Патоген је први пут описан под називом *Phoma oleracea* var. *helianthituberosi* у Канади (McDonald, 1964), а савршен стадијум под називом *Leptosphaeria lindquistii* у Аргентини (Frezzi, 1968). Формирање савреног стадијума гљиве је у Србији утврђено на остацима стабла сунцокрета три године након гајења усева (Марић и сар., 1981). У оквиру симптома гљива ствара мање пикниде лоптастог облика са или без папиле који се означавају као тип I, а *in vitro* и на биљним остацима, нешто веће пикниде типа II (Вогема, 1981)(Табела 1). Њихов број се у природним условима повећава са повећањем релативне влажности ваздуха. Унутар пикнида се формирају једноћелијске, бубрежасте или овалне пикноспоре различите величине (Kolte, 1981).

Тамномрке перитеције лоптастог до благо овалног облика са кратким вратом и остиолом, формирају се на површини или су благо урођене у ткиво

епидермиса. У перитецији се налазе цилиндрични аскуси са осам цилиндричних или фузиформних, најчешће четвороћелиских аскоспора које су хијалине или светложућкасте. Између асуса се налазе бројне филиформне парафизе чија дужина не прелази половину дужине асуса (Марић и сар, 1981). Величине репродуктивних органа су представљене у Табели 1.

Табела 1. Величина репродуктивних органа, пикноспора и аскоспора гљиве *P. macdonaldii* (*P. lindquistii*)

Литературни извор	Величина пикнида (µm)	Величина пикноспора (µm)	Величина перитеција (µm)	Величина асуса (µm)	Величина аскоспора (µm)
Марић и сар, 1981	-	-	274 x 306	95,6 10,75	-
Марић и сар, 1988	60-160	3,0-6,2 x 1,3-2,6	-	-	-
Аћимовић, 1965	131,1 x 157,6	3,2-8,0	-	-	-
Frezzi, 1968	-	-	150-315 x 130-230	70-145 x 7,5-10,5	12,5-25 x 3,5-8,5
Воерета, 2004	Tun I 70-170; Tun II 100-300	4,5-10 x 1,5-4	-	-	-

### 3.1.7. Утицај услова гајења *in vitro* на раст и развој гљиве

Проучавање патогених микроорганизама често захтева њихово гајење, уколико је то могуће, на хранљивим подлогама у одговарајућим условима. Одабиром подлоге могуће је стимулирати вегетативни раст мицелије, подстаћи интензивнију спорулацију и манипулацију растом и развојем одређене врсте. Метода гајења патогена на хранљивој подлози се интензивно користи код умножавања вегетативне мицелије или посебних структура које служе за вештачку инокулацију биљака домаћина. У овом случају нарочито је потребно избегавати често пресејавање култура којим се смањује патогеност и/или спорулација (Dhingra et Sinclair, 1985).

У раним истраживањима, гљива *P. macdonaldii* уобичајено је гајена на PDA подлози при чему је Frezzi (1968) утврдио да ова подлога погодује интензивном формирању пикнида. Аћимовић (1998) је у својим истраживањима поредио раст и развој гљиве на чврстим подлогама од кромпира, црног лука, свежих биљака сунцокрета и сувих шљива. Истакао је значајну варијабилност у погледу брзине раста, присуства ваздушне мицелије, боје и компактности мицелије и броја пикнида. Врсте рода *Phoma* из секције *Plenodomus* обично се гаје на подлози од овса, која делује подстицајно на продукцију пикнида и малц агару при провери стварања пигмента и кристала (Voerema *et al.*, 1994). Због ових особина, напред наведене подлоге, се стандардно користе у таксономским истраживањима рода *Phoma* (Voerema *et al.*, 2004).

### 3.1.8. Утицај фактора средине на развој болести у пољским условима

Успешна инфекција гљивом *P. macdonaldii* је могућа у одређеном температурном опсегу и при одређеном трајању влажења. На температури од 25°C и у присуству капи воде у трајању од најмање 24 сата инфекција ће бити успешна (Аћимовић, 1998; El Sayed *et Marić*, 1981)( Табела 2). Аћимовић (1965) наводи да се инфекција може остварити у распону температура од 5°C до 30°C. Кишни периоди доприносе ширењу инокулума и повећању појаве болести (Аћимовић, 1998). Старењем осетљивост биљака се повећава, а симптоми болести су учесталији и израженији након периода цветања чему доприноси и транспорт асимилатива из стабла према главици (Nuñez Bordoy *et al.*, 2012). У условима гајења сунцокрета у Србији, симптоми на стаблу су обично видљиви у другој половини јула. Уколико је до инфекције дошло манифестација болести ће бити јача уколико су биљке сунцокрета изложене периодима стреса услед дефицита падавина (El Sayed *et Marić*, 1981).



Табела 2. Време потребно за инфекцију биљака сунцокрета гљивом *P. macdonaldii* у зависности од температуре у условима атмосфере засићене влагом (El Sayed *et* Marić, 1981)

Температура (°C)	Време (h)
15	72
20	48
25	24

### 3.1.9. Утицај агротехничких мера на развој болести

Агротехничке мере су незаобилазан фактор у епидемиологији биљних болести. Модификацијом средине у којој се остварује контакт домаћина и патогена подстиче се или отежава успостављање паразитског односа и појаве болести. Досадашња истраживања у Србији су показала да појави и развоју црне пегавости стабла сунцокрета доприноси ранија сетва, усев ређег склопа и примена веће количине азотних ђубрива (El Sayed *et* Marić, 1981). Марић и сар. (1988) су утврдили да се болест чешће јавља на њивама са ужим плодоредом.

Сличне правилности су доказане и у другим регионима где је болест присутна. Debaeke *et* Peres (2003) износе податке о позитивној корелацији између повећаног ђубрења азотом, довољне обезбеђености усева водом и процента болесних биљака. Узак плодоред и редукована обрада земљишта су означени као важни фактори при ширењу болести у југозападним регионима Француске (Descorps *et al.*, 2012).

### 3.1.10. Облици и висина штете

Штете до којих доводи појава црне пегавости стабла сунцокрета зависе од броја оболелих биљака, типа симптома и времена појаве. Претходно наведени параметри су у директној вези са преовладавајућим временским условима и генотипом сунцокрета. Број оболелих биљака значајно варира првенствено у зависности од количине и распореда падавина. Уколико

временске прилике карактерише суво и топло време појава болести ће бити мања и супротно томе, при учесталој појави кише, број оболелих биљака често прелази 50% (Аћимовић, 1988).

Након сетве, из зараженог семена у земљишту се развијају клијанци који пропадају најчешће пре ницања, а уколико дође до ницања на младим биљкама се јасно уочавају симптоми болести (Аћимовић, 1965). Негативан утицај црне пегавости стабла код биљака сунцокрета у каснијим фазама развоја се огледа у: смањењу лисне масе и променама у ефикасном кориштењу природне светлости; смањењу суве масе биљке и приноса семена и негативном физиолошком ефекту нарочито код средњих и горњих листова (Quiroz *et al.*, 2014).

Губитак у приносу семена у регионима где је болест изразито штетна може бити значајан (Larfeil *et al.* 2002). Carson (1991) наводи да губитак изражен путем снижења приноса просечно износи 0,5%, док губитак масе 100 семена 0,3%, за сваки проценат повећања броја биљака са симптомима који доводе до скраћења вегетационог периода. Исти аутор наводи да патоген има незнатан утицај на принос уколико се болест јави на крају фазе наливања семена. Губици услед превременог сазревања сунцокрета као последица црне пегавости према Debaeke и Pérès (2003) могу достићи 0,7 t/ha. Биљке са овим типом симптома имају главице мањег пречника, смањену масу семена и мањи садржај уља (Donald *et al.*, 1987). Резултати истраживања спроведених у агроеколошким условима Србије указују на негативан утицај болести на принос сунцокрета (Марић и сар, 1988, Маширевић, 2000).

Штетност црне пегавости сунцокрета варира у зависности од региона гајења. Тренутно ова болест значајне штете наноси сунцокрету у Француској где појава симптома на приземном делу стабла може да доведе до полагања биљака (Virányi, 2008), са потенцијалним губитаком приноса од 30 до 50% (Debaeke *et al.*, 2015). У САД-у је ова болест означена као значајна и учестала (Jan *et al.*, 2008). Изражена појава болести је забележена у појединим регионима Јужноафричке Републике, са појавом ломљења биљака као најштетнијег типа симптома (Ramusí *et Flett*, 2015). На подручју Аустралије се све чешће бележи појава болести са предвиђањем да ће црна пегавост стабла имати значај утицај на производњу сунцокрета (Thompson *et al.*, 2010).

## 3.2. Отпорност сунцокрета према црној пегавости стабла

### 3.2.1. Отпорности биљака према болестима и интеракција биљка-патоген

Типови отпорности биљака према болестима су груписани у неколико категорија. Agrios (2005) дели отпорност на три типа: отпорност као последицу неприпадања биљне врсте кругу домаћина патогена; отпорност као последицу постојања гена резистентности која се још означава као права и отпорност која подразумева избегавање инфекције или толерисање развоја болести без већих последица по биљку домаћина. Исти аутор дели праву отпорност на неспецифичну коју поседују све биљке домаћина према патогену и за овај тип отпорности се употребљавају појмови парцијална, расно неспецифична, генерална, полигена, квантитативна, пољска или дуготрајна. Други тип отпорности се односи на појаву да одређени генотипови биљке домаћина испољавају отпорност према одређеној раси или више раса патогена док су према другој раси или расама осетљиви и означава се појмовима вертикална, јака, расно специфична, квалитативна или диференцијална. Flor (1968) је вертикалну отпорност дефинисао као способност биљке домаћина да заустави почетак епифитоције, а хоризонталну отпорност као способност биљке домаћина да успори развој болести након њеног почетка.

Данас се сматра да у активној интеракцији са патогеном, биљка активира више механизма. Према Jones *et Dangl* (2006) ова интеракција се врши на два нивоа. Први ниво подразумева активацију основних одбрамбених механизма након препознавања патогена тј. *pathogen (microbe)-related molecular patterns, P(M)AMPs*. Ова реакција је неспецифична и означава се као *PAMP triggered immunity - PTI*. PAMP-ови представљају молекуле који не подлежу мутацијама и чија је структура конзервативна, а пример за то су подјединица бактеријског протеина флагелина, хитин и ксиланазе код гљива или хептогљукани код оомицета (Boyd *et al.*, 2013). Други ниво је специфична реакција домаћина тј. препознавање ефектора (Avg протеина) од стране гена отпорности и носи назив *effector triggered immunity - ETI*.

### 3.2.2. Отпорност сунцокрета према црној пегавости стабла

Одређивање отпорности биљака према патогенима се заснива на праћењу појаве и интензитета болести у условима природне инфекције и примене прилагођених метода инокулације домаћина у условима поља или у објектима са делимично или потпуно контролисаним условима средине. Правилна дискриминација генотипова на отпорност према болестима у зависности је од правилно изабраног метода инокулације. Методе се првенствено базирају на циклусу развоја патогена и условима неопходним за остварење контакта са домаћином и појаве симптома. Уколико патоген захтева специфичне услове за инфекцију, метод инокулације који се базира на циклусу развоја патогена може имати за последицу изостанак појаве болести уколико део услова није задовољен. Насупрот томе, употреба агресивног метода инокулације којим се умањује утицај фактора средине, може довести до појаве симптома на основу којих није могуће установити разлику између генотипова или занемаривања одређених параметара који утичу на отпорност генотипа.

За тестирање отпорности генотипова сунцокрета развијен је низ метода вештачке инокулације. Метод инокулације клијанаца сунцокрета потапањем у суспензију зооспорангија *Plasmodiopsis halstedii* и даље гајење биљака у условима контролисане температуре и влажности, одражава продирање патогена у условима земљишта и широко је прихваћен у процесу оплемењивања на отпорност према пламењачи сунцокрета (Touierville de Labrouhe *et al.*, 2000). Развијен је и низ метода за инокулацију са патогенима значајним за производњу сунцокрета попут *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phomopsis helianthi* и *Macrophomina phaseolina* (Chan *et Sackston*, 1970; Mihaljčević, 1978). Тестирање на отпорност према црној пегавости сунцокрета се изводи, у зависности који тип симптома се жели постићи, употребом више метода. Инокулација биљака се може постићи прскањем суспензијом пикноспора одређене концентрације (El Sayed и Marić, 1981); стављањем одређене запремине суспензије у пазух листа (Larfeil *et al.*, 2010) или котиледона (Roustae *et al.*, 2000) и стављањем исечка хранљиве подлоге са мицелијом гљиве поред кореновог врата (Abou al Fadil, 2007). Метода културе ткива може се употребити за поређење отпорности сунцокрета употребом филтрата колоније патогена (Hartman *et al.*, 1988).

Разлике између генотипова се могу одредити утврђивањем биомасе патогена квантификацијом ергостерола (Buerstmayr *et al.*, 2012).

Употребом наведених метода и анализом резултата запажања реакције генотипова у условима природне инфекције, утврђено је постојање различитих нивоа осетљивости сунцокрета према црној пегавости стабла, али потпуна отпорност није пронађена (Gulya *et al.*, 1998). Škorić (2012), сумирајући резултате досадашњег напретка у оплемењивању сунцокрета на отпорност према болестима, прави поделу на четири групе при чему постигнут степен толерантности према црној пегавости сунцокрета и белој трулежи означава као задовољавајући. За агроеколошке услове Србије, Шкорић (2006) наводи хибриде Миро, Банаћанин и Крајишник са највећим степеном толерантности. Висок степен толерантности је забележен и код линија CMS-1-50, PR-ST-3, PR-ST-28 и HA-48 (Шкорић, 1989). Резултати трогодишњих истраживања El Sayed (1982) указали су да је преко 60% генотипова било јако осетљиво у условима природне инфекције, док је мање од 10% било отпорно са најслабијом појавом симптома на руској сорти Передовик. Исти аутор наводи да потпуна отпорност није утврђена. Висок степен отпорности је забележен код линија SDR18 и SDR19, које су пореклом из САД-а (Davari *et al.*, 2012). Значајан ниво отпорности је утврђен код сорте Юбилейный 60 (Škorić, 1988). Abou Al Fadil *et al.* (2004) су постигли повећање отпорности генотипова сунцокрета применом методе индукованих мутација. Ови аутори су након излагања гама зрачењу семена инбред линије AS-613, одабрали резистентне линије у М3 генерацији, а потом тестирајући потомство у F3 генерацији добили 10% F3 фамилија са испољеном већом резистентношћу у односу на најбољег родитеља. Овим резултатом су поткрепили закључак да је отпорност сунцокрета према црној пегавости стабла полигено својство. Вредности опште и посебне комбинационе способности израчунате након инокулације сунцокрета изолатима патогена на приземном делу стабла и корену, упућују на закључак да је адитиван ефекат гена значајнији од неадитивног (Abou Al Fadil *et al.*, 2007). Употребом молекуларних метода Al-Chaarani *et al.* (2002) су детектовали 7 QTL маркера за отпорност према црној пегавости стабла. У истраживању Bert *et al.* (2004) утврђено је постојање 4 QTL-а, а сваким је објашњено мање од 16% фенотипске варијабилности.

Већи број истраживача је потврдио постојање отпорности код дивљих сродника сунцокрета. Gulya *et al.* (1998) наводе постојање отпорности код већег броја популација врста *H. tuberosus* и *H. rigidus*, и код мањег броја популација врста *H. argophyllus*, *H. maximilliani* и *H. petiolaris*. Christov (2012) издваја врсте *H. argophyllus*, *H. laevigatus*, *H. eggertii* и *H. debilis* као изворе отпорности према црној пегавости стабла. У условима природне инфекције отпорност је утврђена код популација врста *H. maximilliani*, *H. argophyllus*, *H. tuberosus* и *H. pauciflorus* (Škogić, 1992). У настојањима да се искористи потенцијал који пружају врсте из рода *Helianthus* Encheva *et al.* (2006) су створили низ инбред линија које воде порекло од *H. salicifolius*. Одређен број је поседовао отпорност према црној пегавости стабла. Слични резултати су постигнути код генотипова сунцокрета добијених међуврсним укрштањима са биљкама врста *H. debilis*, *H. pauciflorus* и *H. argophyllus* (Christov, 2012).

### 3.2.3. Варијабилност популације патогена

Патогени представљају један од узрока израженог селекционог притиска у биљним популацијама, чему сведочи и изузетно висок степен полиморфности гена одговорних за вирулентност патогена и отпорност биљака (Karasov *et al.*, 2014). Проузроковачи болести се брзо прилагођавају променама у генотипу биљке домаћина (Van der Plank, 1968). Резултат овог процеса је појава велике варијабилности патогена у погледу патогености (Limpert *et Müller*, 1994), у чијој основи су процеси мутације, рекомбинације и протока гена (Burdon *et Silk*, 1997).

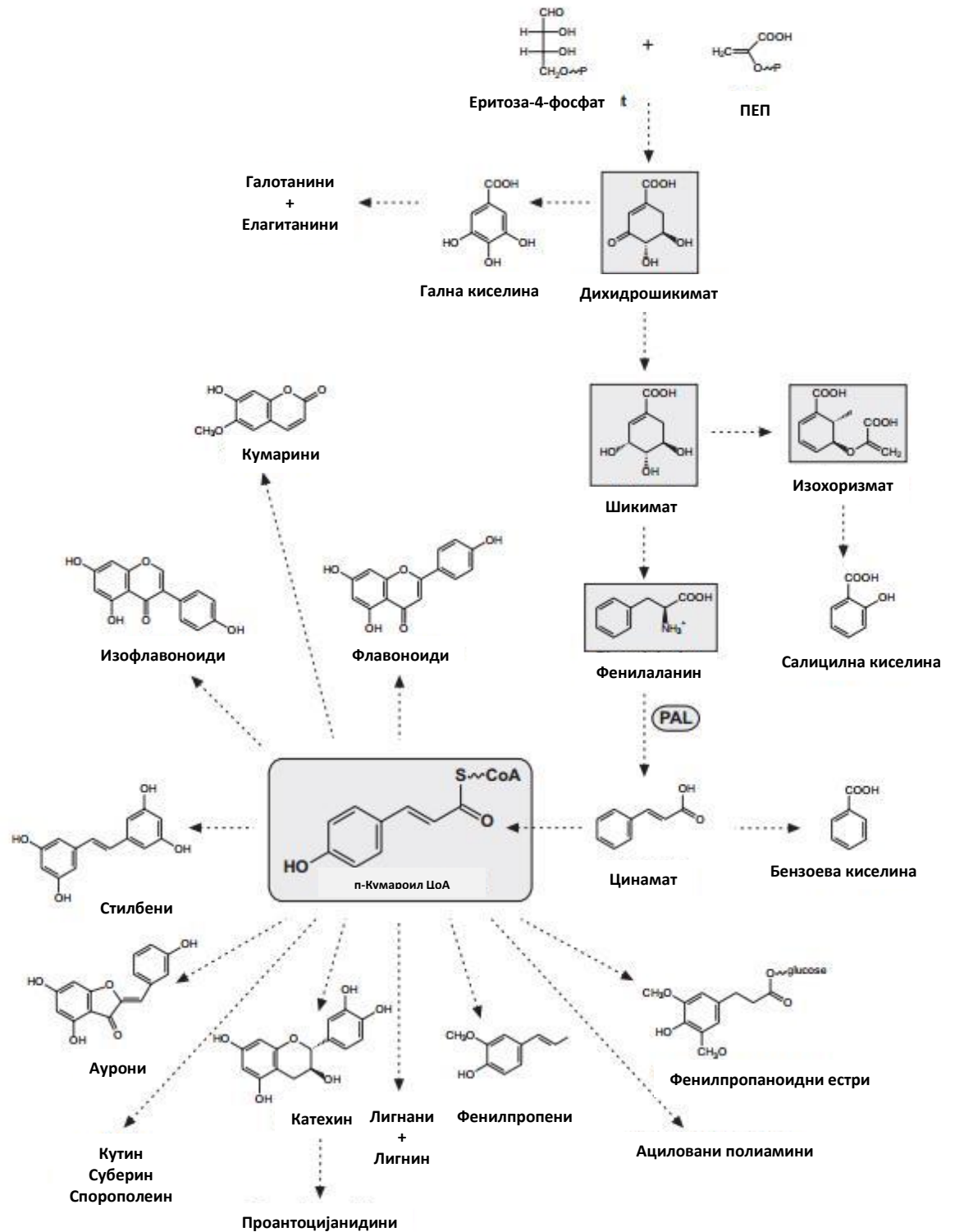
Велики број публикованих истраживања се бави детерминацијом варијабилности патогена сунцокрета. Значајна варијабилност у погледу патогености проузроковача болести сунцокрета детектована је код облигатних патогена (Mouzeyar *et al.*, 1994; Kulkarni *et al.*, 2009; Sakr, 2011; Sakr, 2012; Gascuel *et al.*, 2015; Jing *et al.*, 2015; Friskop *et al.*, 2015) и некротрофних патогена (Ziquin *et al.*, 2008; Alkher *et al.*, 2009; Davar *et al.*, 2011; Verschoor *et al.*, 2014; Thompson *et al.*, 2011; Yasari, 2012). Резултати напред наведених истраживања, износе информације о просторној и временској динамици популација патогена.

За одређене патогене се огледа у промењивости распрострањења постојећих и стварања нових вирулентнијих раса, различитог степена агресивности. Код других се варијације огледају у различитој агресивности изолата. Варијабилност је одраз генетске структуре популације патогена где популације са високим еволутивним потенцијалом имају већу вероватноћу превазилажења отпорности биљке домаћина (McDonald *et al.*, 2002). Исти аутор дели патогене на оне који представљају мањи или већи ризик у зависности од начина размножавања, протока гена, ефективне величине популације и учесталости мутација. Генетска структура популације се може проучавати употребом метода молекуларних маркера. У проучавању популација патогена сунцокрета кориштени су RAPD маркери (Says-Lesage *et al.*, 2001; Tančić *et al.*, 2012; Sakr, 2013), AFLP маркери (Says-Lesage *et al.*, 2001), SRAP маркери (Ziqin *et al.*, 2009), ITS секвенце (Spring *et al.*, 2006), EST маркери (Delmotte *et al.*, 2008) и други. Познавање генетске структуре популације патогена је од изузетног значаја за правилно планирање процеса селекције и оплемењивања на отпорност према болестима.

#### 3.2.4. Улога фенолних једињења у интеракцији домаћин патоген

Феноли у биљкама заједно са терпенима и групама једињења са азотом и сумпором представљају секундарне метаболите (Mazid *et al.*, 2011). Према својој структури се деле у 13 група, од простих бензохинона до полимера попут лигнина и танина (Aoki *et al.*, 2000; Lattanzio *et al.*, 2006; Vermeris i Nicholson, 2009). Синтеза ових једињења се у биљкама одвија шикимат-фенилпропаноид-флавоноидним путем (Графикон 3).

Фенолна једињења обављају низ функција у биљкама. Утичу на отпорност према патогенима и хербиворима, градивни су елементи биљних пигментата и обављају низ других функција од пресудног значаја за адаптацију биљака на утицаје спољне средине (Lattanzio *et al.*, 2006). За процесе раста и развоја биљке нису значајни (Rosenthal *et al.*, 1991). Верује се да је резултат ове еволутивне адаптације изражена разноврсност секундарних метаболита у биљкама од којих је већина одговорна за реакцију на биотички и абиотички



Графикон 3 Разноликост фенолпропаноида у биљкама као резултат фенолпропаноидног пута биосинтезе (Vogt, 2010)

стрес (Bennett *et al.* Wallsgrove, 1994; Wink, 1999). Реакција биљака на температурна колебања се огледа у појачаној акумулацији фенола као



последици њихове интензивније синтезе и смањења оксидације (Rivero *et al.*, 2001). Сличан процес се дешава и уколико је биљка изложена условима смањеног интензитета светлости (Jaafar *et al.*, 2008).

У зависности од времена синтезе ова група једињења се може поделити у две групе: конститутивни феноли (синтетишу се током неометаног развоја биљке) и индуковани феноли (синтеза је најчешће индукована у стресним условима у случају механичких повреда ткива, инфекције, присуства тешких метала, ултраљубичастог зрачења и колебања температуре). Феноли из прве групе су названи фитоантиципини, а из друге групе се означавају појмом фитоалексини (Van Etten *et al.*, 1994). Строга је подела на конститутивна и индукована једињења условна, пошто у случају интеракције са патогенима долази до значајног повећања и већ присутних једињења одговорних за реакцију биљке на стрес (Bennett *et al.*, 1994).

Интеракција патогених гљива и биљке домаћина представља врло динамичан систем. Гљивичне инфекције често подстичу активацију гена одговорних за процес синтезе фенола чиме директно повећавају концентрацију изофлавоноида и флавоноида (Weisshaar и Jankins, 1998). Истраживања великог броја патосистема, већином су потврдила позитивну корелацију између концентрације фенолних једињења и нивоа отпорности домаћина. Осетљиве и отпорне сорте кромпира инокулисане са патогеном *Alternaria solani*, значајно су се разликовале према садржају укупних растворљивих фенола и нивоу активности ензима пероксидазе (Shahbazi *et al.*, 2010). Почетак продирања гљиве *Verticillium dahliae* у корен памука обележен је активацијом ензима пероксидазе и фенол оксидазе без разлике у односу на степен отпорности домаћина, али је до повећања садржаја укупних фенола дошло само код биљака отпорног генотипа (Vlassova, 1994). Arun *et al.* (2010) бележе значајан пораст количине укупних фенола након инокулације проса патогеном *Sclerospora graminicola*, праћен повећањем активности ензима оксидазе и пероксидазе. Супротно резултатима ових истраживања, постоје подаци о смањењу нивоа фенолних једињења. Friend (1981), у прегледу резултата истраживања праћењем промене нивоа хлорогене киселине након инокулације кромпира патогенима *Phytophthora infestans*, *Phoma exigua* var. *foevata* и *Fusarium solani* var. *coeruleum*, наводи да је у већини случајева дошло до значајног смањења нивоа

испитиваног једињења уз напомену да је ова појава била условљена врстом патогена и генотипом кромпира. Потврђени су и случајеви непостојања јасне везе између промена у нивоу фенола и степена отпорности. Lygin *et al.* (2009), пратећи промене нивоа флавоноида кверцетина и камферола нису установили постојање корелације са степеном отпорности према рђи соје (*Phakopsora pachyrhizi*), иако су ова једињења испољила снажан инхибиторни ефекат на клијање уредоспора.

Биотичким стресом код сунцокрета долази до активације низа процеса од ослобађања  $H_2O_2$  и етилена у почетном временском интервалу од неколико сати до синтезе скополетина у трајању од неколико дана (Brändle *et Spring*, 2003). Акумулација фенола, стварање депозита на ћелијским зидовима, меланизација и лигнификација су карактеристичне промене у ткивима стабла и листова сунцокрета након инфекције гљивом *Sclerotinia sclerotiorum*. Та појава је мањег интензитета код осетљивих генотипова (Bazzalo *et al.*, 1985). Процес накупљања зависи од температуре, а просторно највећа концентрација фенола је у ткивима у непосредној близини симптома болести (Martinson, 1988). Садржај фенола се код односа сунцокрет – *S. sclerotiorum*, може користити као биохемијски индикатор за отпорност (Nemery *et al.*, 1988), уз напомену да вредности садржаја фенола значајно варирају код биљака гајених у условима поља (Bazzalo, 1991). Пораст концентрације фенола повезан је и са односом других патогена и сунцокрета. Prats *et al.* (2007) доказују да количина излучених кумарина на површини листа сунцокрета позитивно корелира са степеном отпорности, док лучење фунгитоксичног и фитотоксичног ајапина негативно утиче на клијање и формирање апресоријума *Puccinia helianthi*. Акумулација ове групе једињења у ткивима биљке домаћина смањује ниво осетљивости генотипова сунцокрета према *S. sclerotiorum* (Prats *et al.*, 2006) и *A. helianthi* (Tal *et Robeson*, 1986). Антифунгална активност секундарних метаболита је повезана и са малим променама у хемијској структури. Токсичност алифатичних глукозинолат-изотиоцијаната према *S. sclerotiorum* расте са продужавањем ланца молекула где се 8-метилсулфонилоктил изотиоцијанат показао као најтоксичнији (Stotz *et al.*, 2011). Интеракција сунцокрета и различитих патогена као извора стреса праћена је значајним променама метаболизма домаћина што је поткрепљено резултатима многих

истраживања. Метаболичким процесима долази до промена у концентрацији одређених једињења која испољавају антибиотске активности које су често у корелацији са степеном отпорности домаћина. Уколико се установи висока корелација између одређених продуката метаболизма биљке и отпорности према болести, поједина једињења се успешно могу користити за процену реакције домаћина према патогену.

## 4. Материјал и метод

### 4.1. Биљни материјал

За испитивање осетљивости генотипова према проузроковачу црне пегавости стабла *Phoma macdonaldii* изабрано је 70 инбред линија без претходног познавања реакције према овој гљиви (Табела 3). Изабрани генотипови су посејани 2010. и 2011. године на локалитетима Римски Шанчеви и Зрењанин, а 2012. године на локалитету Римски Шанчеви. На првом локалитету сетва је обављена на наводњаваној површини и у сувом ратарењу, а на локалитету Зрењанин, у систему сувог ратарења. У 2013. и 2014. години тестирање је поновљено за линије које су на основу резултата пољских истраживања испољиле одређен степен отпорности према црној пегавости стабла.

Тестирању је подвргнуто, у периоду од 2010. до 2013., укупно 16 хибрида сунцокрета (Табела 4).

У контролисаним условима тестиране су инбред линије и 71 популација једногодишњих дивљих врста (Табела 5).

Појава болести у природним условима заражавања у периоду од 2010. до 2013. године је праћена на колекцији једногодишњих дивљих врста сунцокрета (Табела 21) и на хибридима сунцокрета (Табела 4) посејаним на више локалитета.

### 4.2. Вештачка инокулација биљака у пољским условима

Вештачка инокулација у пољским условима је урађена према методи Seassau *et al.* (2008). Инокулум је представљала мицелија гљиве узимана из колоније старости четрнаест дана. У пазух листа биљака у фенофази бутонизације R3 према Schneiter Miller (1981)(Прилог 1), стављан је исечак мицелије гљиве са подлогом. Исечак је прекривен ватом, претходно

натопљеном водом и алуминијумском фолијом. Посебна пажња приликом инокулације се обрађала на избегавање стварања повреда на делу лисне дршке на којој се врши инокулација. Некроза на стаблу инокулисаних биљака је мерена у временским интервалима од 10 дана. За поређење реакције генотипова израчунате су AUDPS (Area Under Disease Progress Stairs) вредности према Simko *et* Pierpho (2011).

Табела 3. Инбред линије сунцокрета изабране за тестирање на отпорност према црној пегавости стабла сунцокрета у пољским условима

Р. бр.	Назив линије	Р. бр.	Назив линије	Р. бр.	Назив линије
1.	HA-26	25.	IMI-AB-19	48.	OD-DI-20
2.	HA-74	26.	IMI-AB-14	49.	OD-DI-98
3.	HA-98	27.	IMI-AB-12	50.	BR-3
4.	HA-26-OR	28.	UK-87	51.	BR-1
5.	HA-26-PR	29.	UK-25	52.	BR-2
6.	PH-BC2-64	30.	UK-17	53.	VL-A-8
7.	PH-BC2-92	31.	UK-90	54.	DOP-33-08
8.	PH-BC1-53	32.	SU-AB-3	55.	AS-95
9.	PH-BC1-162	33.	SU-AB-18	56.	AS-87
10.	PH-BC1-74	34.	UK-58-ST	57.	AS-52
11.	PH-BC1-158	35.	SU-AB-14	58.	AS-92
12.	CMS1-30	36.	SU-AB-10	59.	BT-VL-20
13.	CMS1-90	37.	SU-AB-6	60.	BT-VL-24
14.	CMS1-122	38.	SU-AB-15	61.	BT-VL-17
15.	CMS1-223	39.	SU-AB-4	62.	BT-VL-18
16.	CMS-3-8	40.	OD-ST-10/1	63.	BT-VL-2
17.	PR-ST-28	41.	OD-ST-Ž-10	64.	BT-VL-30
18.	IMI-AB-6	42.	OD-4-ST	65.	DOP-16-08
19.	PR-ST-3	43.	OD-2-ST	66.	DOP-32-08
20.	JM-8	44.	OD-DI-112	67.	DOP-6-08
21.	NS-BW-3	45.	OD-DI-119	68.	DOP-27-08
22.	IMI-AB-1	46.	OD-DI-111	69.	OD-3369
23.	IMI-AB-18	47.	OD-DI-18	70.	HA-441
24.	IMI-AB-24				

### 4.3. Вештачка инокулација биљака у контролисаним условима

Тестирање генотипова сунцокрета на отпорност према црној пегавости сунцокрета у контролисаним условима вршено је употребом модификованог протокола према Darvishzadeh *et al.* (2007). Семе сунцокрета је посејано у контејнере димензија 8x8x8 cm напуњене супстратом 1 (Klasmann-Deilmann). Биљке су гајене у условима осветљења 16/8 h светло/тама и при температури 21±2 °C на светлу и 18±2 °C у мраку. За гајење биљака кориштене су лампе са Philips HPI-T 1000W/643 E40 HPI-T сијалицама.

Табела 4 Хибриди сунцокрета изабрани за тестирање на отпорност према црној пегавости стабла сунцокрета у пољским условима

Редни број	Назив хибрида	Редни број	Назив хибрида
1.	НС-Х-111	9.	ОРФЕЈ
2.	ВЕЉА	10.	НС ГЛАДИЈАТОР
3.	БАЋА	11.	НС КОНСТАНТИН
4.	СРЕМАЦ	12.	НС РОМЕО
5.	ДУШКО	13.	НС БРИЛИЈАНТ
6.	БРАНКО	14.	НС НОВАК
7.	НОВОСАЂАНИН	15.	НС ДЕСПОТ
8.	ОСКАР	16.	НС ФАНТАЗИЈА

Инокулација биљака је вршена у фази V-2 (Schneider *et Miller*, 1981) непосредно након формирања првог пара сталних листова. Инокулум је представљала суспензија пикноспора добијена потапањем исечака колоније гљиве пречника око 1 cm, старости две недеље, у стерилну дестиловану воду (СДВ). Бирани су делови колоније на подлози од кромпира, декстрозе и агара (PDA) са присуством већег броја пикнида. Пикниди су били потопљени у трајању од једног сата да би се омогућило ослобађање пикноспора. Концентрација добијене суспензије је одређена помоћу хемоцитометра и коригована додатком СДВ до 10<sup>6</sup> пикноспора/ml. Биљке су инокулисане са 20 µl суспензије у пазух котиледона, а контролне биљке са истом количином СДВ.

Табела 5. Популације једногодишњих дивљих врста рода *Helianthus* тестиране у контролисаним условима на отпорност према црној пегавости стабла сунцокрета

Р. бр.	Назив популације	Р. бр.	Назив популације	Р. бр.	Назив популације
	<i>H. annuus</i>	25.	DEB 1290	48.	NIV 1452
1.	A-2	26.	DEB 1564	49.	NIV 1487
2.	A-9	27.	DEB 1569	50.	NIV 1502
3.	A-13	28.	DEB 1574		<i>H. petiolaris</i>
4.	ANN 1965	29.	DEB 1675	51.	PET 338
5.	ANN 2003	30.	DEB 1810	52.	PET 722
6.	ANN 2104	31.	DEB 367	53.	PET 74
7.	ANN 2127		<i>H. grossesseratus</i>	54.	PET 1383
8.	ANN 2141	32.	GRR 269	55.	PET 1910
9.	ANN 2162	33.	GRR 279	56.	PET 2004
10.	ANN 2177	34.	GRR 283	57.	PET 2119
11.	ANN 2199		<i>H. neglectus</i>	58.	PET 2146
12.	ANN 2206	35.	NEG 0457	59.	PET 2163
13.	ANN 2220	36.	NEG 0460	60.	PET 2178
14.	ANN 2233	37.	NEG 1086	61.	PET 2211
15.	ANN 340	38.	NEG 1180		<i>H. praecox</i>
	<i>H. argophyllus</i>	39.	NEG 1181	62.	PRA 380
16.	ARG 1317	40.	NEG 1358	63.	PRA 424
17.	ARG 1575	41.	NEG 1361	64.	PRA 1145
18.	ARG 1677	42.	NEG 1363	65.	PRA 1168
19.	ARG-1805	43.	NEG 1386	66.	PRA 1325
20.	ARG 1807	44.	NEG 1388	67.	PRA 1329
21.	ARG 1812		<i>H. niveus</i>	68.	PRA 1333
	<i>H. debilis</i>	45.	NIV 0608	69.	PRA 1801
22.	DEB 1134	46.	NIV 1403	70.	PRA 1828
23.	DEB 1140	47.	NIV 1410	71.	PRA 1341
24.	DEB 1287				

Након извршене инокулације биљке су прекривене провидном полиетиленском фолијом ради постизања приближно 100% релативне влажности ваздуха у трајању од 72 h. Оцена биљака је вршена употребом скале од 1 до 9 (Rouste *et al.*, 2007)(Табела 6, Слика 3).

Табела 6. Скала оцене црне пегавости на дршкама котиледона  
(Rouste *et al.*, 2007)

Оцена	Некротирана површина (%)
1	0-5
2	6-10
3	11-20
4	21-30
5	31-40
6	41-60
7	61-80
8	81-99
9	100, уз ширење некрозе на стаблу



Слика 3 Симптоми црне пегавости на котиледонима, након инокулације гљивом *P. macdonaldii*, са оценама према скали Rouste *et al.*, (2007)



#### 4.4. Отпорност генотипова сунцокрета у условима природне инфекције

Отпорност генотипова сунцокрета према црној пегавости у условима природне инфекције је одређена у трајању од четири године на већем броју локалитета (Табела 4; Табела 7).

Табела 7. Локалитети на којима су вршена опажања присуства и јачине симптома црне пегавости стабла сунцокрета

	Година			
	2010.	2011.	2012.	2013.
<i>Неготин</i>	<i>Неготин</i>	<i>Неготин</i>	<i>Неготин</i>	<i>Неготин</i>
<i>Врбас</i>	<i>Врбас</i>	<i>Врбас</i>	<i>Врбас</i>	<i>Врбас</i>
<i>Сомбор</i>	<i>Сомбор</i>	<i>Сомбор</i>	<i>Сомбор</i>	<i>Сомбор</i>
<i>Сента</i>	<i>Сента</i>	<i>Сента</i>	<i>Сента</i>	<i>Сента</i>
<i>Зрењанин</i>	<i>Зрењанин</i>	<i>Зрењанин</i>	<i>Зрењанин</i>	<i>Зрењанин</i>
<i>Вршац</i>	<i>Вршац</i>	<i>Вршац</i>	<i>Вршац</i>	<i>Панчево</i>
<i>Панчево</i>	<i>Панчево</i>	<i>Панчево</i>	<i>Панчево</i>	<i>Нештин</i>
<i>Нештин</i>	<i>Нештин</i>	<i>Нештин</i>	<i>Нештин</i>	<i>Алекса Шантић</i>
<i>Кузмин</i>	<i>Кула-Витовница</i>	<i>Кула-Витовница</i>	<i>Кула-Витовница</i>	<i>Кикинда</i>
<i>Крчедин</i>	<i>Римски шанчеви</i>	<i>Зајечар</i>	<i>Зајечар</i>	<i>Ново Милошево</i>
<i>Кула-Витовница</i>	<i>Шупљак</i>	<i>Римски шанчеви</i>	<i>Римски шанчеви</i>	<i>Сремска Митровица</i>
<i>Зајечар</i>	<i>Алекса Шантић</i>	<i>Шупљак</i>	<i>Шупљак</i>	
	<i>Кикинда</i>		<i>Алекса Шантић</i>	
	<i>Босут</i>		<i>Кикинда</i>	
			<i>Ново Милишево</i>	
			<i>Ердевик</i>	
			<i>Краљево</i>	

Огледи су били постављени по моделу блок система са случајним распоредом третмана у четири понављања. Основну парцелицу су чинила четири реда дужине 10 m са међуредним размаком од 0,7 m. Оцена болести је вршена на биљкама у другом и трећем реду. Одређен је проценат биљака са

симптомима болести и степен напада употребом модификоване скале оцене према Маširević (1995)(Табела 8).

Табела 8. Модификована скала оцене отпорности сунцокрета према црној пегавости стабла према Маširević (1995)

Оцена	Површина стабла са симптомима болести (%)
0	без симптома болести
1	0,1-10,0
2	10,1-20,0
3	20,1-30,0
4	30,1-40,0
5	40,1-50,0
6	50,1-60,0
7	60,1-70,0
8	70,1-80,0
9	80,1-90,0
10	90,1-100,0

#### 4.5. Отпорност популација дивљих врста сунцокрета према црној пегавости стабла

Присуство црне пегавости на биљкама дивљих сродника сунцокрета је оцењено у четворогодишњем периоду, у условима природне инфекције. Оцена је вршена употребом скале од 1 до 10 (Табела 8). Стабло биљака са симптомима болести је узорковано и присуство патогена је утврђено изолацијом и идентификацијом на PDA подлози.

#### 4.6. Утицај агротехничких мера на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета

Време сетве, густина сетве и ђубрење су агротехничке мере чији је утицај на осетљивост сунцокрета према црној пегавости стабла био предмет неколико пољских експеримената.

Експеримент одређивања утицаја времена сетве на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета је био постављен према split-plot плану. Вршена је сетва три хибрида сунцокрета (НС Голијат, НС Слатки и НС Грицко у 2010., 2011. и 2012. години; НС Оскар, НС Фантазија и Орфеј у 2013. години), у временским интервалима од 10 дана са датумом прве сетве 20.03. и последње сетве 01.06. (Табела 9). Основна парцела се састојала од шест редова дужине 10 м.

Табела 9. Третмани у пољском експерименту са различитим временом сетве сунцокрета

Третман	Време сетве
1	20.03.
2	01.04.
3	10.04.
4	20.04.
5	01.05.
6	10.05.
7	20.05.
8	01.06.

Утицај различитог броја биљака по јединици површине на појаву и интензитет болести одређен је у експерименту густине сетве (Табела 10). Експеримент је постављен према split-plot плану у четири понављања. Основна парцела се састојала од четири реда дужине 10 м, а сејано је шест хибрида сунцокрета (НС Голијат, НС Слатки, НС Грицко, НС-Х-6485, Вранац и Цепко у

2010., 2011. и 2012. години; НС Оскар, НС Фантазија, Орфеј, НС Новак, НС Константин и Душко у 2013. години).

Табела 10. Третмани у пољском експерименту са различитим бројем биљака сунцокрета по јединици површине

Третман	Број биљака по хектару
1	20 000
2	30 000
3	40 000
4	50 000
5	60 000
6	70 000

Оглед са различитим варијантама минералне исхране се састојао од 20 третмана (Табела 11). Хибрид НС Голијат у 2010., 2011. и 2012. години, а НС Оскар у 2013. години. Експеримент је постављен сетвом према плану блок система у четири понављања. Основна парцела се састојала од осам редова дужине 17 м.

Појава болести у овим експериментима је одређена бројањем биљака са симптомима болести, а интензитет визуелном оценом (Табела 8). Болест није праћена на рубним редовима и рубним биљкама редова који су оцењивани.

#### 4.7. Изолација гљиве

Прикупљање биљака са симптомима карактеристичним за болест коју на стаблу проузрокује *P. macdonaldii* извршено је у свим подручјима где се сунцокрет производи у Србији. Поред ових, у колекцију су укључени и изолати прикупљени у Турској, Румунији, Хрватској и Украјини.

Биљни материјал са симптомима болести је темељно опран водом. Делови ткива са симптомима су затим површински стерилисани у 1% NaOCl у трајању од 3 min и непосредно потом, испрани са СДВ. Овако припремљени исечци су стављани на PDA подлогу, а затим у термостат на температуру од 25

°C. За потребе експеримената прављени су моноспорни изолати. Исечак колоније старости 14 дана са пикнидима узиман је и стављан у епрувету са 10 ml стерилне дестиловане воде. Припремљена је серија разређења и од последњег из серије, 1 ml је сипан и равномерно распоређен у Петри кутије са WA (водени агар) подлогом. Након 48 сати клијале пикноспоре су пребачене у Петри кутије са PDA подлогом, а по развоју колоније у епрувете са косом PDA подлогом ради чувања до момента кориштења.

Табела 11. Третмани у огледу са различитим варијантама ђубрења

Третман	Количина унетих минералних елемената N:P:K (kg)
1	0:0:0
2	100:0:0
3	0:100:0
4	0:0:100
5	100:100:0
6	100:0:100
7	0:100:100
8	50:50:50
9	50:100:50
10	50:100:100
11	100:50:50
12	100:100:50
13	100:100:100
14	100:150:50
15	100:150:150
16	150:50:50
17	150:100:50
18	150:100:100
19	150:150:100
20	150:150:150

#### 4.8. Одгајивачке особине

Варијабилност гљиве у погледу раста и развоја праћена је у зависности од више параметара. У свим експериментима са подлогом у чврстом агрегатном стању у Петри кутије, пречника 9 cm, сипано је 20 ml одговарајуће подлоге и на подлогу су стављани исечци колоније пречника 5 mm. У експериментима са подлогом у течном агрегатном стању гљива је гајена у 25 ml одговарајуће подлоге. Експерименти су извођени у три понављања. Једно понављање је чинила једна Петри кутија, односно, једна Ерленмајер боца.

Разлике у расту гљиве, продукцији пикнида и продукцији пигмента су проучаване употребом 8 изолата на МА (малцекстракт агар) подлози. Гљива је 7 дана гајена на температури од 21 °C у условима потпуног одсуства светлости и 7 дана на истој температури у присуству флуоресцентне светлости у трајању од 13 h. Пречник колоније и оцена присуства пикнида гљиве су одређени 7. и 14. дана од тренутка постављања експеримента.

Утицај температуре на раст и развој гљиве је одређен употребом изолата SRB-R1S32 у одсуству светлости и на температурама 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35 °C у трајању од 14 дана. Исти изолат је кориштен у експерименту чији је циљ било утврђивање утицаја вредности рН хранљиве подлоге, у распону од 3 до 9, на раст колоније гљиве и продукцију пикнида. Пораст гљиве у оба експеримента, изражен пречником колоније, је мерен након 7 и 14 дана, а продукција пикнида након 14 дана.

Одређен је утицај одређених извора угљеника и азота на раст и развој гљиве (Табела 12). Маса појединачних једињења је подешена према садржају угљеника у 10 g глукозе и према садржају азота у 2 g NaNO<sub>3</sub>. Услови гајења су били идентични условима у огледу одређивања утицаја врсте подлоге на раст и развој гљиве. Гљива је гајена у течним и чврстим хранљивим подлогама са различитим једињењима азота и угљеника.

Табела 12. Једињења угљеника и азота коришћена у експерименту одређивања утицаја извора ових елемената на раст и развој гљиве

Једињења угљеника	Једињења азота
глукоза	$NaNO_3$
галактоза	уреа
глицерол	$NH_4Cl$
фруктоза	аспарагин
ксилоза	$NH_4NO_3$
сахароза	аланин
малтоза	$KNO_3$
лактоза	
манитол	
скроб	

#### 4.9. Преношење патогена семеном и презимљавање на зараженим биљним остацима

Процент семена сунцокрета са присуством гљиве *P. macdonaldii* је одређен методом описаном од стране Lačok *et* Mihaljčević (1998). Идентификација присуства патогена је урађена на семену сунцокрета прикупљеном са биљака хибрида Бранко, Бачванин и НС Новак, гајених на локалитетима Крчедин, Нештин, Панчево, Вршац, Врбас, Зајечар, Сомбор, Кула и Прахово. Семе је инкубирано на влажном филтер папиру на температури од 21 °C у трајању од 8 дана.

Стабла биљака са симптомима болести су прикупљена по завршетку вегетације сунцокрета. Делови стабла дужине око 20 cm су постављени хоризонтално у пластичну врећу намењену паковању поврћа. Вреће су хоризонтално положене на дубину од 10, 20 и 30 cm. На површину земљишта су положени неупаковани делови стабла. Присуство пикнида и перитеција је утврђено у марту и априлу у току 2011., 2012. и 2013. године.

#### 4.10. Одређивање садржаја фенолних једињења

За одређивање садржаја фенолних киселина коришћене су три инбред линије сунцокрета, различите у погледу осетљивости према црној пегавости стабла: CMS-1-122 (осетљива), DOP-06-08 (умерено осетљива) и DOP-33-08 (отпорна), а за одређивање садржаја укупних фенола линије: HA-98, HA-26-OR, CMS-3-8, IMI-AB-18, OD-DI-20, OD-DI-98, OD-DI-111 и DOP-6-08. Биљке су гајене појединачно у саксијама димензија 9,5x9,5x10 cm. Распоред третмана је био случајан у три понављања. Третман у једном понављању је представљала једна саксија са биљком сунцокрета.

Услови гајења биљака су били идентични условима описаним у одељку 4.2. Биљке су инокулисане у фази два пара сталних листова прскањем са 2 ml супензије пикноспора изолата гљиве SRB-R1S32, концентрације  $10^6$  пикноспора/ml. Успешност инокулације је била обезбеђена гајењем биљака у одсуству светлости и при релативној влажности ваздуха од приближно 100% у трајању од 72h.

Узорци листова сунцокрета за анализу садржаја фенолних киселина су узимани периодично: непосредно након инокулације, након 5, 10, 15, 30 и 60 min, 2, 4, 8, 16 и 24 h, 2, 4, 8 и 16 дана, а узорци за одређивање садржаја укупних фенола 7 дана након инокулације. Након узимања, узорци су стављани у течни азот и чувани на температури од  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  до извођења анализе.

Анализа садржаја укупних растворљивих фенола је урађена према модификованом методу Поповић и Маленчић (2006) и Malenčić *et al* (2007). Припрема узорка за екстракцију и екстракција је извршена према поступку примењеном за фенолне киселине. Запремини екстракта од 0,1 ml додано је 0,4 ml дејонизоване воде, 0,25 ml Folin-Ciocalteu реагенса и 1,25 ml 20% раствора  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Абсорбанца је мерена након 40 min на таласној дужини од 725 nm. Садржај укупних фенола је изражен у mg катехина/g суве масе. Калибрациона крива на основу које су одређене вредности садржаја укупних фенола је представљала зависност абсорбанце у односу на испитивану масену концентрацију катехина у серији раствора од 0,1 до 10 mg/ml.

Хроматографска анализа фенолних једињења је урађена према методу Генералић и сар. (2012). Биљни материјал је непосредно пре екстракције



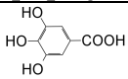
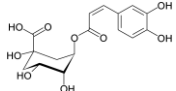
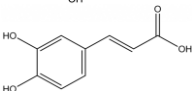
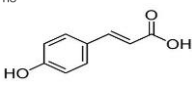
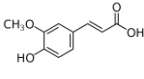
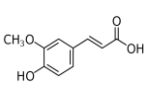
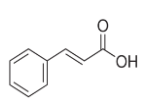
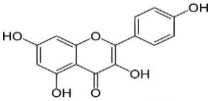
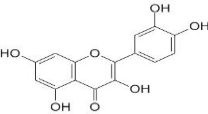
хомогенизован. Фенолна једињења су екстрахована из 1 g узорка у воденом купатилу на температури од 60 °C у трајању од 60 min након додавања 5 ml метанола. Екстракт је филтриран помоћу 0,45 µm филтера и 20 µl филтрата је ињектовано у течни хроматограф. Мобилна фаза је била у градијентном моду раствора А (вода:сирћетна киселина 98:2 v/v) и раствора Б (ацетонитрил:сирћетна киселина 98:2 v/v)(Табела 13). Анализа појединачних узорака, у трајању од 60 min и протоком од 1 ml/min, је вршена употребом колоне Zorbax SB-Aq (4.6x250 mm, 5 µm) Agilent Technologies. Производи раздвајања су детектованса низом диода - DAD (Diode Array Detection).

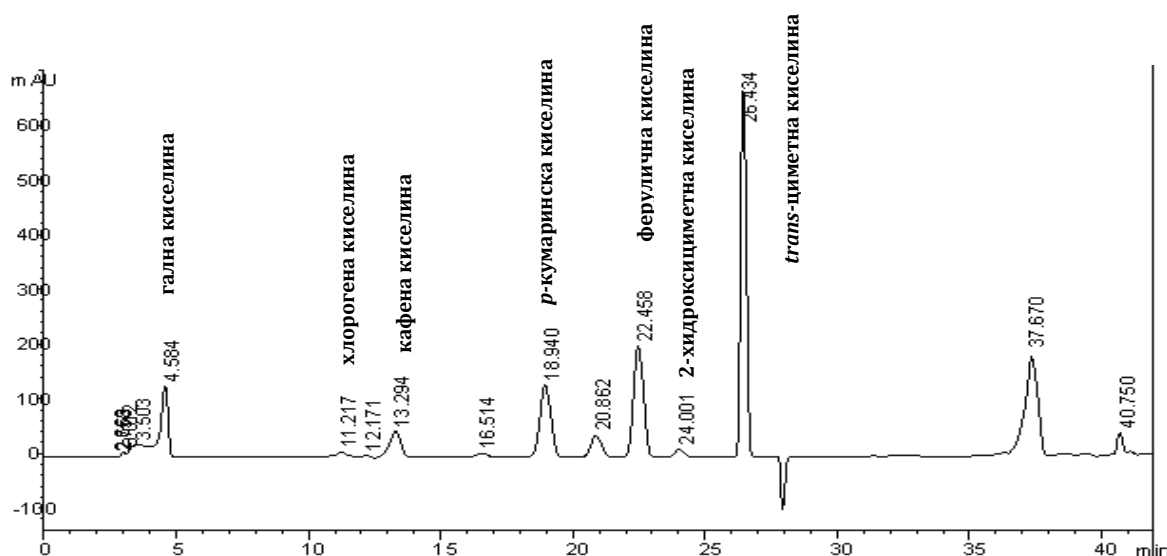
Одређена су ретенциона времена појединачних фенолних једињења (Графикон 4), поновљивост (Табела 14) и калибрационе криве (Графикон 5а). Утврђен је лимит детекције (LOD) од 0,01 µg/mg са лимитом квантификације (LOQ) од 0,03 µg/mg. Квалитативно одређивање фенолних једињења је вршено помоћу ретенционог времена и поређењем спектра једињења (Графикон 5б).

Табела 13. Градијент мобилне фазе коришћен код HPLC анализе фенолних киселина (Генералић и сар., 2012)

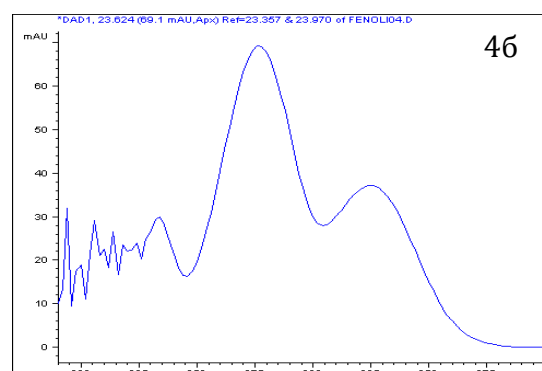
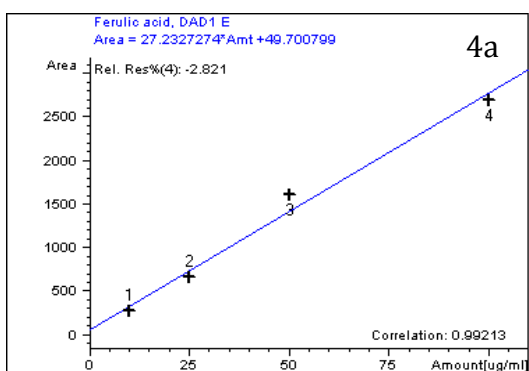
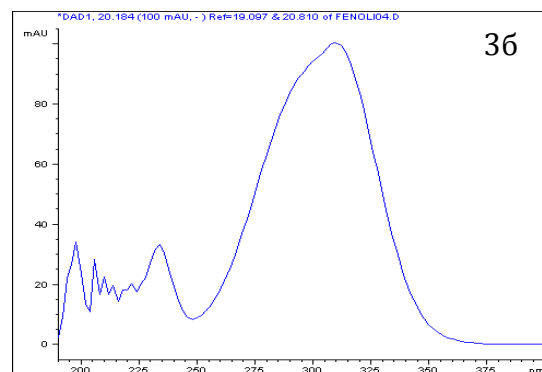
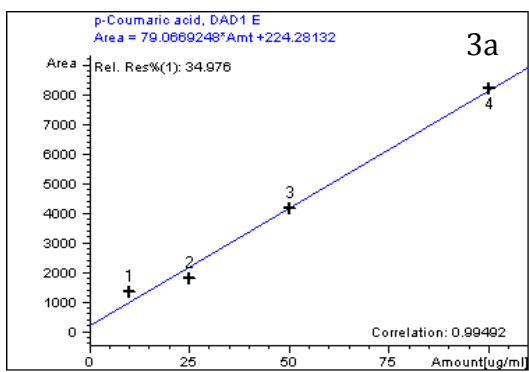
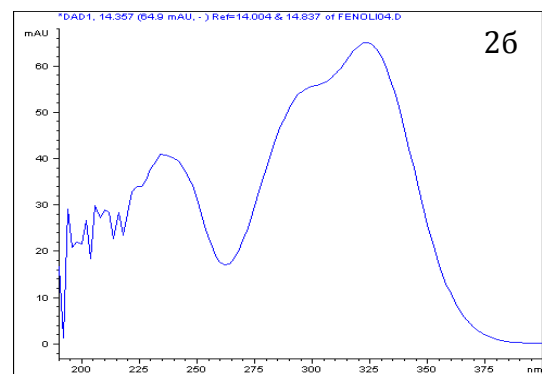
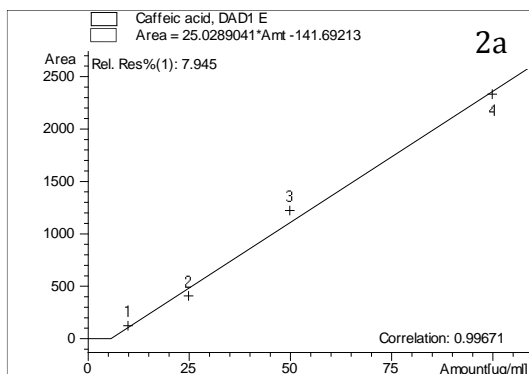
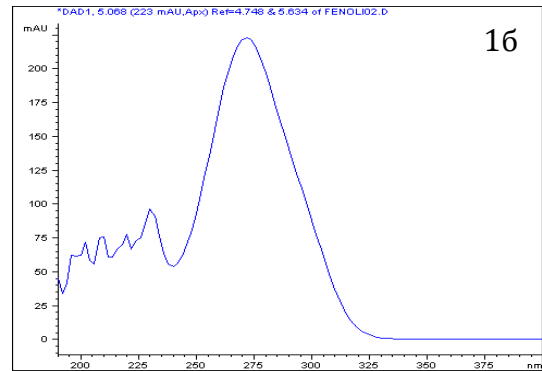
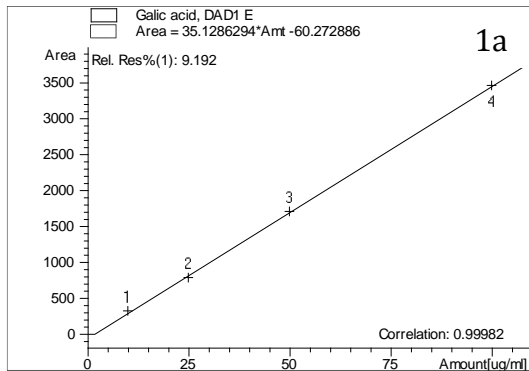
Време (min)	Раствор А (%)
0	92
18	80
25	60
30	55
40	35
50	20
54	20
57	90
60	90

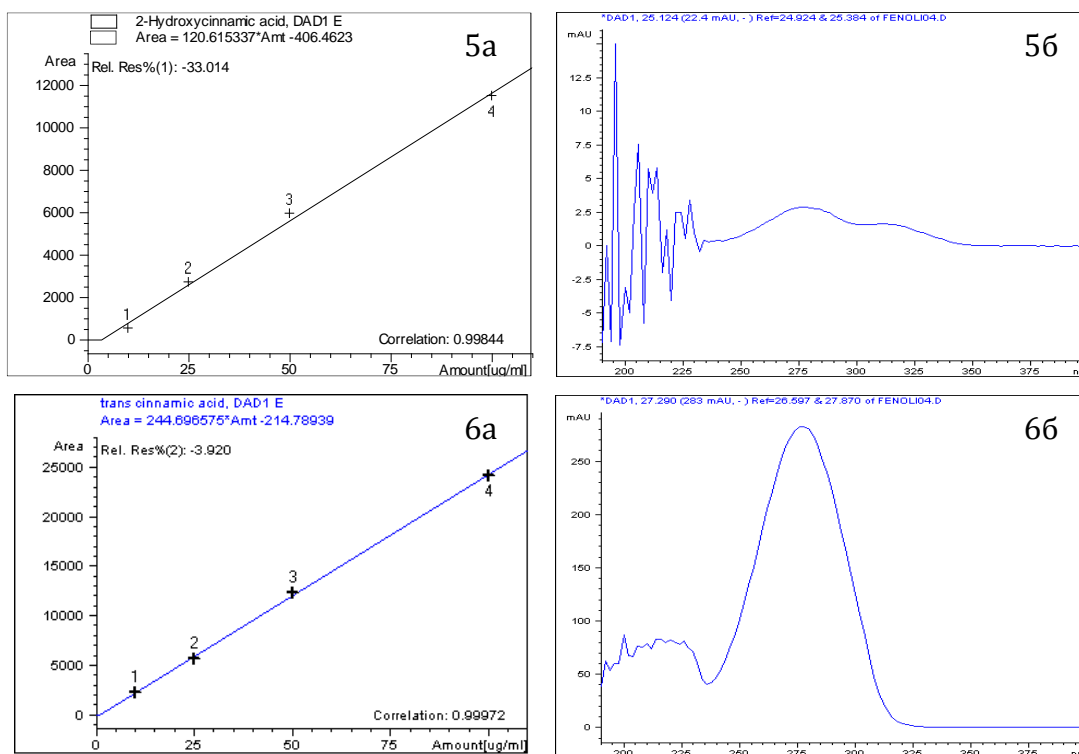
Табела 14. Структурне формуле, ретенционо време, R<sup>2</sup> и поновљивост испитиваних фенолних киселина

Фенолно једињење	Структурна формула	Ретенционо време (min)	R <sup>2</sup>	Поновљивост (RSD, %)
гална киселина		4,58	0,9998	6,76
хлорогена киселина		11,21	0,9996	4,18
кафена киселина		13,29	0,9967	9,48
p-кумаринска киселина		18,94	0,9949	2,74
ферулична киселина		22,48	0,9921	2,42
2-хидрокси-циметна киселина		24,00	0,9984	9,61
trans-циметна киселина		26,43	0,9997	5,09
камферол		37,67	0,9996	11,93
кверцетин		40,75	0,9992	7,25



Слика 4. HPLC-DAD хроматограм стандарда фенолних киселина масене концентрације 5,0 µg/ml





Слика 5. Калибрационе криве (а) и спектри (б) галне киселине (1), кафене киселине (2), *p*-кумаринске киселине (3), феруличне киселине (4), 2-хидроксициметне киселине (5) и *trans*-циметне киселине (6)

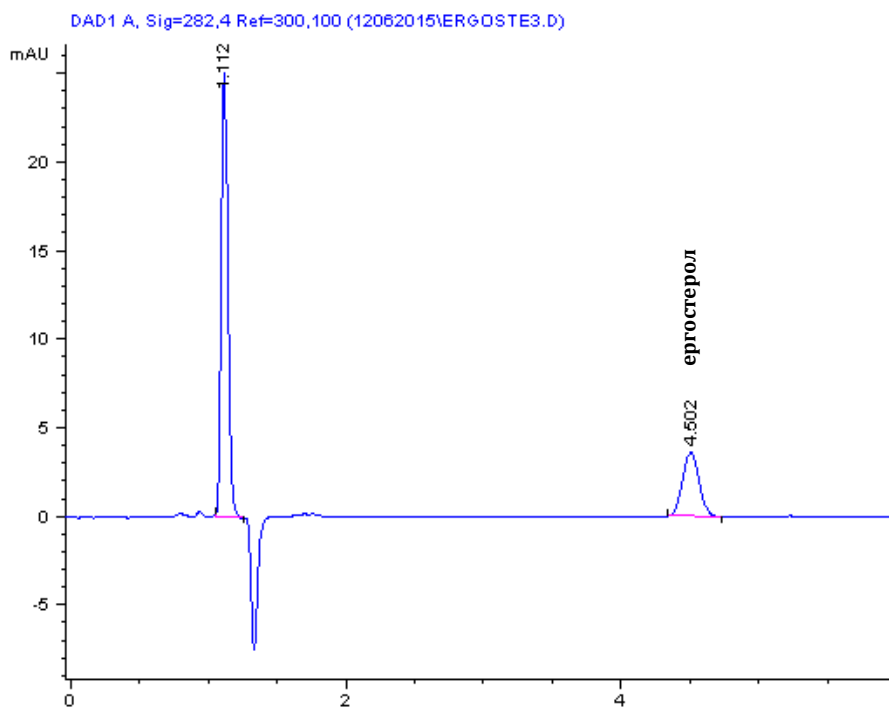
#### 4.11. Одређивање садржаја ергостерола

Услови извођења експеримента су описани у одељку 4.3. Биљке линија CMS1-122, DOP-33-06 и DOP-06-08 су инокулисане применом метода описаног у одељку 4.2. Узорци стабла са симптомом болести су узимани 40 дана након инокулације и чувани на температури од  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  до времена анализе.

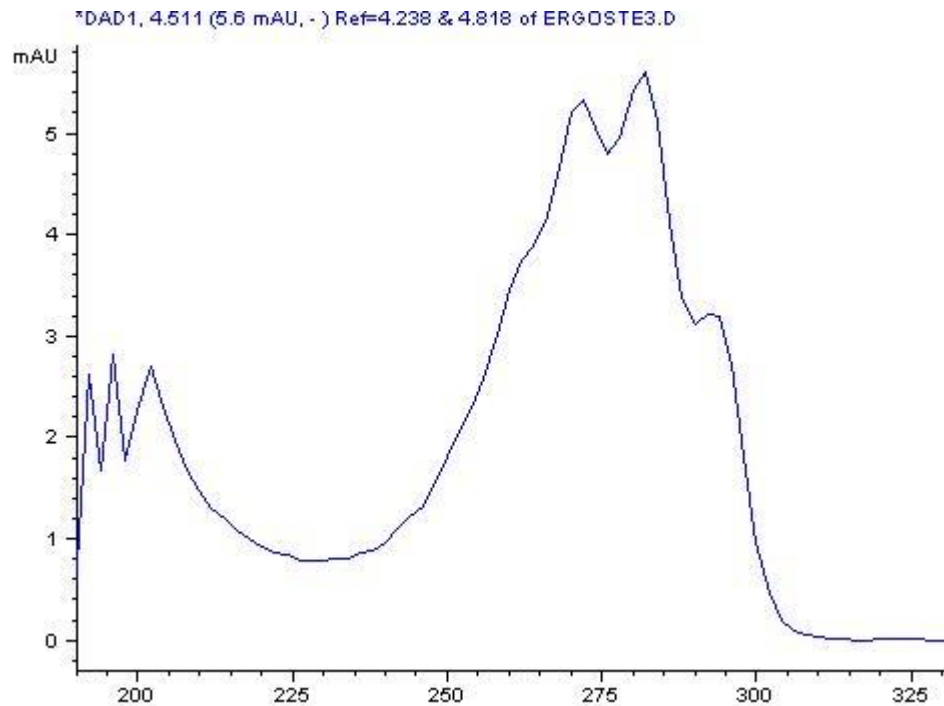
Екстракција ергостерола из узорка урађена је по методи Bursić *et al.*, (2015). Хомогенизованом узорку масе 2 g додано је 4 ml ацетонитрила, 2 ml БХТ (бутил-хидрокситолуен) и 4 ml КОН раствореног у ацетонитрилу (1,6 g/ml ацетонитрила). Након мућкања на температури од  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  у трајању од 60 минута, у складу са модификованом QuEChERS методом (Anastassiades *et al.*, 2003), додане су соли: магнезијум сулфат (4 g), натријум хлорид (1 g), натријум цитрат дихидрат (1 g) и динатријум цитрат сесквихидрат (0,5 g). Смеша је снажно мућкана 1 минут, а затим центрифугирана 5 минута на 4 000 rpm. Након

центрифугирања, 5 ml супернатанта је пребачено у кивету са MgSO<sub>4</sub>, PSA и C18. Поступак центрифугирања је поновљен, а 30 µl супернатанта је ињектовано у течни хроматограф, док је раздвајање изведено на Zorbax SB-C18 (3.0x250 mm, 5 µm) Agilent Technologies колони. Мобилна фаза је била метанол (HPLC чистоће) са протоком од 1 ml/min. Температура колоне је износила 38 °C. Анализа узорка је трајала 6 минута, а детекција је вршена DAD детектором на таласној дужини од 282 nm.

Одређено је ретенционо време ергостерола коришћењем аналитичког стандарда (Графикон 6). Утврђен је лимит детекције (LOD) од 0,2 µg/mg, лимит квантификације (LOQ) од 0,5 µg/mg и линеарност са R<sup>2</sup>=0,999. Квалитативно одређивање ергостерола је вршено помоћу ретенционог времена и поређењем спектра једињења (Графикон 7).



Слика 6. HPLC-DAD хроматограм стандарда ергостерола масене концентрације 1 µg/ml



Слика 7. Спектар ергостерола

#### 4.12. Одређивање агресивности изолатата патогена

Агресивност изолатата гљиве *P. macdonaldii* је одређена инокулацијом инбред линија CMS-1-122, ROD-DI-111, VL-A-8 и DOP-32-08. Инокулација је урађена према методи описаној у одељку 4.2. Изолати су прикупљени на подручју Србије са три региона, Украјине, Румуније, Турске и Хрватске (Слика 4).

#### 4.13. Анализа варијабилности патогена коришћењем RAPD маркера

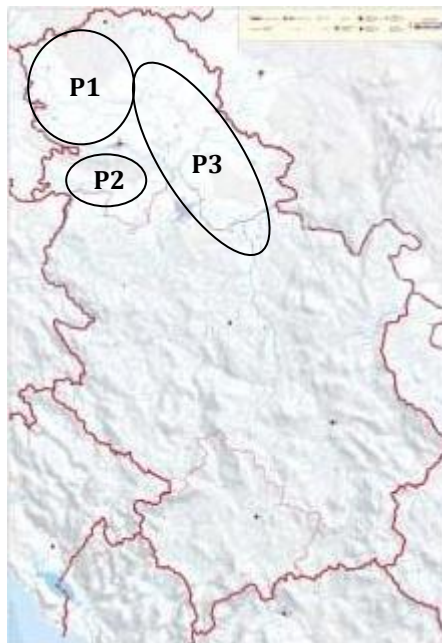
Изолати гљиве пореклом са различитих локалитета су гајени на PDA подлози у трајању од 21 дан. За анализе је узет узорак колоније са кога је вишак подлоге уклоњен лабораторијском шпатулом. Свеж узорак је потом уситњен у авану уз додавање течног азота и чуван на температури од  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  до тренутка изолације геномске ДНК.

Изолација ДНК гљиве је рађена према протоколу Permigeat *et al.* (1998). У епрувету је одмерена маса узорка од 70 mg и додат је 1 ml екстракционог

пуфера. Добијена смеша је хомогенизована употребом вортекса и пребачена у водено купатило претходно загрејано на температуру од 60 °C у трајању од 60 min уз повремено благо мућкање. По вађењу из воденог купатила, додато је 0,7 ml хлороформа и благо мућкано инверзијом до појаве емулзије. Смеша је потом центрифугирана 10 min при 10 000 rpm и на константној температури од 4 °C. Након центрифугирања, 0,7 ml водене фазе је сеченим наставцима за пипету пребачено у нову епрувету уз додатак 0,56 ml изопропанола температуре 4 °C.

Након одвајања супернатанта талог је растворен у концентрованом ТЕ пуферу. ДНК је таложена употребом 20  $\mu$ l  $\text{CH}_3\text{COONa}$  и 400 ml 100% етанола. Таложење је трајало 60 min на температури од -20 °C, након чега следило центрифугирање 10 min на 10 000 rpm. После одвајања супернатанта, талог се сушио 15 min на собној температури и потом је растворен у разблаженом ТЕ пуферу, чија запремина зависи од количине изоловане ДНК.

Квалитет и квантитет изоловане ДНК је одређен спектрофотометријски мерењем апсорбанце на таласним дужинама од 260, 280 и 230 nm, а одређени су и односи апсорбанци  $A_{260/280}$ , односно  $A_{260/230}$ .



Слика 8. Региони у којима су прикупљани узорци стабла сунцокрета са симптомима црне пегавости означени као P1, P2 и P3

(<http://www.intersistem.rs/>)

Смеша за PCR реакцију коначне запремине 25  $\mu$ l је садржавала 1xTaq пуфер, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM dNTPs, 2,5  $\mu$ g BSA, 0,2  $\mu$ M прајмера, 1 јединицу Taq полимеразе и око 25 ng изоловане ДНК (Dimitrijević *et al.*, 2013). Секвенце прајмера су представљене у Табели 15.

Табела 15 Прајмери коришћени за RAPD анализу

<b>Назив прајмера Секвенца (5'-3')</b>	
ОРЕ-04	GTGACATGCC
ОРЕ-07	AGATGCAGCC
ОРЕ-12	TTATCGCCCC
ОРQ-05	CCGCGTCTTG
ОРТ-05	GGGTTTGGCA
ОРТ-06	CAAGGGCAGA
ОРТ-16	GGTGAACGCT
ОРW-06	AGGCCCGATG

Умножавање фрагмената ДНК урађено је у складу са екперименталном процедуром Nagl *et al.* (2011): денатурација на 94 °C 4 min, затим 40 циклуса на 94 °C 2 min, 36 °C 1 min и 72 °C 2 min, и на крају елонгација на 72 °C у трајању од 10 min.

Визуализација гелова је урађена под UV светлом кориштењем BIO-print система (Vilber Lourmat, Marne-La-Vallée, France).

#### 4.14. Обрада података

Статистичка обрада и графички прикази података добијених у истраживањима су урађени употребом софтверског пакета Statistica 12 и Genstat 10. Део графичког приказа резултата истраживања је урађен помоћу програма Excel.

Анализа података појаве и интензитета црне пегавости и интеракције генотипа и средине, урађена је према Madden *et al.* (2007).



Подаци добијени RAPD анализом, анализирани су помоћу неколико софтверских пакета. Дужина фрагмената је одређена помоћу Biosart V.97 програма (Vilber Lourmat). Информативност појединачних маркера је одређена рачунањем „polimorphism information content“ (PIC)(Nagy *et al.*, 2012). Број и проценат полиморфних локуса, Шенонов индекс, AMOVA, ефективни број алела и очекивана хетерозиготност су израчунати помоћу софтвера GenAlEx (Peakall *et Smouse*, 2006; Peakall *et Smouse*, 2012). За груписање изолата UPGMA методом, израчунавање Jaccard-овог индекса и bootstrap вредности коришћен је софтвер Free Tree (Pavlicek *et al.*, 1999). Генетски диверзитет група изолата, генетски диверзитет изолата у односу на популацију и генетска диференцијација су одређени софтвером POPGENE (Yeh *et al.*, 1997). Компјутерски програм TreeView је коришћен за визуални приказ дендрограма (Page, 1996).

## 5. Радна хипотеза

Црна пегавост стабла сунцокрета је учестала болест сунцокрета, која првенствено у зависности од климатских услова испољава негативан утицај на његов принос. Интеракција патогена и биљке домаћина испољава се у присуству или одсуству симптома болести (вертикална отпорност) и у појави симптома различитог интензитета (хоризонтална отпорност). Резултати низа истраживања којима се доказује постојање оваквог односа у различитим системима патоген-домаћин су били основ за постављање хипотезе о постојању разлика у осетљивости генотипова сунцокрета према црној пегавости стабла сунцокрета чији је проузроковач патогена гљива *Phoma macdonaldii* Boerema. Генотипови са особином отпорности према овој болести потенцијално постоје код линија и хибрида који су део оплемењивчких програма или су у оквиру популација дивљих врста из рода *Helianthus* које представљају незаобилазан извор гена за отпорност према низу болести. Особина различитог степена осетљивости квантификована је одређивањем количине живих хифа гљиве у ткиву домаћина помоћу ергостерола. Поред утицаја генотипа, на појаву и развој биљних болести утиче низ фактора од којих део чине различите агротехничке мере. Технологија гајења сунцокрета заједно са особинама генотипа у погледу интеракције са патогеном чини средину у којој долази до појаве болести. Постојање и квантификација утицаја агротехничких мера ђубрења, времена сетве и густине сетве је чинила део истраживања. Просторне и временске варијације болести су праћене у четворогодишњем периоду са циљем утврђивања појаве и интензитета црне пегавости стабла сунцокрета у подручјима у којима се ова култура гаји.

У датим подручјима су прикупљане биљке са симптомима болести са којих је изолован патоген ради провере хипотезе о варијабилности изолата гљиве, првенствено у погледу агресивности према сунцокрету, затим развоја на храњивим подлогама и продукцији репродуктивних творевина, преношења семеном и начина презимљавања. Посебан део истраживања је посвећен

провери хипотезе о постојању генетске варијабилности патогена употребом молекуларних маркера.

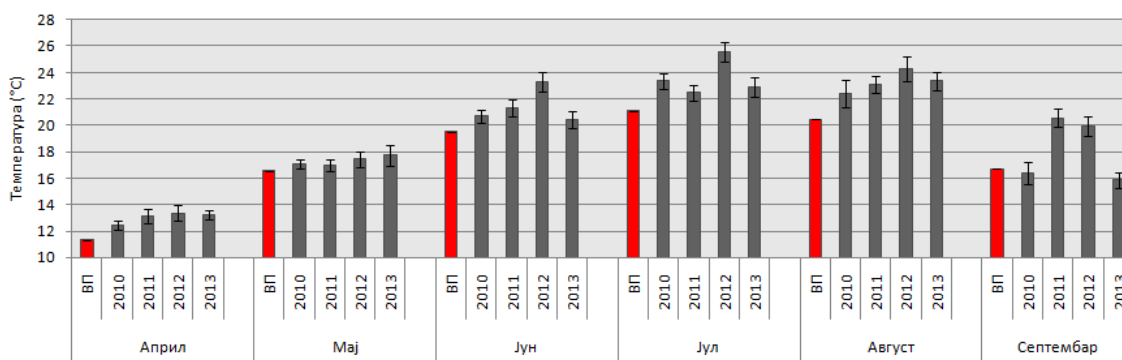
Патогени поседују различите захтеве у погледу хранљивих материја и услова у којим се развијају и успешно расту. У циљу одређивања ових захтева, *P. macdonaldii* је гајена на различитим хранљивим подлогама и подлогама у којима су мењана једињења угљеника и азота. Заједно са одређивањем степена раста и развоја патогена у различитим условима гајења, утврђени су оптимални услови за раст и развој гљиве.

Интеракција патогена и биљке домаћина доводи до низа физиолошких промена. Једна од манифестација ове појаве је и промена у садржају фенолних једињења. Промене се дешавају у концентрацији одређених једињења у одређеним ткивима биљке. Досадашња истраживања су потврдила постојање значајних разлика између осетљивих и отпорних генотипова, код више система патоген-домаћин у погледу промена у метаболизму. У овој тези је проверена хипотеза о променама у концентрацији више фенолних једињења након почетка патогеног процеса у односу на здраве биљке и разлике између осетљивих и генотипова са високим степеном отпорности.

## 6. Резултати истраживања

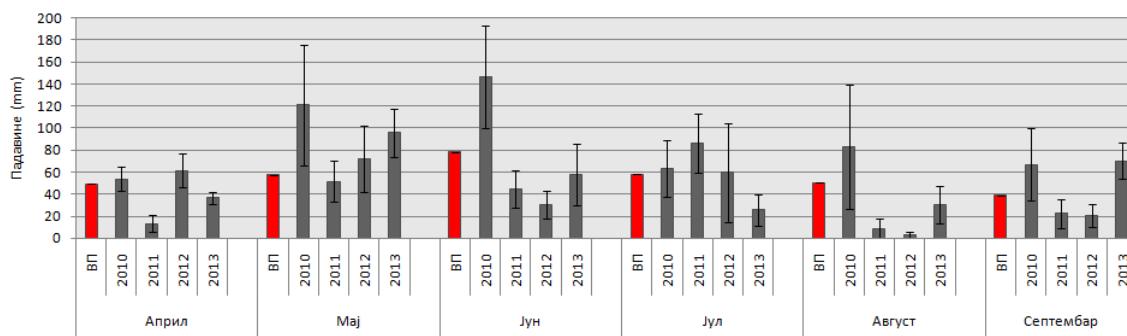
### 6.1. Метеоролошки подаци

Експерименти у пољским условима су извођени у периоду од 2010. до 2013. године, уз додатак једног експеримента у условима наводњавања у 2014. години. Температурни режим изражен средњим месечним температурама у овом периоду карактерише се значајно вишим вредностима у односу на вишегодишњи просек (Графикон 4). Овај тренд је био изражен у летњим месецима где је просечна месечна температура за поједине месеце прелазила 24 °С. Изузетак је био септембар 2010. и 2013. године са просечном месечном температуром нижом од вишегодишњег просека.



Графикон 4. Просечне месечне температуре у 2010., 2011., 2012., и 2013. години у поређењу са вишегодишњим просеком у раздобљу 1961.-1990. године (ВП). Просек у једној години представља аритметичку средину средњих дневних температура мерених на локалитетима Сомбор, Палић, Кикинда, Зрењанин, Римски Шанчеви, Неготин, Сента, Сремска Митровица, Вршац и Зајечар

У односу на температурни режим, распоред и суме месечних падавина значајно варирају у поређењу са просечним вредностима. У 2010. године забележена је већа месечна сума падавина у свим месецима током вегетационог периода (Графикон 5). У следеће три године, током више месеци, бележени су периоди изражени дефицитом падавина, нарочито у 2011. и 2012. години. Од подручја са најдужим периодима сушног времена истиче се Неготин.



Графикон 5. Просечна месечна количина падавина у 2010., 2011., 2012., и 2013. години у поређењу са вишегодишњим просеком у раздобљу 1961.-1990. године (ВП). Просек у једној години представља средину укупне месечне количине падавина мерене на локалитетима Сомбор, Палић, Кикинда, Зрењанин, Римски шанчеви, Неготин, Сента, Сремска Митровица, Вршац и Зајечар

## 6.2. Резултати тестирања генотипова сунцокрета

Резултати тестирања обухватају хибриде, инбред линије сунцокрета и популације дивљих врста рода *Helianthus*, а исход су вишегодишњих експеримената у пољским и контролисаним условима.

### 6.2.1. Резултати тестирања хибрида сунцокрета

У првој години тестирања хибрида методом вештачке инокулације мицелијом патогена, анализом варијансе је утврђено постојање значајних разлика између хибрида у просечној дужини некрозе на стаблу. Код хибрида гајених у условима сувог ратарења и наводњавања није било разлике при поређењу дужине некрозе на стаблу. (Табела 16).

Статистички значајне разлике су утврђене за посматрани параметар при поређењу између година (Табела 17).

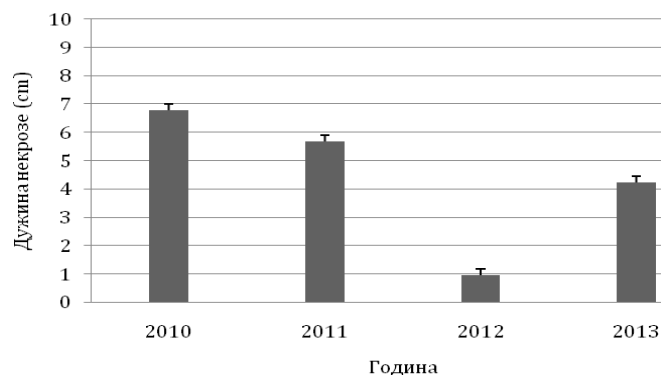
Највећа просечна дужина некрозе на стаблу је забележена 2010. године, а најмања вредност 2013. године. Годишњи просеци дужине некрозе статистички су се разликовали између свих година трајања експеримента (Графикон 6).

Табела 16. Анализа варијансе резултата пољског експеримента тестирања хибрида сунцокрета на отпорност према црној пегавости сунцокрета у условима наводњавања и сувог ратарења у 2010. години

Извор варијације	d.f.	s.s.	m.s.	F	p
Хибрид	29	1791,35	61,77	3,25	<0,001
Наводњавање	1	45,11	45,11	2,37	0,124
Хибрид x Наводњавање	29	2726,07	94,00	4,95	<0,001
Погрешка	1509	28671,19	19,00		

Табела 17. Анализа варијансе резултата пољског експеримента тестирања хибрида сунцокрета на отпорност према црној пегавости сунцокрета у условима наводњавања у периоду 2010-2013 године

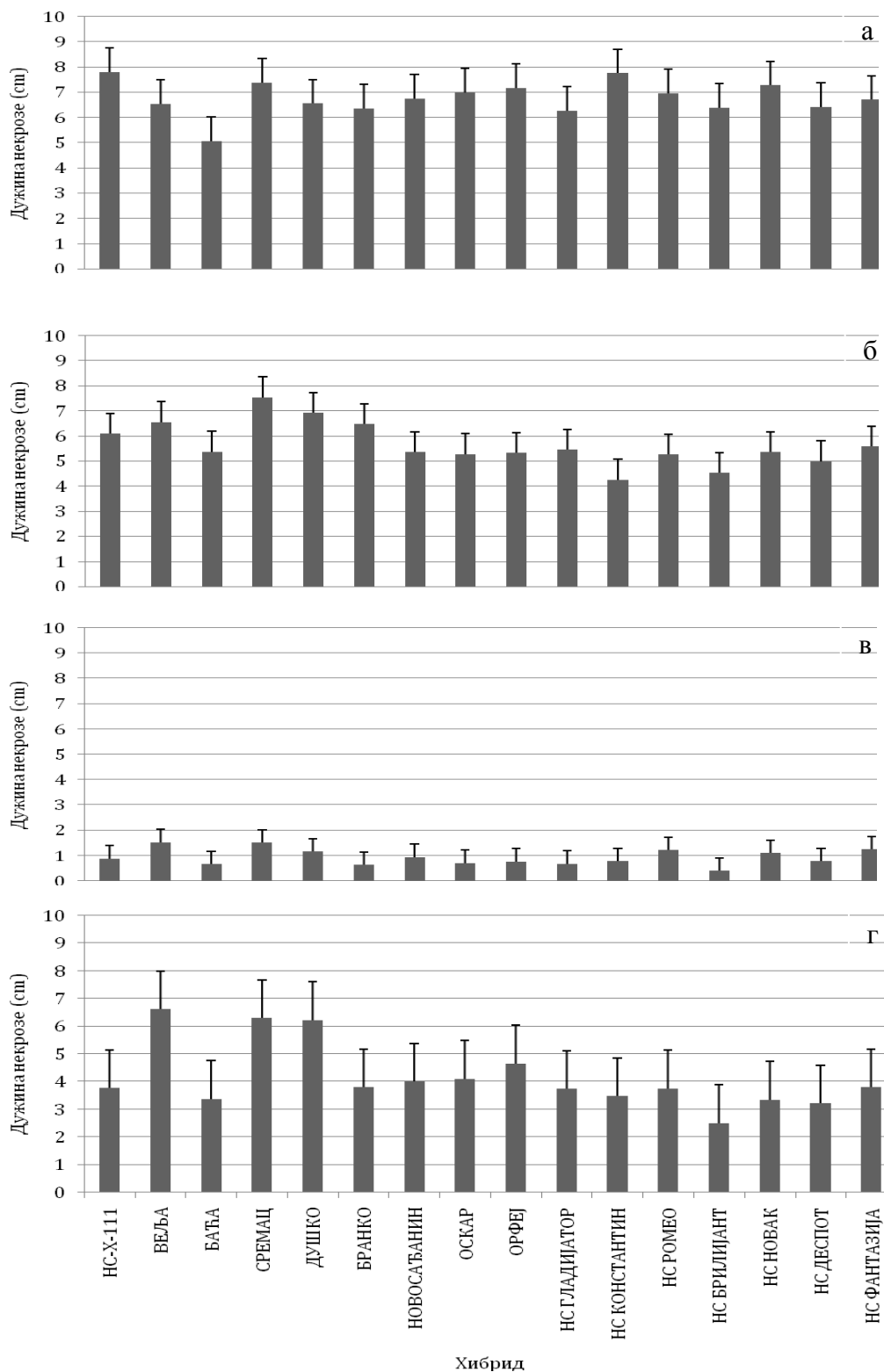
Извор варијације	d.f.	s.s.	m.s.	F	p
Година	3	7297,87	2432,62	1111,67	<0,001
Хибрид	15	489,59	32,64	14,91	<0,001
Година x Хибрид	45	466,23	10,36	4,73	<0,001
Погрешка	1317	2881,94	2,19		



Графикон 6. Просечна дужина некрозе на стаблу по годинама

Резултати након прве године тестирања показали су постојање статистички значајних разлика између хибрида Баћа који је имао најмању просечну дужину некрозе на стаблу и осталих тестираних хибрида (Графикон 7а). Хибрид са највећом просечном дужином пеге је био НС-Х-111. Статистички значајне разлике су утврђене у другој години тестирања између групе хибрида НС Константин, НС Брилијант и НС Деспот у поређењу са хибридима НС-Х-111, Веља, Сремац, Душко и Бранко (Графикон 7б). Наредне године је услед ниских вредности дужине некрозе на стаблу, забележено одсуство статистички значајних разлика за највећи број поређења. Најмања просечна вредност је забележена код хибрида НС Брилијант и није се статистички разликовала од вредности за хибриде НС-Х-111, Баћа, Бранко, НС Константин и НС Деспот (Графикон 7в). Последње године тестирања просечне мерене вредности симптома црне пегавост стабла су биле најмање код хибрида НС Брилијант, а највеће код групе хибрида Веља, Сремац и Душко (Графикон 7г).

У току четири године трајања експеримента, нису забележене статистички значајне разлике поређењем просечних дужина некрозе стабла сунцокрета за већину посматраних хибрида.



Графикон 7. Просечна дужина некрозе на стаблу хибрида сунцокрета након вештачке инокулације гљивом *Phoma macdonaldii* у 2010. (а), 2011. (б), 2012. (в) и 2013. (г) години. Вертикални борови представљају НЗР вредности на нивоу значајности од 5%



### 6.2.2. Резултати тестирања инбред линија сунцокрета

Генотипови сунцокрета су у пољским условима тестирани употребом метода вештачке инокулације мицелијом на локалитетима Римски шанчеви и Зрењанин. У огледу на површини без наводњавања болест је забележена на 94,1% и 73,2% биљака у 2010. и 99,9% и 82,9% у 2011. години. Просечна дужина некрозе на стаблу у 2010. је износила 7,7 cm, а у 2011. години 5,1 cm. Процент биљака са симптомима болести, гајених на површини са наводњавањем износио је у 2010. 95,16%, а у 2011. 98,69% са просечном дужином некрозе на стаблу од 7,72 cm и 6,11 cm.

Анализом варијансе огледа постављених на локалитету Римски шанчеви у условима наводњавања и сувог ратарења утврђено је постојање значајних разлика између година и генотипова (Табела 18). Статистички значајна разлика није утврђена за услове наводњавања, док су интеракције између наведених фактора биле статистички значајне.

Табела 18. Анализа варијансе AUDPS вредности дужине некрозе на стаблу линија сунцокрета гајених у условима наводњавања и сувог ратарења у 2010. и 2011. години на локалитету Римски шанчеви

Извори варијације	Сума квадрата	Средина квадрата	Степени слободе	F	p
Понављање	4 265	2 133	2	1,71	
Година	669 552	669 552	1	537,14	< 0,01
Наводњавање	45	45	1	0,04	0,85
Линија	547092	7 929	69	6,36	< 0,01
Година x наводњавање	72 486	72 486	1	58,15	< 0,01
Година x линија	276 402	4 006	69	3,21	< 0,01
Наводњавање x линија	219 535	3 182	69	2,55	< 0,01
Погрешка	695 552	1 247	558		

Анализом варијансе мерења симптома болести на локалитетима Римски шанчеви и Зрењанин утврђено је постојање значајних разлика на нивоу фактора и интеракција између фактора (Табела 19). Због значајности разлика огледи изведени у 2010. и 2011. су анализирани посебно.

Табела 19. Анализа варијансе AUDPS вредности дужине некрозе на стаблу линија сунцокрета гајених у условима сувог ратарења у 2010. и 2011. години на локалитетима Зрењанин и Римски шанчеви

Извори варијације	Сума квадрата	Средина квадрата	Степени слободе	F	p
Понављање	3 704,8	1 852,4	2	2,20	
Година	628 347,2	628 347,2	1	744,57	< 0,01
Локалитет	523 968,1	523 968,1	1	620,89	< 0,01
Линија	416 627,7	6 038,1	69	7,15	< 0,01
Година x локалитет	86 912,7	86 912,7	1	102,99	< 0,01
Година x линија	219 712,4	3 184,2	69	3,21	< 0,01
Локалитет x линија	221 836,0	3 215,0	69	3,81	< 0,01
Погрешка	470 897,7	843,9	558		

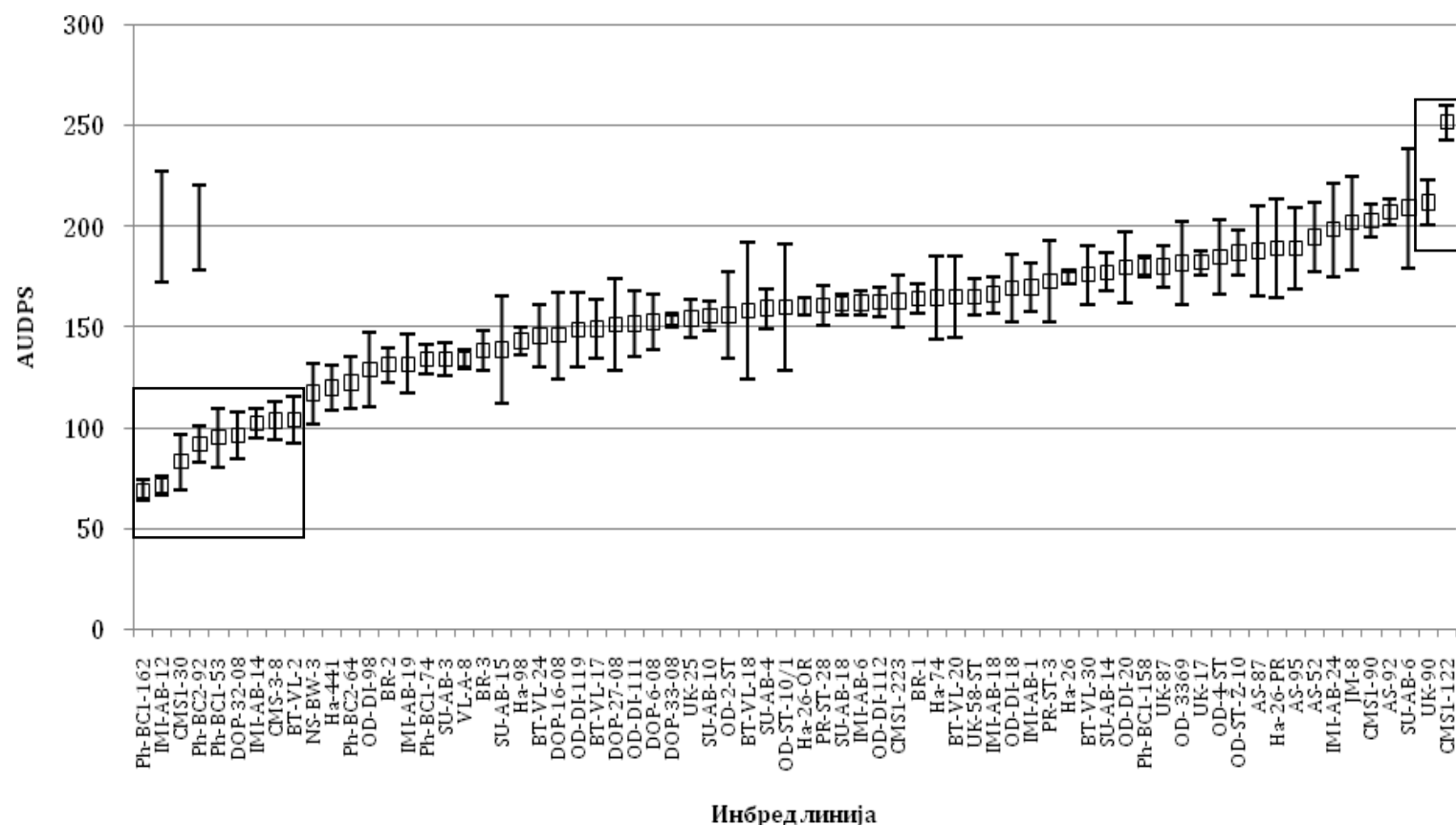
У првој години истраживања у огледу, у условима наводњавања, најмању AUDPS вредност је имала линија РН-ВC1-162, а највећу линија СМС1-122 (Графикон 8). Површина испод криве прогресије болести код линије РН-ВC1-162 није се статистички значајно разликовала у поређењу са просечном површином осам линија. Просечне AUDPS код осталих линија су се кретале у распону од 117,1 до 211,9 и све су се значајно разликовале у односу на израчунати параметар код линије СМС1-122.

Просечна AUDPS вредност код свих линија гајених у условима сувог ратарења је била већа у односу на просек линија гајених у условима наводњавања. У овом експерименту, најмања AUDPS вредност је забележена код линије DOP-33-08, а највећа код линије СМС1-122 (Графикон 9). Група од петнаест линија је имала AUDPS вредности без статистички значајне разлике у односу на линију DOP-33-08. Насупрот овом, просечна AUDPS девет линија се

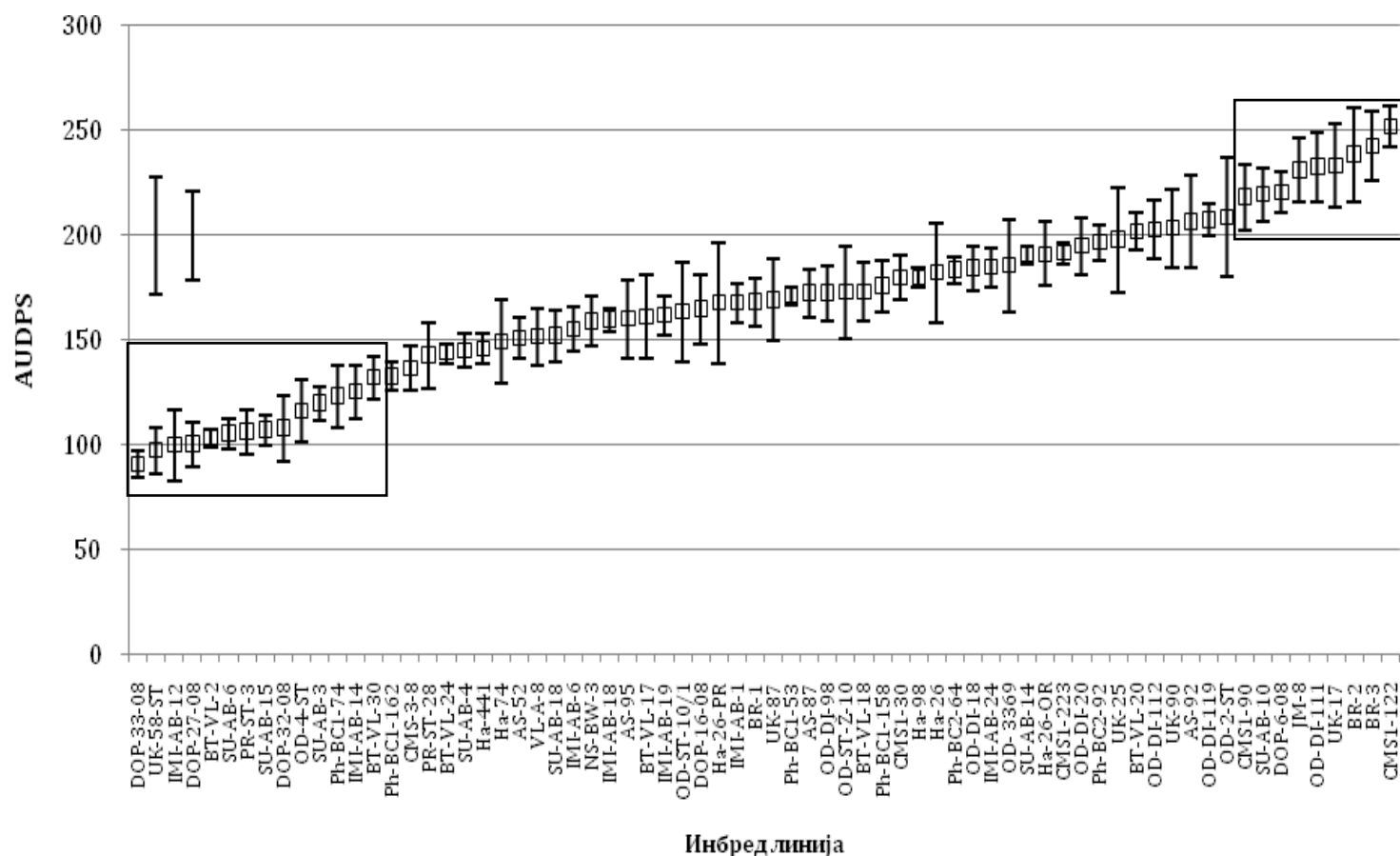
није статистички значајно разликовала у односу на линију CMS1-122. У оба претходно наведена експеримента, највећа просечна AUDPS вредност је прелазила 250. На локалитету Зрењанин ова вредност није прешла број 200. У односу на локалитет Римски шанчеви напредовање болести је било значајно мање. Код линија OD-DI-112 и OD-DI-119 није дошло до развоја болести због неуспешне инокулације (Графикон 10). Поређењем AUDPS просека једанаест линија је имало ниске, а четири линије су биле у групи са високим просечним површинама.

У 2011. години просечне вредности AUDPS су код експеримента у условима наводњавања, слично као и у 2010. години, достигле вредност од 250. Поређењем просека AUDPS издвојила се група од десет линија ниских просечних површина и група од две линије високе просечне површине (Графикон 11). Код експеримената изведених у условима сувог ратарења су забележене статистички значајно мање вредности AUDPS. Разлика је нарочито била изражена у поређењу са вредностима забележеним на локалитету Зрењанин. На локалитету Римски шанчеви највећу вредност AUDPS је имала линија CMS1-90 и статистички је значајно била различита у односу на просечне површине осталих линија (Графикон 12). Четири пута мању просечну вредност AUDPS и у овом експерименту је имала линија AS-95 која се статистички није разликовала у односу на просеке осамнаест линија. Прогрес болести је као и 2010. године, био најспорији код линија гајених на локалитету Зрењанин. Просечно релативно смањење је износило 19,3%. Поређењем вредности AUDPS линија са овим параметром код линије UK-25 формирана је група од 24 линије. Десет линија је сачињавало групу са високим вредностима AUDPS (Графикон 13).

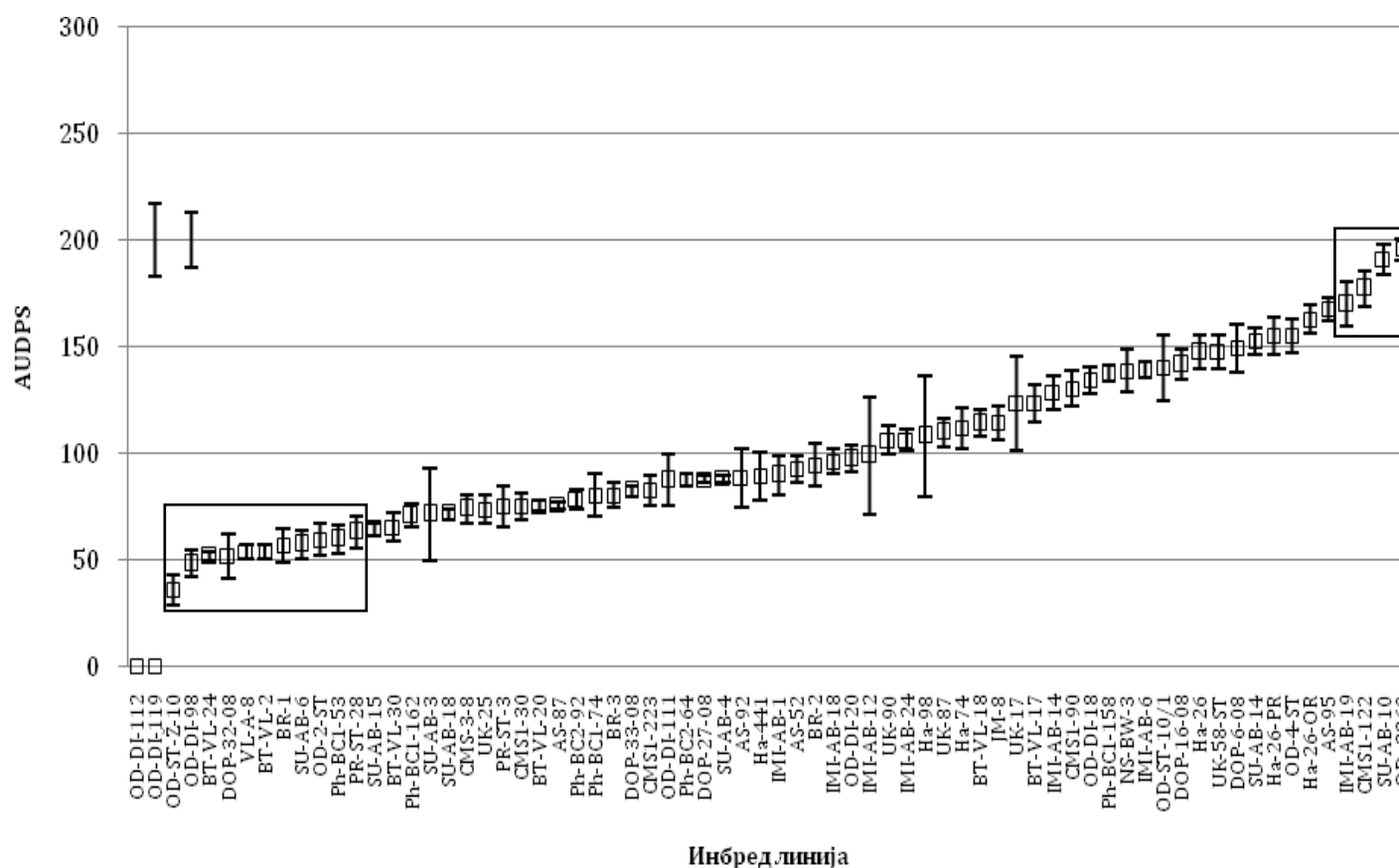
Инбред линије су у току 2010. и 2011. године, испољиле значајну варијабилност изражену путем вредности AUDPS. Линије које су имале ниске вредности у једној години и/или локалитету су испољавале различиту реакцију на другом локалитету. Варирање вредности AUDPS, исказано стандардном грешком, је код појединих линија било нарочито изражено (Графикони 8-13).



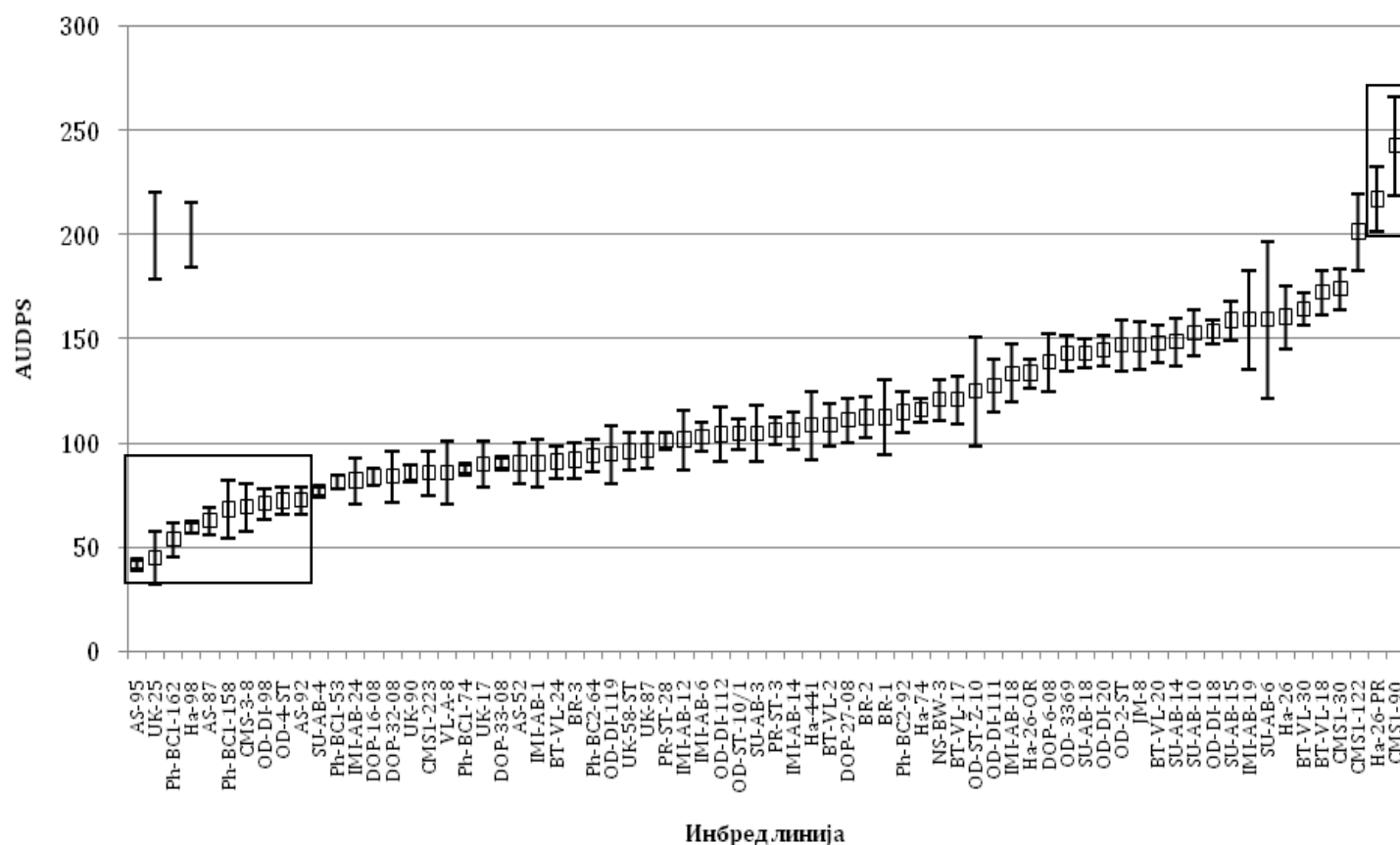
Графикон 8. Просечне AUDPS вредности дужине некрозе на стаблу биљака 70 инбред линија сунцокрета инокулисаних мицелијом гљиве *P. macdonaldii* на локалитету Римски шанчеви у условима наводњавања 2010. године. Квадратима су представљене средње вредности, а вертикални барови представљају стандардну грешку аритметичке средине. У уоквиреним пољима се налазе генотипови код којих не постоји статистички значајна разлика на нивоу значајности од 5% у односу на генотип са најмањим вредностима AUDPS (лево) и највећим вредностима AUDPS (десно). У горњем левом углу се налазе НЗР вредности за ниво значајности од 1% и 5%



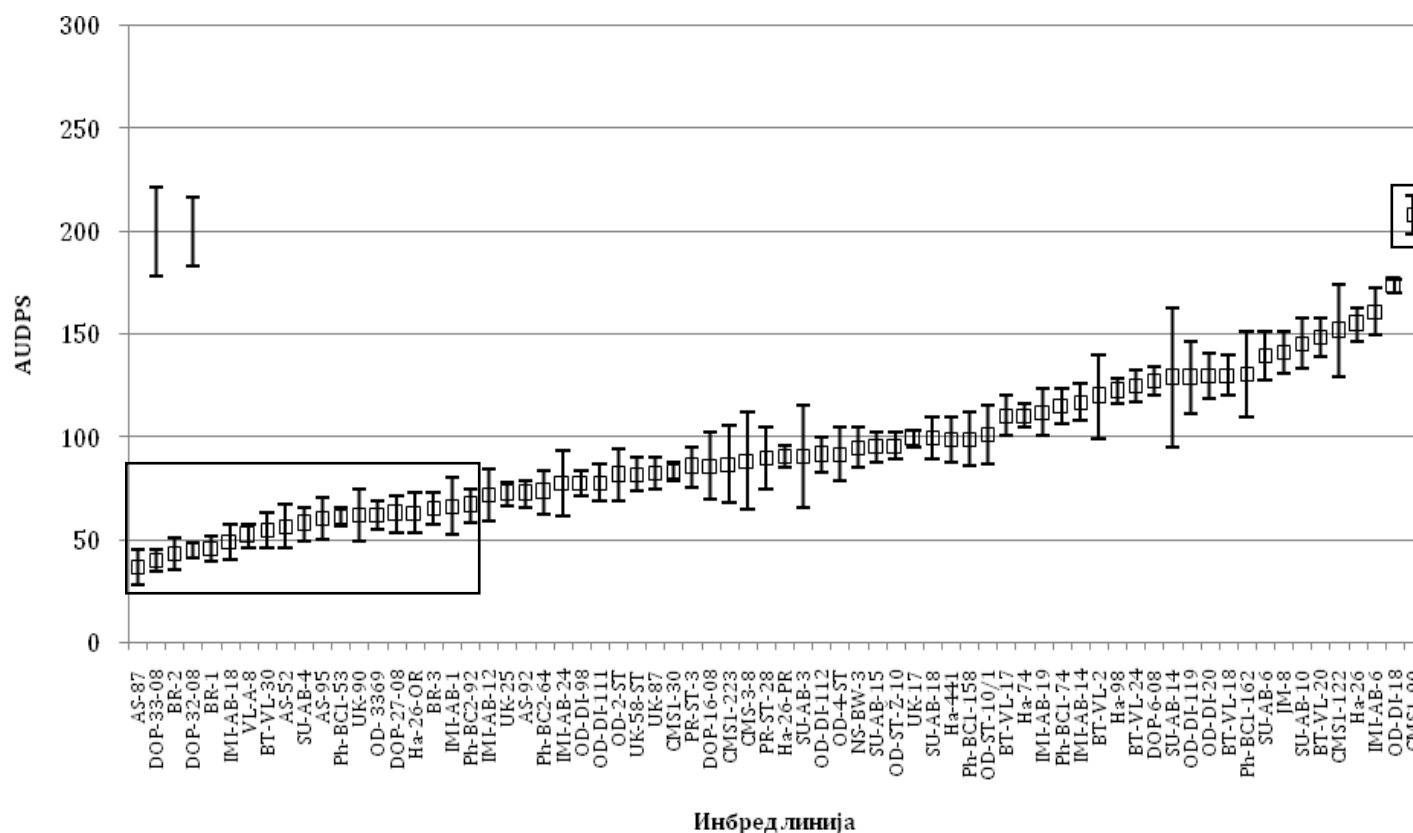
Графикон 9. Просечне AUDPS вредности мерења дужине некрозе на стаблу биљака 70 инбред линија сунцокрета инокулисаних мицелијом гљиве *P. macdonaldii* на локалитету Римски шанчеви у условима сувог ратарења 2010. године. Квадратима су представљене средње вредности, а вертикални барови представљају стандардну грешку аритметичке средине. У уоквиреним пољима се налазе генотипови код којих не постоји статистички значајна разлика на нивоу значајности од 5% у односу на генотип са најмањим вредностима AUDPS (лево) и највећим вредностима AUDPS (десно). У горњем левом углу се налазе НЗР вредности за ниво значајности од 1% и 5%



Графикон 10. Просечне AUDPS вредности мерења дужине некрозе на стаблу биљака 70 инбред линија сунцокрета инокулисаних мицелијом гљиве *P. macdonaldii* на локалитету Зрењанин у условима сувог ратарења 2010. године. Квадратима су представљене средње вредности, а вертикални барови представљају стандардну грешку аритметичке средине. У уоквиреним пољима се налазе генотипови код којих не постоји статистички значајна разлика на нивоу значајности од 5% у односу на генотип са најмањим вредностима AUDPS (лево) и највећим вредностима AUDPS (десно). У горњем левом углу се налазе НЗР вредности за ниво значајности од 1% и 5%

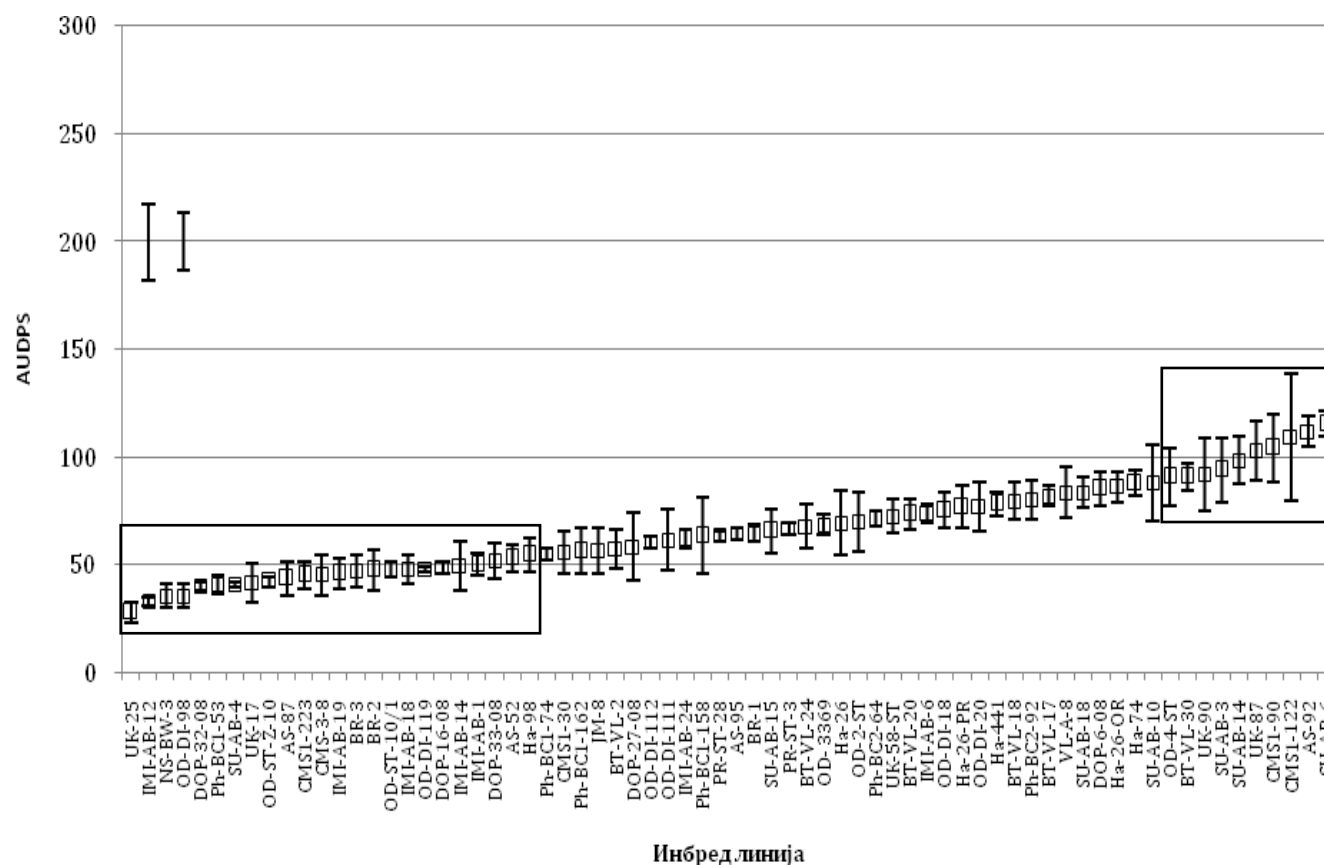


Графикон 11. Просечне AUDPS вредности мерења дужине некрозе на стаблу биљака 70 инбред линија сунцокрета инокулисаних мицелијом гљиве *P. macdonaldii* на локалитету Римски Шшанчеви у условима наводњавања 2011. године. Квадратима су представљене средње вредности, а вертикални барови представљају стандардну грешку аритметичке средине. У уоквиреним пољима се налазе генотипови код којих не постоји статистички значајна разлика на нивоу значајности од 5% у односу на генотип са најмањим вредностима AUDPS (лево) и највећим вредностима AUDPS (десно). У горњем левом углу се налазе НЗР вредности за ниво значајности од 1% и 5%



Графикон 12. Просечне AUDPS вредности мерења дужине некрозе на стаблу биљака 70 инбред линија сунцокрета инокулисаних мицелијом гљиве *P. macdonaldii* на локалитету Римски шанчеви у условима сувог ратарења 2011. године. Квадратима су представљене средње вредности, а вертикални барови представљају стандардну грешку аритметичке средине. У уоквиреним пољима се налазе генотипови код којих не постоји статистички значајна разлика на нивоу значајности од 5% у односу на генотип са најмањим вредностима AUDPS (лево) и највећим вредностима AUDPS (десно). У горњем левом углу се налазе НЗР вредности за ниво значајности од 1% и 5%





Графикон 13. Просечне AUDPS вредности мерења дужине некрозе на стаблу биљака 70 инбред линија сунцокрета инокулисаних мицелијом гљиве *P. macdonaldii* на локалитету Зрењанин у условима сувог ратарења 2011. године. Квадратима су представљене средње вредности, а вертикални барови представљају стандардну грешку аритметичке средине. У уоквиреним пољима се налазе генотипови код којих не постоји статистички значајна разлика на нивоу значајности од 5% у односу на генотип са најмањим вредностима AUDPS (лево) и највећим вредностима AUDPS (десно). У горњем левом углу се налазе НЗР вредности за ниво значајности од 1% и 5%

Упркос утврђеном високом степену варијабилности, инбред линија DOP-32-08 је у свим огледима у 2010. и 2011. години испољила уједначену реакцију према црној пегавости стабла. Ова линија је испољила висок степен отпорности. Насупрот томе, инбред линија CMS1-122 је конзистентно испољавала висок степен осетљивости у поређењу са осталим тестираним линијама. На основу значајности разлика просека вредности AUDPS између ове две и осталих линија, извршено је груписање. Број линија у ове две групе је представљен у табели 20. Овај број је у првој групи достигао вредност од 43, али је код већине огледа имао вредност од 21 до 25. Знатно мање линија је имало изразито високе вредности AUDPS. Овај број је нарочито био низак код огледа изведених у условима наводњавања.

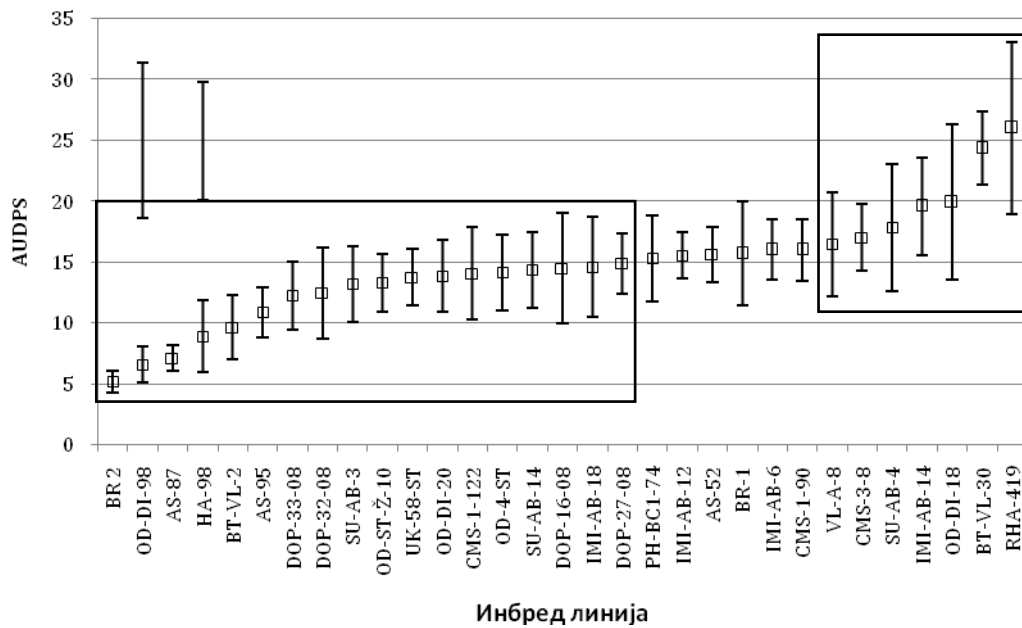
Табела 20. Број инбред линија чије се просечне вредности AUDPS нису статистички значајно разликовале у односу на вредност AUDPS линија DOP-32-08 и CMS1-122 у 2010. и 2011. години на локалитетима Римски Шанчеви и Зрењанин, гајених у условима наводњавања и сувог ратарења

Година	Локалитет	Наводњавање	Инбред линија	
			DOP-32-08	CMS1-122
2010.	Римски шанчеви	да	25	3
2010.	Римски шанчеви	не	21	9
2010.	Зрењанин	не	22	9
2011.	Римски шанчеви	да	43	5
2011.	Римски шанчеви	не	25	18
2011.	Зрењанин	не	40	17

На највећем броју локалитета статистичка разлика у просечној вредности AUDPS није утврђена између линије DOP-32-08 и линија PH-BC1-162, PH-BC1-53, IMI-AB-12, CMS-3-8, BT-VL-2, DOP-33-08, BT-VL-24 и OD-DI-98.

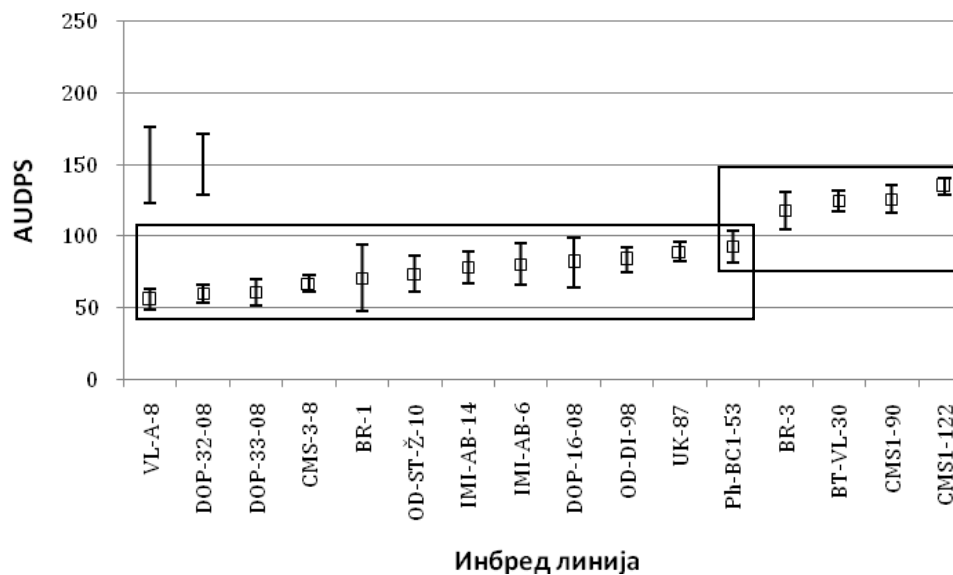
У 2012. години, није утврђена значајна разлика између просечних вредности AUDPS за линије гајене у условима наводњавања и сувог ратарења ( $F=0,9$ ;  $p=0,345$ ). Подаци добијени након извођења ових огледа су анализирани

заједно. Просечне вредности AUDPS у овој години су биле значајно ниже у односу на просеке у другим годинама истраживања (Графикон 14). Просечна дужина некрозе на стаблу је код већине мерења била испод 1 см. Због веома слабог напредовања симптома болести и могуће непрецизности мерења, резултати у овој години су изузети из даље анализе.

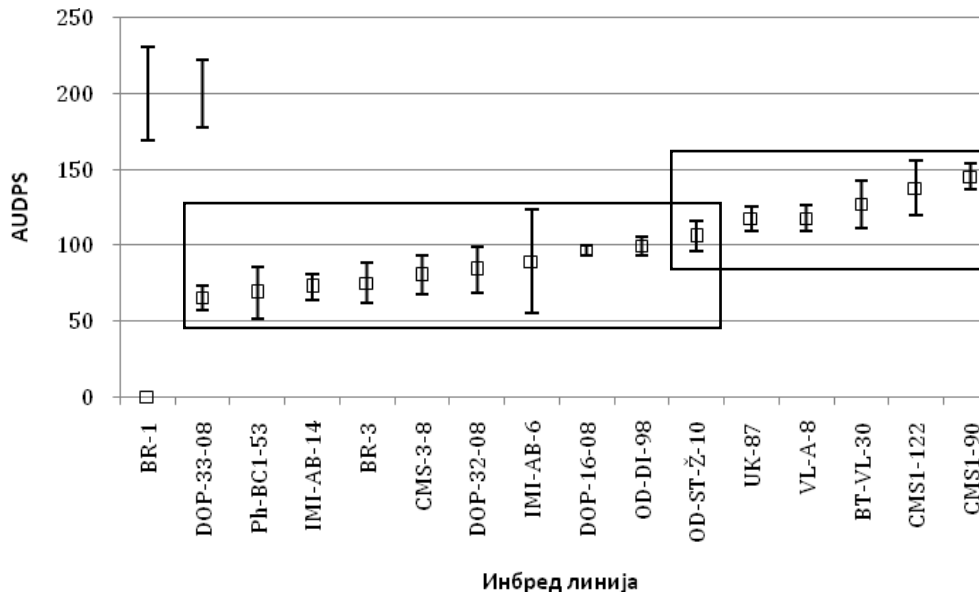


Графикон 14. Просечне вредности AUDPS мерења дужине некрозе на стаблу биљака 31 инбред линије сунцокрета инокулисане мицелијом гљиве *P. macdonaldii* на локалитету Римски шанчеви у условима наводњавања и сувог ратарења 2012. године. Квадратима су представљене средње вредности, а вертикални барови представљају стандардну грешку аритметичке средине. У уоквиреним пољима се налазе генотипови код којих не постоји статистички значајна разлика у односу на генотип са најмањим вредностима AUDPS (лево) и највећим вредностима AUDPS (десно). У горњем левом углу се налазе НЗР вредности за ниво значајности од 1% и 5%

У 2013. и 2014. години, део линија је тестиран у условима наводњавања. Поређењем са резултатима из прве две године истраживања, линије CMS1-122 и CMS1-90 су просечно имале мање вредности AUDPS, али су у односу на већину осталих линија тестираних током последње две године имале значајно веће вредности AUDPS (Графикони 15 и 16). Већина просечних вредности код осталих тестираних линија се није статистички значајно разликовала од просечне вредности AUDPS линије DOP-32-08.



Графикон 15. Просечне AUDPS вредности мерења дужине некрозе на стаблу биљака 16 инбред линија сунцокрета инокулисаних мицелијом гљиве *P. macdonaldii* на локалитету Римски шанчеви 2013. године. Квадратима су представљене средње вредности, а вертикални барови представљају стандардну грешку аритметичке средине. У уоквиреним пољима се налазе генотипови код којих не постоји статистички значајна разлика у односу на генотип са најмањим вредностима AUDPS (лево) и највећим вредностима AUDPS (десно). У горњем левом углу се налазе НЗР вредности за ниво значајности од 1% и 5%



Графикон 16. Просечне вредности AUDPS мерења дужине некрозе на стаблу биљака 16 инбред линија сунцокрета инокулисаних мицелијом гљиве *P. macdonaldii* на локалитету Римски шанчеви 2014. године. Квадратима су представљене средње вредности, а вертикални барови представљају стандардну грешку аритметичке средине. У уоквиреним пољима се налазе генотипови код којих не постоји статистички значајна разлика у односу на генотип са најмањим (лево) и највећим AUDPS (десно). У горњем левом углу се налазе НЗР вредности за ниво значајности од 1% и 5%

### 6.2.3. Резултати тестирања отпорности популација врста рода *Helianthus*

У условима природне инфекције, врсте из рода *Helianthus* су испојиле изражену хетерогеност у погледу појаве болести изражене процентом биљака са симптомима болести у односу на укупан број посматраних биљака (Табела 21).

Табела 21 Појава црне пегавости стабла сунцокрета на врстама рода *Helianthus* у пољским условима у периоду 2010. – 2013. године (%)

Р. Бр.	Врста <sup>1</sup>	Популација	2010.	2011.	2012.	2013.	Просек
1.	ANN	A6	66,7	-	63,2	20,0	49,9
2.	ANN	A7	75,0	-	-	-	75
3.	ANN	A8	0	-	-	0	0
4.	ANN	A10	100	50,0	-	-	75,0
5.	ANN	A12	0	-	0	0	0
6.	ANN	A14	75,0	-	-	-	75,0
7.	ANN	A11	-	14,3	-	0	7,1
8.	ANN	A1	-	50,0	-	-	50,0
9.	ANN	A2	-	100	100	-	100
10.	ANN	A13	-	53,3	-	-	53,3
11.	ANN	A5	-	-	0	-	0
12.	ANN	A9	-	-	0	-	0
13.	ANN	A4	-	-	-	0	0
14.	ANN	2104	33,3	-	100	-	66,7
15.	ANN	2233	66,7	66,7	-	0	44,4
16.	ANN	2188	100	50,0	-	0	50,0
17.	ANN	2003	33,3	-	43,7	-	38,5
18.	ANN	2206	62,5	-	-	-	62,5
19.	ANN	2127	50,0	-	5,9	-	27,9
20.	ANN	2225	80,0	-	-	-	80,0
21.	ANN	2137	50,0	-	-	0	25,0
22.	ANN	2128	57,1	-	0	22,2	26,4
23.	ANN	2141	47,6	-	0	-	23,8
24.	ANN	2199	81,2	-	-	-	81,3
25.	ANN	2102	33,3	-	-	0	16,7
26.	ANN	2220	92,9	-	-	-	92,9
27.	ANN	2180	0	-	0	47,4	15,8
28.	ANN	2168	-	55,0	-	-	55,0
29.	ANN	2144	-	0	-	4,5	2,3
30.	ANN	1450	-	100	-	100	100
31.	ANN	340	-	81,8	0	-	40,9
32.	ANN	1965	-	0	-	-	0
33.	ANN	2138	-	0	-	-	0
34.	ANN	2191	-	21,4	-	0	10,7
35.	ANN	2183	-	100	-	-	100
36.	ANN	2177	-	25,0	-	-	25,0
37.	ANN	2187	-	25,0	-	-	25,0
38.	ANN	2231	-	0	100	0	33,3
39.	ANN	2162	-	60,0	-	-	60,0

Наставак табеле са претходне стране

Р. Бр.	Врста	Популација	2010.	2011.	2012.	2013.	Просек
40.	ANN	2173	-	100	-	-	100
41.	ANN	2129	-	21,7	-	-	21,7
42.	ANN	2210	-	-	0	15,8	7,9
43.	ANN	2038	-	-	0	-	0
44.	ANN	2125	-	-	0	0	0
45.	ANN	1970	-	-	0	0	0
46.	ANN	2166	-	-	0	-	0
47.	ANN	2225	-	-	0	-	0
48.	ANN	1992	-	-	0	-	0
49.	ANN	2229	-	-	-	100	100
50.	ANN	2196	-	-	-	47,4	47,4
51.	ANN	2213	-	-	-	10,5	10,5
52.	ANN	2197	-	-	-	41,2	41,2
53.	ANN	2198	-	-	-	15,4	15,4
54.	ANN	2116	-	-	-	26,3	26,3
55.	ANN	2117	-	-	-	33,3	33,3
56.	ANN	2108	-	-	-	0	0
57.	ANN	1977	-	-	-	0	0
58.	ANN	2140	-	-	-	18,8	18,8
59.	ANN	2216	-	-	-	0	0
60.	ANN	2170	-	-	-	36,8	36,8
61.	ANN	2165	-	-	-	21,1	21,1
62.	ANN	2157	-	-	-	15,8	15,8
63.	ANN	2134	-	-	-	0	0
64.	ANN	2110	-	-	-	100	100
65.	ANN	2202	-	-	-	0	0
66.	ANN	2169	-	-	-	0	0
67.	ANN	2150	-	-	-	5,9	5,9
68.	ANN	2159	-	-	-	66,7	66,7
69.	ANN	1526	-	-	-	23,5	23,5
70.	PRA	1327	80,0	-	-	10,5	45,3
71.	PRA	1340	0	-	-	-	0
72.	PRA	1342	54,5	-	-	-	54,5
73.	PRA	830	66,7	-	-	-	66,7
74.	PRA	1168	20,0	-	0	-	10
75.	PRA	1819	55,6	-	-	-	55,6
76.	PRA	1145	50,0	-	47,1	-	48,5
77.	PRA	1334	20,0	10,0	-	0	10
78.	PRA	1824	0	-	-	-	0
79.	PRA	1330	0	-	100	7,1	35,7
80.	PRA	1295	0	-	-	-	0
81.	PRA	1335	0	0	-	0	0

Наставак табеле са претходне стране

Р. Бр.	Врста	Популација	2010.	2011.	2012.	2013.	Просек
82.	PRA	424	0	-	100	-	50,0
83.	PRA	1142	3,0	-	-	-	3,0
84.	PRA	1801	0	-	-	-	0
85.	PRA	1329	-	0	-	-	0
86.	PRA	1341	-	0	-	-	0
87.	PRA	1333	-	0	-	0	0
88.	PRA	1326	-	-	100	6,7	53,3
89.	PRA	1826	-	-	0	-	0
90.	PRA	1828	-	-	47,4	-	47,4
91.	PRA	1151	-	-	0	-	0
92.	PRA	380	-	-	0	-	0
93.	PRA	1325	-	-	0	-	0
94.	PRA	1328	-	-	-	0	0
95.	PRA	1295	-	-	-	0	0
96.	NEG	1388	50,0	-	100	0	50,0
97.	NEG	1360	40,0	-	0	15,8	18,6
98.	NEG	1181	33,3	-	-	-	33,3
99.	NEG	1356	100	-	-	0	50,0
100.	NEG	457	0	-	-	-	0
101.	NEG	465	-	40,0	-	-	40,0
102.	NEG	1364	-	20,0	-	-	20,0
103.	NEG	1180	-	20,0	-	-	20,0
104.	NEG	460	-	0	-	-	0
105.	NEG	1358	-	20,0	-	-	20,0
106.	NEG	1359	-	0	-	-	0
107.	NEG	1362	-	-	0	-	0
108.	NEG	1361	-	-	0	-	0
109.	NEG	1363	-	-	0	-	0
110.	NEG	1386	-	-	0	-	0
111.	NEG	1086	-	-	-	0	0
112.	DEB	1288	0	100	-	0	33,3
113.	DEB	1136	16,7	-	-	0	8,3
114.	DEB	1134	0	-	-	-	0
115.	DEB	1290	0	0	-	0	0
116.	DEB	1838	0	-	-	16,7	8,3
117.	DEB	1287	0	16,7	-	0	5,6
118.	DEB	1566	0	-	-	-	0
119.	DEB	1206	0	0	-	0	0
120.	DEB	1848	0	-	-	0	0
121.	DEB	1542	0	-	-	-	0
122.	DEB	1810	50,0	-	100	-	75,0
123.	DEB	1675	0	-	-	-	0



Наставак табеле са претходне стране

Р. Бр.	Врста	Популација	2010.	2011.	2012.	2013.	Просек
124.	DEB	SILV	0	-	-	0	0
125.	DEB	1218	-	0	-	25,0	12,5
126.	DEB	1568	-	0	0	0	0
127.	DEB	1569	-	0	-	0	0
128.	DEB	1286	-	16,7	-	0	8,3
129.	DEB	1289	-	58,3	-	-	58,3
130.	DEB	1208	-	0	0	0	0
131.	DEB	1140	-	16,7	-	-	16,7
132.	DEB	1564	-	-	0	-	0
133.	DEB	1675	-	-	0	-	0
134.	DEB	1203	-	-	0	-	0
135.	DEB	1574	-	-	0	-	0
136.	DEB	1572	-	-	100	0	50,0
137.	DEB	367	-	-	-	0	0
138.	DEB	1571	-	-	-	0	0
139.	PET	1383	100	-	60,0	-	80,0
140.	PET	2126	33,3	-	-	-	33,3
141.	PET	2208	42,9	-	-	-	42,9
142.	PET	2164	40,0	-	-	-	40,0
143.	PET	2146	100	-	-	20,0	60,0
144.	PET	2145	50,0	-	-	11,1	30,6
145.	PET	1910	100	-	100	-	100
146.	PET	2163	0	-	-	-	0
147.	PET	2122	0	-	-	0	0
148.	PET	2203	-	78,6	-	-	78,6
149.	PET	1278	-	50,0	-	-	50,0
150.	PET	722	-	21,4	-	-	21,4
151.	PET	2158	-	25,0	-	-	25,0
152.	PET	2167	-	60,0	-	-	60,0
153.	PET	2211	-	40,0	-	-	40,0
154.	PET	2009	-	0	-	-	0
155.	PET	2156	-	50,0	-	-	50,0
156.	PET	2011	-	-	0	-	0
157.	PET	338	-	-	0	-	0
158.	PET	2119	-	-	0	-	0
159.	PET	71	-	-	100	-	100
160.	PET	2004	-	-	35,3	-	35,3
161.	ARG	1812	50,0	-	0	-	25,0
162.	ARG	1575	6,3	16,7	-	-	11,5
163.	ARG	1317	0	8,3	-	-	4,2
164.	ARG	1677	9,1	0	-	-	4,6
165.	ARG	1807	-	0	-	-	0

Наставак табеле са претходне стране

Р. Бр.	Врста	Популација	2010.	2011.	2012.	2013.	Просек
166.	ARG	1805	-	-	100	-	100
167.	ARG	PAR	-	-	-	0	0
168.	NIV	1410	0	-	0	-	0
169.	NIV	1452	0	-	0	-	0
170.	NIV	608	-	0	-	0	0
171.	NIV	1502	-	0	-	-	0
172.	NIV	1487	-	0	0	-	0
173.	NIV	1403	-	0	-	0	0
174.	NIV	1498	-	0	-	-	0
175.	GRR	281	-	-	0	-	0
176.	GRR	279	-	-	0	-	0
177.	GRR	276	-	-	0	-	0
178.	GRR	271	-	-	100	-	100
179.	GRR	169	-	-	47,4	-	47,4
180.	GRR	283	-	-	100	-	100
181.	HIR PR	1342	-	-	-	0	0
<b>Просек</b>			33,5	27,4	28,2	11,9	25,0

<sup>1</sup> ANN – *H. annuus*; PRA – *H. praecox*; NEG – *H. neglectus*; DEB – *H. debilis*; PET – *H. petiolaris*; ARG – *H. argophyllus*; NIV – *H. niveus*; GRR – *H. grosseserratus*; HIR – *H. hirsutus*

Насупрот томе, интензитет болести је у свим годинама посматрања био идентичан. Површина стабла са некрозом код већине биљака није прелазила 10%, што према скали оцене болести, одговара најнижој вредности.

Највећи број анализираних популација припадао је врсти *H. annuus*. Од укупно 69 популација, симптоми болести нису запажени на 19 популација. Појава болести код осталих је варијала од 2,3% до 100%. Процент биљака са симптомима је просечно на нивоу врсте износио 33,5%. Поред међупопулацијске варијабилности разлике су забележене и између година код појединачних популација. Нарочито велика разлика је забележена код популација ANN 2231 и ANN 340.

Врста *H. praecox* је била заступљена укупно са 26 популација од којих на 24 није било са симптомима болести. На нивоу врсте, појава болести је износила 18,5% са минималном вредности од 3% до максималних 66,7%. У поређењу са

популацијама врсте *H. annuus*, није забележена појава болести од 100% код појединачних популација.

Половина од укупно 8 популација врсте *H. neglectus* је била без симптома болести. Код осталих популација, појава болести се кретала од 20 до 40%, а само су 2010. години код NEG 1356 све биљке испољиле симптоме болести. Просечно у току целокупног периода посматрања на нивоу врсте, појава болести је износила 15,7%.

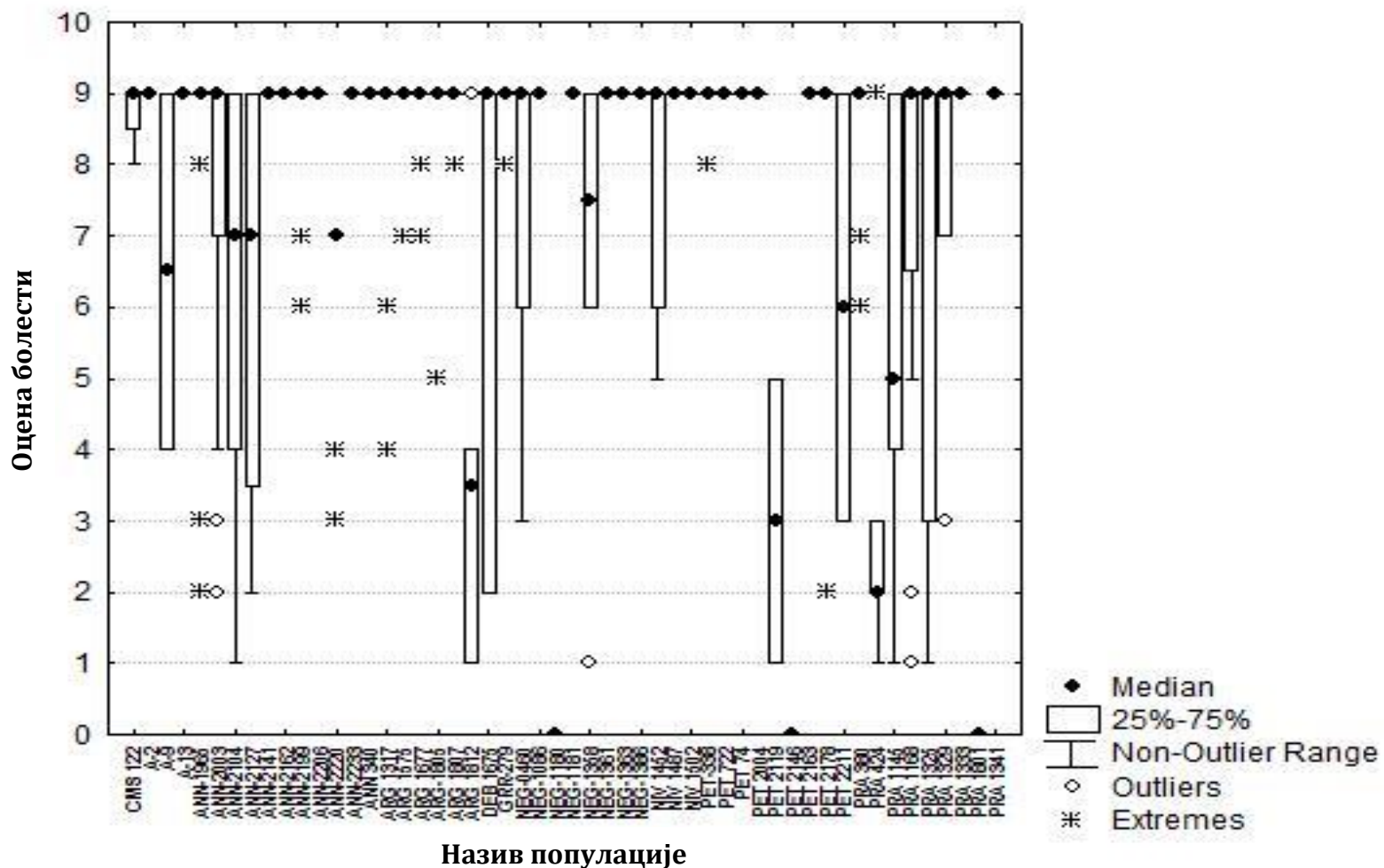
Овај податак за врсту *H. debilis* износи 10,2%. То је последица потпуног одсуства симптома болести код 17 популација и појаве болести ниже од 10% код 6 популација. Само у појединим годинама, код популација DEB 1288, DEB 1810 и DEB 1572 на свим посматраним биљкама, су забележени симптоми болести.

Појава болести код врсте *H. petiolaris* је достигла 38,5% са значајним варирањем између појединачних популација. Највеће вредности су забележене код популација PET 1910 и PET 71, а код 6 популација болест није забележена.

Врсте са најмањим бројем посматраних популација су биле *H. argophyllus*, *H. niveus*, *H. grosseserratus* и *H. hirsutus*. Потпуно одсуство болести је забележено на свих 7 популација врсте *H. niveus* и једној посматраној популацији врсте *H. hirsutus*. Код преостале две врсте појава болести је забележена код појединачних популација у распону од 4,1 до 100%, а потпуно одсуство симптома код 5 од 13 популација.

Од укупно 70 популација, 53 су успешно тестиране у контролисаним условима применом вештачке инокулације суспензијом пикноспора. Резултати тестирања су показали да је највећи део тестираних популација, укупно 43, имао вредност медијане 9. Од овог броја, код 23 популација није забележено значајно одступање од вредности медијане. Код остатка популација са максималном вредности медијане, оцене појединачних биљака су значајно варирале што се огледа у великој интерквartilној разлици и појави екстремних вредности (Графикон 17).

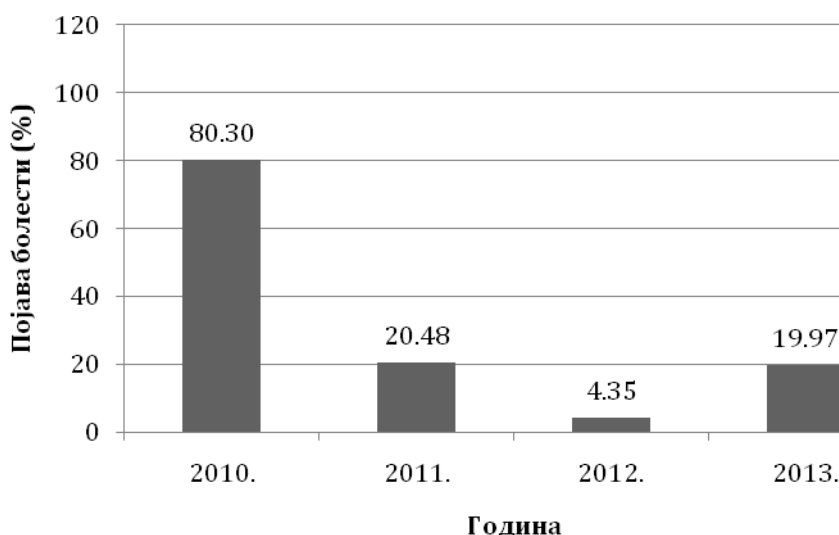
Развој симптома болести није забележен код популација NEG 1180, PET 2146 и PRA 1801, а отпорним су оцењене популације PRA 424, PET 2119 и ARG 1812.



Графикон 17. Резултат тестирања популација једногодишњих врста рода *Helianthus* у контролисаним условима применом методе вештачке инокулације према Rousteaee *et al.* (2000)

### 6.3. Појава црне пегавости стабла у Србији

У периоду од 2010. до 2013. године појава и интензитет болести, праћени на већем броју локалитета у условима природне инфекције, су значајно варирали (Графикон 18). Највећа просечна појава је забележена у првој години истраживања (80,3%), док су у наредној и последњој години истраживања вредности испитиваног параметра биле значајно ниже и сличне (20,48% и 19,97%). Најмања просечна појава болести (4,35%) је забележена у трећој години истраживања. Због значајног варирања у појави болести, прикупљени подаци су анализирани по годинама.



Графикон 18. Појава црне пегавости сунцокрета у четворогодишњем периоду на различитим локалитетима у Србији

Интензитет болести у 2010. години, се разликовао између локалитета. Најмање вредности су забележене на локалитетима Крчедин и Сента. На сваком локалитету разлике у испољавању болести су забележене између хибрида. Најмање просеке ранга су имали хибрид Баћа и НС-Х-111 (Табела 22). Вредности просека ранга код ових хибрида се нису значајно разликовале у односу на вредности за хибриде НС Деспот, НС Фантазија и Душко (Табела 23). Највећу униформност рангова имали су хибриди Баћа и НС Деспот са вредностима коефицијента варијације рангова од 4,7 и 5,9. Коефицијенти

варијације ранга су били највећи код хибрида Бранко, НС Брилијант и НС Гладијатор. Вредности рангова код ових хибрида су биле различите између локалитета. Кендалов коефицијент сагласности је имао вредност 0,35 (Табела 34). Иако вредност коефицијента није висока, израчунате вредности за Т и F су биле значајне ( $P < 0,0001$ ). Значајност ових тестова указује на постојање генералне сагласности у ранговима појединачних хибрида гајених на различитим локалитетима. Спирманов коефицијент корелације ранга између локалитета је имао вредност 0,28. Вредност суме варијанси рангова  $\Psi$  је имала нижу вредност од граничне  $\Psi^*$ , што је наредни доказ о значајном утицају генотипа на интензитет црне пегавости стабла. Иако претходни тестови показују значајност утицаја генотипа на појаву и интензитет болести, ниске вредности Кендаловог коефицијента указују на постојање ефекта средине у којој се генотип гаји. Утицај средине је израчунат на основу контраста. Израчунате вредности контраста између локалитета и њихови рангови су изражено варирали у оквиру колона (Табела 24). Средине рангова контраста су са изузетком хибрида НС-Х-111, Баћа и Бранко имале сличне вредности. Вредности варијанси рангова контраста су имале широк распон вредности у опсегу од 7,1 до 48,3. Параметар U је имао вредност 28,33. Израчуната вредност за  $\chi^2$ -тест је била значајна, а за F-тест високо значајна (Табела 34). На основу рангова контраста следи закључак о значајној интеракцији генотипа и средине.

Табела 22. Просек интензитета црне пегавости стабла сунцокрета за 16 хибрида гајених на 10 локалитета у 2010. години, са укупним просеком за сваки хибрид, рангом интензитета болести унутар сваког локалитета, просеком ранга по хибриду и варијансом ранга ( $S_i^{(2)}$ )

	Хибрид	Локалитет										$\bar{x}$	$S_i^{(2)}$
		Врбас	Сомбор	Сента	Зрењанин	Вршац	Панчево	Нештин	Кузмин	Крчедин	Кула-Витовница		
Просечан интензитет болести (%)	Душко	15,0	15,0	5,0	15,6	15,0	15,7	15,2	15,1	15,0	25,4	15,2	-
	Новосађанин	15,5	15,1	5,8	15,0	15,0	18,0	15,1	17,1	15,0	25,0	15,7	-
	Сремац	5,9	17,0	6,0	15,2	23,0	24,5	15,9	19,5	15,0	25,6	16,8	-
	НС-Х-111	16,0	12,0	5,0	5,0	15,0	15,0	14,1	15,1	6,2	18,0	12,1	-
	Баћа	15,4	15,0	5,0	5,0	15,0	15,4	15,0	5,0	5,0	15,0	11,1	-
	Бранко	25,5	15,7	15,0	16,0	15,0	15,0	25,8	25,0	5,0	15,0	17,3	-
	Веља	16,3	15,3	15,0	19,5	15,0	25,0	24,0	25,5	5,0	18,4	17,9	-
	Оскар	15,2	15,0	8,0	16,5	15,0	24,5	16,6	26,1	5,0	15,6	15,8	-
	Орфеј	16,4	20,0	15,0	17,0	24,5	25,3	17,3	15,9	7,3	26,0	18,5	-
	НС Константин	15,6	15,0	5,0	15,9	15,9	25,0	25,3	23,8	15,0	24,4	18,1	-
	НС Ромео	15,4	17,4	15,0	16,0	15,0	25,0	16,2	24,4	15,0	17,5	17,7	-
	НС Брилијант	5,0	15,0	15,0	5,3	28,9	18,0	24,7	15,4	5,0	24,8	15,7	-
	НС Гладијатор	15,0	15,0	5,0	15,0	17,4	25,0	15,5	24,0	5,0	15,0	15,2	-
	НС Деспот	5,0	15,0	5,0	15,0	16,1	16,3	16,1	16,7	5,0	16,1	12,6	-
НС Новак	18,3	15,5	5,0	16,0	19,5	16,1	16,5	24,4	5,0	18,8	15,5	-	
НС Фантазија	19,0	5,0	5,0	15,0	15,7	22,3	15,0	22,6	5,0	15,0	14,0	-	
Ранг интензитета болести	Душко	4,5	6	4,5	9	4,5	4	5	2	14	14	6,7	17,7
	Новосађанин	9	10	9	5,5	4,5	7,5	4	7	14	13	8,4	11,3
	Сремац	3	14	10	8	14	10,5	7	8	14	15	10,4	15,3
	НС-Х-111	11	2	4,5	1,5	4,5	1,5	1	3	10	8	4,7	13,7
	Баћа	8	6	4,5	1,5	4,5	3	2,5	1	5	2,5	3,9	4,7
	Бранко	16	13	14	12,5	4,5	1,5	16	14	5	2,5	9,9	33,7
	Веља	12	11	14	16	4,5	13,5	13	15	5	9	11,3	15,8
	Оскар	6	6	11	14	4,5	10,5	11	16	5	5	8,9	17,2
	Орфеј	13	16	14	15	15	16	12	5	11	16	13,3	11,6
	НС Константин	10	6	4,5	10	10	13,5	15	10	14	11	10,4	11,0
	НС Ромео	7	15	14	11	4,5	13,5	9	12,5	14	7	10,8	13,3
	НС Брилијант	1,5	6	14	3	16	7,5	14	4	5	12	8,3	27,5
	НС Гладијатор	11,5	14	7,5	12,5	20	21,5	13	19	5	9,5	13,4	29,6
	НС Деспот	1,5	6	4,5	5,5	11	6	8	6	5	6	5,9	5,9
НС Новак	14	12	4,5	12,5	13	5	10	12,5	5	10	9,9	13,5	
НС Фантазија	15	1	4,5	5,5	9	9	2,5	9	5	2,5	6,3	17,8	

Табела 23 Средине и разлике између средина рангова хибрида гајених на различитим локалитетима у Србији у 2010. години.

Поља представљена црвеном бојом означавају постојање статистички значајне разлике за праг значајности од 5%, а поља представљена зеленом бојом означавају непостојање статистички значајне разлике за праг значајности од 5% у односу на хибрид са најмањим просеком ранга

	Баћа	НС-X-111	НС Деспот	НС Фантазија	Душко	НС Брилијант	Новосађанин	Оскар	НС Новак	Бранко	Сремац	НС Константин	НС Ромео	Веља	Орфеј	
$\bar{X}$	3,9	4,7	5,9	6,3	6,7	8,3	8,4	8,9	9,8	9,9	10,3	10,4	10,8	11,3	13,3	
НС Гладијатор	13,4	9,5	8,6	7,4	7,0	6,6	5,0	5,0	4,4	3,5	3,4	3,0	2,9	2,6	2,0	0,1
Орфеј	13,3	9,4	8,6	7,3	7,0	6,5	5,0	4,9	4,4	3,4	3,4	2,9	2,9	2,5	2,0	
Веља	11,3	7,4	6,6	5,3	5,0	4,5	3,0	2,9	2,4	1,4	1,4	0,9	0,9	0,5		
НС Ромео	10,8	6,9	6,0	4,8	4,4	4,0	2,4	2,4	1,8	0,9	0,8	0,4	0,3			
НС Константин	10,4	6,5	5,7	4,4	4,1	3,6	2,1	2,0	1,5	0,5	0,5	0,1				
Сремац	10,3	6,5	5,6	4,4	4,0	3,6	2,0	2,0	1,4	0,5	0,4					
Бранко	9,9	6,0	5,2	3,9	3,6	3,1	1,6	1,5	1,0	0,1						
НС Новак	9,8	6,0	5,1	3,9	3,5	3,1	1,5	1,5	0,9							
Оскар	8,9	5,0	4,2	2,9	2,6	2,1	0,6	0,5								
Новосађанин	8,4	4,5	3,6	2,4	2,0	1,6	0,0									
НС Брилијант	8,3	4,5	3,6	2,3	2,0	1,5										
Душко	6,7	2,9	2,0	0,8	0,4											
НС Фантазија	6,3	2,5	1,6	0,3												
НС Деспот	5,9	2,1	1,2													
НС-X-111	4,7	0,8														

$NЗР_{0,05}$  ранга = 4,17



Табела 24. Вредности контраста за интензитет црне пегавости 16 хибрида сунцокрета гајених на 10 локалитета у 2010. години, ранг контраста, средина ( $\bar{X}$ ) и варијанса ранга ( $U_i$ )

	Хибрид	К1	К2	К3	К4	К5	$\bar{X}$	$U_i$
Контраст	Душко	0	10,6	0,7	-0,1	10,4	-	-
	Новосађанин	-0,3	9,2	3,0	2,0	10,0	-	-
	Сремац	11,1	9,2	1,5	3,6	10,6	-	-
	НС-Х-111	-4,0	0	0	1,1	11,9	-	-
	Баћа	-0,4	0	0,4	-10,0	10,0	-	-
	Бранко	-9,8	1,0	0	-0,8	10,0	-	-
	Веља	-1,0	4,5	10,0	1,4	13,4	-	-
	Оскар	-0,2	8,5	9,5	9,5	10,6	-	-
	Орфеј	3,6	2,0	0,7	-1,5	18,7	-	-
	НС Константин	-0,6	10,9	9,1	-1,5	9,4	-	-
	НС Ромео	2,0	1,0	10,0	8,2	2,5	-	-
	НС Брилијант	10,0	-9,7	-11,0	-9,3	19,8	-	-
	НС Гладијатор	0	10,0	7,6	8,5	10,0	-	-
	НС Деспот	10,0	10,0	0,2	0,6	11,1	-	-
	НС Новак	-2,8	11,0	-3,5	7,9	13,8	-	-
	НС Фантазија	-14,0	10,0	6,6	7,6	10,0	-	-
Ранг контраста	Душко	10	14	7	6	8	9	8,3
	Новосађанин	8	9	10	10	3	8	7,1
	Сремац	16	10	9	11	9	11	13,1
	НС-Х-111	3	2	3	8	12	5,6	23,1
	Баћа	7	2	6	1	3	3,8	27,5
	Бранко	2	5	3	5	3	3,6	25,5
	Веља	5	7	15	9	13	9,8	15,5
	Оскар	9	8	14	16	10	11,4	17,9
	Орфеј	13	6	8	4	15	9,2	17,9
	НС Константин	6	15	13	3	2	7,8	28,3
	НС Ромео	12	4	15	14	1	9,2	32,3
	НС Брилијант	14	1	1	2	16	6,8	48,3
	НС Гладијатор	10	11	12	15	3	10,2	18,7
	НС Деспот	14	11	5	7	11	9,6	11,5
	НС Новак	4	16	2	13	14	9,8	33,9
	НС Фантазија	1	11	11	12	3	7,6	22,3

У 2011. години, појава црне пегавости стабла сунцокрета је забележена на свим локалитетима, док је проценат површине стабла са симптомима болести спорадично прелазио 10%. Процент биљака са симптомима болести се значајно разликовао. Слаба појава болести је забележена на локалитетима Кула-Витовница, Шупљак, Алекса Шантић и Кикинда (Табела 25). На осталим локалитетима појава болести је била умерена, а изражена на локалитету Панчево.

Вредности просека ранга су се значајно разликовале између хибрида. Најмању вредност просека ранга је имао хибрид НС Фантазија. Ова вредност се није статистички значајно разликовала у односу на вредности истог параметра код хибрида Баћа, НС-Х-111, Новосађанин, Веља, Оскар, НС Брилијант и НС Деспот (Табела 26). Највећу униформност вредности ранга је имао хибрид Сремац са коефицијентом варијације ранга од 1,7. Коефицијенти варијације ранга код већине осталих хибрида су имали сличне вредности. Изузетак су били хибриди Веља и НС Гладијатор (Табела 25).

Кендалов коефицијент сагласности је имао вредност 0,43 (Табела 34). Израчунате вредности за Фридманов и F-тест су биле високо значајне ( $P < 0,0001$ ). Значајност ових тестова указује на постојање генералне сагласности у ранговима појединачних хибрида гајених на различитим локалитетима у 2011 години. Спирманов коефицијент корелације ранга између локалитета је имао вредност 0,38. У поређењу са 2010. годином, вредности Кендаловог коефицијента и Спирмановог коефицијента корелације ранга су имале већу вредност. Вредност суме варијанси рангова  $\Psi$  је имала нижу вредност од граничне  $\Psi^*$ . Утицај генотипа на појаву црне пегавости стабла у 2011. години је био значајан. Иако је израчуната вредност Кендаловог коефицијента била већа у 2011. години, била је релативно ниска у односу на максималну вредност од 1, што указује на постојање ефекта средине. Израчунате вредности средина рангова су имале сличне вредности код већине хибрида, а вредност контраста и њихови рангови су изражено варирали у оквиру колона (Табела 27). Варијансе рангова контраста су имале широк распон вредности у опсегу од 5,3 до 44,6. Параметар U потребан за тестирање хомогености варијанси ранга контраста је имао вредност 24,57. Израчуната вредност за  $\chi^2$ -тест није била значајна ( $P = 0,056$ ), а за F-тест јесте значајна ( $P = 0,0394$ ) (Табела 34).

Табела 25. Просек појаве црне пегавости стабла сунцокрета за 16 хибрида гајених на 12 локалитета у 2011. години, са укупним просеком за сваки хибрид, рангом појаве болести унутар сваког локалитета, просеком ранга по хибриду и варијансом ранга ( $S_i^{(2)}$ )

Хибрид	Локалитет												$\bar{x}$	$S_i^{(2)}$		
	Кула-Витовница	Римски шанчеви	Врбас	Сента	Шушљак	Сомбор	Алекса Шангић	Кикинда	Зрењанин	Панчево	Вршац	Нештин				
Просечна појава болести (%)	Душко	4,1	27,2	30,2	23,4	20,7	81,8	17,7	5,6	81,3	96,0	14,5	26,5	35,7	-	
	Новосађанин	0	21,2	14,8	16,7	13,4	19,2	8,0	5,6	77,6	93,6	13,4	13,7	24,8	-	
	Сремац	3,4	40,9	46,6	86,0	16,0	94,6	14,9	30,5	95,3	100	36,6	40,5	50,4	-	
	НС-Х-111	6,5	11,9	6,7	40,8	2,9	28,6	2,6	2,6	20,1	82,0	14,1	6,4	18,8	-	
	Баћа	1,6	7,7	8,1	24,6	3,8	3,4	4,7	2,6	10,9	82,2	5,0	26,5	15,1	-	
	Бранко	10,3	37,5	45,4	25,9	5,8	34,5	3,4	12,1	19,4	100	25,7	32,6	29,4	-	
	Веља	4,3	23,0	22,6	41,6	2,3	22,7	0,7	10,6	8,4	100	30,4	11,0	23,1	-	
	Оскар	8,0	13,0	4,9	41,3	7,2	32,4	3,4	3,3	10,5	95,1	10,6	3,8	19,5	-	
	Орфеј	3,9	12,1	25,4	23,0	3,7	30,3	25,0	20,4	22,3	82,1	14,8	43,3	25,5	-	
	НС															
	Константин	3,6	19,4	21,8	73,8	19,1	45,9	11,1	5,3	14,4	100	9,9	19,2	28,6	-	
	НС Ромео	3,3	20,8	21,7	35,9	13,6	38,9	2,8	2,6	20,8	100	19,3	5,6	23,8	-	
	НС Брилијант	3,2	11,9	12,2	49,6	3,1	22,6	5,4	2,0	26,5	100	11,9	6,0	21,2	-	
	НС															
	Гладијатор	2,3	17,6	15,9	17,9	4,9	26,4	3,9	2,0	36,0	100	18,0	25,5	22,5	-	
	НС Деспот	0	12,6	11,9	37,6	5,1	33,8	10,5	7,3	5,5	100	16,2	8,4	20,7	-	
НС Новак	9,1	29,3	43,4	53,9	2,9	39,7	13,8	8,1	12,0	100	36,9	13,9	30,2	-		
НС Фантазија	4,2	10,6	5,9	32,4	3,2	23,4	0	1,3	5,8	100	5,3	15,0	17,3	-		
Ранг појаве болести	Душко	10	13	13	4	16	15	15	9	15	6	8	12	11,3	14,9	
	Новосађанин	1,5	11	7	1	12	2	10	10	14	4	6	7	7,3	14,7	
	Сремац	7	16	16	16	14	16	14	16	16	11,5	15	15	14,5	1,7	
	НС-Х-111	13	3,5	3	10	2	7	3	5	9	1	7	4	5,1	7,5	
	Баћа	3	1	4	5	7	1	8	5	5	3	1	13	5,2	10,3	
	Бранко	16	15	15	6	10	11	5	14	8	11,5	13	14	10,7	9,9	
	Веља	12	12	11	12	1	4	2	13	3	11,5	14	6	7,7	20,7	
	Оскар	14	7	1	11	11	9	6	7	4	5	4	1	5,9	10,8	
	Орфеј	9	5	12	3	6	8	16	15	11	2	9	16	9,8	21,4	
	НС															
	Константин	8	9	10	15	15	14	12	8	7	11,5	3	10	10,5	11,9	
	НС Ромео	6	10	9	8	13	12	4	5	10	11,5	12	2	8,6	11,9	
	НС Брилијант	5	3,5	6	13	4	3	9	2,5	12	11,5	5	3	6,9	13,8	
	НС															
	Гладијатор	5	16	15	10	10	14	9	2,5	21	19,5	19	19	13,9	29,0	
	НС Деспот	1,5	6	5	9	9	10	11	11	1	11,5	10	5	8,2	9,7	
НС Новак	15	14	14	14	3	13	13	12	6	11,5	16	8	11,1	13,7		
НС Фантазија	11	2	2	7	5	5	1	1	2	11,5	2	9	4,5	10,8		

Табела 26. Средине и разлике између средина рангова хибрида гајених на различитим локалитетима у Србији у 2011. години.

Поља представљена црвеном бојом означавају постојање статистички значајне разлике за праг значајности од 5%, а поља представљена зеленом бојом означавају непостојање статистички значајне разлике за праг значајности од 5% у односу на хибрид са најмањим просеком ранга

		НС Фантазија	НС-X-111	Баћа	Оскар	НС Брилијант	Новосађанин	Веља	НС Деспот	НС Ромео	Орфеј	НС Константин	Бранко	НС Новак	Душко	НС Гладијатор
	$\bar{X}$	4.5	5.1	5.2	5.9	6.9	7.3	7.7	8.2	8.6	9.8	10.5	10.7	11.1	11.3	13.9
Сремац	14.5	10.0	9.4	9.3	8.6	7.6	7.2	6.8	6.3	5.9	4.7	4.0	3.8	3.4	3.2	0.6
НС Гладијатор	13.9	9.4	8.8	8.7	8.0	7.0	6.6	6.2	5.7	5.3	4.1	3.4	3.2	2.8	2.6	
Душко	11.3	6.8	6.2	6.1	5.4	4.4	4.0	3.6	3.1	2.7	1.5	0.8	0.6	0.2		
НС Новак	11.1	6.6	6.0	5.9	5.2	4.2	3.8	3.4	2.9	2.5	1.3	0.6	0.4			
Бранко	10.7	6.2	5.6	5.5	4.8	3.8	3.4	3.0	2.5	2.1	0.9	0.2				
НС Константин	10.5	6.0	5.4	5.3	4.6	3.6	3.2	2.8	2.3	1.9	0.7					
Орфеј	9.8	5.3	4.7	4.6	3.9	2.9	2.5	2.1	1.6	1.2						
НС Ромео	8.6	4.1	3.5	3.4	2.7	1.7	1.3	0.9	0.4							
НС Деспот	8.2	3.7	3.1	3.0	2.3	1.3	0.9	0.5								
Веља	7.7	3.2	2.6	2.5	1.8	0.8	0.4									
Новосађанин	7.3	2.8	2.2	2.1	1.4	0.4										
НС Брилијант	6.9	2.4	1.8	1.7	1.0											
Оскар	5.9	1.4	0.8	0.7												
Баћа	5.2	0.7	0.1													
НС-X-111	5.1	0.6														

$NЗР_{0,05}$  ранга = 3,81

Табела 27. Вредности контраста за појаву црне пегавости за 16 хибрида сунцокрета гајених на 12 локалитета у 2011. години, ранг контраста, средина ( $\bar{X}$ ) и варијанса ранга ( $U_i$ )

	Хибрид	К1	К2	К3	К4	К5	К6	$\bar{X}$	$U_i$
Контраст	Душко	23,1	-6,7	61,0	-12,1	14,6	12,0	-	-
	Новосађанин	21,2	1,8	5,8	-2,4	15,9	0,3	-	-
	Сремац	37,5	39,4	78,6	15,6	4,7	3,9	-	-
	НС-Х-111	5,4	34,1	25,7	0	61,9	-7,7	-	-
	Баћа	6,2	16,5	-0,4	-2,1	71,3	21,5	-	-
	Бранко	27,2	-19,5	28,6	8,7	80,6	6,9	-	-
	Веља	18,7	19,1	20,4	9,9	91,6	-19,4	-	-
	Оскар	5,0	36,5	25,2	-0,1	84,6	-6,7	-	-
	Орфеј	8,1	-2,4	26,6	-4,6	59,8	28,5	-	-
	НС Константин	15,9	51,9	26,8	-5,8	85,6	9,3	-	-
	НС Ромео	17,5	14,2	25,3	-0,1	79,2	-13,7	-	-
	НС Брилијант	8,7	37,4	19,5	-3,5	73,5	-5,9	-	-
	НС Гладијатор	15,3	2,0	21,5	-2,0	64,0	7,5	-	-
	НС Деспот	12,6	25,7	28,7	-3,2	94,5	-7,8	-	-
	НС Новак	20,2	10,6	36,8	-5,7	88,0	-22,9	-	-
	НС Фантазија	6,4	26,6	20,2	1,3	94,2	9,7	-	-
Ранг контраста	Душко	14	2	15	1	2	14	8,0	40,6
	Новосађанин	13	4	2	7	3	8	6,2	19,3
	Сремац	16	15	16	16	1	9	12,2	44,6
	НС-Х-111	2	12	9	12	5	5	7,5	15,3
	Баћа	3	8	1	8	7	15	7,0	21,9
	Бранко	15	1	12	14	10	10	10,3	24,3
	Веља	11	9	5	15	14	2	9,3	22,3
	Оскар	1	13	7	10	11	6	8,0	15,6
	Орфеј	5	3	10	4	4	16	7,0	23,6
	НС Константин	9	16	11	2	12	12	10,3	21,6
	НС Ромео	10	7	8	11	9	3	8,0	6,9
	НС Брилијант	6	14	3	5	8	7	7,2	13,6
	НС Гладијатор	8	5	6	9	6	11	7,5	5,3
	НС Деспот	7	10	13	6	16	4	9,3	17,9
	НС Новак	12	6	14	3	13	1	8,2	25,9
	НС Фантазија	4	11	4	13	15	13	10,0	21,6

Просечна појава црне пегавости стабла на већини локалитета у 2012. години је имала мале вредности. На одређеном броју локалитета појава је била спорадична те није обухваћена статистичком анализом. Анализиран је утицај генотипа и средине на укупно шест локалитета. Појава болести је била слаба на већини локалитета, а једини изузетак је био локалитет Нештин (Табела 28).

Слично као и у прве две године истраживања, најмање вредности просека ранга су имали хибриди Баћа и НС-Х-111 (Табела 29). Средина ранга код ових хибрида се значајно разликовала у поређењу са средином ранга хибрида Бранко, НС Ромео, НС Константин и Сремац.

Кендалов коефицијент сагласности је имао вредност 0,26 (Табела 34). Мали број анализираних локалитета у 2012. години оправдава употребу само F-теста, који није значајан ( $P=0,0655$ ). Параметар  $\Psi$  је имао већу вредност од граничне. Непостојање значајности F-теста, однос  $\Psi$  и граничне вредности, доказују одсуство сагласности рангова хибрида на анализираним локалитетима.

Анализиран је утицај средине израчунат употребом контраста, са циљем смањења утицаја генотипа у анализи и њиховим рангирањем (Табела 30). Израчуната вредност параметра  $U$  је 26,19. Слично тестирању значајности Кендаловог коефицијента и у овом случају је употребљен F-тест. Израчуната вредност за F-тест је била високо значајна ( $P=0,0097$ )(Табела 34).

Табела 28. Просек појаве црне пегавости стабла сунцокрета за 16 хибрида гајених на 6 локалитета у 2012. години, са укупним просеком за сваки хибрид, рангом појаве болести унутар сваког локалитета, просеком ранга по хибриду и варијансом ранга ( $S_i^{(2)}$ )

	Хибрид	Локалитет						$\bar{x}$	$S_i^{(2)}$
		Врбас	Сенга	Шупљак	Кикинда	Вршац	Нешгин		
Просечна појава болести (%)	Душко	5,7	0,8	6,0	5,5	7,5	25,0	8,4	-
	Новосађанин	4,0	1,5	9,3	12,1	3,4	16,1	7,7	-
	Сремац	11,3	8,9	0	17,9	19,1	50,7	18,0	-
	НС-Х-111	3,4	7,9	4,6	7,5	0,7	19,2	7,2	-
	Баћа	2,8	1,5	19,1	0,8	6,8	6,9	6,3	-
	Бранко	5,8	10,8	0	11,3	7,9	69,0	17,5	-
	Веља	3,4	8,2	0	4,8	7,7	60,7	14,2	-
	Оскар	8,6	1,4	8,7	7,6	7,7	22,7	9,4	-
	Орфеј	15,9	3,0	7,8	13,2	5,3	15,6	10,1	-
	НС Константин	6,7	7,5	14,0	9,1	12,8	42,8	15,5	-
	НС Ромео	6,6	4,1	14,7	14,6	11,8	35,6	14,5	-
	НС Брилијант	18,1	5,6	2,4	7,9	4,8	28,9	11,3	-
	НС Гладијатор	5,4	2,9	1,5	6,7	3,2	26,0	7,6	-
	НС Деспот	9,2	3,0	13,1	14,0	3,4	26,5	11,5	-
НС Новак	5,5	3,0	2,8	8,1	9,5	37,8	11,1	-	
НС Фантазија	12,1	7,4	0	3,0	7,1	35,2	10,8	-	
Ранг појаве болести	Душко	7	1	9	4	9	6	6,0	9.6
	Новосађанин	4	4	12	12	4	3	6,5	18.3
	Сремац	13	15	2.5	16	16	14	12,8	26.6
	НС-Х-111	2	13	8	6	1	4	5,7	19.5
	Баћа	1	3	16	1	7	1	4,8	35.4
	Бранко	8	16	2.5	11	12	16	10,9	26.5
	Веља	3	14	2.5	3	10,5	15	8,0	34.3
	Оскар	11	2	11	7	10,5	5	7,8	14.0
	Орфеј	15	6,5	10	13	6	2	8,8	23.4
	НС Константин	10	12	14	10	15	13	12,3	4.3
	НС Ромео	9	9	15	15	14	11	12,2	8.2
	НС Брилијант	16	10	6	8	5	9	9,0	15.2
	НС Гладијатор	9	7	5	9	3	15	8,0	17.2
	НС Деспот	12	8	13	14	3	8	9,7	17.1
НС Новак	6	6.5	7	9	13	12	8,9	8.8	
НС Фантазија	14	11	2.5	2	8	10	7,9	23.0	

Табела 29. Средине и разлике између средина рангова хибрида гајених на различитим локалитетима у Србији у 2012. години.

Поља представљена црвеном бојом означавају постојање статистички значајне разлике за праг значајности од 5%, а поља представљена зеленом бојом означавају непостојање статистички значајне разлике за праг значајности од 5% у односу на хибрид са најмањим просеком ранга

		Баћа	НС-Х-111	Душко	Новосађанин	Оскар	НС Фантазија	НС Гладјатор	Веља	Орфеј	НС Новак	НС Брилијант	НС Деспот	Бранко	НС Ромео	НС Константин
	$\bar{X}$	4,8	5,7	6,0	6,5	7,8	7,9	8,0	8,0	8,8	8,9	9,0	9,7	10,9	12,2	12,3
Сремац	12,8	8,0	7,1	6,8	6,3	5,0	4,9	4,8	4,8	4,0	3,9	3,8	3,1	1,9	0,6	0,5
НС Константин	12,3	7,5	6,6	6,3	5,8	4,5	4,4	4,3	4,3	3,5	3,4	3,3	2,6	1,4	0,1	
НС Ромео	12,2	7,4	6,5	6,2	5,7	4,4	4,3	4,2	4,2	3,4	3,3	3,2	2,5	1,3		
Бранко	10,9	6,1	5,2	4,9	4,4	3,1	3,0	2,9	2,9	2,1	2,0	1,9	1,2			
НС Деспот	9,7	4,9	4,0	3,7	3,2	1,9	1,8	1,7	1,7	0,9	0,8	0,7				
НС Брилијант	9,0	4,2	3,3	3,0	2,5	1,2	1,1	1,0	1,0	0,2	0,1					
НС Новак	8,9	4,1	3,2	2,9	2,4	1,1	1,0	0,9	0,9	0,1						
Орфеј	8,8	4,0	3,1	2,8	2,3	1,0	0,9	0,8	0,8							
Веља	8,0	3,2	2,3	2,0	1,5	0,2	0,1	0,1								
НС Гладјатор	8,0	3,2	2,3	2,0	1,5	0,2	0,1									
НС Фантазија	7,9	3,1	2,2	1,9	1,4	0,1										
Оскар	7,8	3,0	2,1	1,8	1,3											
Новосађанин	6,5	1,7	0,8	0,5												
Душко	6,0	1,2	0,3													
НС-Х-111	5,7	0,9														

$NZP_{0,05}$  ранга = 5,39



Табела 30. Вредности контраста за појаву црне пегавости за 16 хибрида сунцокрета гајених на 6 локалитета у 2012. години, ранг контраста, средина ( $\bar{X}$ ) и варијанса ранга ( $U_i$ )

	Хибрид	К1	К2	К3	$\bar{X}$	$U_i$
Контраст	Душко	-4,9	-0,5	17,5	-	-
	Новосађанин	-2,6	2,8	12,7	-	-
	Сремац	-2,4	17,9	31,5	-	-
	НС-Х-111	4,5	2,9	18,5	-	-
	Баћа	-1,3	-18,3	0,2	-	-
	Бранко	5,0	11,3	61,1	-	-
	Веља	4,8	4,8	52,9	-	-
	Оскар	-7,2	-1,0	14,9	-	-
	Орфеј	-12,9	5,4	10,3	-	-
	НС Константин	0,9	-4,9	30,0	-	-
	НС Ромео	-2,6	-0,1	23,8	-	-
	НС Брилијант	-12,4	5,6	24,2	-	-
	НС Гладијатор	-2,5	5,2	22,8	-	-
	НС Деспот	-6,2	0,9	23,1	-	-
	НС Новак	-2,6	5,3	28,3	-	-
	НС Фантазија	-4,8	3,0	28,1	-	-
Ранг контраста	Душко	5	4	5	4,7	14,9
	Новосађанин	8	7	3	6,0	10,9
	Сремац	11	16	14	13,7	30,9
	НС-Х-111	14	8	6	9,3	12,3
	Баћа	12	1	1	4,7	41,6
	Бранко	16	15	16	15,7	51,6
	Веља	15	10	15	13,3	28,9
	Оскар	3	3	4	3,3	26,9
	Орфеј	1	13	2	5,3	39,6
	НС Константин	13	2	13	9,3	27,6
	НС Ромео	7	5	9	7,0	4,9
	НС Брилијант	2	14	10	8,7	24,9
	НС Гладијатор	10	11	7	9,3	3,6
	НС Деспот	4	6	8	6,0	8,9
	НС Новак	9	12	12	11,0	8,3
	НС Фантазија	6	9	11	8,7	4,3

У 2013. години забележене су разлике између локалитета и унутар локалитета између хибрида, у појави црне пегавости стабла сунцокрета. Разлике у просечној површини стабла са симптомима болести су изостале. Слаба појава болести је забележена на локалитету Сремска Митровица са варирањем просека појаве од 1,1 до 16,2%, а највећи број биљака са симптомима болести је забележен на локалитету Врбас (Табела 31).

Након рангирања хибрида у оквиру локалитета и израчунавања средина рангова добијене вредности су се значајно разликовале. Најмање вредности су слично као и у претходним годинама истраживања имали хибриди НС-Х-111 и Баћа. Статистички значајно различите средине ранга у односу на ова два хибрида нису имали хибриди Оскар, НС Фантазија, НС Брилијант и Веља (Табела 32).

Утицај генотипа на појаву болести одређен је израчунавањем Кендаловог коефицијента сагласности који је имао вредност 0,29. Р вредности за Фридманов тест и F-тест су биле високо значајне (Табела 34). Трећи параметар,  $\Psi$ , је имао вредност мању од граничне. Претходно изнети резултати доказују да постоји сагласност између рангова хибрида на различитим локалитетима.

Постојање интеракције генотипа и средине је одређено путем рангирања контраста између парова локалитета. Средине ранга контраста су се значајно разликовале као и варијансе ранга контраста (Табела 33). Параметар U је имао вредност 18,74. Израчунате вредности  $\chi^2$ -теста и за F-теста нису биле значајна (Табела 34). Из овог следи да интеракција генотипа и спољне средине у 2013. години није била значајна.

Табела 31. Просек интензитета црне пегавости стабла сунцокрета за 16 хибрида гајених на 9 локалитета у 2013. години, са укупним просеком за сваки хибрид, рангом интензитета болести унутар сваког локалитета, просеком ранга по хибриду и варијансом ранга ( $S_i^{(2)}$ )

	Хибрид	Локалитет									$\bar{x}$	$S_i^{(2)}$
		Римски шанчеви	Врбас	Сента	Кикинда	Ново Милошево	Зрењанин	Панчево	Нештин	Сремска Митровица		
Просечна појава болести (%)	Душко	15,6	98,0	66,9	33,6	10,1	47,7	55,9	28,6	6,8	40,4	-
	Новосађанин	22,4	96,6	34,1	28,2	15,5	58,1	44,1	36,9	14,2	38,9	-
	Сремац	36,2	100	37,4	24,0	10,7	42,5	62,7	45,0	10,0	40,9	-
	НС-Х-111	18,7	50,7	29,4	14,9	18,1	28,1	46,0	29,2	1,4	26,3	-
	Баћа	25,3	64,3	37,7	14,7	9,7	16,2	37,7	38,2	2,6	27,4	-
	Бранко	22,7	100	87,1	23,9	15,8	56,8	71,1	39,4	16,2	48,1	-
	Веља	31,3	67,2	28,7	23,5	15,9	44,4	44,8	39,3	5,0	33,4	-
	Оскар	22,5	87,0	28,2	18,0	8,7	25,2	52,5	36,8	5,4	31,6	-
	Орфеј	29,7	63,2	32,4	18,2	12,9	37,9	70,7	39,2	14,0	35,4	-
	НС Константин	24,3	53,1	49,5	25,2	16,5	27,3	66,4	38,6	5,3	34,0	-
	НС Ромео	34,2	98,6	34,7	28,1	7,2	60,6	61,4	46,7	6,8	42,0	-
	НС Брилијант	23,9	82,7	25,7	21,2	29,5	31,3	55,6	36,1	6,3	34,7	-
	НС Гладијатор	20,6	76,4	32,7	15,7	7,5	18,3	55,8	32,4	1,1	28,8	-
	НС Деспот	26,3	96,1	26,2	22,5	17,6	37,0	46,2	54,5	7,9	37,1	-
	НС Новак	23,4	93,1	42,3	22,3	15,2	26,6	57,5	45,3	12,4	37,6	-
НС Фантазија	16,6	84,2	48,9	15,7	17,4	28,6	43,5	24,1	5,7	31,6	-	
Ранг појаве болести	Душко	1	13	15	16	5	13	10	2	9	9,3	30,8
	Новосађанин	5	12	8	15	9	15	3	7	15	9,9	20,9
	Сремац	16	15,5	10	12	6	11	13	13	12	12,1	8,9
	НС-Х-111	3	1	5	2	15	6	5	3	2	4,7	17,8
	Баћа	11	4	11	1	4	1	1	8	3	4,9	16,9
	Бранко	7	15,5	16	11	10	14	16	12	16	13,1	10,5
	Веља	14	5	4	10	11	12	4	11	4	8,3	16,3
	Оскар	6	9	3	5	3	3	7	6	6	5,3	4,3
	Орфеј	13	3	6	6	7	10	15	10	14	9,3	17,0
	НС Константин	10	2	14	13	12	5	14	9	5	9,3	19,5
	НС Ромео	15	14	9	14	1	16	12	15	10	11,8	21,9
	НС Брилијант	9	7	1	7	16	8	8	5	8	7,7	15,5
	НС Гладијатор	12	14	15	10	6	10	17	12	1	10,8	23,7
	НС Деспот	12	11	2	9	14	9	6	16	11	10,0	17,5
	НС Новак	8	10	12	8	8	4	11	14	13	9,8	9,7
НС Фантазија	2	8	13	4	13	7	2	1	7	6,3	20,5	

Табела 32. Средине и разлике између средина рангова хибрида гајених на различитим локалитетима у Србији у 2013. години.

Поља представљена црвеном бојом означавају постојање статистички значајне разлике за праг значајности од 5%, а поља представљена зеленом бојом означавају непостојање статистички значајне разлике за праг значајности од 5% у односу на хибрид са најмањим просеком ранга

		НС-X-111	Баћа	Оскар	НС Фантазија	НС Брилијант	Веља	Душко	Орфеј	НС Константин	НС Новак	Новосађанин	НС Деспот	НС Гладјатор	НС Ромео	Сремац
	$\bar{X}$	4,7	4,9	5,3	6,3	7,7	8,3	9,3	9,3	9,3	9,8	9,9	10	10,8	11,8	12,1
Бранко	13,1	8,4	8,2	7,8	6,8	5,4	4,8	3,8	3,8	3,8	3,3	3,2	3,1	2,3	1,3	1,0
Сремац	12,1	7,4	7,2	6,8	5,8	4,4	3,8	2,8	2,8	2,8	2,3	2,2	2,1	1,3	0,3	
НС Ромео	11,8	7,1	6,9	6,5	5,5	4,1	3,5	2,5	2,5	2,5	2,0	1,9	1,8	1,0		
НС Гладјатор	10,8	6,1	5,9	5,5	4,5	3,1	2,5	1,5	1,5	1,5	1,0	0,9	0,8			
НС Деспот	10,0	5,3	5,1	4,7	3,7	2,3	1,7	0,7	0,7	0,7	0,2	0,1				
Новосађанин	9,9	5,2	5,0	4,6	3,6	2,2	1,6	0,6	0,6	0,6	0,1					
НС Новак	9,8	5,1	4,9	4,5	3,5	2,1	1,5	0,5	0,5	0,5						
НС Константин	9,3	4,6	4,4	4,0	3,0	1,6	1,0	0,1	0,1							
Орфеј	9,3	4,6	4,4	4,0	3,0	1,6	1,0	0,1								
Душко	9,3	4,6	4,4	4,0	3,0	1,6	1,0									
Веља	8,3	3,6	3,4	3,0	2,0	0,6										
НС Брилијант	7,7	3,0	2,8	2,4	1,4											
НС Фантазија	6,3	1,6	1,4	1,0												
Оскар	5,3	0,6	0,4													
Баћа	4,9	0,2														

$H_{3P_{0,05}}$  ранга = 4,4

Табела 33. Вредности контраста за појаву црне пегавости за 16 хибрида сунцокрета гајених на 9 локалитета у 2013. години, ранг контраста, средина ( $\bar{X}$ ) и варијанса ранга ( $U_i$ )

	Хибрид	К1	К2	К3	К4	$\bar{X}$	$U_i$
Контраст	Душко	82,4	-33,3	37,6	71,0	-	-
	Новосађанин	74,2	-5,9	42,6	52,7	-	-
	Сремац	63,8	-13,4	31,8	87,7	-	-
	НС-Х-111	32,1	-14,5	10,0	72,5	-	-
	Баћа	39,0	-23,0	6,4	70,6	-	-
	Бранко	77,3	-63,2	41,1	78,1	-	-
	Веља	35,9	-5,2	28,5	74,0	-	-
	Оскар	64,5	-10,3	16,5	78,6	-	-
	Орфеј	33,5	-14,2	25,0	81,8	-	-
	НС Константин	28,7	-24,3	10,8	94,4	-	-
	НС Ромео	64,4	-6,5	53,4	94,4	-	-
	НС Брилијант	58,8	-4,5	1,8	79,2	-	-
	НС Гладијатор	55,8	-17,0	10,8	88,1	-	-
	НС Деспот	69,7	-3,7	19,4	85,0	-	-
	НС Новак	69,7	-20,0	11,4	78,0	-	-
	НС Фантазија	67,7	-33,1	11,2	56,2	-	-
Ранг контраста	Душко	16	2	13	4	6,3	34,8
	Новосађанин	14	13	15	1	9,7	37,3
	Сремац	8	10	12	13	11,7	8,8
	НС-Х-111	2	8	3	5	5,3	21,3
	Баћа	5	5	2	3	3,3	24,3
	Бранко	15	1	14	8	7,7	32,3
	Веља	4	14	11	6	10,3	15,8
	Оскар	10	11	8	9	9,3	2,3
	Орфеј	3	9	10	11	10,0	9,8
	НС Константин	1	4	5	15	8,0	32,8
	НС Ромео	9	12	16	16	14,7	31,3
	НС Брилијант	7	15	1	10	8,7	25,8
	НС Гладијатор	6	7	4	14	8,3	14,8
	НС Деспот	13	16	9	12	12,3	22,3
	НС Новак	12	6	7	7	6,7	5,8
	НС Фантазија	11	3	6	2	3,7	21,3

Табела 34. Вредности статистичких параметара за тестирање сагласности рангова и хомоложности рангова за интензитет црне пегавости сунцокрета у 2010. години и појаву црне пегавости стабла сунцокрета у 2011., 2012. и 2013.

	Година			
	2010.	2011.	2012.	2013.
$N^1$	10	12	6	9
$W^2$	0,35	0,428	0,26	0,29
$\bar{r}^3$	0,28	0,38	0,12	0,21
$T^4$	52,34	77,04	23,03	39,87
df за $T$	15	15	15	15
$P$ за $T$	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
$F^5$	4,82	6,73	1,72	3,35
df <sub>N</sub> df <sub>D</sub> за $F$	14,8; 133,2	14,8; 163,2	14,7; 73,3	14,8; 118,2
$P$ за $F$	<0,0001	<0,0001	0,0655	0,001
$\Psi^6$	245,97	212,16	303,58	269,55
$\Psi^{*7}$	314,81	319,39	294,67	311,67
$U^8$	28,33	24,57	26,19	18,74
df за $U$	15	15	15	15
$P$ за $U$	0,0196	0,0560	0,0361	0,2257
$F_U^9$	2,43	1,88	2,78	1,36
df <sub>N</sub> df <sub>D</sub> за	14,6; 58,4	14,6; 73,3	14,3; 28,7	14,5; 43,5
$P$ за $F_U$	0,0081	0,0394	0,0097	0,2098

<sup>1</sup> – број локалитета

<sup>2</sup> – Кендалов коефицијент сагласности

<sup>3</sup> – Спирманов коефицијент корелације ранга

<sup>4</sup> – Фридманов тест

<sup>5</sup> – F тест

<sup>6</sup> – сума варијанси рангова

<sup>7</sup> – гранична вредност суме варијанси рангова

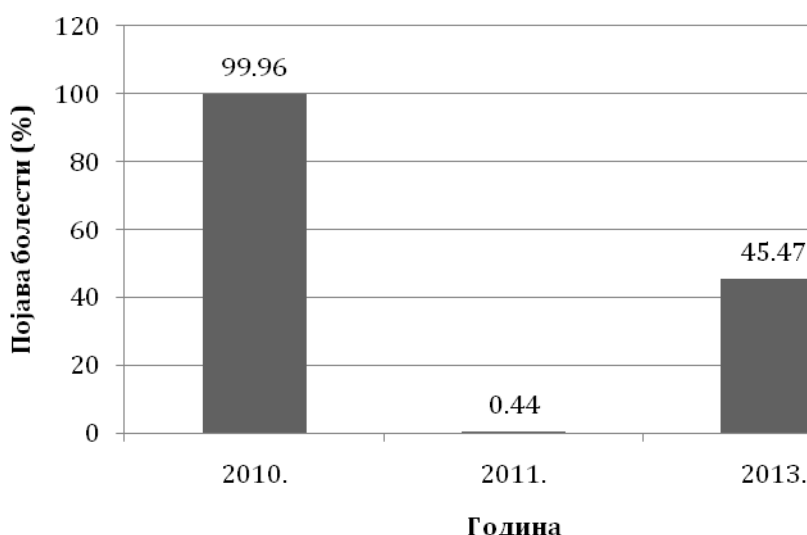
<sup>8</sup> – тест хомогености варијанси ранга

<sup>9</sup> – F тест хомогености варијанси ранга

#### 6.4. Утицај ђубрења на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета

Појава и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета у условима природне инфекције су праћени на биљкама сунцокрета у експерименту са различитим количинама ђубрива као третманима. Резултати нису прикупљени у 2012. години због изражене појаве воловода.

Појава болести у трогодишњем периоду се значајно разликовала по појединачним годинама. Симптоми болести су били присутни на скоро свим биљкама у првој години посматрања. Двоструко мање оболелих биљака је забележено у 2013. години, док је појава болести у 2011. години била спорадична (Графикон 19).



Графикон 19. Просечна појава црне пегавости сунцокрета у трогодишњем периоду на биљкама сунцокрета у пољском експерименту са различитим варијантама ђубрења

Анализа варијансе претходно трансформисаних вредности оцене болести у току прве године истраживања показала је постојање статистички значајних разлика између третмана (Табела 34).

Табела 35. Анализа варијансе интензитета појаве црне пегавости сунцокрета гајеног у условима различитог ђубрења азотом, фосфором и калијумом

Извори варијације	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Ђубрење	19	68017,5	3579,9	654,9	<0,01
Погрешка	5580	30503,2	5,5		

Најмањи интензите болести је забележен код третмана где није вршено ђубрење и код третмана са количином унетог фосфора и калијума у количини од 100 kg. Сличне вредности интензитета појаве болести су добијене и код третмана са N:P:K елементима примењеним у количини 50:100:100, 100:50:50, 100:100:100, 150:50:50 и 150:100:50. Количине N:P:K елемената у осталим третманима имале су за последицу статистички значајно већи интензитет болести са највећом вредношћу овог параметра код третмана 100:150:50 (Табела 36).

Интензитет појаве црне пегавости код највећег броја оцењених биљака у 2013. години у свим третманима није прелазило 10% што одговара оцени 1 на евалуационој скали. Значајне разлике су забележене у појави болести израженој у проценту биљака са симптомима (Табела 36). Код већине посматраних третмана проценат оболелих биљака се кретао у границама између 40 и 50%. Најмања појава болести је забележена код третмана са количинама унетих храњивих елемената (N:P:K у килограмима) у количини од 100:100:50. Између овог третмана и третмана 0:100:0, 0:0:100 и 50:100:100 није било статистички значајне разлике. Уколико се изузму третмани 100:100:50, 50:100:100 и 100:0:0 између осталих третмана у експерименту није било статистички значајне разлике у просечној појави болести. Просечна појава болести на више од 60% биљака је забележена код третмана 100:0:0 и била је значајно виша у односу на просеке код осталих третмана.



Табела 36. Интензитет црне пегавости стабла сунцокрета гајеног у условима различитих количина унетих макроелемената (N:P:K) у 2010. години и појава црне пегавости стабла сунцокрета у 2013. години, у условима природне инфекције. Вредности интензитета и појаве болести представљају трансформисане вредности ( $\arcsin\sqrt{x}$ )

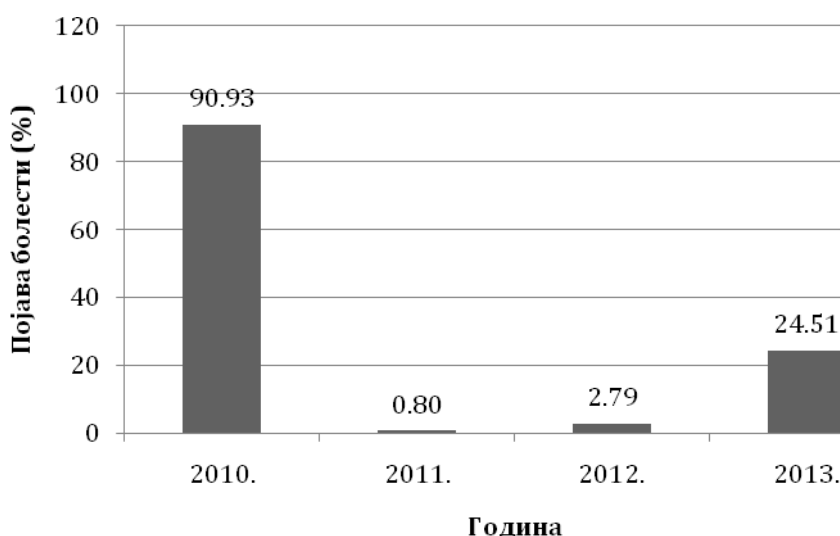
Ђубрење (kg/ha)			Интензитет болести у 2010. години (%) <sup>1</sup>	Појава болести у 2013. години (%) <sup>2</sup>
N	P	K		
0	0	0	23,45 <i>z</i>	45,83 <i>бв</i>
100	0	0	30,27 <i>бв</i>	63,69 <i>а</i>
0	100	0	22,92 <i>z</i>	41,83 <i>вz</i>
0	0	100	23,38 <i>z</i>	40,62 <i>вz</i>
100	100	0	30,25 <i>бв</i>	50,66 <i>б</i>
100	0	100	29,92 <i>бв</i>	48,15 <i>бв</i>
0	100	100	30,47 <i>б</i>	48,32 <i>бв</i>
50	50	50	30,62 <i>б</i>	48,24 <i>бв</i>
50	100	50	29,98 <i>бв</i>	50,01 <i>б</i>
50	100	100	23,04 <i>z</i>	40,97 <i>вz</i>
100	50	50	22,79 <i>z</i>	43,10 <i>бв</i>
100	100	50	29,94 <i>бв</i>	35,07 <i>z</i>
100	100	100	23,54 <i>z</i>	44,17 <i>бв</i>
100	150	50	32,50 <i>а</i>	42,22 <i>вz</i>
100	150	150	29,50 <i>в</i>	46,02 <i>бв</i>
150	50	50	23,61 <i>z</i>	43,65 <i>бв</i>
150	100	50	23,47 <i>z</i>	44,44 <i>бв</i>
150	100	100	30,11 <i>бв</i>	50,37 <i>б</i>
150	150	100	30,03 <i>бв</i>	44,90 <i>бв</i>
150	150	150	29,83 <i>бв</i>	48,68 <i>бв</i>
Просек			27,48	46,05

<sup>1</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 0,88

<sup>2</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 7,62

### 6.5. Утицај времена сетве на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета

Појава болести у периоду од 2010. до 2013. године се значајно разликовала (Графикон 20). Болест је забележена на више од 90% биљака у 2010., а у наредне две године истраживања, појава болести је била испод 3%. У 2013. години симптоми болести су детектовани на једној четвртини од укупног броја оцењених биљака.



Графикон 20. Просечна појава црне пегавости током четири године на биљкама сунцокрета у пољском експерименту са различитим временом сетве

Анализом варијансе утврђено је постојање статистички значајне разлике у интензитету болести у 2010. години између испитаних хибрида и времена сетве (Табела 37). Интеракција хибрида и времена сетве је била статистички значајна. Интензитет болести је код испитаних хибрида имао опадајући тренд са сваким наредним датумом сетве. Просечно су највеће вредности забележене код првог датума сетве код свих хибрида (Табела 38). Статистички значајне разлике није било након поређења интензитета болести код биљака сунцокрета чија је сетва била 20. марта и 1. априла. Са сваким следећим датумом сетве, разлике у интензитету болести су статистички биле различите уз изузетак биљака посејаних 1. и 10. маја.

Табела 37. Анализа варијансе интензитета црне пегавости у 2010. години

Извори варијације	Сума квадрата	Средина квадрата	Степени слободе	F	p
Понављања	8172,5	4086,2	2	3,19	
Хибрид	64325,9	32162,9	2	25,1	0,005
Погрешка	5128,5	1282,1	4		
Време сетве	379640,1	54234,3	7	131,9	< 0,01
Хибрид x Време сетве	17538,2	1252,7	14	3,05	0,003
Погрешка	17538,2	411,2	42		

Табела 38. Интензитет црне пегавости стабла сунцокрета на биљкама три хибрида сејаних у временским интервалима од 10 дана током 2010. године. Болест је оцењена скалом 1-10 где свака оцена представља интервал процента површине стабла са симптомима. Вредности су поређене након  $\arcsin\sqrt{x}$  трансформације.

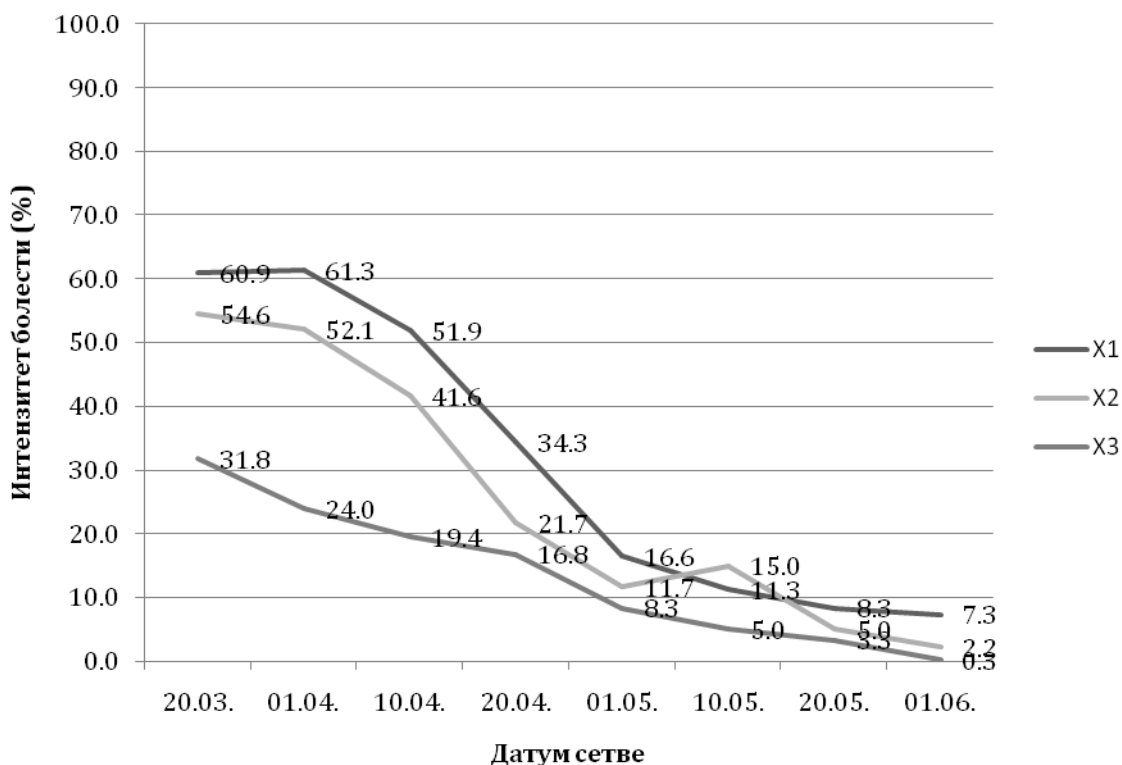
Датум сетве	Хибрид			Просек <sup>2</sup>
	НС Голијат	НС Слатки	НС Грицко	
20.03.	51,46 <sup>3</sup> <i>a</i>	47,62 <i>a</i>	34,25 <i>a</i>	44,44 <i>a</i>
01.04.	51,58 <i>a</i>	46,21 <i>аб</i>	28,97 <i>аб</i>	42,25 <i>a</i>
10.04.	46,12 <i>a</i>	40,07 <i>б</i>	25,98 <i>б</i>	37,39 <i>б</i>
20.04.	35,59 <i>б</i>	27,56 <i>в</i>	24,07 <i>б</i>	29,07 <i>в</i>
01.05.	23,91 <i>в</i>	19,50 <i>г</i>	16,21 <i>в</i>	19,87 <i>г</i>
10.05.	18,82 <i>бвг</i>	22,79 <i>вг</i>	12,92 <i>бг</i>	18,18 <i>г</i>
20.05.	16,21 <i>г</i>	12,92 <i>д</i>	8,61 <i>г</i>	12,58 <i>д</i>
01.06.	12,92 <i>г</i>	5,55 <i>ђ</i>	0,72 <i>д</i>	6,39 <i>ђ</i>
<b>Просек<sup>1</sup></b>	<b>32,08<i>a</i></b>	<b>27,78<i>a</i></b>	<b>18,97<i>б</i></b>	<b>26,27</b>

<sup>1</sup> НЗР<sub>0,05</sub> = 5,24

<sup>2</sup> НЗР<sub>0,05</sub> = 3,52

<sup>3</sup> НЗР<sub>0,05</sub> = 6,96

Уколико се посматрају просечне нетрансформисане вредности интензитета болести, тренд опадања је нарочито изражен код хибрида који испољавају већу осетљивост (Графикон 21). Интензитет болести се у зависности од генотипа кретао у распону од 31,8 до 60,9% код првог рока сетве. Болест код последњег рока сетве је осциловала од 0,3 до 7,3%.



Графикон 21. Просечан интензитет црне пегавости стабла сунцокрета на биљкама три хибрида сејаних у временским интервалима од 10 дана у 2010. години (X1 – НС Голијат; X2 – НС Слатки; X3 – НС Грицко)

Услед неповољних услова спољне средине болест се у 2011. и 2012. години у условима природне инфекције јављала спорадично и недовољно за испољавање разлика у погледу времена сетве.

У 2013. години, иако није било значајних разлика у интензитету болести, разлике између третмана су детектоване код појаве болести (Табела 39). Статистички значајних разлика у појави болести између хибрида није било.

Табела 39. Анализа варијансе појаве црне пегавости у 2013. години

Извори варијације	Сума квадрата	Средина квадрата	Степени слободе	F	p
Понављање	15,2	7,6	2	0,14	
Хибрид	64,5	32,3	2	0,61	0,587
Погрешка	211,8	52,9	4		
Време сетве	19041,2	2720,2	7	162,4	< 0,01
Хибрид x Време сетве	615,7	43,9	14	2,6	0,008
Погрешка	703,7	16,8	42		

Табела 40. Појава црне пегавости стабла сунцокрета на биљкама три хибрида сејаних 2013. године. Вредности су поређене након  $\arcsin\sqrt{x}$  трансформације.

Датум сетве	Хибрид			Просек <sup>2</sup>
	НС Оскар	НС Фантазија	Орфеј	
20.03.	38,94 <sup>3a</sup>	46,72 <sup>аб</sup>	44,99 <sup>a</sup>	43,55 <sup>аб</sup>
01.04.	45,57 <sup>a</sup>	48,43 <sup>a</sup>	41,34 <sup>аб</sup>	45,11 <sup>a</sup>
10.04.	40,40 <sup>a</sup>	41,07 <sup>бв</sup>	37,98 <sup>б</sup>	39,82 <sup>б</sup>
20.04.	42,84 <sup>a</sup>	39,26 <sup>в</sup>	37,34 <sup>б</sup>	39,81 <sup>б</sup>
01.05.	15,93 <sup>б</sup>	17,16 <sup>г</sup>	25,93 <sup>в</sup>	19,67 <sup>в</sup>
10.05.	10,69 <sup>б</sup>	7,16 <sup>д</sup>	18,01 <sup>г</sup>	11,95 <sup>г</sup>
20.05.	11,60 <sup>б</sup>	10,34 <sup>д</sup>	17,07 <sup>г</sup>	13,00 <sup>г</sup>
01.06.	0 <sup>в</sup>	0 <sup>ђ</sup>	1,05 <sup>д</sup>	0,35 <sup>д</sup>
<b>Просек<sup>1</sup></b>	25,75 <sup>a</sup>	26,27 <sup>a</sup>	27,96 <sup>a</sup>	26,66

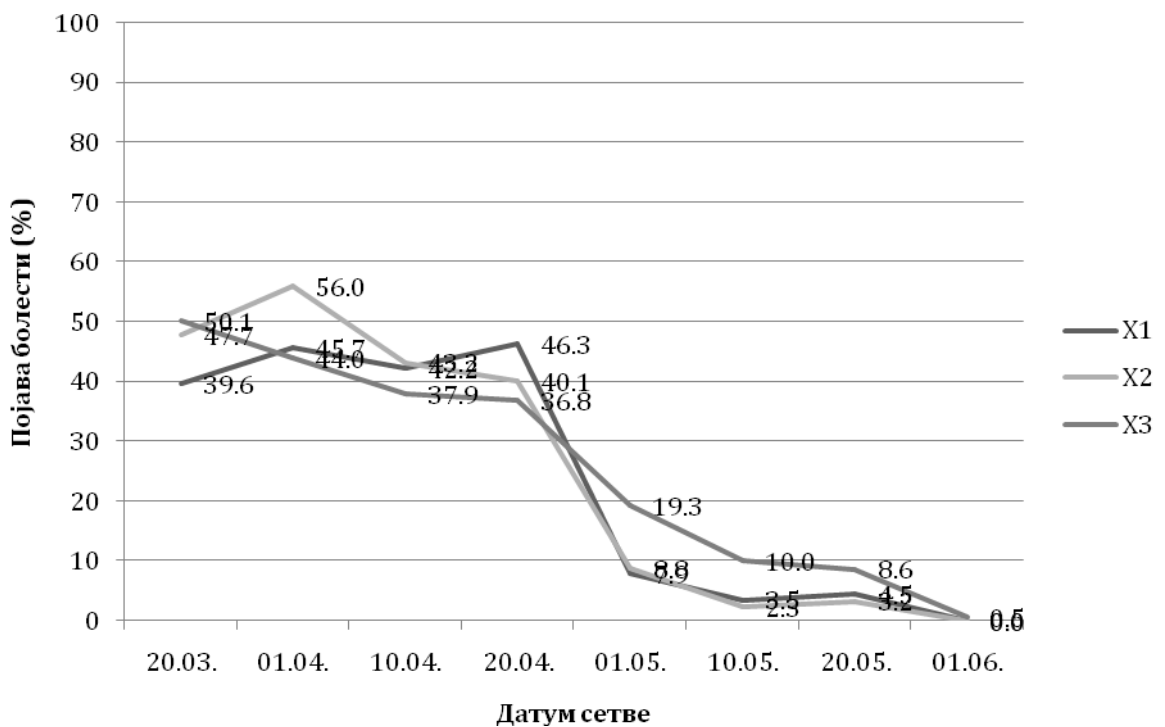
<sup>1</sup> НЗР<sub>0,05</sub> = 5,83

<sup>2</sup> НЗР<sub>0,05</sub> = 3,89

<sup>3</sup> НЗР<sub>0,05</sub> = 6,84

Појава болести код биљака сунцокрета чија је сетва била 20. марта и 1. априла се није статистички разликовала (Табела 40). Просеци појаве болести код биљака у третманима са сетвом 10. и 20. априла се нису статистички разликовали од појаве болести код биљака чија је сетва била 20. марта. Појава болести код биљака чија је сетва била 1. маја се значајно разликовала у поређењу са појавом болести код тремана претходних рокова сетве и наредна два рока сетве. Најмања појава црне пегавости је забележена код биљака чија је сетва била 1. јуна.

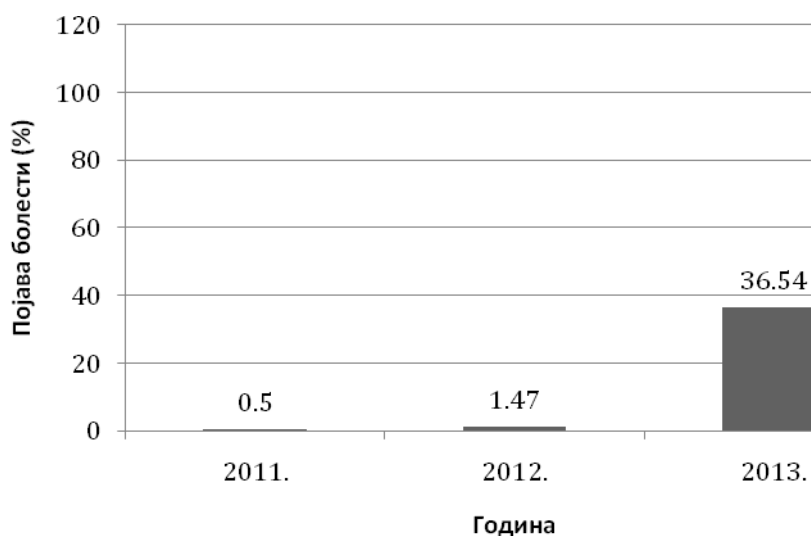
Код свих посматраних хибрида, у треманима који обухватају прва четири рока сетве, проценат биљака са симптомима се кретао у оквирима од 36,8 до 56% уз тенденцију опадања (Графикон 22). Изражен пад вредности параметра је забележен код биљака чија је сетва била 1. маја. Појава болести код третмана од којих је сетва обављена 1. јуна је била спорадична.



Графикон 22. Просечна појава црне пегавости стабла сунцокрета на биљкама сејаних 2013. године (X1 – НС Оскар; X2 – НС Фантазија; X3 – Орфеј).

## 6.6. Утицај склопа биљака на појаву и интензитет црне пегавости стабла сунцокрета

Црна пегавост је у експерименту где су третмани представљали различиту бројност биљака по јединици површине, у условима природне инфекције праћена од 2011. до 2013. године. У прве две године појава болести је имала просек испод 2%, а у трећој години 36,54% (Графикон 23).



Графикон 23. Просечна појава црне пегавости у току три године на биљкама сунцокрета у пољском експерименту са различитим биљним склопом

Разлике између третмана су биле присутне само у 2013. години код параметра појаве болести. Просечна појава болести се значајно разликовала између хибрида и биљног слопа (Табела 41).

Статистички значајна разлика у појави болести између третмана са 20 000 биљака/ха и 30 000 биљака/ха је забележена само код хибрида Орфеј (Табела 42). Појава болести код свих хибрида се статистички није разликовала код третмана који представљају склоп од 50 000, 60 000 и 70 000 биљака/ха. Посматрано по појединачним хибридима статистички значајне разлике између просека појаве болести су биле између третмана који представљају склоп од 30 000 и 40 000 биљака/ха (НС Оскар) и 40 000 и 50 000 биљака/ха (НС Фантазија и Душко).

Табела 41. Анализа варијансе појаве црне пегавости у 2013. години

Извори варијације	Сума квадрата	Средина квадрата	Степени слободе	F	p
Понављање	390,7	390,7	1	10,9	
Хибрид	1276,4	255,3	5	7,14	0,025
Погрешка	178,6	35,7	5		
Биљни склоп	2758,8	551,8	5	16,9	< 0,01
Хибрид x биљни склоп	1059,5	42,4	25	1,3	0,244
Погрешка	977,44	32,6	30		

Табела 42. Појава црне пегавости стабла сунцокрета на биљкама шест хибрида гајених у условима различитог биљног склопа у 2013. години. Вредности су поређене након  $\arcsin\sqrt{x}$  трансформације.

Биљни склоп (број биљака / ha)	Хибрид						Просек <sup>2</sup>
	НС Оскар	НС Фантазија	Орфеј	НС Новак	НС Константин	Душко	
20 000	58,82 <sup>3a</sup>	38,30a	56,72a	40,59ab	47,19a	46,09a	47,95a
30 000	45,74a	28,28ab	42,15b	48,69a	36,76ab	42,10ab	40,62b
40 000	32,46b	31,58ab	44,49b	37,98ab	32,53b	47,18a	37,70bв
50 000	36,20b	26,12b	38,28b	37,06ab	35,56b	29,47в	33,78вz
60 000	33,61b	24,27b	34,06b	30,94b	30,55b	25,72в	29,86z
70 000	28,48b	23,70b	38,11b	33,62b	28,51b	33,99bв	31,83вz
<b>Просек<sup>1</sup></b>	39,22ab	28,71в	42,30a	38,14ab	35,18b	37,42b	36,83

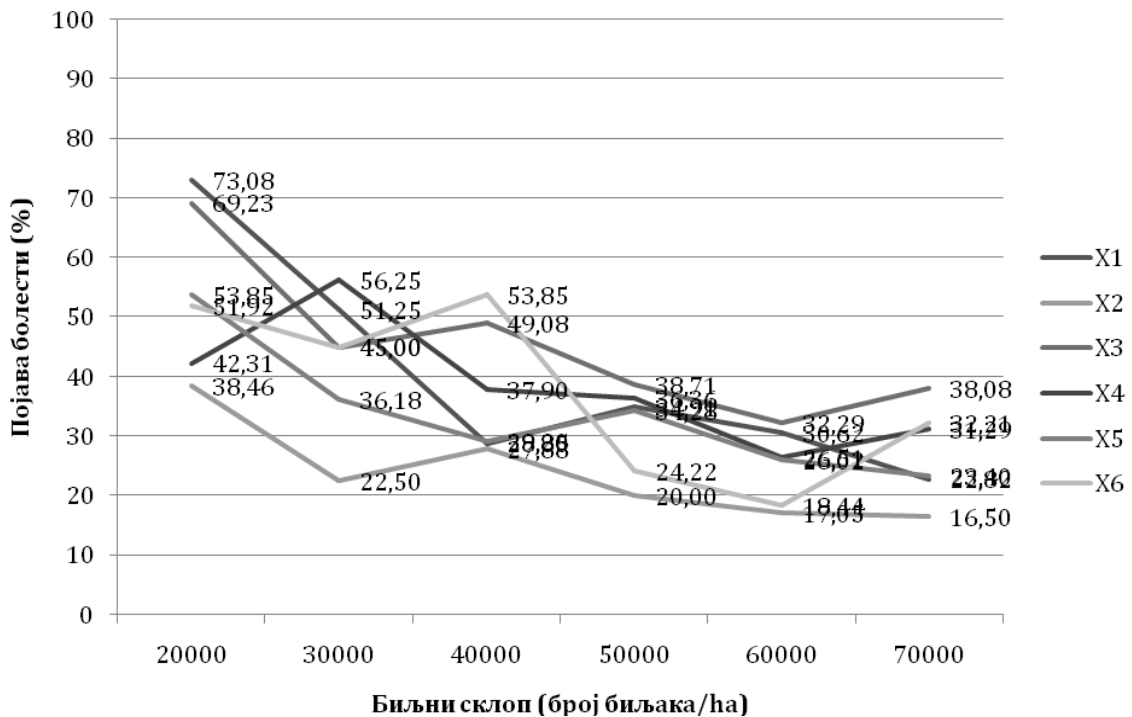
<sup>1</sup> НЗР<sub>0,05</sub> = 6,27

<sup>2</sup> НЗР<sub>0,05</sub> = 4,76

<sup>3</sup> НЗР<sub>0,05</sub> = 11,66



Процент биљака са симптомима је изражено варирао код различитих хибрида и између различитих третмана. Код третмана са најмањом густином разлике у појави болести између хибрида су прелазиле 30% (Графикон 24). Са повећањем броја биљака по јединици површине појава болести је имала тенденцију опадања и код третмана који представља највећи биљни склоп се кретала у распону од 16,5 до 38,1%.



Графикон 24. Просечна појава црне пегавости стабла сунцокрета на биљкама шест хибрида гајених у условима различитог биљног слопа у 2013. години (X1 – НС Оскар; X2 – НС Фантазија; X3 – Орфеј; X4 – НС Новак; X5 – НС Константин; X6 – Душко).

### 6.7. Преношење патогена семеном и презимљавање

Процент семена сунцокрета код кога је установљено присуство патогена је у експерименталним узорцима варирао од 0 до 2,5% (Табела 43). Просечно је утврђено 0,68% зараженог семена у свим узорцима. Разлике су установљене између локалитета и гајених хибрида. Најмањи проценат

зараженог семена је утврђен код узорака прикупљених на локалитетима Прахово и Сомбор и износио је 0,17%, а највећи проценат код узорка семена прикупљеног на локалитету Крчедин и износио је 1,83%. Просечно присуство патогена на семену биљака хибрида на узорцима са свих локалитета се кретало од 0,5 до 0,89%. У узорцима семена хибрида Бранко и НС Новак, прикупљеног на локалитетима Кула и Прахово, патоген није утврђен. Одсуство гљиве је забележено и за узорке семена са локалитета Сомбор (хибрид Бранко) и локалитета Врбас (хибрид НС Новак). Код свих узорака семена са биљака хибрида Бачванин утврђено је присуство патогена.

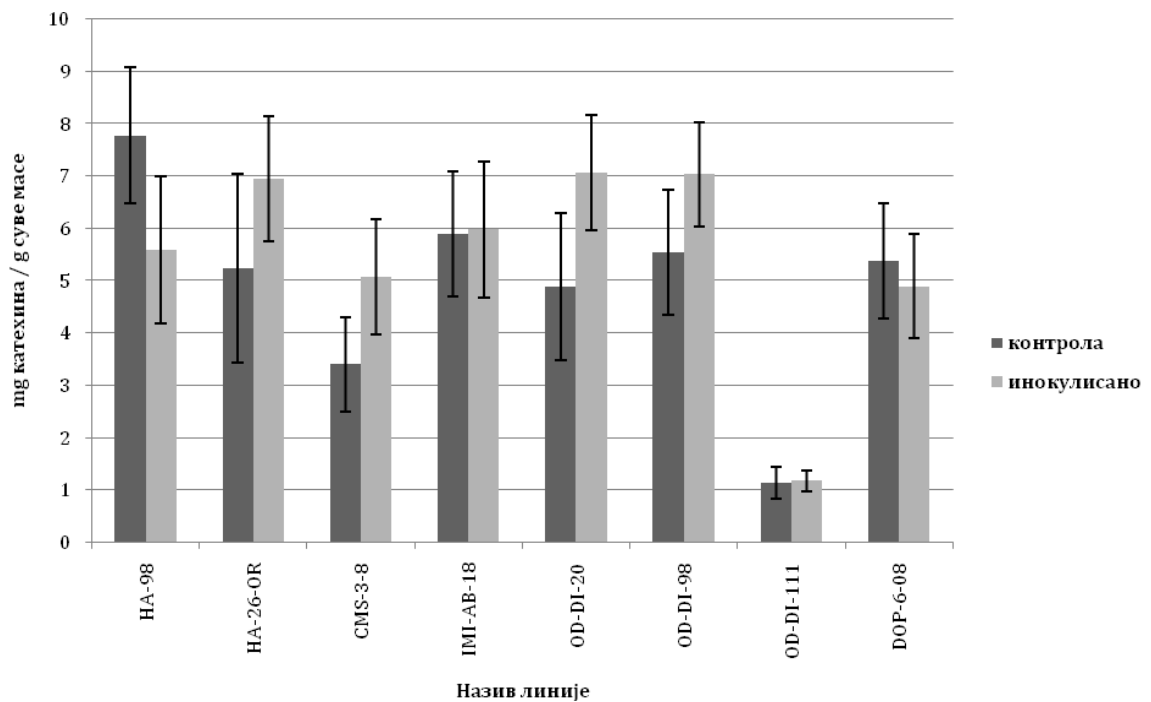
Табела 43. Зараженост семена сунцокрета гљивом *P. macdonaldii* у узорцима прикупљеним на биљкама хибрида Бранко, Бачванин и НС Новак

Локалитет	Зараженост семена (%)			Просек
	Бранко	Бачванин	НС Новак	
Крчедин	2,25	2,00	1,25	1,83
Нештин	0,50	1,50	0,75	0,92
Панчево	0,50	1,75	2,50	1,58
Вршац	0,50	0,25	0,50	0,42
Врбас	0,50	0,25	0	0,25
Зајечар	0,25	0,50	0,50	0,42
Сомбор	0	0,25	0,25	0,17
Кула	0	1,00	0	0,33
Прахово	0	0,50	0	0,17
Просек	0,50	0,89	0,64	0,68

Прегледом презимелих остатака стабла сунцокрета на површини земљишта и закопаних на дубинама од 10, 20 и 30 cm установљено је присуство пикнида гљиве.

### 6.8. Анализа садржаја фенолних једињења

Садржај укупних растворљивих фенола се значајно разликовао у зависности од генотипа (Графикон 25). Највећа вредност је забележена код линије НА-98, а осам пута мање је одређено у узорцима линије OD-DI-111. Промена у садржају укупних растворљивих фенола у односу на контролне биљке је варијала у односу на генотип. До значајне промене није дошло код линија IMI-AB-18 и OD-DI-111. До израженог смањења садржаја растворљивих фенола је дошло код линије НА-98, а пад је забележен и код линије DOP-6-08. Код осталих линија садржај растворљивих фенола је код инокулисаних биљака био већи у односу на контролне биљке.

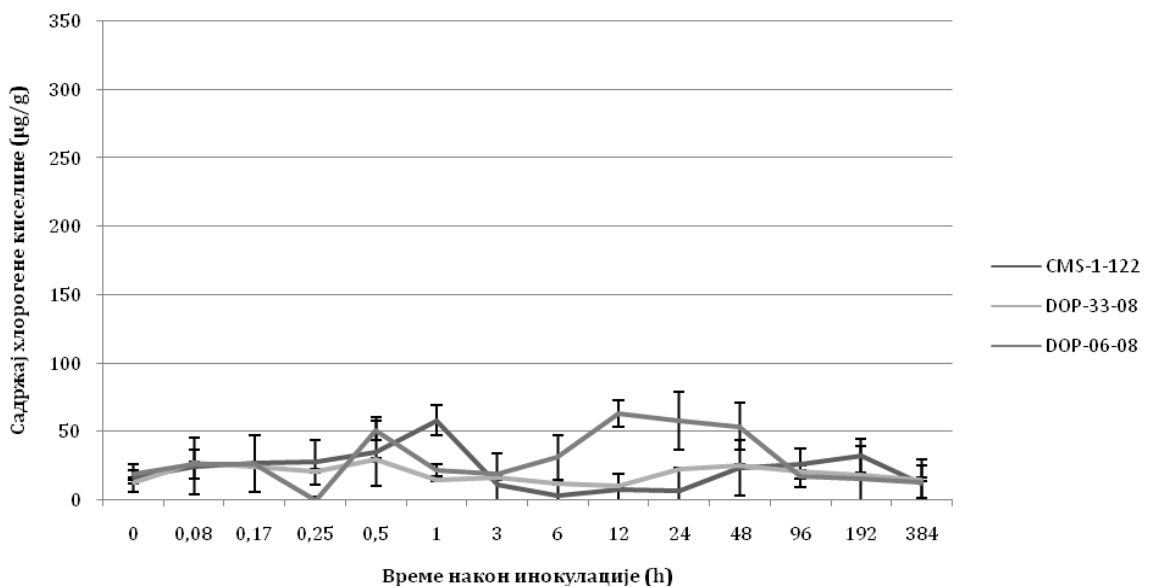


Графикон 25. Просечан садржај укупних растворљивих фенола у котиледонима биљака инокулисаних суспензијом пикноспора *P. macdonaldii* и контролних биљака код којих је за инокулацију употребљена стерилна дестилована вода

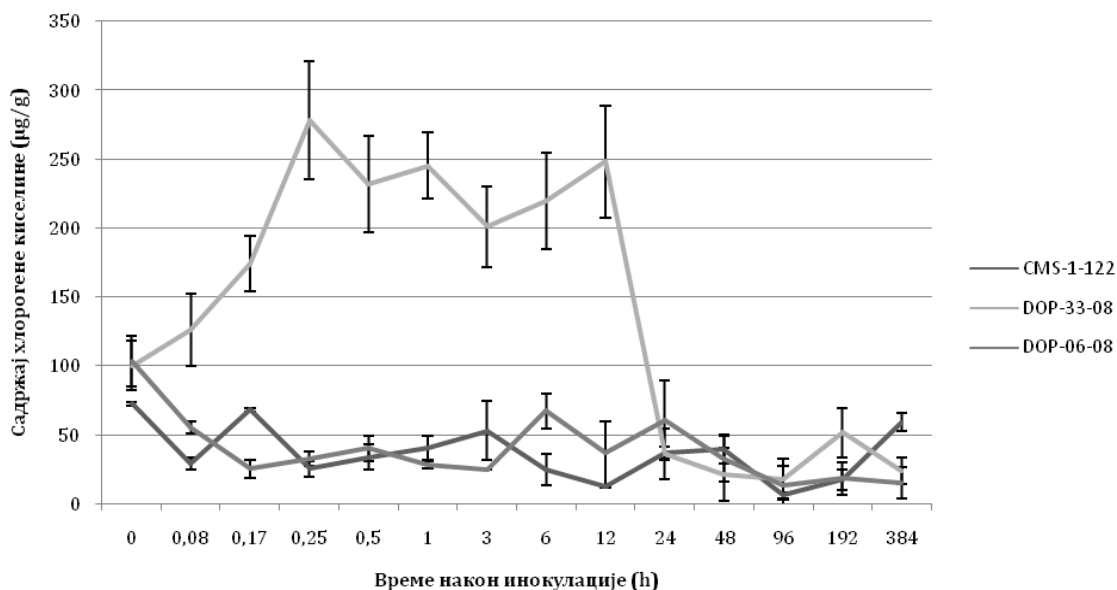
Од фенолних киселина и флавоноида кориштених у истраживању у малом броју узорка су детектоване кафена, *p*-кумаринска, ферулична и *trans*-

цинаминска киселина. У узорцима у којима су детектоване њихов садржај је био испод 1 µg/g.

У свим анализираним узорцима детектовано је присуство хлорогене киселине. Садржај ове киселине је значајно варирао у зависности да ли су тестиране линије прскане стерилном дестилованом водом или суспензијом пикноспора патогена. Повећање садржаја хлорогене киселине констатовано је у узорцима свих линија након инокулације патогеном у односу на тремане са стерилном дестилованом водом. Концентрација хлорогене киселине није прелазила вредност 60 µg/g у ткиву листа биљака код којих је третман била стерилна дестилована вода (Графикон 26). Исти параметар се код инокулисаних биљака значајно разликовао у периоду 24 h након инокулације. У овом периоду је садржај код линије која је испољила висок степен отпорности достигао вредност од 278 µg/g, а код осталих линија максималних 68 µg/g (Графикон 27). Концентрација хлорогене киселине у ткивима листа биљака отпорне линије значајно опада 24 h након инокулације и статистички се значајно не разликује у односу на вредности детектоване код осетљиве линије.



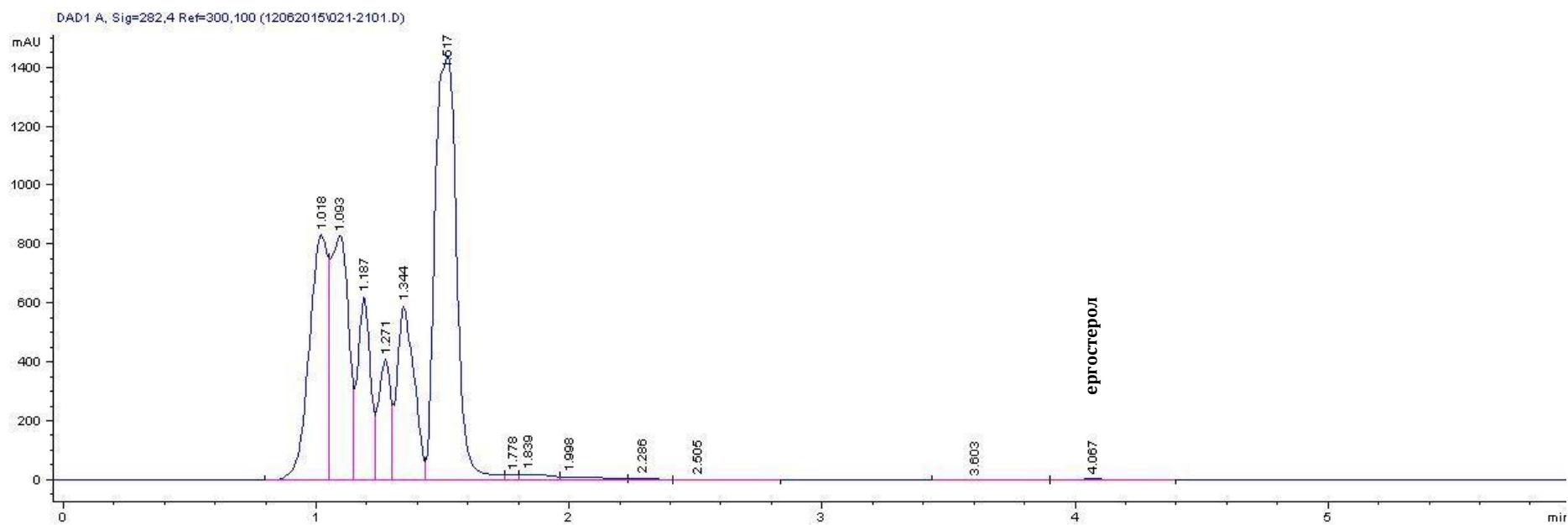
Графикон 26. Садржај хлорогене киселине изражен у µg/g свеже масе листа биљака осетљиве и отпорне инбред линије сунцокрета након третмана стерилном дестилованом водом



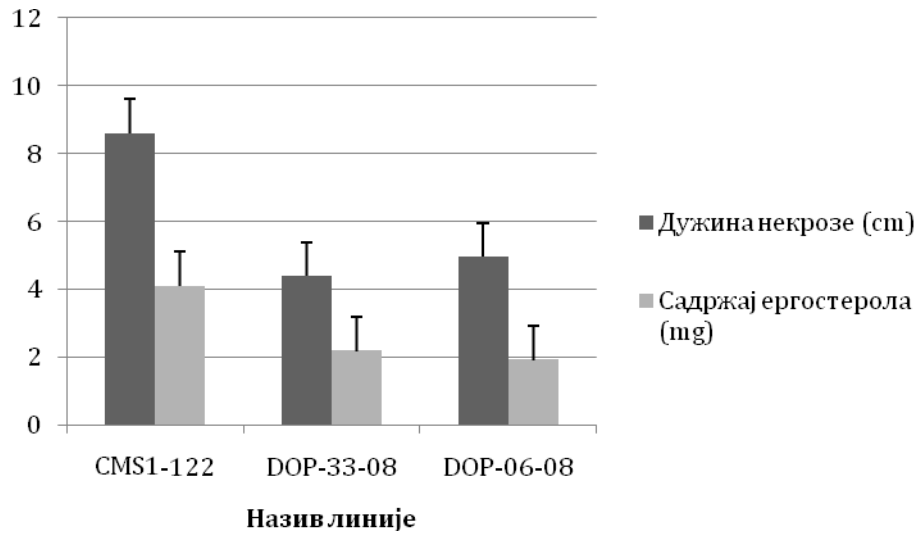
Графикон 27. Садржај хлорогене киселине изражен у µg/g свеже масе листа након инокулације осетљиве и отпорне инбред линије сунцокрета прскањем суспензијом пикноспора гљиве *P. macdonadii*

### 6.9. Одређивање садржаја ергостерола у ткиву сунцокрета са симптомом болести

Садржај ергостерола у узорцима ткива стабла сунцокрета, одређен на основу површине пика на ретенционом времену од 4 минута (Слика 9), се просечно кретао од 1,9 до 4,1 mg (Графикон 28). Садржај ергостерола је био у позитивној корелацији са дужином некрозе на стаблу. Инбред линија CMS1-122 је имала просечно највећу дужину некрозе на стаблу и највећи садржај ергостерола (Графикон 28). Обе вредности су се статистички значајно разликовале у поређењу са одговарајућим вредностима инбред линија DOP-33-08 и DOP-06-08.



Слика 9. HPLC-DAD хроматограм узорка ткива сунцокрета са симптомом болести



Графикон 28. Просечна дужина некрозе и садржај ергостерола у ткиву стабла сунцокрета са симптомима болести код линија са различитим степеном осетљивости према црној пегавости стабла сунцокрета. Вертикални барови означавају вредност НЗР вредност за ниво значајности од 5%.

### 6.10. Одгајивачке особине гљиве

Раст и развој гљиве *P. macdonaldii* је тестиран гајењем на различитим подлогама и у различитим условима температуре и рН.

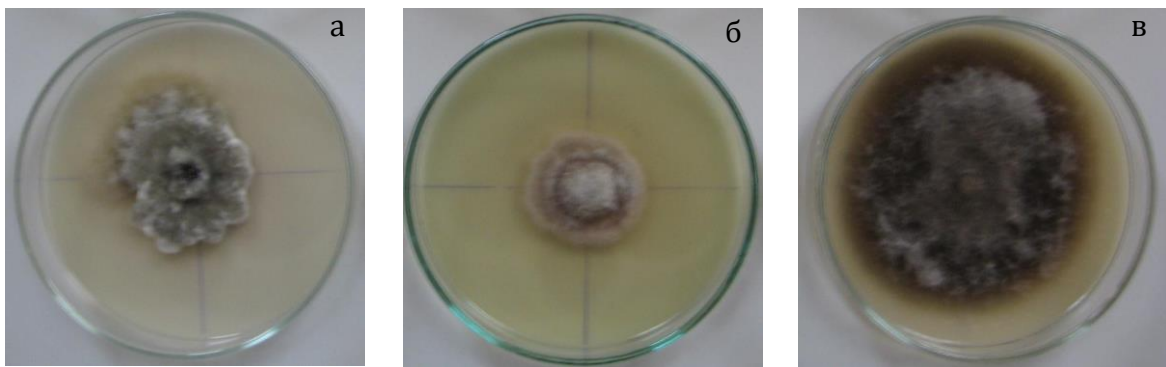
Гајењем гљиве на PDA, MA и OA подлози, значајне разлике у порасту су добијене мерењем пречника колоније након 7 дана ( $F=324,2$ ;  $p<0.01$ ) и 14 дана ( $F=209,9$ ;  $p<0.01$ ) (Табела 44; Слика 10). Најбржи пораст је забележен на OA подлози. Након 7 и 14 дана просечан пречник колоније гљиве на овој подлози се статистички значајно разликовао у поређењу са просечним пречником гљиве гајене на осталим подлогама. Значајна разлика у просецима пречника колоније на PDA и MA подлози је забележена само код мерења након 7 дана раста. Продукција пикнида је била највећа на OA подлози, мања на MA и најмања на PDA подлози.

Табела 44. Раст гљиве *P. macdonaldii* на PDA, МА и ОА подлози и оцена продукције пикнида. Значајне разлике у пречнику колоније су означене различитим словима за ниво значајности од 5%

Подлога	Пречник колоније (mm)		Оцена продукције пикнида
	7. дан <sup>1</sup>	14. дан <sup>2</sup>	
PDA	22б	35а	2
МА	17а	32а	3
ОА	40в	89б	4

<sup>1</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 2,3; НЗР<sub>0,01</sub> = 3,5

<sup>2</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 7,6; НЗР<sub>0,01</sub> = 11,6



Слика 10. Изглед колоније гљиве *P. macdonaldii* након 14 дана раста на подлогама PDA (а), МА (б) и ОА (в)

Утврђено је постојање значајне разлике у просечном пречнику колоније гљиве између појединачних изолата ( $F=85,2$ ;  $p<0.01$ ). Мерењем пречника колоније након 7 дана, најслабији пораст је измерен код изолата прикупљених на локалитетима Доњи Товарник и у региону Тракија у Турској, док је изолат прикупљен на локалитету Римски шанчеви имао најбржи пораст (Табела 45). Поређењем просека пречника колоније гљиве након 14 дана издвојила се група изолата прикупљених на локалитетима Марадик и Тракија, са просечним пречником колоније од 22 и 26 mm. Остали изолати, између чијих просека пречника колоније није утврђено постојање статистички значајне разлике, са варирањем просечних пречника колоније од 35 до 40 mm су чинили другу групу.



Разлике између изолата су се испољиле и у продукцији пикнида и стварању пигмента. Највећа продукција пикнида забележена је код изолата прикупљених на локалитетима Самош, Тракија и Николајев (Украјина) (Табела 45). До стварања пигмента по додатку NaOH дошло је код изолата прикупљених на локалитетима Римски шанчеви, Марадик, Тракија, Кођелак (Румунија) и Херсон (Украјина).

Табела 45. Раст изолата гљиве *P. macdonaldii* прикупљених на различитим локалитетима на МА подлози, оцена продукције пикнида и одређивање присуства пигмента помоћу NaOH теста. Значајне разлике за пречник колоније су означене словима за ниво значајности од 5%

Локалитет / држава	Пречник колоније (mm)		Оцена продукције пикнида	Присуство пигмента
	7. дан <sup>1</sup>	14. дан <sup>2</sup>		
Римски шанчеви / Србија	27 <sub>г</sub>	39 <sub>б</sub>	2	+
Самош / Србија	22 <sub>в</sub>	35 <sub>б</sub>	4	-
Марадик / Србија	19 <sub>б</sub>	22 <sub>а</sub>	2	+
Доњи Товарник / Србија	16 <sub>а</sub>	36 <sub>б</sub>	3	-
Тракија / Турска	17 <sub>аб</sub>	26 <sub>а</sub>	4	+
Кођелак / Румунија	23 <sub>в</sub>	38 <sub>б</sub>	2	+
Николајев / Украјина	21 <sub>б</sub>	38 <sub>б</sub>	4	-
Херсон / Украјина	23 <sub>в</sub>	40 <sub>б</sub>	2	+

<sup>1</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 2,5; НЗР<sub>0,01</sub> = 3,6

<sup>2</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 5,1; НЗР<sub>0,01</sub> = 7,2

Гајењем гљиве у течној подлози са различитим изворима угљеника и азота, забележене су статистички значајне разлике изражене масом колоније (F=11,1; p<0.01). Најбољи пораст колоније код подлога са различитим изворима угљеника је био на подлози са глукозом (Табела 46). Између раста гљиве на овој

подлози и подлогама са скробом, малтозом глицеролом и Д-галактозом, није било статистички значајне разлике. Најслабији пораст гљиве је забележен на подлози са манитолом, а потом на подлогама са фруктозом и лактозом. Разлика у маси колоније између ове три подлоге није била статистички значајна. Продукција пикнида је забележена на подлогама са манитолом, глукозом и малтозом.

Табела 46. Раст колоније гљиве *P. macdonaldii* и продукција пикнида на течним подлогама са различитим изворима угљеника. Значајне разлике у маси колоније су означене различитим словима за ниво значајности од 5%

Извор угљеника	Маса колоније (mg)	Оцена присуства пикнида
Сахароза	138,6в	0
Манитол	131,5в	1
Глицерол	126,5в	0
Глукоза	98,9б	4
Лактоза	79,5б	0
Малтоза	77,7б	2
Скроб	76,1б	0
Д-галактоза	74,1аб	0
Фруктоза	47,2а	0

$NЗР_{0,05} = 27,9$ ;  $NЗР_{0,01} = 38,2$

Гајењем гљиве на подлози са агаром и са различитим изворима угљеника забележене су статистички значајне разлике у просечном пречнику колоније после мерења након 7 дана ( $F=39,6$ ;  $p<0.01$ ) и 14 дана ( $F=32,4$ ;  $p<0.01$ ) (Слика 11). Мерењем након 7 дана највећи просечни пречник колоније гљиве је забележен на подлози са глицеролом (Табела 47). Просечан пречник колоније изнад 30 mm је измерен код подлога са скробом и манитолом. На подлогама где су кориштена остала једињења као извори угљеника, просечан пречник колоније је варирао од 17,4 до 27,4 mm. Просечни пречници колоније гљиве мерени након 14 дана су код већине изолата били у распону од 54,5 до 58 mm.

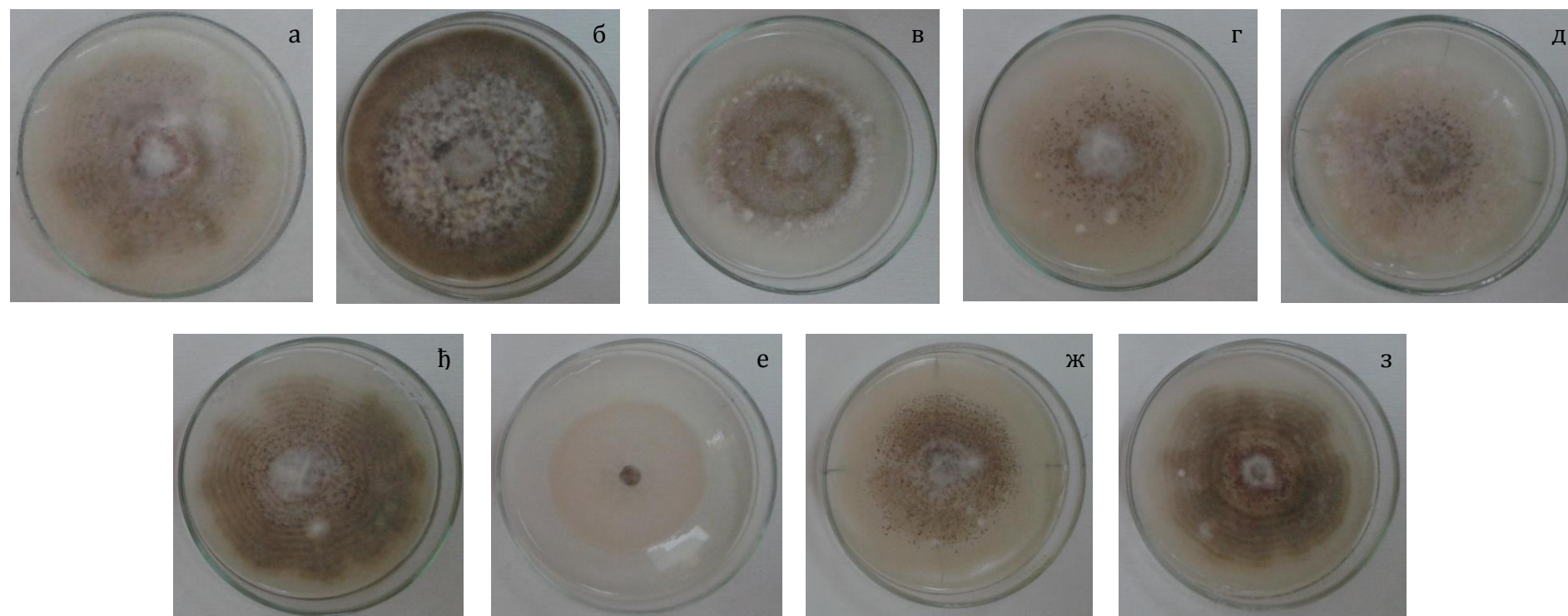
Значајно већи просечни пречник је измерен на подлози са манитолом и глицеролом, а значајно мањи на подлогама са Д-галактозом и фруктозом.

Табела 47. Раст колоније гљиве *P. macdonaldii* и продукција пикнида на чврстим подлогама са различитим изворима угљеника. Значајне разлике у пречнику колоније су означене различитим словима за ниво значајности од 5%

Извор азота	Пречник колоније (mm)		Оцена присуства пикнида	
	7. дан <sup>1</sup>	14. дан <sup>2</sup>	7. дан	14. дан
Сахароза	21,5бв	58,0бв	2	2
Манитол	32,9д	76,1г	1	2
Глицерол	37,5ђ	61,6в	0	1
Глукоза	23,7бв	55,6б	3	3
Лактоза	27,4г	56,1б	0	2
Малтоза	22,9б	57,0б	2	2
Скроб	35,7дђ	54,5аб	0,5	1
Д-галактоза	19,9аб	51,6а	2	2
Фруктоза	17,4а	51,1а	2	3

<sup>1</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 3,3; НЗР<sub>0,01</sub> = 4,5

<sup>2</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 3,8; НЗР<sub>0,01</sub> = 5,2



Слика 11. Изглед колоније гљиве *P. macdonaldii* након 14 дана раста на подлози са сахарозом (а), манитолом (б), глицеролом (в), глюкозом (г), лактозом (д), малтозом (ђ), скробом (е), Д-галактозом (ж) и фруктозом (з)

Анализом варијансе утврђено је постојање значајних разлика у просечној маси колоније гљиве гајене у течной хранљивој подлози ( $F=22,2$ ;  $p<0.01$ ) и просечном пречнику колоније гљиве гајене на чврстој хранљивој подлози са различитим изворима азота, мерене након 7 ( $F=57,3$ ;  $p<0.01$ ) и 14 дана ( $F=226,2$ ;  $p<0.01$ )(Слика 12).

На подлогама са различитим изворима азота најбољи пораст је забележен на подлози са  $KNO_3$  (Табела 48). Следе подлоге са аспарагином, аланином, уреом и  $NaNO_3$ , између којих није било статистички значајне разлике у маси мицелије. Најмања маса колоније је измерена након гајења гљиве на подлози са  $NH_4NO_3$  која се статистички значајно разликовала у поређењу са масом колоније на подлози са  $NH_4Cl$ . Продукција пикнида је забележена код подлога са аланином, аспарагином,  $NaNO_3$  и уреом.

Табела 48. Раст колоније гљиве *P. macdonaldii* и продукција пикнида на течним подлогама са различитим изворима азота. Значајне разлике у маси колоније су означене различитим словима за ниво значајности од 5%

Извор азота	Маса колоније (mg)	Оцена присуства пикнида
$KNO_3$	115,8 $b$	0
Аланин	70,8 $b$	1
Аспарагин	67,1 $b$	1
$NaNO_3$	64,3 $b$	3
Уреа	61,6 $b$	1
$NH_4Cl$	28,5 $a$	0
$NH_4NO_3$	24,2 $a$	0

$HSP_{0,05} = 19,6$ ;  $HSP_{0,01} = 27,2$

Слично као и код поређења масе колоније, мале вредности просечног пречника колоније су измерене код подлога са  $NH_4NO_3$  и  $NH_4Cl$  код оба времена мерења (Табела 49). Супротно овим вредностима, просечан пречник колоније на подлогама са  $KNO_3$  и  $NaNO_3$  је у поређењу са подлогама где су кориштена

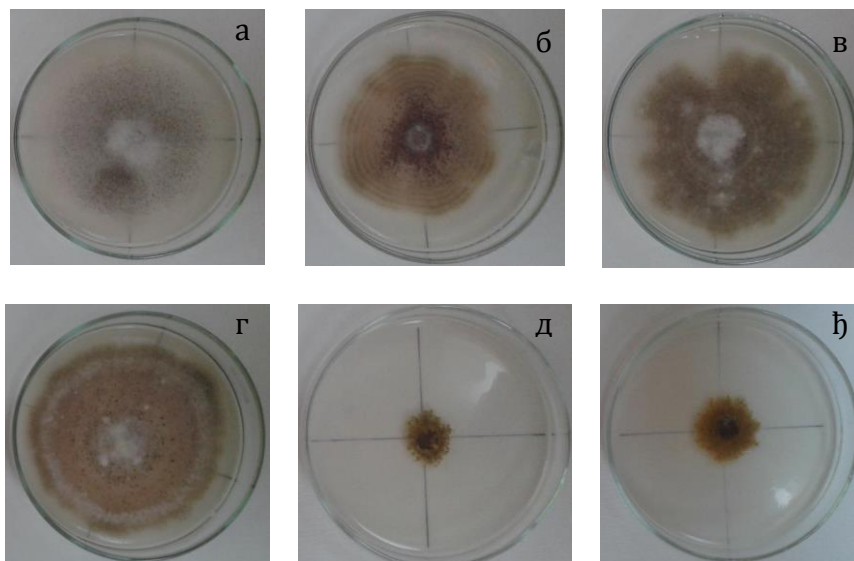
друга једињења као извори азота био значајно већи. Продукција пикнида није забележена на подлогама са  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , а изражена је била на подлогама са  $\text{KNO}_3$ , аланином и  $\text{NaNO}_3$ .

Табела 49. Раст колоније гљиве *P. macdonaldii* и продукција пикнида на чврстим подлогама са различитим изворима азота. Значајне разлике у маси колоније су означене различитим словима за ниво значајности од 5%

Извор азота	Пречник колоније (mm)		Оцена присуства пикнида	
	7. дан <sup>1</sup>	14. дан <sup>2</sup>	7. дан	14. дан
$\text{KNO}_3$	35,6 <i>г</i>	78,9 <i>д</i>	2	4
Аланин	20,2 <i>б</i>	42,3 <i>б</i>	3	4
Аспарагин	28,6 <i>в</i>	56,0 <i>в</i>	2	3
$\text{NaNO}_3$	37,8 <i>г</i>	79,8 <i>д</i>	2	4
Уреа	27,4 <i>в</i>	62,1 <i>г</i>	1	2,5
$\text{NH}_4\text{Cl}$	9,9 <i>а</i>	18,1 <i>а</i>	0	0
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	17,0 <i>б</i>	21,3 <i>а</i>	0	0

<sup>1</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 3,9; НЗР<sub>0,01</sub> = 5,4

<sup>2</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 4,9; НЗР<sub>0,01</sub> = 6,7



Слика 12. Изглед колоније гљиве *P. macdonaldii* након 14 дана раста на подлози са  $\text{KNO}_3$  (а), аланином (б), аспарагином (в), уреом (г),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (д) и  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (ђ)

Утицај различитих температурних услова на раст гљиве *P. macdonaldii* је био значајан при мерењу након 7 ( $F=511,4$ ;  $p<0.01$ ) и 14 дана ( $F=977,7$ ;  $p<0.01$ )(Слика 13). Раст није забележен при гајењу на температурама од 5 и 35 °C (Табела 50). Са порастом температуре просечан пречник колоније се повећавао достижући максималне вредности при гајењу на температурама од 25 и 30 °C. Највећа продукција пикнида је забележена код гајења на температури од 20 °C, а гљива није формирала ове структуре на температури од 30 °C.

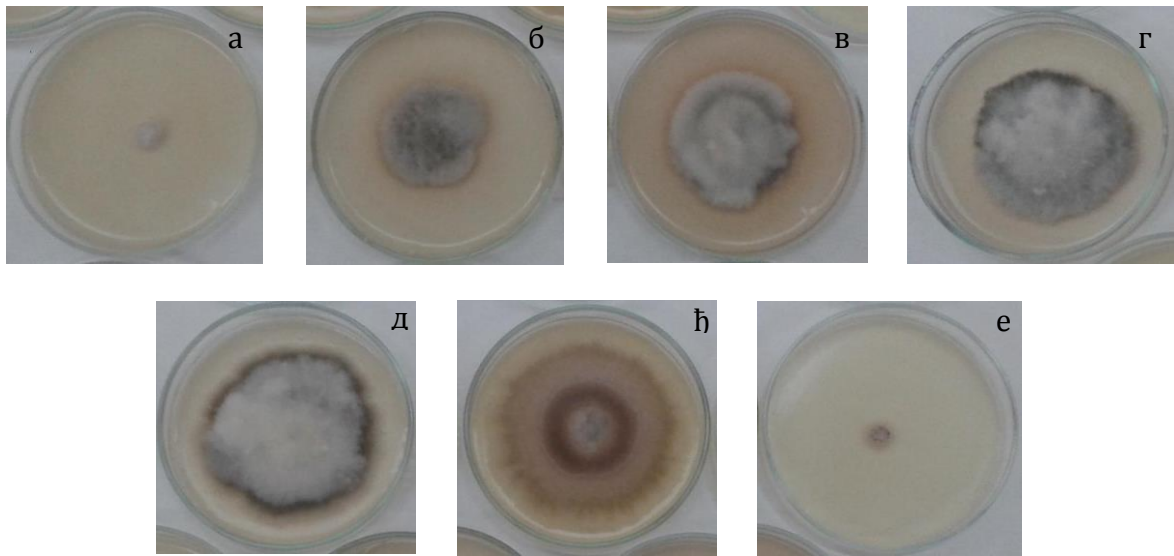
Табела 50. Раст колоније гљиве *P. macdonaldii* и продукција пикнида на PDA подлози при гајењу при различитим температурним условима. Значајне разлике у маси колоније су означене различитим словима за ниво значајности од 5%

Температура (°C)	Пречник колоније (mm)		Оцена присуства пикнида
	7. дан <sup>1</sup>	14. дан <sup>2</sup>	
5	0a	0a	-
10	16b	27b	1
15	21b	35b	2
20	31c	42c	4
25	37d	52d	1
30	36d	53d	0
35	0a	0a	-

<sup>1</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 2,2; НЗР<sub>0,01</sub> = 3,0

<sup>2</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 2,2; НЗР<sub>0,01</sub> = 3,1

Анализом варијансе утврђено је постојање значајних разлика просечне масе колоније гљиве *P. macdonaldii* гајене у условима различите рН вредности хранљиве подлоге ( $F=12,1$ ;  $p<0.01$ ). Поређењем путем НЗР теста третмани су издвојени у две групе. Група са третманима код којих је забележена значајно виша просечна маса колоније гљиве, обухвата подлоге са вредности рН од 5, 6 и 7 (Табела 51). Код ове групе третмана је забележена и изражена продукција пикнида. Пикниди су се формирали и при гајењу гљиве на хранљивој подлози са рН 8.



Слика 13. Изглед колоније гљиве *P. macdonaldii* након 14 дана раста у условима константне температуре од 5 (а), 10 (б), 15 (в), 20 (г), 25 (д), 30(ђ) и 35 °C (е)

Табела 51. Раст колоније гљиве *P. macdonaldii* и продукција пикнида на PDA подлози при гајењу у условима различите рН вредности хранљиве подлоге. Значајне разлике у маси колоније су означене различитим словима за ниво значајности од 5%

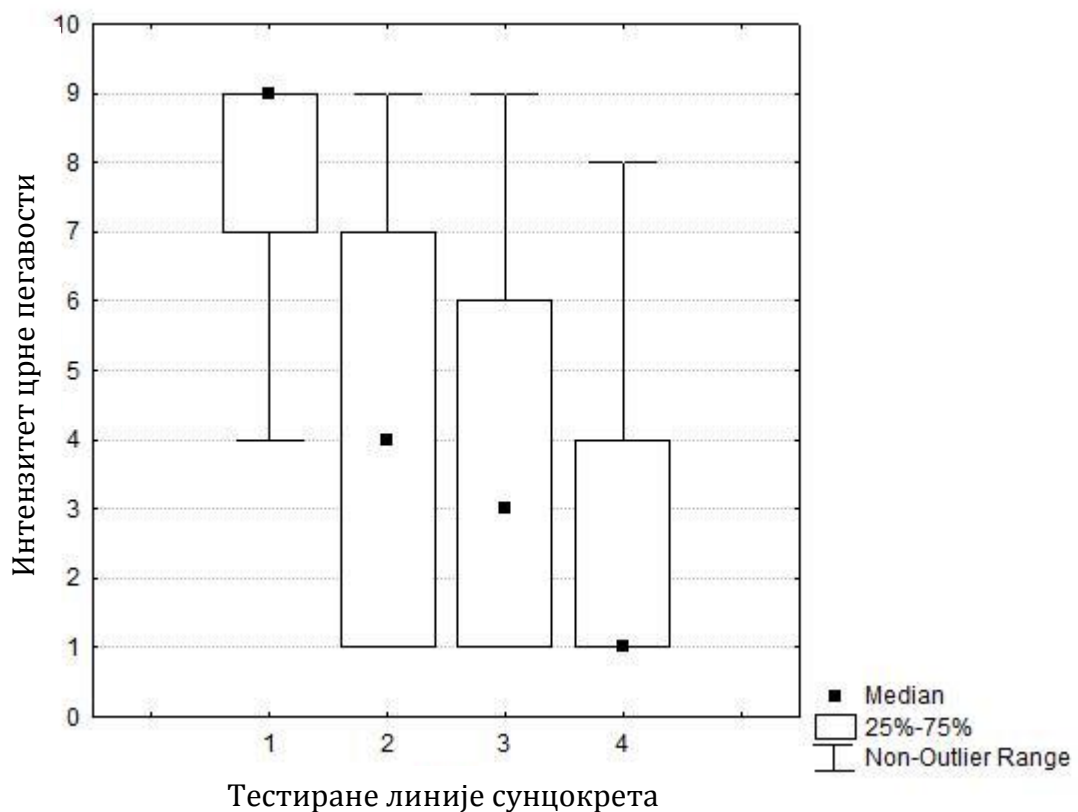
рН	Маса колоније (mg) <sup>1</sup>	Оцена присуства пикнида
3	17,7a	0
4	36,5a	0
5	65,4б	2
6	67,1б	4
7	67,5б	3
8	32,9a	2
9	24,4a	0

<sup>1</sup>НЗР<sub>0,05</sub> = 19,1; НЗР<sub>0,01</sub> = 26,8



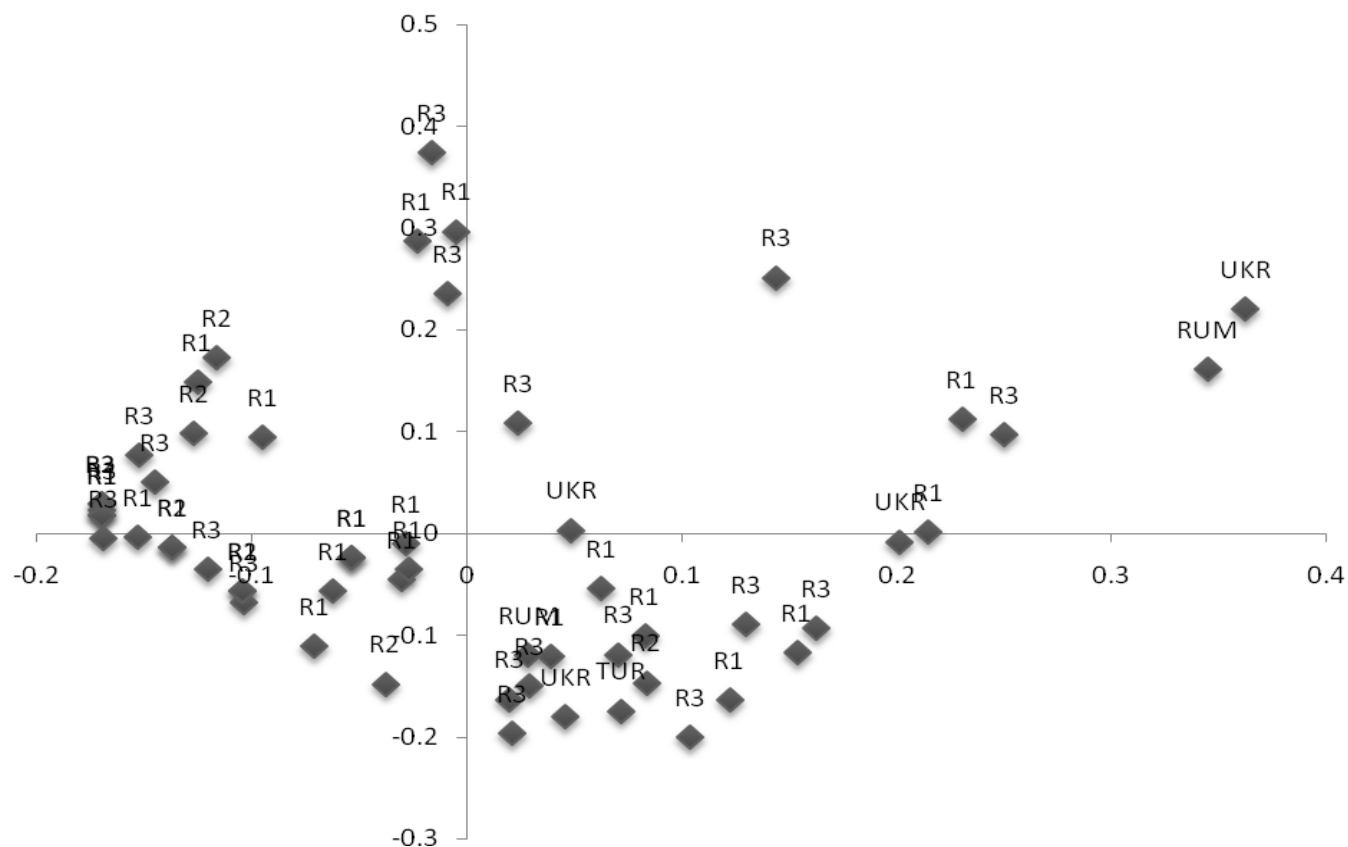
### 6.11. Агресивност изолата *P. macdonaldii*

Према резултатима интензитета појаве црне пегавости сунцокрета након инокулације са 56 изолата патогена у контролисаним условима, највећу осетљивост је испољила линија CMS-1-122, а најмању, линија DOP-32-08 (Графикон 29). Вредности медијана добијених код наведене две линије су испољиле мања одступања у односу на распон вредности између првог и трећег перцентила код линија ROD-DI-111 и VL-A-8. Овај податак указује на веће варирање интензитета болести забележених код линија ROD-DI-111 и VL-A-8 у односу на линије CMS-1-122 и DOP-32-08.



Графикон 29. Медијана и одступања од медијане интензитета црне пегавости сунцокрета на биљкама линија CMS-1-122 (1), ROD-DI-111 (2), VL-A-8 (3) и DOP-32-08 (4) инокулисаних са 56 изолата *P. macdonaldii* у контролисаним условима

Биплот анализом агресивности утврђено је постојање значајних разлика између појединачних изолата. Географско порекло није било у корелацији са агресивношћу. (Графикон 30).



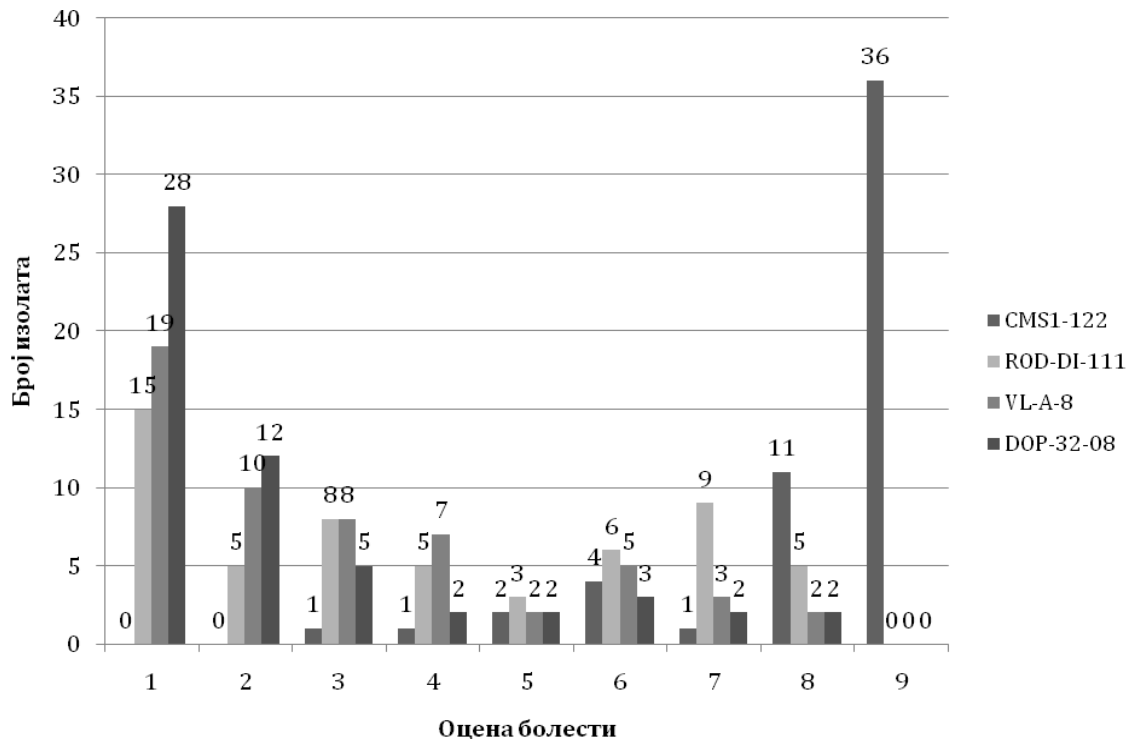
Графикон 30. Virplot анализа агресивности изолата *P. macdonaldii* подељених у категорије према месту узимања узорка. Државе из којих изолати воде порекло су: Србија (R1, R2 и R3), Украјина (UKR), Румунија (RUM) и Турска (TUR).

Табела 52. Интензитет црне пегавости сунцорета на биљкама инбред линија CMS-1-122, ROD-DI-111, VL-A-8 и DOP-32-08 инокулисаних у контролисаним условима са изолатима различитог географског порекла

Изолат	Интензитет болести (медијана)				Изолат	Интензитет болести (медијана)			
	CMS-1-122	ROD-DI-111	VL-A-8	DOP-32-08		CMS-1-122	ROD-DI-111	VL-A-8	DOP-32-08
SRB-R1S32	5	5	4	1	SRB-R1S33	8	3	3	1
SRB-R3S14	9	6	2	1	SRB-R3S50	9	7	6	1,5
SRB-R3S07	9	4	6	6	SRB-R1S35	9	1	1	3,5
SRB-R3S15	8	3	1	1	SRB-R1S19	3	3	3,5	1,5
SRB-R3S43	9	8	2	2	SRB-R2S30	8	4	1	1
SRB-R2S13	9	7	2,5	2	SRB-R1S51	9	3,5	2	1
SRB-R1S10	9	2	2	7	SRB-R1S52	9	7	5,5	6
SRB-R3S34	8	6	2	1,5	SRB-R3S21	9	7	7	5
SRB-R1S42	9	1	4	1	SRB-R3S12	9	1	2	1
SRB-R3S47	9	1	2,5	7,5	SRB-R1S04	9	3	1	1
SRB-R3S16	9	2,5	1	1	SRB-R1S29	9	7	6	1
SRB-R1S26	8	1	1	1	SRB-R1S53	9	7	7	3
SRB-R3S37	9	7	4	2,5	SRB-R3S54	9	1	6	3
SRB-R2S06	9	3	1	1	SRB-R1S23	9	3,5	3	1,5
SRB-R1S03	8	3	3	1	SRB-R1S02	8	1	1	1
SRB-R3S48	9	1	1	1	SRB-R3S08	9	1	1	2
SRB-R1S41	8	1,5	1	1	SRB-R3S39	6	1	1	1
SRB-R3S25	9	6	4	1	SRB-R3S40	6	2	7	1,5
SRB-R1S11	9	2	1	1	SRB-R2S22	8,5	5	1	1
SRB-R2S28	9	1	1	4	SRB-R1S36	9	5	5	1
SRB-R2S18	9	1	2	2	TUR-S01	7,5	7	2	2
SRB-R2S49	9	2	1	1	UKR-S01	7	8	3	6
SRB-R2S05	9	1	1	1	UKR-S02	9	7	1	2
SRB-R3S01	8,5	1	1	1	SRB-R1S27	8	8	2	3
SRB-R3S17	6	6	2	1	RUM-S01	9	5,5	3	1
SRB-R1S31	9	1	4	5	SRB-R1S45	5	3	4	1
SRB-R1S09	4	6	3	3	RUM-S02	8	8	8	7
UKR-S03	9	8	8	8	UKR-S04	6	4	5	2

Симптоми на дршкама котиледона инбред линија инокулисаних изолатима гљиве SRB-R3S48 и SRB-R2S05 су једини од укупно 56 тестираних изолата били идентични (Табела 52). Инокулацијом инбред линија са осталим изолатима добијени су специфични обрасци након визуелне оцене. Уколико се посматрају инбред линије које су испољиле одређен степен отпорности према болести, најмању агресивност су имали изолати SRB-R1S26, SRB-R3S48, SRB-R2S05, SRB-R3S01, SRB-R1S02 и SRB-R3S39. Висок степен агресивности су испољила два изолата прикупљена на подручју Србије (SRB-R1S52, SRB-R3S21) и по један пореклом из Украјине (UKR-S03) и Румуније (RUM-S02). Реакција већине изолата је пратила образац према коме су најблажи симптоми оцењени на биљкама инбред линије DOP-32-08, израженији на ROD-DI-111 и VL-A-8 и интензивни код CMS1-122. Ова правилност се није односила на изолате SRB-R1S10, SRB-R3S47, SRB-R2S28, SRB-R1S31 и SRB-R1S35 за које је након инокулације запажена израженија појава симптома на биљкама инбред линије DOP-32-08 у поређењу са ROD-DI-111 и VL-A-8.

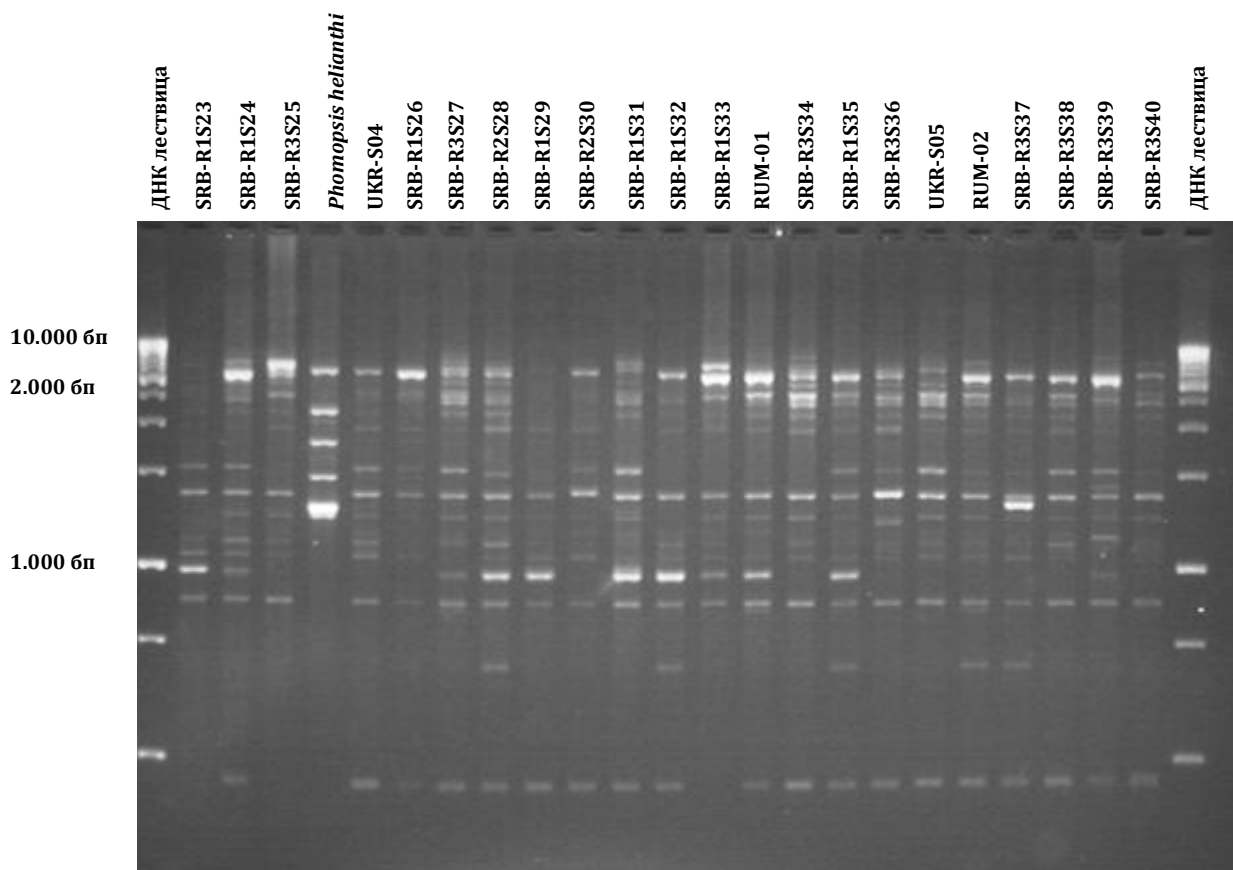
Уколико се посматра реакција појединачних линија према одређеним изолатима, дистрибуција медијана оцена симптома значајно варира у односу на инбред линију. Код линије CMS1-122, која је осетљива, симптоми проузроковани инокулацијом са већином изолата су оцењени са 8 и 9 (Графикон 31). Неколико изолата је код биљака ове линије довело до појаве знатно блажих симптома категорисаних оценом 3, 4 и 5. Код линија ROD-DI-111 и VL-A-8 је изостала појава симптома највећег интензитета. Већина изолата је код обе линије довела до појаве симптома са најнижом оценом на употребљеној скали. Број изолата сврстаних у друге категорије је код линије ROD-DI-111 варирао од 2 до 9, а код линије VL-A-8 од 2 до 10. Линија DOP-32-08 је у пољским експериментима, испољила висок степен отпорности, а након инокулације са 45 од укупно 56 тестираних изолата патогена, испољила је најблажи тип симптома. Код ове линије су поједини изолати проузроковали симптоме у категоријама од 5 до 8.



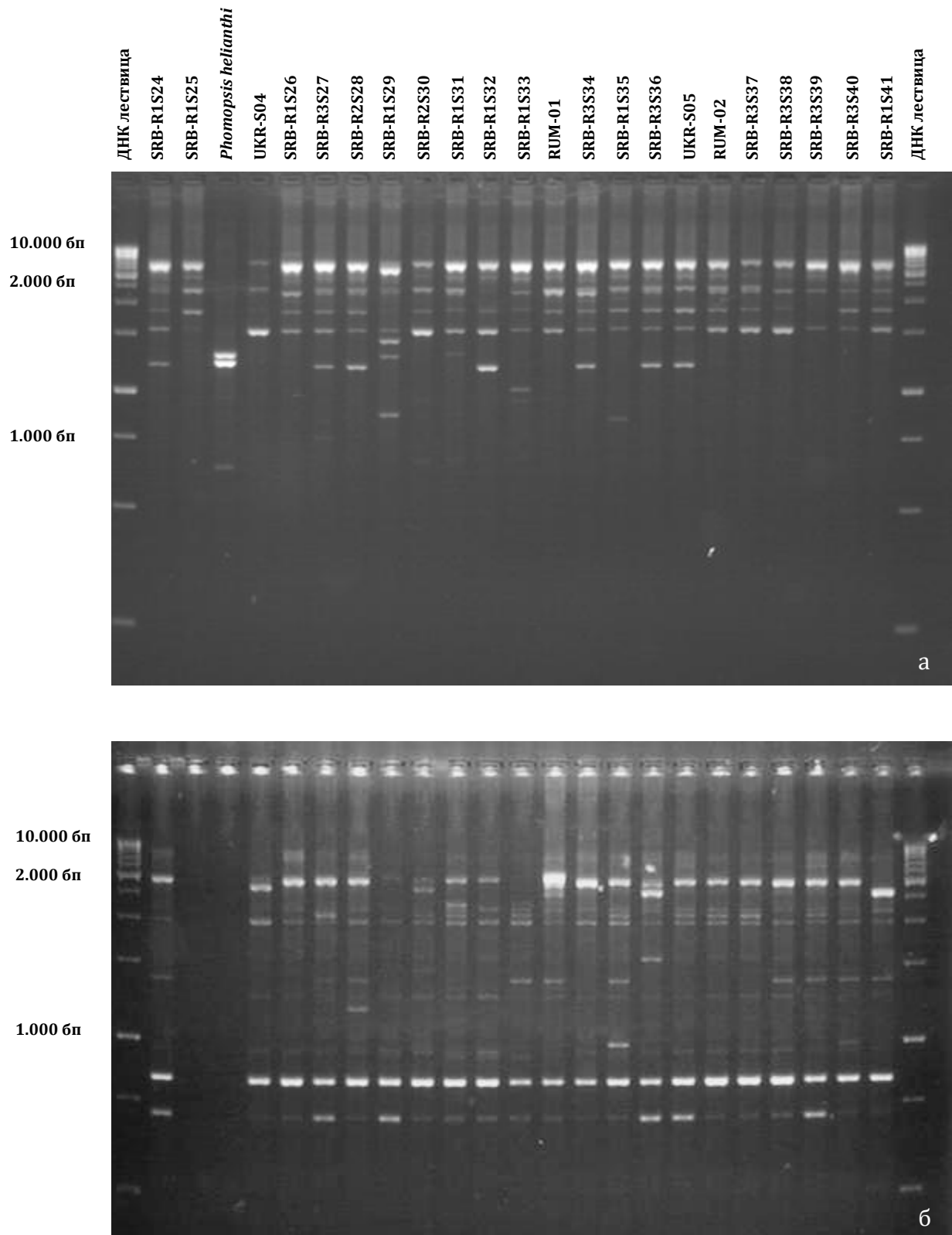
Графикон 31. Дистрибуција изолата гљиве *P. macdonaldii* према визуелној оцени симптома на линијама CMS1-122, ROD-DI-111, VL-A-8 и DOP-32-08, након инокулације дршке котиледона у контролисаним условима

### 6.12. Генетска варијабилност популације *P. macdonaldii*

Резултати RAPD анализе су показали висок ниво генетске варијабилности између кориштених изолата. Изглед гелова са делом изолата *P. macdonaldii* и контролним изолатом гљиве *Phomopsis helianthi* је представљен на слици 14. и слици 15. Од укупно осам прајмера, појава продуката након РСР анализе је изостала код прајмера ОРЕ-12. Употребом осталих седам прајмера добијен је укупан број од 195 фрагмената од чега су 183 била полиморфна (Табела 54). Величина фрагмената мерена бројем базних парова се кретала у распону од 454 до 5737. Број фрагмената се разликовао за сваки појединачни прајмер и кретао се у распону од 25 код прајмера ОРЕ-04 до 40 код прајмера ОРВ-06. Информативност прајмера је варијирала од 0,1229 до 0,2870 (Табела 53). Највећу информативност је имао прајмер ОРЕ-04 што га чини најподеснијим за одређивање варијабилности изолата *P. macdonaldii*.



Слика 14. Агарозни гел са фрагментима ДНК бојеним етидијум бромидом након RAPD анализе са прајмером ОРQ-05. Изолати означени као SRB су сакупљени у Србији, RUM у Румунији и UKR у Украјини



Слика 15. Агарозни гел са фрагментима ДНК бојеним етидијум бромидом након RAPD анализе са прајмером OPT-16 (а) и OPT-06 (б). Изолати означени као SRB су сакупљени у Србији, RUM у Румунији и UKR у Украјини

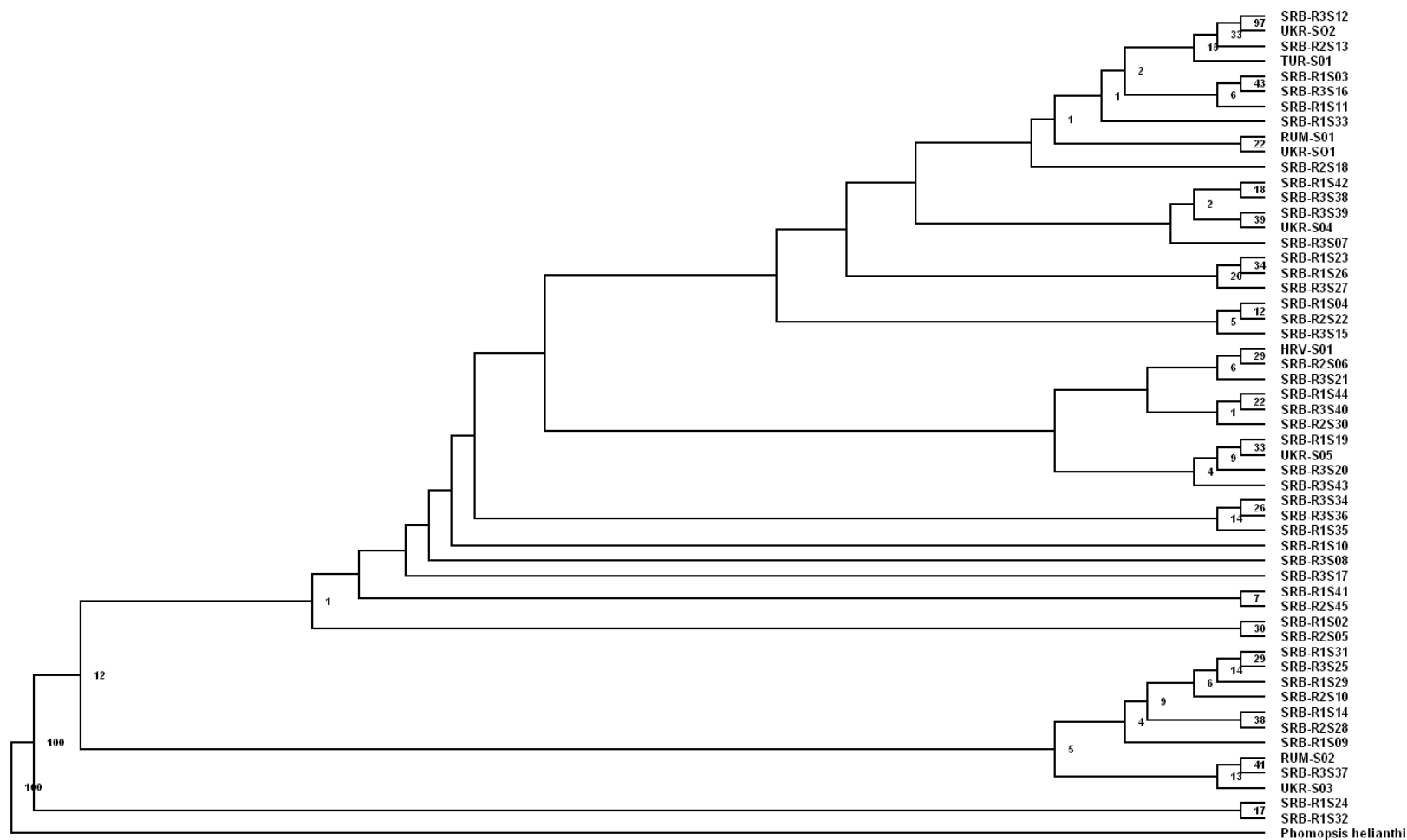
Табела 54. Опис прајмера кориштених у RAPD анализи

Назив прајмера	Секвенца (5'-3')	Максимални број фрагмената	Амплитуда фрагмената (бп*)	PIC**
<i>ОРЕ-04</i>	<i>GTGACATGCC</i>	25	838 - 5118	0,2870
<i>ОРЕ-07</i>	<i>AGATGCAGCC</i>	34	773 - 4363	0,2354
<i>ОРQ-05</i>	<i>CCGCGTCTTG</i>	36	454 - 4000	0,2544
<i>ОРТ-05</i>	<i>GGGTTTGGCA</i>	28	544 - 5737	0,1229
<i>ОРТ-06</i>	<i>CAAGGGCAGA</i>	35	491 - 5300	0,2016
<i>ОРТ-16</i>	<i>GGTGAACGCT</i>	37	846 - 3289	0,2274
<i>ОРW-06</i>	<i>AGGCCCGATG</i>	40	720 - 3746	0,1452

\* бп – базни пар; \*\* PIC – Polymorphism Information Content

Кластер анализом података добијених употребом 7 прајмера формиран је дендрограм (Графикон 32). „Сорhенetic“ коефицијент корелације је имао вредност од 0,887, означавајући да је приказ односа између изолата помоћу дендрограма сагласан са оригиналним подацима. Анализом RAPD профила UPGMA алгоритмом и поређењем парова изолата помоћу Jaccard-ових коефицијената, утврђен је висок степен диверзитета. У оквиру дендрограма се на основу израчунатих bootstrap вредности издвајају два кластера. У првом кластеру се налазе изолати SRB-R1S24 и SRB-R1S32, а другој групи припадају остали изолати. У оквиру другог кластера по сличности су се издвојили изолати SRB-R3S12 и UKR- S02. Остале bootstrap вредности које варирају од 1 до 43, указују на ниску вероватноћу поновног груписања изолата на начин сличан груписању представљеног на графикону 30. Потпуно је изостало груписање изолата према региону прикупљања и према агресивности у односу на линију DOP-32-08.





Графикон 32. Дендрограм изолата *P. macdonaldii* конструисан на основу резултата RAPD анализе прајмерима OPE-04, OPE-07, OPT-05, OPT-06, OPT-16 и OPW-06. Сличност изолата је одређена UPGMA анализом и Јаскард-овим коефицијентима сличности.

Бројеви унутар дендрограма означавају bootstrap вредност

Табела 55. Генетска варијабилност изолата *P. macdonaldii* одређена помоћу RAPD маркера

	Број изолата	P <sup>1</sup>	P (%) <sup>2</sup>	Ne <sup>3</sup>	He <sup>4</sup>	h <sup>5</sup>	I <sup>6</sup>
<i>Географско порекло изолата</i>							
Србија (регион 1)	21	149	76,02	1,281 ± 0,319	0,190 ± 0,013	0,1777 ± 0,1711	0,284 ± 0,240
Србија (регион 2)	8	112	57,14	1,254 ± 0,328	0,151 ± 0,013	0,1576 ± 0,1761	0,248 ± 0,253
Србија (регион 3)	18	143	72,96	1,299 ± 0,346	0,169 ± 0,013	0,1828 ± 0,1825	0,287 ± 0,255
Хрватска	1	-	-	-	-	-	-
Румунија	2	41	20,92	1,148 ± 0,288	0,057 ± 0,010	0,0866 ± 0,1689	0,127 ± 0,247
Турска	1	-	-	-	-	-	-
Украјина	5	76	38,78	1,206 ± 0,326	0,132 ± 0,013	0,1242 ± 0,1770	0,190 ± 0,258
Просек	10,8	104	50,41	1,229 ± 0,325	0,140 ± 0,006	0,1458 ± 0,0462	0,217 ± 0,251
<i>Агресивност</i>							
Група 1	38	170	86,73	1,293 ± 0,334	0,187 ± 0,012	0,1824 ± 0,1752	0,292 ± 0,241
Група 2	6	83	42,35	1,249 ± 0,352	0,153 ± 0,013	0,1466 ± 0,1911	0,220 ± 0,276
Група 3	4	69	35,20	1,212 ± 0,324	0,125 ± 0,013	0,1276 ± 0,1814	0,191 ± 0,267
Просек	16	107	57,82	1,252 ± 0,351	0,155 ± 0,007	0,1522 ± 0,1734	0,242 ± 0,265
Укупно	54	185	94,39	1,294 ± 0,327	0,184 ± 0,012	0,1846 ± 0,1718	0,297 ± 0,234

<sup>1</sup>P – број полиморфних локуса

<sup>2</sup>P (%) – проценат полиморфних локуса

<sup>3</sup>Ne – ефективни број алела

<sup>4</sup>He – очекивана хетерозиготност

<sup>5</sup>h - генетски диверзитет

<sup>6</sup>I – Шенонов индекс

Вредности параметара генетске варијабилности патогена су се значајно разликовале између региона прикупљања изолата (Табела 55). Највећи проценат полиморфних локуса је забележен за регионе 1 и 3 у Србији, а најмањи код изолата који воде порекло из Румуније. Остали показатељи генетског диверзитета за регионе са ниским процентом полиморфних локуса имали су ниске вредности у поређењу са осталим регионима. Разлог томе може бити последица прикупљања мањег броја изолата у Румунији и Украјини у поређењу са осталим регионима. Процент полиморфних локуса је варирао између 20,92 и 76,02%. Највећи степен варијабилности је забележен у оквиру региона 3 у Србији са вредностима показатеља  $N_e = 1,299$ ,  $h = 0,1828$  и  $I = 0,287$  (Табела 55).

Вредности ефективног броја алела су биле највеће код изолата прикупљених у оквиру региона 1 у Србији. Код већине осталих региона, уколико се изузме регион са најмањим бројем прикупљених изолата, вредности овог параметра су се кретале од 1,206 до 1,281. Очекивана хетерозиготност је имала вредности између 0,132 и 0,190. За исте регионе вредности генетског диверзитета су варирали од 0,1242 до 0,1828, а Шенонов индекс од 0,190 до 0,287 (Табела 55).

Пирсонов коефицијент корелације између Шеноновог индекса и процента полиморфних локуса изолата груписаних према регионима је са 0,9933 био значајан ( $P=0,0006$ ), и указује да полиморфни локуси нису били униформно распоређени. Пирсонов коефицијент корелације између ефективног броја алела и параметра очекиване хетерозиготности је имао вредност 0,9477 ( $P=0,0142$ ).

Просечна вредност Шеноновог индекса је била већа од вредности генетског диверзитета што указује да је генетски диверзитет највећи између потомстава насталих процесом бесполог размножавања. Ниска вредност генетског диверзитета ( $H_T=0,1765$ ) указује на постојање ниског степена разлика између региона у односу на разлике унутар популације ( $H_S=0,1458$ ).

Највећи део генетске варијабилности се на основу AMOVA анализе разлика између региона односио на варијабилност између изолата (97%), а знатно мања варијабилност се односила на варијабилност између региона. Резултати AMOVA анализе указују на непостојање статистички значајне разлике између региона (Табела 56).

Табела 56. Анализа молекуларне варијансе (AMOVA) изолата *P. macdonaldii* груписаних према географском пореклу (број пермутација 999)

Извор варијације	df	SS	MS	Процењена варијабилност	Варијабилност (%)	PhiPT	P
<i>Региони</i>							
Између популација	4	107,057	26,764	0,633	3	0,03	0,177
Унутар популација	49	1015,740	20,729	20,729	97		
Укупно	53	1122,796		21,363			
<i>Агресивност изолата</i>							
Између популација	2	51,266	25,633	0,521	2	0,024	0,179
Унутар популација	45	956,004	21,245	21,245	98		
Укупно	47	1007,271		21,766			

Табела 57. Процена генетске варијабилности *P. macdonaldii* помоћу RAPD маркера

Ниво поређења	H <sub>T</sub> <sup>1</sup>	H <sub>S</sub> <sup>2</sup>	G <sub>ST</sub> <sup>3</sup>
Географски региони	0,1765 ± 0,0283	0,1458 ± 0,0190	0,1739
Агресивност изолата	0,1746 ± 0,0293	0,1522 ± 0,0222	0,1284

<sup>1</sup> Генетски диверзитет свих група

<sup>2</sup> Генетски диверзитет изолата у односу на целу популацију

<sup>3</sup> Генетска диференцијација

У односу на испољавање симптома болести на линији DOP-32-08 изолати су сврстани у три групе. Највећи степен генетске варијабилности је забележен код групе 1, са вредностима параметара  $N_e = 1,293$ ,  $H_e = 0,187$ ,  $h = 0,1824$  и  $I = 0,292$  (Табела 55). Вредност Пирсоновог коефицијента корелације између Шеноновог индекса и

процента полиморфних локуса изолата, груписаних према регионима је имао вредност од 0,9881 и није био значајан ( $P=0,0981$ ). Полиморфни локуси су у овом случају били равномерно распоређени унутар група. Пирсонов коефицијент корелације између ефективног броја алела и параметра очекиване хетерозиготности је имао вредност 0,9999 ( $P=0,0038$ ).  $G_{ST}$  вредност од 0,1284 означава да се 87,16% варијабилности може објаснити разликама између изолата што води закључку да је генетска диференцијација између популација мала са изразитим генетским диверзитетом унутар популације (Табела 57). AMOVA анализом није добијена значајна разлика између популација. Удео варијабилности између популација добијен овом анализом, је износио 2%.

## 7. Дискусија

Црна пегавост сунцокрета се, као и друге биљне болести, карактерише одређеном кинетиком. Симптоми се временом повећавају и достижу одређену величину у зависности од количине присутног инокулума и осетљивости домаћина. У овом истраживању, прогрес болести је праћен периодично, након чега је за оцену узет у обзир целокупан период развоја болести израчунавањем вредности AUDPS, помоћу којих се не могу разликовати инфекције које имају ранији почетак нити оне касније са израженијом појавом симптома (Brown и Keane, 1997), али је тај недостатак ублажен применом метода вештачке инокулације.

Одређивање отпорности према болестима применом метода вештачке инокулације треба да репрезентује интеракцију домаћина и патогена у условима поља. Вештачком инокулацијом пазуха котиледоног листа младих биљака сунцокрета суспензијом пикноспора *P. macdonaldii* и инокулацијом стављањем мицелије гљиве у пазух листа, разлике у отпорности узорка генотипова су остале сличне. Из овог се може закључити да је метода инокулације биљака старих неколико седмица поуздана и резултати упоредиви са понашањем биљака изложених биотичком стресу у условима поља. Кратак период тестирања, једноставност методе, упоредивост и смањење трошкова тестирања је од изузетног значаја, зато што даје могућност провере осетљивости великог броја генотипова. Ово је један од основних захтева у процесу селекције и оплемењивања, али је неопходна потврда резултата у условима поља. Сагласност описаног теста у контролисаним условима са тестом у пољским условима, слична је резултатима истраживања спроведених у Француској у којој црна пегавост важи за једну од најзначајнијих болести сунцокрета (Larfeil, 2010). Предност метода инокулације у контролисаним условима је у контроли услова у којима долази до интеракције патогена и домаћина. У којој мери ово може бити лимитирајући фактор јасно је изражено у слабом напредовању болести у 2012. години у односу на остале године. Учестали температурни екстремуми, као резултат у условима вештачке инокулације, су допринели смањењу дужине некрозе на стаблу за преко десет

пута. Упоредјујући температурне вредности са вишегодишњим просеком у периоду након инокулација што обухвата месец јул, у свим годинама истраживања, просечна месечна температура је била изнад просека, нарочито у 2012. години. Развој болести је поред температуре, био под утицајем количине воде на располагању биљкама. Већи интензитет болести је у условима сувог ратарења забележен само у 2010. години у којој су биљке током већег дела вегетационог периода биле довољно обезбеђене водом. Учестали кишни периоди су значајно смањили и потребу за наводњавањем у експерименту где је оно било предвиђено. Изузетак појаве стреса изазваног водним дефицитом у 2010. години указује да разлике у огледима постављеним у условима наводњавања и сувог ратарења на локалитету Римски шанчеви не леже у доступности воде биљкама. За разлику од ових услова, у осталим годинама је болест просечно имала већи интензитет у условима наводњавања. Услови за успешну инфекцију и развој болести су повезани са периодима умерено топлот и кишовитог времена (Аћимовић, 1998; Марић и сар., 1988), стога су испољене разлике у интензитету болести у односу на преовлађујуће климатске услове очекиване.

Разлике у интензитету болести су биле под значајним утицајем услова спољне средине. Друга значајна компонента у интеракцији јесте генетска основа домаћина. Испољавање разлика у реакцији домаћина помогнуто је вештачком инокулацијом једним моноспоријалним изолатом и коришћењем методе која је као резултат имала висок проценат биљака код којих је дошло до појаве симптома. Пошто је *P. macdonaldii* некротроф, биљке код којих није дошло до појаве болести су сматране неуспешно инокулисаним.

Тренутно у литератури постоји велик број података о постојању различитог степена отпорности према црној пегавости стабла сунцокрета. Gulya *et al.*, (1998) су у прегледу резултата дела истраживања навели да је употребом различитих метода тестирања и анализом резултата запажања реакције генотипова у условима природне инфекције утврђено постојање различитих нивоа осетљивости сунцокрета према црној пегавости стабла, али потпуна отпорност није пронађена. Ово становиште подупиру и резултати тестирања у нашем истраживању. Израженији интензитет болести је забележен код линија у односу на тестиране хибриде. Donald *et al.* (1986) су утврдили

постојање значајних разлика у отпорности према црној пегавости стабла сунцокрета уз правилност да су симптоми болести били слабије изражени код хибрида у поређењу са инбред линијама. Овакав закључак, иако експериментални подаци то подупиру, треба узети са резервом због несразмере у броју тестираних линија и хибрида. Вишегодишња истраживања везана за однос сунцокрета и *P. macdonaldii* су извођена у Србији и земљама где је овај патоген присутан. Darvishzadeh *et al.* (2007) су установили висок степен отпорности код линија SDR18 и SDR19 након инокулације са седам изолата патогена што су потврдили и Davar *et al.* (2012). Резултати тестирања 184 генотипа сунцокрета резултирали су проналажењем отпорности код инбред линија F1250/03, SDR18, линија M5-54-1 и M6-862-1 добијених мутагенезом и популација дивљих врста рода *Helianthus* 1021 Nebraska и 211 Illinois, након инокулације изолатом високог степена агресивности (Darvishzadeh *et al.*, 2010). Тестирањем 47 генотипова сунцокрета INTA генбанке издвојили су се генотипови 745, 1008 и 1036 са највећим степеном отпорности (Lazzaro *et al.*, 2012).

У агроеколошким условима Србије наведени су хибриди Миро, Банаћанин и Крајишник као толерантни према болести (Шкорић, 2006). У ову групу сврстане су и линије CMS-1-50, PR-ST-3, PR-ST-28 и HA-48 (Шкорић, 1989), од којих су неке биле укључене и у наше истраживање уз потврду постојања одређеног степена отпорности. У ранијим истраживањима у Србији на изабраним генотиповима за тестирање утврђен је висок степен осетљивости (El Sayed, 1982). Ово показују резултати где је установљена изражена осетљивост код више од 60% генотипова у односу на мање од 10% отпорних са руском сортом Передовик као најотпорнијом. Потпуна отпорност није утврђена ни у нашем истраживању. Руске сорте представљају вредан извор отпорности, као резултат раних систематичних напора у оплемењивању сунцокрета, а једна од њих је и сорта Юбилейный 60 (Škorić, 1988). У односу на истраживања El Sayed (1982) у овом истраживању је значајно већи број генотипова испољио средњи до висок степен отпорности. Високо осетљивих генотипова је било знатно мање, просечно око 20% у условима сувог ратарења и око 5% у условима наводњавања. Ови подаци иду у прилог закључку Škorića (2012), који резултате досадашњег напретка у оплемењивању сунцокрета на отпорност према црној



пегавости сунцокрета означава као задовољавајуће. Отпорност генотипова сунцокрета је повезана са особиним отпорности према другим болестима. Škorić *et al.* (1985) износи закључак о повезаности отпорности генотипова сунцокрета према сиво-мркој пегавости стабла са особиним стабла „stay green“ и отпорности према угљенастој трулежи, црној пегавости стабла и суши. Проналажење извора отпорности је неопходно у процесу оплемењивања, а за стварање отпорних генотипова сунцокрета потребно је познавати начин наслеђивања. У случају отпорности према црној пегавости сунцокрета, а на основу резултата општих и посебних комбинационих способности који показују важност адитивне и неадитивне генетске компоненте доказана је значајност интеракције генотипа и изолата патогена (Roustae *et al.*, 2000; Abou al Fadil *et al.*, 2007; Darvishzadeh *et Sarrafi*, 2007). Отпорност генотипова сунцокрета према црној пегавости сунцокрета значајно варира у односу на употребљени изолат патогена (Darvishzadeh *et Sarrafi*, 2007).

Проналажење извора отпорности према болестима сунцокрета неодвојиво је у вези са врстама из рода *Helianthus* (Atlagić *et Terzić*, 2015). El Sayed (1978) је установио изузетно висок степен отпорности *H. maximilliani*, *H. argophyllus*, *H. tuberosus*, *H. rigidus*. Pustavojt *et Skuropat* (1978) наводе отпорност код врста *H. tomentosus*, *H. divaricatus*, *H. tuberosus*, *H. macrophyllus*, *H. rigidus* и *H. subcanescens*. Encheva *et al.* (2012) износе резултате о значајном степену отпорности генотипова сунцокрета према црној пегавости стабла добијених укрштањем са биљкама из популација врсте *H. annuus*. Christov (2012) означава популације врста *H. agrophyllus*, *H. laevigatus*, *H. eggertii* и *H. debilis* као изворе отпорности према црној пегавости стабла, а Gulya *et al.* (1998) у свом прегледу наводе популације врста *H. tuberosus*, *H. rigidus*, *H. agrophyllus*, *H. maximilliani* и *H. petiolaris*. Škorić, (1992) означава као изворе отпорности врсте *H. maximilliani*, *H. argophyllus*, *H. tuberosus* и *H. pauciflorus*. Извршена карактеризација дивљих врста сунцокрета за отпорност према црној пегавости сунцокрета је веома значајна за оплемењивање у случају да се извор отпорности не пронађе у гајеном сунцокрету.

У нашем истраживању, вишегодишњи преглед појаве и интензитета болести код популација једногодишњих дивљих врста, указује на велике осцилације по годинама што се може објаснити комбинацијом неколико

фактора: варијабилношћу реакције биљака унутар популације, релативно малим бројем тестираних биљака и временским условима пошто је оглед изведен у условима природне инфекције. У оквиру свих тестираних врста су идентификоване популације као потенцијални извори отпорности. Из разлога олакшаног трансфера ове особине нарочито је значајно идентификовање потенцијалних извора у оквиру врсте *H. annuus*. Резултати експеримента у контролисаним условима указују на осетљивост великог броја тестираних популација. И у овом случају је утврђена варијабилност унутар популација чему сведочи постојање екстремних вредности. Међутим, резултати овог експеримента се морају посматрати са извесним опрезом. Популације једногодишњих врста су инокулисане постављањем суспензије пикноспора у пазух листа, а сваки појединачни степен оцене болести представља одређени проценат дршке котиледона. Дршке котиледона код биљака већине тестираних популација су биле значајно мање у поређењу са биљкама инбред линија и хибрида. Следствено томе, код оцене напредовања болести код ових биљака већа је вероватноћа закључка да је одређена популација осетљива према болести.

Мерење нивоа отпорности се може квантификовати и помоћу садржаја ергостерола. Ово нестабилно једињење служи за мерење живе масе хифа (Strange, 2003). Количина ергостерола ипак није у корелацији са нивоом отпорности код свих патосистема. Садржај ергостерола код сирка осетљивог према плеснивости коју проузрокују гљиве *Fusarium moniliforme*, *Curvularia lunata* и *Phoma sorghina* може бити до десет пута већи у поређењу са отпорним генотипом (Jambunathan *et al.*, 1991). Међутим, Asran *et Buchenauer* (2003) нису установили повезаност између садржаја ергостерола и интензитета болести кукуруза коју проузрокује *Fusarium graminearum*. У нашем истраживању установљена је двоструко већа количина ергостерола код осетљиве инбред линије у односу на две линије које се карактеришу одређеним нивоом отпорности.

Утврђивање нивоа отпорности према патогену захтева временска и просторна понављања са циљем смањења вероватноће погрешног закључка. Значајно убрзање у процесу оплемењивања може се постићи употребом молекуларних маркера повезаних са одређеном особином. Davar *et al.* (2012) су

проучавали генетску варијабилност сунцокрета помоћу SSR маркера и повезаност са отпорношћу према црној пегавости. Утврђено је постојање 7 QTL маркера на хромозомима 3, 6, 8, 9, 11, 15 и 17 којима је објашњено 92% фенотипске варијабилности отпорности према црној пегавости стабла (Al-Chaarani *et al.*, 2002).

Присуство патогена, осетљивог домаћина и фактора средине у одређеном распону вредности условљава појаву и напредовање болести. Од фактора средине највећу улогу имају температура и присуство воде на површини биљке условљавајући интеракцију патогена и домаћина (Agrios, 2005). У току четири године праћења црне пегавости на територији Србије, јасно се уочава повезаност појаве и интензитета болести са преовладавајућим климатским условима. Знатно повољнији услови у 2010. години, условили су појаву болести на преко 80% биљака, а забележене су и разлике у интензитету болести. У истој години изузетак је био скоро потпун изостанак болести на локалитету Прахово који се у посматраном вегетационом периоду карактерисао израженим дефицитом падавина. У осталим годинама услови недостатка падавина и надпросечне температуре су условили слабију појаву болести и напредовање на стаблу сунцокрета. Larfeil *et al.* (2010) такође наводе и да ниже температуре од уобичајених за подручје извођења експеримента доводе до смањења интензитета црне пегавости стабла сунцокрета. Thebaud *et al.* (2011) истичу да просечне дневне температуре од 18 до 20 °C у периоду пре и након цветања сунцокрета, као повољне за остварење инфекције гљиве. У условима природне инфекције у Србији, појава болести на стаблу је у току истраживања најчешће запажена након периода цветања (Аћимовић, 1998). Оптимални услови за клијање пикноспора се налазе у распону температура 20-25 °C и релативној влажности од 95% (Roustae *et al.*, 2000), што се слаже са условима који су преовладавали током 2010. године. Између локалитета у оквиру исте године, такође су констатоване значајне разлике у појави и интензитету болести. Утицај генотипа на развој болести није био значајан само у 2012. години. Разлике између генотипова сунцокрета су на овај начин потврђене и у условима природне инфекције на више локалитета који репрезентују подручја у којима се сунцокрет гаји у Србији. Утицај средине на развој болести је био значајан током целог периода истраживања. Разлике у

интензитету болести између локалитета и генотипова потврђене су у истраживањима са другим патогенима сунцокрета. У истраживању отпорности према белој трулежи главице сунцокрета, резултати показују значајне разлике у манифестацији болести између локалитета али са сличним понашањем испитиваних хибрида на особину отпорности према белој трулежи (Godoy *et al.*, 2005). Исти аутори наводе да су појава и интензитет болести током извођења пољских експеримената били у уској вези са условима средине.

Производња сунцокрета подразумева примену низа агротехничких мера за постизање оптималних услова у одређеним агроколошким условима. Стварању специфичних услова у усеву су се прилагодили и патогени организми. Микроклиматски услови одређују проценат оболелих биљака и брзину напредовања болести. Ранијим експериментима у Србији се дошло до закључка да су појава и развој црне пегавости стабла сунцокрета подстакнути ранијом сетвом, једностраним повећаним ђубрењем азотним ђубривима и у усеву ређег склопа (El Sayed и Marić, 1981). Ужи плодоред је такође погодовао чешћој појави ове болести (Марић и сар., 1988). У нашем истраживању, подаци прикупљени током 2010. и 2013. године, су омогућили извођење закључака о утицају појединих агротехничких мера. Слично претходно наведеним истраживањима, установљен је опадајући тренд у појави и интензитету болести са каснијим временом сетве, где је тренд био израженији код генотипова са повећаном осетљивошћу. Код последњег датума сетве почетком јуна болест се појављивала спорадично. Ова појава је забележена и у другим истраживањима (Penaud *et al.*, 1994; Delos *et al.*, 1998). Један од разлога ове појаве може бити смањење количине инокулума, пошто се сматра да се пикноспоре из пикнида у оквиру симптома на биљкама не ослобађају до пролећа наредне године (Donald, 1985).

Према резултатима Deabaеке *et Peres* (2003) раст количине примењеног азотног ђубрива је у позитивној корелацији са бројем биљака на којима је дошло до појаве црне пегавости на стаблу и његовом приземном делу. Исти аутори, наводе да до повећања вероватно долази услед ранијих инфекција, повољног микроклимата у усеву који је бујнији због доступности азота или су биљке гајене у условима повећане обезбеђености азотом осетљивије на раст патогена. Velazques *et Formento* (2003) су документовали пораст појаве болести

при повећаној количини доступног азота у опсегу од 12 до 31%, које је праћено повећањем броја пега на стаблу од 22 до 43%. Повећање количине доступног азота у условима повољним за појаву и развој болести, доводи до смањења пречника стабла и главице, масе 1000 семена и садржаја уља (Velazques *et* Formento, 2003). Sessau *et al.* (2010), су утврдили позитивну корелацију између ђубрења азотом код биљака гајених у условима без наводњавања и превременог сазревања биљака узрокованог од стране *P. macdonaldii*. Исти аутори наводе да су висока обезбеђеност биљака азотом и водни стрес након фазе цветања допринели највећој појави симптома болести. У нашем истраживању највећа појава и интензитет болести су забележени код биљака ђубрених искључиво азотним ђубривима. Уколико су биљке биле ђубрене и калијумовим и фосфорним ђубривом болест је била слабије изражена. Болест је била слабије изражена и код појединих третмана где је количина азота у комбинацији са калијумом и фосфором била за трећину већа од количине азота примењене у третману у којем су биљке ђубрене само азотним ђубривом. Појава болести може зависити и од других патогена који заузимају исту еколошку нишу и којима погодује повећано ђубрење азотом. Појава црне пегавости на лишћу у условима пољских експеримената је довела до смањења појаве симптома сиво-мрке пегавости 3 и 8% по години истраживања, а као могући разлог ове појаве је деструкција проводних снопића или конкуренција патогена са *Phomopsis helianthi* (Desanlis *et al.*, 2013).

Појава и интензитет болести зависи често од густине усева. Ширење патогена који захтевају високу влажност је фаворизовано у усевима гушћег склопа (Fry, 1982). Повећање густине склопа код усева сунцокрета у већини случајева повољно делује на појаву сиво-мрке пегавости стабла (Debaeke *et al.*, 2003), мрке пегавости (Bauer *et al.*, 2013) и беле трулежи (Nelson *et al.*, 1989). Са друге стране, повећање појаве и интензитета црне пегавости стабла сунцокрета је забележено у условима редукованог склопа, уз довољну обезбеђеност биљака азотом и водом (Debaese *et* Peres, 2003), што је у сагласности и са резултатима у нашем истраживању. Исти аутори наводе да интензитет болести позитивно корелира са густином усева само у условима недостатка азота. Резултати ранијих истраживања у агроколошким условима Србије указују на интензивнији напад црне пегавости стабла у усевима ређег склопа, уз

претпоставку да у условима оптималне влажности развој патогена превасходно зависи од осветљености (El Sayed *et Marić*, 1981). Поред агротехничких мера које су биле обухваћене у нашем истраживању на појаву болести подстицајно делују узак плодоред и редукована обрада земљишта због повећања количине инокулума патогена (Descorps *et al.*, 2012).

Гљива *P. macdonaldii* је у семену сунцокрета присутна у виду мицелије и пикнида који се углавном налазе на ширем делу семена и често се формирају у редовима (Stajić *et al.*, 2001). Исти аутори, наводе значајна оштећења котиледона и њихову дезинтеграцију. У истраживањима Lačok *et Mihaljčević* (1998) проценат семена у коме је утврђено присуство патогена није прелазио 2% и у зависности од посматраног генотипа је варирао просечно од 1 до 2%. Слични резултати су утврђени и у нашем истраживању где је код већине узорака проценат зараженог семена био испод 1%. Низак проценат зараженог семена у условима интензивне појаве болести забележили су и El Sayed и Марић (1981). Stajić *et al.* (2001) су потврдили постојање разлика у проценту зараженог семена у зависности од генотипа сунцокрета и за поједине генотипове су констатовали до 3,25% семена са патогеном. Присуство у семену је важан детаљ у епидемиологији патогена пошто омогућава ширење у подручјима где претходно болест није забележена (Jiafeng *et al.*, 2011). На презимелим биљним остацима, у нашем истраживању, утврђени су само пикниди гљиве. Насупрот томе у агроеколошким условима Србије формирање савршеног стадијума је утврђено на жетвеним остацима старим три године (Марић и сар, 1981). У условима уског плодореда и присуства жетвених остатака, формирање оба типа плодноносних тела је значајно у епидемиологији болести.

Еволуциона адаптација на услове животне средине условљена је појавом низа механизма који биљкама омогућавају раст и развој. Прилагођавање флукуацијама абиотичких фактора као што су осцилације температуре и доступне воде као и реакција на присуство паразитских организама манифестује се често путем промена у ензимској активности и следствено томе променама садржаја одређених једињења. Фенолна једињења својом функцијом и разноликошћу представљају начин реакције биљака на промене у факторима средине.

Садржај фенола код сунцокрета зависи од низа фактора. До промена доводе услови гајења попут количине доступних хранљивих материја. Укупан садржај фенолних киселина у биљкама је опадао са повећањем концентрације Хогландовог раствора са 40 на 32 mg/g код гајења у стакленику и са 79 на 52 mg/g код гајења у условима поља (Hall *et al.*, 1982).

Концентрација хлорогене, неохлорогене и 4-*O*-кафеоилхинске киселине опада базипетално у биљкама сунцокрета (Коепере *et al.*, 1970). Садржај хлорогене киселине се разликује у појединим деловима биљке. Према Moral (1972) просечна концентрација хлорогене киселине у листовима сунцокрета је износила 71 µg/g суве масе, стабла 21 µg/g и корена 48 µg/g. Вредности утврђене у овом истраживању за ткива листа сунцокрета су значајно мање од претходно наведених вредности. Хлорогена киселина има и антибиотичко дејство, што су потврдили резултати овог истраживања. Степен повећања концентрације ове фенолне киселине је одговарао повећаном нивоу отпорности генотипова сунцокрета према црној пегавости, што потврђују резултати лабораторијских тестирања. Овом доприноси и експресија гена који кодира синтезу ензима PAL2 (EC: 4.1.3.5), индукована инокулацијом *P. macdonaldii*, који учествује у биосинтези фенола (Alignan *et al.*, 2006). Продукти биосинтезе фенола су и фитоалексини скополетин и ајапин, чија се концентрација значајно повећава у случају стреса индукованог патогенима (Tal *et Robeson*, 1985). Скополетин је у биљном ткиву већ присутан док се ајапин синтетише *de novo*. Акумулација скополетина и ајапина у стаблу сунцокрета након инокулације са *P. macdonaldii* је значајно мања у поређењу са *A. helianthi*, а нарочито у поређењу са гљивом *Helmithosporium carbonum* која није патогена за сунцокрет, што указује на могућност брзе деградације ових фитоалексина од стране патогена (Tal *et Robenson*, 1986). Исти аутори наводе да не очекују да забележене количине скополетина и ајапина од 7 и 13 µM делују инхибиторно на патогена. Блага инхибиција је могућа при концентрацији од 0,5 mM.

Постоје резултати истраживања где је повећање садржаја индукованих и конститутивних фенола као и повећана активност PAL било у негативној корелацији са степеном толерантности испитиваних линија (Prats *et al.*, 2003). Cohen *et Ibrahim* (1975) показују раст концентрације хлорогене киселине у ткивима листа сунцокрета са симптомима пламењаче у периоду од две недеље

након инокулације патогеном, а потом пад од 80%, четири недеље након инокулације. У нашем истраживању пораст садржаја хлорогене киселине је забележен у току 24 сата након инокулације. Поређењем промена у садржају укупних фенола, четири фенолне киселине, ескулина и скополетина код осетљиве и отпорне инбред линије инокулисаних са *P. halstedii*, значајно повећање садржаја укупних фенола, хлорогене киселине, феруличне киселине и кафене киселине, 12h након инокулације, је у истраживањима Saftić-Panković *et al.* (2006), забележено само у случају осетљиве линије. Насупрот овим резултатима, Viranyí (2008) износи резултате према којима је садржај конститутивних и укупних фенола код генотипова толерантних према *A. helianthi* био већи у односу на осетљиве генотипове сунцокрета. Слична правилност према овом аутору важи и код патосистема воловод-сунцокрет.

Агресивност патогена квантитативно описује интеракцију изолата патогена и генотипа домаћина (Van der Plank, 1963; Pariaud *et al.*, 2009). Овај параметар је мерљив и дефинише однос одеђеног изолата и компатибилног генотипа домаћина (Andrivon, 1993). Један од циљева одређивања агресивности је сагледавање варијабилности патогена ради одабира изолата који ће се користити у процесу селекције и оплемењивања. Варијабилност у агресивности је забележена код проузроковача болести сунцокрета попут пламењаче (Sagr, 2009), беле трулежи (Ekins *et al.*, 2007, Kull *et Pedersen.*, 2004), сиво-мрке пегавости стабла (Vigue *et al.*, 2000; Entcheva, 2002) и угљенасте трулежи (Ahmad *et al.*, 1991; Tančić *et al.*, 2012). Постојање разлика између изолата *P. macdonaldii* потврђено је у више истраживања. Larfeil *et al.* (2002) су инокулацијом десет инбред линија сунцокрета употребљене изолате патогена груписали у пет патотипова. Значајне разлике у агресивности између изолата утврђене су и у нашем истраживању. Утицај услова средине на испољену варијабилност у погледу симптома болести на тестираним линијама се може сматрати малим због извођења теста у контролисаним условима. Ова тврдња води закључку да су разлике у агресивности резултат разлика у генетској основи између изолата, што се слаже са резултатима Darvishzadeh *et al.*, (2007). Rostaee *et al.* (2000) су показали постојање разлика између изолата патогена прикупљених на територији Француске у низу својстава од којих је једно и



агресивност. Сличне разлике су утврђене код изолата прикупљених на територији Аргентине (Lazzaro *et al.*, 2012).

Примена молекуларних маркера у проучавању популационе генетике гљива, пружа обиље нових информација о биологији биљних патогена (Giraud *et al.*, 2008). RAPD анализом се детектују две врсте генетских разлика насталих као последица промена секвенце на месту везивања прајмера и удаљености између два места њиховог везивања (Jianping, 2006). У случају примене већег броја прајмера, RAPD анализом је могуће утврдити постојање разлика између изолата патогена чија би детекција другим методама изостала (Jianping, 2006). Ова анализа често омогућава утврђивање сличности изолата са пореклом из истог географског подручја, а понекад и утврђивање повезаности са вирулентношћу (Kakvan *et al.*, 2012).

Резултати истраживања патогених врста из рода *Phoma* показују различит степен генетске дивергентности (Onfroy *et al.*, 1999; Purwantara *et al.*, 2000; Balmas *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2005; Pažoutova, 2009; Chande *et al.*, 2010; Tiwari *et al.*, 2013; Li-Fen *et al.*, 2014). Узорак популације *P. macdonaldii* у овом истраживању се карактерише високим процентом генетске дивергентности што је нарочито изражено ниским bootstrap вредностима и процентом полиморфних фрагмената од 94,36%. Изузетак представљају два изолата пореклом из Украјине и Србије. Изузеци овог типа нису јединствени. У истраживањима генетског диверзитета *Phoma medicaginis*, на подручју САД-а су пронађени генетски слични изолати прикупљени на међусобно изузетно удаљеним локалитетима у узорку популације карактеристичне по високом степену хетерогености (Castell-Miller *et al.*, 2008). Највећи степен варијабилности од 97% је установљен између изолата унутар региона, уз одсуство разлика између региона. Одсуство груписања изолата према географском пореклу је запажено и код изолата *P. lingam* (Travadon *et al.*, 2011), патогена који се карактерише полном репродукцијом и способношћу ширења помоћу аскоспора (West *et al.*, 2001). Резултати нашег истраживања су показали одсуство повезаности изолата и географског региона као и одсуство везе са агресивношћу изолата. Насупрот овој тврдњи, резултати истраживања Mirić *et al.* (1999) кориштењем истих прајмера на изолатима *P. macdonaldii* прикупљеним у Аустралији, указују на потпуно одсуство полиморфизма што иде

у прилог тврдњи да је овај патоген присутан на подручју Квинсленда кратак временски период. Резултати истраживања генетског диверзитета других патогена сунцокрета слични су резултатима у овом истраживању. Након утврђивања постојања RAPD полиморфизма на узорку изолата *P. halstedii* прикупљених на различитим континентима није утврђена веза између груписања изолата на UPGMA дендрограму и расе и географског порекла (Roeckel-Drevet *et al.*, 2003). Слично је утврђено на узорку изолата *P. helianthi* прикупљеном у Француској код којих је утврђено постојање веће генетске варијабилности између изолата прикупљених унутар једног поља у поређењу са варијабилношћу изолата пореклом из различитих региона (Says-Lesage *et al.*, 2001). У нашем истраживању варијабилност код испитаних изолата патогена је установљена унутар група док су разлике између група изостале. Вредности свих показатеља коришћених за одређивање варијабилности популације, расту са повећањем броја изолата у групи.

Црна пегавост стабла је у Србији сталан пратилац сунцокрета. Појава и интензитет болести су значајно условљени степеном отпорности генотипова сунцокрета, агресивношћу изолата и временским условима. Патоген испољава велик степен генетске варијабилности што га чини прилагодљивим за измене у генетској структури домаћина и средини. Однос суцокрет-*Phoma macdonaldii* представља динамичан систем који захтева детаљан опис механизма који спречавају раст и развој патогена у ткиву домаћина. Такође, треба обухватити услове који доводе до стреса домаћина и који помажу развој болести као и даљи мониторинг промена у агресивности патогена, способности изолата да проузрокују остале симптоме болести употребом других, превасходно молекуларних метода карактерисати промене у популацији.

## 8. Закључци

Следећи закључци се могу извести на основу резултата експерименталних истраживања:

1. Тестирањем генотипова сунцокрета применом метода вештачке инокулације на два локалитета, током четворогодишњег периода, утврђено је постојање значајне варијабилности. Поређења између генотипова су вршена на основу прогреса болести. Од седамдесет инбред линија отпорност на највећем броју локалитета где је вршено тестирање, испољиле су линије DOP-32-08, PH-BC1-162, PH-BC1-53, IMI-AB-12, CMS-3-8, VT-VL-2, DOP-33-08, VT-VL-24 и OD-DI-98. Просечно, болест је била израженија код инбред линија у односу на тестиране хибриде. Реакција хибрида је варијабилна у односу на годину тестирања. Највећи степен отпорности су испољили хибриди Баћа и НС Брилијант.
2. Тестирањем генотипова на локалитету Римски шанчеви у условима наводњавања и сувог ратарења у 2010. години, утврђено је значајно повећање интензитета симптома болести код генотипова тестираних у условима сувог ратарења. Велика учесталост кишних периода у току вегетације, у овој години, условљава одбацивање фактора наводњавања као разлога постојања статистички значајне разлике. Смањење напредовања болести у осталим годинама истраживања карактеристичним по периодима са израженим дефицитом у падавинама је забележено код линија гајених у условима сувог ратарења. Напредовање болести у условима вештачке инокулације је у значајној мери зависило од обезбеђености биљака водом.
3. Тестирана је 181 популација 8 једногодишњих врста рода *Helianthus* у условима природне инфекције. У оквиру сваке врсте, утврђене су популације код којих болест није била присутна. Инокулацијом 71 популације суспензијом пикноспора у пазух котиледона у контролисаним условима, добијени су резултати који се због мале површине дршке котиледона могу сматрати непоузданим. Врсте рода

*Helianthus* представљају потенцијал за коришћење као извори отпорности према црној пегавости стабла сунцокрета. Методу тестирања у контролисаним условима је неопходно модификовати.

4. Садржај ергостерола код биљака осетљиве линије је био значајно већи у поређењу са отпорним линијама. Утврђивање количине ергостерола може да се користи као сигуран показатељ осетљивости генотипова сунцокрета и као такво је од користи за оплемењивање.
5. Утврђивањем појаве и интензитета црне пегавости стабла у условима природне инфекције на већем броју локалитета и 16 хибрида у току четири године утврђен је значајан утицај генотипа на интензитет болести у 2010. години и појаву болести у 2011. и 2013. години. Интеракција генотипа и средине у целокупном експерименталном периоду је била значајна. Највећу отпорност у природним условима су испољили хибриди Баћа, НС-Х-111 и НС Фантазија. На експресију болести у условима природне инфекције значајан је утицај генотипа и средине.
6. Гајењем биљака у условима различитог времена сетве појава и интензитет црне пегавости стабла су имали тенденцију опадања са каснијим роковима сетве.
7. Ђубрење само азотним ђубривима највише је допринело порасту појаве и интензитета болести. У односу на вредности код овог третмана код већине осталих варијанти ђубрења појава и интензитет болести су били мањи.
8. Појава и интензитет болести су били највећи код најмање густине гајења.
9. Значајне разлике у садржају укупних фенола су утврђене између појединих линија пре и након инокулације са патогеном. Анализом фенолних једињења у ткиву листа, у одређеним временским интервалима, након вештачке инокулације биљака инбред линија са различитим степеном осетљивости, утврђен је повећан садржај хлорогене киселине током прва 24 сата, код узорка листа отпорне линије. Након овог периода, концентрација хлорогене киселине је била у паду и није се разликовала од концентрације овог једињења код

осетљивих линија. Садржај ове киселине би се могао користити као индикатор постојања отпорности.

10. Гљива се најбоље развија и продукује пикниде на подлози од овса. Значајне разлике у пречнику колоније и продукцији пикнида су забележене између изолата и ове особине нису у вези са географским пореклом изолата. Тестирањем пораста гљиве на подлогама са различитим једињењима угљеника највећи пораст на течној подлози је био са сахарозом, а код чврсте подлоге са манитолом. Продукција пикнида је била највећа код подлоге са глукозом. Патоген је од употребљених једињења као извора азота најбољи пораст имао на течној подлози са калијум нитратом. Пораст мерен пречником колоније на чврстој подлози је поред овог једињења био изразит код подлоге са натријум нитратом. Продукција пикнида је била највећа на чврстим подлогама са калијум нитратом, натријум нитратом и аланином.
11. Инокулацијом четири линије различитог степена осетљивости у контролисаним условима са различитим изолатима патогена установљено је постојање варијабилности у погледу агресивности. Поједини изолати су испољили висок степен агресивности. Изолати се у погледу агресивности нису груписали према географском пореклу.
12. Анализом генетске варијабилности, помоћу RAPD маркера је утврђен висок степен полиморфизма код употребљених изолата. Од употребљених прајмера највећу информативност је имао прајмер OPE-04. Кластер анализом груписали су се изолати SRB-R1S24 и SRB-R1S32 у односу на све остале. Вредности Шеноновог индекса упућују на закључак да генетски диверзитет постоји највећим делом између потомстава насталих процесом бесполог размножавања, односно, да је селекциони притисак на гљиву низак. AMOVA анализом утврђено је да се генетска варијабилност изолата гљиве односи највећим делом на варијабилност између изолата. Генетска варијабилност између изолата груписаних по регионима и агресивности је била занемарљива.

## 9. Литература

1. Abou al Fadil, T., Dechamp-Guillaume, G., Darvishzadech, R., Sarrafi, A. (2007): Genetic control of partial resistance to 'collar' and 'root' isolates of *Phoma macdonaldii* in sunflower, *European Journal of Plant Pathology*, Vol. 117: 341-346
2. Abou al Fadil, T., Deschamp-Guillaume, G., Pourmohamad Kiani, S., Sarrafi, A. (2004): Genetic variability and heritability for resistance to black stem (*Phoma macdonaldii*) in sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Journal of Genetics and Breeding*, Vol. 58: 323-328
3. Abou Al Fadil, T., Naffaa, W., Martinez, Y. Deshamp-Guillaume, G. (2011): Mode of penetration by *Phoma macdonaldii* in susceptible and tolerant sunflower genotypes. *Arab Journal of Plant protection*, Vol. 29: 131-138
4. Аћимовић, М (1965): *Phoma* sp, нови паразит сунцокрета у Југославији, Зборник радова Института за пољопривредна истраживања, Вол. 3: 151-170
5. Аћимовић, М. (1998): Болести сунцокрета, Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад: 1-736
6. Agrios, N. G. (2005): *Plant Pathology*, 5th edition, Elsevier Academic Press, San Diego, USA: 1-922
7. Ahmad, I., Burney K., Aslam, M. (1991): Analysis of resistance in sunflower to charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina*, Vol. 23: 189-193
8. Al-Chaarani, G. R., Roustae, A., Gentzbittel L. M., Barrault, G., Dechamp-Guillaume, G., Sarrafi, A. (2002): A QTL analysis of sunflower partial resistance to downey mildew (*Plasmopara halstedii*) and black stem (*Phoma macdonaldii*) by use of recombinant inbred lines (RILs), *Theoretical and Applied Genetics*, Vol. 104: 490-496
9. Alignan, M., Hewezi, T., Petitprez, M., Dechamp-Guillaume, G., Gentzbittel, L. (2006): A cDNA microarray approach to decipher sunflower (*Helianthus annuus*) responses to the necrotrophic fungus *Phoma macdonaldii*, *New Phytologist*, Vol. 170: 523-536

10. Alkher, H., El Hadrami, A., Rashid, Y. K., Adam, R. L., Daayf, F. (2009): Pathogenic variation of *Verticillium dahliae* after serial passages through potato and sunflower, Canadian Journal of Plant Pathology, Vol. 31: 427-438
11. Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D., Schenck, F. J. (2003): Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and „dispersive solid-phase extraction“ for the determination of pesticide residues in produce, Journal of AOAC, Vol. 86: 412-431
12. Andrivon, D. (1993): Nomenclature for pathogenicity and virulence: The need for precision, Phytopathology, Vol. 83: 889-890
13. Aoki, T., Akashi, T., Ayabe, S. (2000): Flavonoids of Leguminous Plants: Structure, Biological Activity, and Biosynthesis, Journal of Plant Research, Vol. 113: 475-488
14. Arun, K., Mali, P. C., Manga, V. K. (2010): Changes of some phenolic compounds and enzyme activities on infected pearl millet caused by *Sclerospora graminicola*, International Journal of Plant Physiology and Biochemistry, Vol. 2: 6-10
15. Asran, M. R., Buchenauer, H. (2003): Pathogenicity of *Fusarium graminearum* isolates on maize (*Zea mays* L.) cultivars and relation with deoxynivalenol and ergosterol contents, Journal of Plant Diseases and Protection, Vol. 110: 209-219
16. Atlagić, J., Terzić, S. (2015): Sunflower Genetic Resources: Interspecific Hybridisation and Cytogenetics in Prebreeding: In: Sunflowers – Growth and Development, Environmental Influences and Pests/Diseases, Nova Science Publishers, New York, USA: 95-129
17. Aveskamp, M. M., De Gruyter, J., Crous, P. W. (2008): Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance, Fungal Diversity, 31: 1-18
18. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor>
19. Baker, J. G., Salkin, I. F., Forgacs, P., Haines, J. H., Kemna, M. E. (1987): First report of subcutaneous phaeohyphomycosis of the foot caused by *Phoma minutella*, Journal of Clinical Microbiology, Vol. 25: 2395-2397

20. Balis, E., Velegraki, A., Fragou, A., Pefanis, A., Kalabokas, T., Montokalakis, T. (2006): Lung mass caused by *Phoma exigua*, *Sandinavian Journal of Infectious Diseases*, Vol. 38: 552-555
21. Balmas, V., Scherm, B., Ghignone, S., Salem, A. O. M., Cacciola, S. O., Migheli, Q. (2005): Characterisation of *Phoma tracheiphila* by RAPD-PCR, microsatellite-primed PCR and ITS rDNA sequencing and development of specific primers for in planta PCR detection, *European Journal of Plant Pathology*, vol. 111: 235-247
22. Barrbetti, J. M. (2007): Resistance in Annual *Medicago* spp. To *Phoma medicaginis* and *Leptosphaerulina trifolii* and Its Relationship to Induced Production of Phytoestrogen, *Plant Disease*, Vol. 91: 239-244
23. Bazzalo, M. E., DiMarco, P., Martinez, F., Daleo, G. R. (1991): Indicators of resistance of sunflower plant to basal stalk rot (*Sclerotinia sclerotiorum*): Symptomatological, biochemical, anatomical, and morphological characters of the host, *Euphytica*, Vol. 57: 195-205
24. Bazzalo, M. E., Heber, E. M., De Pero Martinez, M. A., Caso, O. H. (1985): Phenolic compounds in stems of sunflower plants inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* and their inhibitory effect on the fungus, *Phytopathologische Zeitschrift*, Vol. 112: 322-332
25. Bauer, F. C., Gonçalves, A. E., Nagaoka, A. K. (2013): Severity of *Alternaria helianthi* in sunflower crop in the row spaces and plant population, *Revista de Ciências Agroveterinárias*, Vol. 12: 149-154
26. Bennett, N. R., Wallsgrove, M. R. (1994): Secondary metabolites in plant defence mechanisms, *New Phytologist*, Vol. 127: 617-633
27. Bert, P. F., Dechamp-Guillaume, G., Serre, F., Jouan, I., de Labrouche, T. D., Nicolas, P., Vear, F. (2004): Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.): 3. Characterisation of QTL involved in resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Phoma macdonaldii*, *Theoretical and Applied Genetics*, Vol. 109: 865-874
28. Boerema, H. G., van Kesteren, A. H., Loerakker, M. W. (1981): Notes on *Phoma*, *Transactions of the British Mycological Society*, Vol. 77: 61-74



29. Boerema, H. G., de Gruyter, J., van Kesteren, A. H. (1994): Contributions towards a monograph of *Phoma* (*Coelomycetes*) – III 1. Section *Plenodomus*: Taxa often with *Leptosphaeria* teleomorph, *Persoonia*, Vol. 15: 431-487
30. Boerema, G. H., de Gruyter, J., Noordeloos, M. E., Hamers, M. E. C. (2004): *Phoma* Identification Manual, CABI Publishing, Wallingford UK: 1-470
31. Boyd, A. L., Ridout, C., O'Sullivan M. D., Leach, E. J., Leung, H. (2013): Plant-pathogen interactions: disease resistance in modern agriculture, *Trends in Genetics*, Vol. 29: 233-240
32. Brändle, F., Spring, O. (2003): Pathogen-induzierte Stressreaktionen der Sonnenblume, *Gesunde Pflanzen*, Vol. 55: 21-27
33. Brown, J., Keane, P. (1997): Assessment of disease and effects on yield, *Plant Pathogens and Plant Diseases*, Rockvale Publications, Australia: 315-329
34. Buerstmayr, H., Adam, G., Lemmens, M. (2012): Resistance to head blight caused by *Fusarium* spp. in wheat, In: *Disease Resistance in Wheat*, CAB International, Wallingford, UK: 236-276
35. Bursić V., Dedić B., Vuković G., Maširević S., Zeremski T., Cara M. (2015): Modified QuEChERS for ergosterol determination by HPLC-DAD, *Plant health for sustainable agriculture*, 11-12 May, Ljubljana , Slovenia, Book of Abstracts, 101.
36. Burdon, J. J., Silk, J. (1997): Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi, *Phytopathology*, Vol. 87: 664-669
37. Van der Plank, J. E. (1968): *Disease resistance in plants*, Academic Press, New York, USA: 1-206
38. Van Etten, H. D., Mansfield, J. W., Bailey, J. A., Farmer, E. E. (1994): Two classes of plant antibiotics: Phytoalexins versus „phytoanticipins“, *Plant Cell*, Vol. 6: 1191-1192
39. Velazquez, P. D., Formento, N. (2003): Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la „mancha negra del tallo“ (*Phoma oleracea* var. *helianthi-tuberosi* Sacc.) en cuatro genotipos de girasol (*Helianthus annuus* L.), *Agriscientia*, Vol. 17: 41-47
40. Velazquez, P. D., Formento, N. (2003): Efecto de la infección natural de *Phoma oleracea* var. *helianthi-tuberosi* Sacc. sobre algunos caracteres agronómicos y

- el rendimiento de aceite de cuarto genotipos de girasol (*Helianthus annuus* L.) con dos niveles de fertilización nitrogenada, *Agriscientia*, Vol. 20: 29-34
41. Vermeris, W., Nicholson, R. (2009): , Families of phenolic compounds and means of classification, *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer: 1-32
42. Verschoor, M., Castano, F., Ridaio, A., Salaberry, T. (2014): Variabilidad de la longitud del cancro causado por dos aislamientos de *Phomopsis helianthi* en tallos de híbridos de girasol, *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la Pampa*, Vol. 24: 39-47
43. Vigue, A., Says-Lesage, V., Walser, P., Tourvieille, J., Drevet, P., Nicolas, P., Vear, F., Tourvieille de Labrouche, D. (2000): Molecular and phenotypic characterisation of French isolates of *Diaporthe helianthi* / *Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet., Proc. of 15<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Toulouse, France, Session I: 5-10
44. Villares, A., Garcia-Lafuente, A., Guillamon, E., Ramos, A. (2012): Identification and quantification of ergosterol and phenolic compounds occurring in *Tuber* spp. truffles, *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 26: 177-182
45. Viranyi, F. (2008): Research progress in sunflower diseases and their management, Proc. of 17<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Cordoba, Spain, Vol. 1: 1-12
46. Vlassova, T. A. (1994): Total phenol content and phenol oxidizing enzymes activities in detached cotton roots inoculated with *Verticillium dahliae* Kleb., *Acta Horticulturae*, Vol. 381: 287-290
47. Vogt, T. (2010): Phenylpropanoid Biosynthesis, *Molecular Plant*, Vol. 3: 2-20
48. Gascuel, Q., Martinez, Y., Boniface, M. C., Vear, F., Pichon, M., Godiard, L. (2015): The sunflower downy mildew pathogen *Plasmopara halstedii*, *Molecular Plant Pathology*, Vol. 16: 109-122
49. Gaudet, D. M., Schulz, T. J. (1981): Transmission of *Phoma oleracea* var. *helianthi-tuberosi* by the Adult Stage of *Apion occidentale*, *Journal of Economic Entomology*, Vol. 74: 486-489
50. Generalić, I., Skroza, D., Šurjak, J., Smole Možina, S., Ljubenković, I., Katalinić, A., Šimat, V., Katalinić, V. (2012): Seasonal variation of phenolic compounds and biological properties in sage (*Salvia officinalis* L.), *Chemistry & Biodiversity*, Vol. 9: 441-457

51. Gentile, A., Deng, Z., La Malfa, S., Distefano, G., Domina, F., Vitale, A., Polizzi, G., Lorito, M., Tribulato, E. (2007): Enhanced resistance to *Phoma tracheiphilla* and *Botrytis cinerea* in transgenic lemon plants expressing a *Trichoderma harzianum* chitinase gene, *Plant Breeding*, Vol. 126: 146-151
52. Giraud, T., Enjalbert, J., Fournier, E., Delmotte, F., Deutch, C. (2008): Population genetics of fungal diseases of plants, *Parasite*, Vol. 15: 449-454
53. Godoy, M., Castano, F., Re, J., Rodriguez, R. (2005): *Sclerotinia* resistance in sunflower: I. Genotypic variations of hybrids in three environments of Argentina, *Euphytica*, Vol. 145: 147-154
54. Gruyter, J., Woudenberg, J. H. C., Aveskamp, M. M., Verkley, G. J. M., Groenewald, J. Z., Crous, P. W. (2012): Redisposition of *Phoma*-like anamorphs in *Pleosporales*, *Studies in Mycology*, Vol. 75: 1-36
55. Gulya, T., Rashid, Y., K., Maširević, M. S. (1997): Sunflower diseases, In. *Sunflower Technology and Production*, American Society of Agronomy Inc., Crop Science Society of America Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA: 263-379
56. Darvishzadeh, R., Dechamp-Guillaume, G., Hewezi, T., Sarrafi, A. (2007): Genotype-isolate interaction for resistance to black stem in sunflower (*Helianthus annuus*), *Plant Pathology*, Vol. 56: 654-660
57. Darvishzadeh, R., Sarrafi, A. (2007): Genetic analysis of partial resistance to black stem (*Phoma macdonaldii*) in sunflower as measured by a seedling test, *Plant Breeding*, Vol. 126: 334-336
58. Darvishzadeh, R., Pirzad, A., Danesh, R. Y., Sarrafi, A. (2010): The resistance response of sunflower genotypes to black stem disease under controlled conditions, *Phytopathologia Mediterranea*, Vol. 49: 187-193
59. Davar, R., Darvishzadeh, R., Majd, A. (2011): Genotype-isolate interaction for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower, *Phytopathologia Mediterranea*, Vol. 50: 442-449
60. Davar, R., Darvishzadeh, R., Rezaee Danesh, Y., Kholghi, M., Azizi, M., Shah, A. D. (2012): Single sequence repeat markers associated with partial resistance in sunflower to *Phoma macdonaldii*, *Phytopathologia Mediterranea*, Vol. 51: 541-548

61. Debaeke, P., Estragnat, A., Reau, R. (2003): Influence of crop management on sunflower stem canker (*Diaporthe helianthi*), *Agronomie*, Vol. 23: 581-592
62. Debaeke, P., Mestries, E., Desanlis, M., Sessau, C. (2015): Effects of crop management on the incidence and severity of fungal diseases in sunflower, In: *Sunflowers – Growth and Development, Environmental Influences and Pests/Diseases*, Nova Science Publishers, New York, USA: 201-225
63. Debaeke, P., Peres, A. (2003): Influence of sunflower (*Helianthus annuus* L.) crop management on Phoma black stem (*Phoma macdonaldii* Boerema), *Crop Protection*, Vol. 22: 741-752
64. Delmotte, F., Giresse, X., Richard-Cervera, S., M'baja, J., Vear, F., Tourvieille, J., Walser, P., de Labrouche, D. T. (2008): Single nucleotide polymorphisms reveal multiple introductions into France of *Plasmopara halstedii*, the plant pathogen causing sunflower downy mildew, *Infection, Genetic and Evolution*, Vol. 8: 534-540
65. Desanlis, M., Aubertot, N. J., Mestries, E., Debaeke, P. (2013): Analysis of the influence of a sunflower canopy on *Phomopsis helianthi* epidemics as a function of cropping practices, *Field Crops Research*, Vol. 149: 63-75
66. Descorps, C., Hebrard, C., Rakotonindraina, T., Dechamp-Guillaume, G., Mastries, E., Aubertot, JN. (2012): Advances in *Phoma macdonaldii* (*Leptosphaeria lindquistii*) epidemiology, Proc. of 18<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Mar del Plata, Argentina, 01-VC-8
67. Dhingra, D. O., Sinclair, B. J. (1985): *Basic Plant Pathology Methods*, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA: 1-339
68. Dimitrijevic, A., I. Pejovic, I. Imerovski, B. Dedic, S. Pajevic, and D. Miladinovic. (2013): DNA isolation from dry samples of broomrape - The effect of isolation method and sample storage on DNA yield and quality. *Rom. Agric. Res.* 30:349-359
69. Djebali, N. (2013): Agressiveness and host range of *Phoma medicaginis* isolated from *Medicago* species growing in Tunisia, *Phytopathologia Mediterranea*, Vol. 52: 3-15
70. Dominguez, J. B., Sarquis, A. V. (2012): „Challenges for the Sunflower Oil Market for 2020“, Proc. of 18<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Mar del Plata, Argentina, LS-5

71. Donald, P. A., Miller, J. F., Venette, J. R. (1986): Reaction of sunflower lines to *Phoma macdonaldii*, *Phytopathology*, Vol. 76: 956
72. Donald, A. P., Venette, R. J., Gulya, J. T. (1987): Relationship Between *phoma macdonaldii* and Premature Death of Sunflower in North Dakota, *Plant Disease*, Vol. 71: 466-468
73. Ekins, G. M., Aitken, B. A., Goulter, C. K. (2007): Aggressiveness among isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* from sunflower, *Australasian Plant Pathology*, Vol. 36: 580-586
74. Encheva, V. (2002): Variation in the aggressiveness of isolates from *Phomopsis / Diaporthe helianthi* Munt.-Cvet. et al. on sunflower, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, Vol. 8: 349-352
75. Encheva, J., Christov, M., Shindrova, P., Drumeva, M., Encheva, V. (2006): New sunflower restorer lines developed by direct organogenesis method from interspecific cross *Helianthus annuus* L. (cv. Albena) x *Helianthus salicifolius* L. – disease resistance, combining ability, *Helia*, Vol. 29: 95-106
76. Encheva, V., Valkova, D., Georgiev, G., Christov, M. (2012): Sources for resistance to the leaves pathogens caused grey (*Phomopsis helianthi*), brown (*Alternaria* sp.) and black (*Phoma macdonaldii*) spots on sunflower originated from the wild species *Helianthus annuus* L. Proc. of 18<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Mar del Plata, Argentina: 01-VC-9
77. El Sayed, F. (1978): Studies on the biology, epidemiology and control of *Phoma macdonaldii* Boerema, M. Sci. Thesis, University of Novi Sad, Serbia: 1-139
78. El Sayed, F. (1982): Searching for sources of resistance and study of the nature of sunflower resistance to *Phoma macdonaldii* Boerema, Doctoral dissertation, University of Novi Sad, Serbia: 1-139
79. El Sayed, F., Marić, A. (1981): Prilog proučavanju biologije i epidemiologije *Phoma macdonaldii* Boerema, prouzrokovala crne pegavosti suncokreta, *Zaštita bilja*, Vol. 32: 13-27
80. Zhou, L., Bailey, K. L., Chen, C. Y., Keri, M. (2005): Molecular and genetic analyses of geographic variation in isolates of *Phoma macrostoma* used for biological weed control, *Mycologia*, Vol. 97: 612-620
81. Ziebell, L. A., Barb, G. J., Sandhu, S., Moyers, T. B., Sykes, W. R., Doepfke, C., Gracom, L. K., Carlile, M., Marek, F. L., Davis, F. M., Knapp, J. S., Burke, M. J.

- (2013): Sunflower as a biofuels crop: An analysis of lignocellulosic chemical properties, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 59: 208-217
82. Ziquin, L., Zhang, M., Yingchun, W., Ru, L., Dilantha, G. W. F. (2008): Mycelial compatibility group and pathogenicity variation of *Sclerotinia sclerotiorum* populations in sunflower from China, Canada and England, *Plant Pathology Journal*, Vol. 7: 131-139
83. Ziquin, L., Yingchun, W., Yu, C., Zhang, J., Dilantha G. W. F. (2009): Genetic diversity and differentiation of *Sclerotinia sclerotiorum* populations in sunflower, *Phytoparasitica*, Vol. 37: 77-85
84. Jaffar, H. Z. E., Haris, N. B. M., Rahmat, A. (2008): Accumulation and partitioning of total phenols in two varieties of *Lebisia pumila* Benth. under manipulation of greenhouse irradiance, *Acta Horticulturae*, Vol. 797: 387-392
85. Jan, C. C., Seiler, G. J., Gulya, T. J., Feng, J. (2008): Use of wild *Helianthus* species in sunflower breeding, Proc. of the 17<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Cordoba, Spain: 29-43
86. Jambunathan, R., Kherdeker, S. M., Vadya, P. (1991): Ergosterol concentration in mold-susceptible and mold-resistant sorghum at different stages of grain development and its relationship to flavan-4-ols, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 39: 1866-1870
87. Jiafeng, L., Pinshan, W., Yueting, L., Fang, L., Peng, L., Yujun, Z., Guoming, H. (2011): Detection and identification of *Phoma macdonaldii* in sunflower seeds imported from Argentina, *Australasian Plant Pathology*, Vol. 40: 504-509
88. Jianping, X. (2006): Fundamentals of fungal molecular population genetic analysis, *Current Issues in Molecular Biology*, Vol. 8: 75-89
89. Jianyu, B., Biao, X., Canxing, D., Qingyuan, G., Xiaoming, W. (2012): Identification of *Phoma macdonaldii* Boerema causing black stem of sunflower in China, *Canadian Journal of Plant Pathology*, Vol. 34: 459-462
90. Jing, L., Xu, X., Jing, J., Li, L., Navi, S. S. (2015): Determination of physiological races and evaluation of sunflower for resistance to *Puccinia helianthi* Schw., *Journal of Phytopathology*, Vol. 163: 507-512
91. Jones, J. D. G., Dangl, J. L. (2006): The plant immune system, *Nature*, Vol. 444: 323-329

92. Kakvan, N., Zamanizadeh, H., Morid, B., Taheri, H., Hajmansor, S. (2012): Study on pathogenic and genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from citrus hybrids of Iran, based on RAPD-PCR technique, European Journal of Experimental Biology, Vol. 2: 570-576
93. Karasov, L. T., Horton, W. M., Bergelson, J. (2014): Genomic variability as a driver of plant-pathogen coevolution, Current Opinion in Plant Biology, Vol. 18: 24-30
94. Koeppe, D. E., Rohrbaugh, L. M., Rice, E. L., Wender, S. H. (1970): Tissue age and caffeoylquinic acid concentration in sunflower, Phytochemistry, Vol. 9: 297-301
95. Kolte, S. J. (1981): Diseases of annual edible oilseed crops, CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida, USA, Vol. 3: 1-154
96. Kulkarni, S., Hedge, Y. R., Kota, R. V. (2009): Pathogenic and morphological variability of *Plasmopara halstedii*, causal agent of downy mildew in sunflower, Helia, Vol. 32: 85-90
97. Kull, S. L., Pedersen, L. W. (2004): Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*, Plant Disease, Vol. 88: 325-332
98. Lačok, N., Mihaljčević, M. (1998): *Phomopsis helianthi* and *Phoma macdonaldii* on sunflower seed, Proc. of 2<sup>nd</sup> Balkan Symposium on Field Crops, Novi Sad, Yugoslavia, Vol. 2: 395-398
99. Larfeil, C., Barrault, G., Deschamp-Guillaume, G. (2010): Assessment of sunflower genotype tolerance to *Phoma macdonaldii*, Agronomie, Vol. 17: 161-166
100. Larfeil, C., Dechamp-Guillaume, G., Barrault, G. (2002): *Phoma macdonaldii* Boerema / *Helianthus annuus* L. interaction, Helia, Vol. 25: 153-159
101. Lattanzio, V., Lattanzio M. T. V., Cardinali, A. (2006): Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects, Phytochemistry: Advances in Research: 26-67
102. Lazzaro, N., Quiroz, J. F., Alvarez, D., Escande, A. (2012): Characterisation of INTA's sunflower germplasm bank against *Phoma macdonaldii* at Balcarce, Argentina, Proc. of 18<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Mar del Plata, Argentina: 01-VC-18
103. Lazzaro, N., Quiroz, J. F., Escande, A. (2012): First report of virulence variability of *Phoma macdonaldii* in Argentina, Proc. of 18<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Mar del Plata, Argentina: 01-VC-19

104. Leclercq, P. (1969): Une stérilité cytoplasmique chez le tournesol, Ann. Amélior. Plant, Vol. 19: 99-106
105. Li-fen, H., Pei-ling S., Zi-qin, L., Hai-yan, H., Qiang-sheng, L. (2014): Genetic diversity of phoma stem canker pathogen *Leptosphaeria biglobosa* by ISSR, Chinese Journal of Oil Crop Science, Vol. 36: 98-105
106. Limpert, E., Müller, K. (1994): Designation of Pathotypes of Plant Pathogens, Journal of Phytopathology, Vol. 140: 346-358
107. Lygin, V. A., Li, S., Vittal, R., Widholm, M. J., Hartman, L. G., Lozovaya, V. V. (2009): The Importance of Phenolic Metabolism to Limit the Growth of *Phakospora pachyrhizi*, Phytopathology, 99: 1412-1420
108. Madden, V. L., Paul, A. P., Lipps, E. P. (2007): Consideration on nonparametric approaches for assessing genotype-by-environment (G x E) interaction with disease severity data, Plant Disease, Vol. 91: 891-900
109. Madjidieh-Ghassemi, S. (1988): Studies of some important fungal diseases of sunflower in Iran. In: Proceedings of the Twelfth International Sunflower Conference, Novi Sad (Yugoslavia), Vol. 2 : 22-23
110. Malenčić, Đ., Popović, M., Miladinović, J. (2007): Phenolic content and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seeds, Molecules, Vol. 12: 576-581
111. Maširević, S. (1995): Proposed methodologies for inoculation of sunflower with *Phoma macdonaldii* and for disease assessment, Proposed Methodologies for Inoculation of Sunflower with Different Pathogens and for Disease Assessment, The FAO European Research network on Sunflower, Bucharest, Romania: 15-16
112. Маширевић, С. (2000): Узроци смањења просечног приноса сунцокрета током 1999. године, Биљни лекар, Вол. 28: 124-127
113. Maširević, S., Medić-Pap, S., Terzić, A., Dedić, B., Balalić, I. (2014): *Phoma macdonaldii* on seed and its importance in etiology of Phoma black stem in sunflower, Matica Srpska Journal for Natural Sciences, 126: 57-65
114. Marić, A., Schneider, R. (1979): Die Schwarzfleckenkrankheit der Sonnenblume in Jugoslawien und Ihr Erreger *Phoma macdonaldii* Boerema, Journal of Phytopathology, Vol. 94: 226-233



115. Martinson, A. C. (1988): Phytoalexin type response of sunflower stems to *Sclerotinia sclerotiorum*, Proc. of 12<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Novi Sad, Yugoslavia, Vol. 2: 380
116. McDonald, W. C. (1964): *Phoma* black stem of sunflowers, Phytopathology, Vol. 54: 492-493
117. McDonald, B. A., Linde, C. (2002): Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance, Annual Review of Phytopathology, Vol. 40: 349-379
118. Marić, A., Maširević, S., El Sayed, F. (1981): Pojava *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi, savršenog stadija gljive *Phoma macdonaldii* Boerema prouzrokovala crne pegavosti suncokreta u Jugoslaviji. Zaštita bilja, Vol. 32: 329-334
119. Марић, А., Чампраг, Д., Маширевић, С. (1988): Болести и штеточине сунцокрета, Нолит, Београд: 1-379
120. Mazid, M., Khan, T. A., Mohammad, F. (2011): Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants, Biology and Medicine, Vol. 3: 232-249
121. McDonald, C. W. (1964): *Phoma* Black Stem of Sunflowers, Phytopathology, Vol. 54: 492
122. Mihaljčević, M. (1978): Choosing a suitable technique for screening for resistance to charcoal rot in climatic conditions of Yugoslavia, 8<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Minneapolis, Minnesota, USA: 258-264
123. Miric, E., Aitken, A. B. E., Goulter, C. K. (1999): Identification in Australia of the quarantine pathogen of sunflower *Phoma macdonaldii* (Teleomorph: *Leptosphaeria lindquistii*), Australian Journal of Agricultural Research, Vol. 50: 325-332
124. Moral del, R. (1972): On the variability of chlorogenic acid concentration, Oecologia, Vol. 9: 289-300
125. Mouzeyer, S., Tourvieille de Labrouhe, D., Vear, F. (1994): Effect of host-race combination on resistance of sunflower, *Helianthus annuus* L. to downy mildew *Plasmopara halstedii*, Journal of Phytopathology, Vol. 141: 249-258
126. Nagl, N., Taski-Ajdukovic, K., Barac, G., Baburski, A., Seccareccia, I., Milic, D., Katic, S. (2011): Estimation of the genetic diversity in tetraploid alfalfa populations based on RAPD markers for breeding purposes. Int. J. Mol. Sci., 12: 5449- 5460. DOI: 10.3390/ijms12085449

127. Nagy, S., Poczai, P., Cernák I., Gorji, A. M., Hegedűs, G., Taller, J. (2012): PICcalc: An online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies, *Biochemical Genetics*, Vol. 50: 670-672
128. Nelson, D. B., Hertsgaard, D. M., Holley, C. R. (1989): Disease progress of Sclerotinia wilt of sunflower at varying plant populations, inoculum densities, and environments, *Phytopathology*, Vol. 79: 1358-1363
129. Onfroy, C., Tivoli, B., Corbière, R., Bouznad, Z. (1999): Cultural, molecular and pathogenic variability of *Mycosphaerella pinodes* and *Phoma medicagnis* var. *pinodella* isolates from dried pea (*Pisum sativum*) in France, *Plant Pathology*, Vol. 48: 218-229
130. Page, D. M. R. (1996): TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers, *Bioinformatics*, Vol. 12: 357-358
131. Pariaud, B., Ravigne, V., Halkett, F., Goyeau, H., Carlier, J., Lannou, C. (2009): Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens, *Plant Pathology*, Vol. 58: 409-424
132. Pavlicek, A., Hrda, S., Flegr, J. (1999): Free-Tree – freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the genus *Flanklinelia*, *Folia Biologica*, Vol. 45: 97-99
133. Pažoutova, S. (2009): Genetic variation of *Phoma sorghina* isolates from Southern Africa and Texas, *Folia Microbiologica*, Vol. 54: 217-229
134. Peakall, R., Smouse, P. E. (2006): GENALEX 6: genetic analysis in Excel. population genetic software for teaching and research, *Molecular Ecology Notes*, Vol. 6: 288-295
135. Peakall, R., Smouse, P. E. (2006): GENALEX 6.5: genetic analysis in Excel. population genetic software for teaching and research – an update, *Bioinformatics*: Vol. 28: 2537-2539
136. Penaud, A., Deverchere, J., Peres, A., Arjaure, G., Allard, L. (1994): Phoma and sunflower in 1993, *Progres Report*, Cetiom
137. Permigeat, R. H., Romagnoli, V. M., Sesma, I. J., Vallejos, H. R. (1998): A simple method for isolating DNA of high yield and quality from cotton (shape *Gossypium hirsutum* L.) leaves, *Plant Molecular Biology Reporter*, Vol. 16: 89-89

138. Поповић, М., Маленчић, Ђ. (2006): Активни принципи украсног биља, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду: 1-173
139. Prats, E., Bazzalo, M. E., Leon, A., Jorrin, J. V. (2003): Accumulation of soluble phenolic compounds in sunflower capitula correlates with resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*, *Euphytica*, Vol. 132: 321-329
140. Prats, E., Bazzalo, M. E., Leon, A., Jorrin, J. V. (2006): Fungitoxic effect of scopolin and related coumarins on *Sclerotinia sclerotiorum*: A way to overcome sunflower head rot, *Euphytica*, Vol. 147: 451-460
141. Prats, E., Llamas, M. J., Jorrin, J., Rubiales, D. (2007): Constitutive coumarin accumulation on sunflower leaf surface prevents rust germ tube growth and appressorium differentiation, *Crop Science*, Vol. 47: 1119-1124
142. Purwantra, A., Barrins, J. M., Cozijnsen A. J., Ades, P. K., Howlett B. J. (2000): Genetic diversity of isolates of the *Leptosphaeria maculans* species complex from Australia, Europe and North America using amplified fragment length polymorphism analysis, *Mycological Research*, Vol. 104: 772-781
143. Pustavojt, G. V., Skuropet, Z. J. (1978): Resistance of Wild Species of Genus *Helianthus*, *VNIIMK Review of Pests and Diseases of Oil Crops*: 45-49,
144. Quiroz, F. J., Edwards Molina, J. P., Dosio, G. A. A. (2014): Black stem by *Phoma macdonaldii* affected ecophysiological components that determine grain yield in sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Field Crops Research*, Vol. 160: 31-40
145. Rai, K. M. (1989): *Phoma sorghina* infection in human being, *Mycopathologia*, Vol. 105: 167-170
146. Ramusi, M., Flett, B. (2015): Phoma black stem of sunflowers: Potentially devastating in certain production fields, [www.grainsa.co.za](http://www.grainsa.co.za)
147. Raut, G. J. (1977): Phoma leaf blight of sunflower, *Indian Phytopathology*, Vol 30: 269-271
148. Ricoch, A., Harwood, W., Svobodová, Z., Sági, L., Hundleby, P., Marcela Badea, E., Rosca, I., Cruz, G., Fevereiro, M. P., Marfà Riera, V., jasson, S., Morandini, P., Bojinov, B., Cetiner, S., Custers, R., Schrader, U., Jacobsen, H., Martin-Laffon, J., Boisron, A., Kuntz, M. (2015): Challenges facing European agriculture and possible biotechnological solutions, *Critical Reviews in Biotechnology*, DOI: 10.3109/07388551.2015.1055707

149. Rivero, M. R., Ruiz, M. J., Garcia, C. P., Lopez-Lefebvre, R. L., Sanchez, E., Romero, L. (2001): Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants, *Plant Science*, Vol. 160: 315-321
150. Roeckel-Drevet, P., Tourvieille, J., Gulya, T. J., Charmet, G., Nicolas, P., Tourvieille de Labrouche, D. (2003): Molecular variability of sunflower downy mildew, *Plasmopara halstedii*, from different continents, Vol. 49: 492-502
151. Rogers, E. C., Thompson, E. T., Seiler, J. G. (1982): Sunflower Species of the United States, National Sunflower Association, Fargo, USA: 1-75
152. Rosenthal, G. A., (1991): The biochemical basis for the deleterious effect of L-canavanine, *Phytochemistry*, Vol. 30: 1055-1058
153. Rousteae, A., Barrault, G., Dechamp-Guillaume, G., Lesigne, P., Sarrafi, A. (2000): Inheritance of partial resistance to black stem (*Phoma macdonaldii*), a fungal pathogen of sunflower, *Plant Pathology*, Vol. 49: 369-401
154. Rousteae, A., Costes, D., Dechamp-Guillaume, G., Lesigne, P., Sarrafi, A. (2000): Phenotypic variability of *Leptosphaeria lindquistii* (anamorph: *Phoma macdonaldii*) in sunflower, *Plant Pathology*, Vol. 49: 227-234
155. Rousteae, A., Dechamp-Guillaume, G., Galie, B., Savy, C., Dargent, R., Barrault, G. (2000): Ultrastructural Studies of the Mode of Penetration by *Phoma macdonaldii* in Sunflower Seedlings, *Phytopathology*, Vol. 8: 915-920
156. Saftić-Panković, D., Veljović-Jovanović, S., Pucarević, M., Radovanović, N., Mijić, A. (2006): Phenolic compounds and peroxidases in sunflower near-isogenic lines after downy mildew infection, *Helia*, Vol. 45: 33-42
157. Sakr, N. (2011): Pathogenic variability in *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew), *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, Vol. 44: 1225-1231
158. Sakr, N. (2012): Aggressiveness variation in *Plasmopara halstedii* and its alternation with non-race-specific resistance in sunflower, *Archives of Phytopathology & Plant Protection*, Vol. 45: 1633-1641
159. Sakr, N. (2013): Pathogenic, morphological and genetic diversity in *Plasmopara halstedii*, the causal agent of sunflower downy mildew, *Acta Scientiarum: Agronomy*, Vol. 35: 9-19

160. Says-Lesage, V., Roeckel-Drevet, P., Viguié, A., Tourvieille, J., Nicolas, P., Tourvieille de Labrouche, D. (2001): Molecular variability within *Diaporthe/Phomopsis helianthi* from France, *Phytopathology*, Vol. 92: 308-313
161. Schilling, E. E. (2006): *Helianthus*, Flora of North America Editorial Committee, Flora of North America North of Mexico, Oxford University Press, New York and Oxford, Vol. 21: 141-169
162. Schneiter, A. A., Miller, F. J. (1981): Description of Sunflower Growth Stages, *Crop Sci.*, Vol. 21: 901-903
163. Sessau, C., Mestries, E., Debaeke, P., Deschamp-Guillaume, G. (2008): Effect of nitrogen and water on premature ripening caused by *Phoma macdonaldii*, a fungal pathogen of sunflower, Proc. of 17<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Cordoba, Spain, Vol. 1: 199-204
164. Sessau, C., Dechamp-Guillaume, G., Mestries, E., Debaeke, P. (2010): Nitrogen and water management can limit premature ripening of sunflower induced by *Phoma macdonaldii*, *Field Crop Science*, Vol. 115: 99-106
165. Shahbazi, H., Heshmatollah, A., Sahebani, N., Halterman, A. D. (2010): Biochemical Evaluation of Resistance Responses of Potato to Different Isolates of *Alternaria solani*, *Phytopathology*, Vol. 100: 454-459
166. Simko, I., Piepho, H. P. (2011): The area under the disease progress stairs: calculation, advantage, and application, *Phytopathology*, Vol. 102: 381-389
167. Siddique-Mirza, M., Masood, A.R., Ayub, M. (1988): Sunflower diseases in Pakistan in the period 1980-87. In: Proceedings of the Twelfth International Sunflower Conference, Novi Sad (Yugoslavia), Vol. 2: 25
168. Smith, B. D. (2014): The domestication of *Helianthus annuus* L. (sunflower), *Vegetation History and Archeobotany*, Vol. 23: 57-74
169. Spring, O., Bachofer, M., Thines, M., Riethmüller, A., Göker, M., Oberwinkler, F. (2006): Interspecific relationship of *Plasmopara halstedii* isolates differing in pathogenicity and geographic origin based on ITS sequence data, *European Journal of Plant Pathology*, Vol. 114: 309-315
170. Stajić, M., Vukojević, J., Duletić-Laušević, S., Lačok, N. (2001): Development of reproductive structures of *Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet. et al. and *Phoma macdonaldii* Boerema in sunflower seeds, *Helia*, Vol. 24: 83-948

171. Stotz, U. H., Sawada, Y., Shimada, Y., Hirai, Y. M., Sasaki, E., Krischke, M., Brown, D. P., Saito, K., Kamiya, Y. (2011): Role of Camalexin, Indole Glucosinolates, and Side Chain Modification of Glucosinolate-Derived Isothiocyanates in Defense of *Arabidopsis* against *Sclerotinia sclerotiorum*, *The Plant Journal*, Vol. 67: 81-93
172. Strange, N. R. (2003): The measurement of inoculum and disease severity and their effects on crop yields, In: *Introduction to Plant Pathology*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England: 89-106
173. Sugawara, F., Strobel, G. (1986): Zinniol, a phytotoxin, is produced by *Phoma macdonaldii*, *Plant Science*, Vol. 43: 19-23
174. Tal, B., Robenson, J. D. (1985): The induction, by fungal inoculation, of ayapin and scopoletin biosynthesis in *Helianthus annuus*, *Phytochemistry*, Vol. 25: 77-79
175. Tal, B., Robenson, J. D. (1986): The Metabolism of Sunflower Phytoalexins Ayapin and Scopoletin, *Plant Physiology*, Vol. 82: 167-172
176. Tančić, S., Dedić, B., Dimitrijević, A., Imerovski, I., Dušanić, N., Miladinović, D. (2012): Genetic diversity of *Macrophomina phaseolina* isolates from different regions and host plants, *Proc. of 18<sup>th</sup> International Sunflower Conference*, Mar del Plata, Argentina: 304-309
177. Tiwari, V. V., Gade, A. K., Rai, M. (2013): A study of phylogenetic variations among Indian *Phoma tropica* species by RAPD-PCR nad ITS-rDNA sequencing, *Indian Journal of Biotechnology*, Vol. 12: 187-194
178. Thebaud, V., Scheiner, J. D., Dayde, J. (2011): Influence of soil tillage and *Phoma macdonaldii* on sunflower (*Helianthus annuus* L.) yield and quality, *ФЫТОН*, Vol. 80: 203-210
179. Thompson, S. M., Tan, Y. P., Young, A. J., Neate, S. M., Aitken, E. A. B., Shivas, R. G. (2011): Stem cankers on sunflower (*Helianthus annuus*) in Australia reveal a complex of pathogenic *Diaporthe* (*Phomopsis*) species, *Persoonia*, Vol. 27: 80-89
180. Thompson, S., Young, A., Shivas, R. (2010): *Phomopsis* stem canker – an emerging disease of Australian sunflowers, *Proc. of the 1<sup>st</sup> Australian Summer Grains Conference*, Gold Coast, Australia

181. Tourvieille de Labrouhe, D., Ducher, M., Philippon, J., Meliala, C., Walser, P (2000): Les méthodes d'analyse du mildiou, Le mildiou du tournesol, CETIOM INRA, France: 53-66
182. Travadon, R., Sache, I., Dutech, C., Stachowiak, A., Marquer, B., Bousset, L. (2011): Absence of isolation by distance patterns at the regional scale in the fungal plant pathogen *Leptosphaeria maculans*, Fungal Biology, Vol. 115: 649-659
183. Frezzi, J. M. (1964): Especie del género *Phoma* parásita de *Helianthus annuus* L. en Manfredi (Córdoba), República Argentina. – IDIA, enero 1964: 37-40
184. Frezzi, M. J. (1968): *Leptosphaeria lindquistii* n. sp., forma sexual de *Phoma oleracea* var. *helianthi-tuberosi* Sacc., hongo vasual di la „mancha negra del tallo“ del girasol (*Helianthus annuus* L.) en Argentina. Revista de Investigaciones Agropecuaries, Vol. 5: 73-80
185. Friend, J. (1981): Alterations in secondary metabolism, In: Effects of disease on the physiology of the growing plant, Cambridge University Press, New York, USA: 179-200
186. Friskop, A. J., Gulya, T., Harveson, R. M., Humann, R. M., Acevedo, M., Markell, S. G. (2015): Phenotypic diversity of *Puccinia helianthi* (sunflower rust) in the United States from 2011 and 2012, Plant Disease, <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-11-14-1127-RE>
187. Fry, E. W. (1982): Principles of Plant Disease Management, Academic Press Inc., New York, New York, USA: 1-378
188. Hall, A. B., Blum, U., Fites, R. C. (1982): Stress modification of allelopathy of *Helianthus annuus* L. debris on seed germination, American Journal of Botany, Vol. 69: 776-783
189. Hammoudi, O., Salman, M., Abumsha, R., Ehlers, R. (2012): Effectiveness of Bacterial and Fungal Isolates to Control *Phoma lingam* on Oilseed Rape *Brassica napus*, American Journal of Plant Sciences, Vol. 3: 773-779
190. Hartman, L. C., Donald, A. G., Secor, A. G., Miller, F. J. (1988): Sunflower tissue culture and use in selection for resistance to *Phoma macdonaldii* and white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*), Proc. of 12<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Novi Sad, Yugoslavia, Vol. 2: 347-351

191. Heiser, B. C., Smith, M. D. (1969): The North American Sunflowers, Series Memoirs, Torrey Botanical Club, Publisher Durham N. C., Vol. 22: 1-218
192. Hemery, C. M., Vear, F., Jay, M., Tourvieille, D. (1988): Research into phenolic markers for resistance of sunflower to *Sclerotinia spp.*, Proc. of 12<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Novi Sad, Yugoslavia, Vol. 2: 374-380
193. <http://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/Sunflower.aspx>
194. [http://www.intersistem.rs/proizvodi/site/info/images/velike/srbija-nema-zidna\\_3643.jpg](http://www.intersistem.rs/proizvodi/site/info/images/velike/srbija-nema-zidna_3643.jpg)
195. Carson, M. L. (1991): Relationship between Phoma black stem severity and yield losses in hybrid sunflower, Plant Disease, Vol. 75: 1150-1153
196. Castell-Miller, V. C., Szabo, J. L., Rosewich Gale, L., O'Neill, R. N., Samac, A. D. (2008): Molecular variability of a Minnesota population *Phoma medicaginis* var. *medicaginis*, the casual agent of spring black stem and leaf spot of alfalfa, Canadian Journal of Plant Pathology, Vol. 30: 85-96
197. Chan, Y., Sackston, E. (1970): Mechanisms of pathogenesis in *Sclerotium bataticola* on sunflowers. II. Pectolytic and cellulolytic enzyme production in vitro and in vivo, Canadian Journal of Botany, Vol. 48: 1073-1077
198. Chande, A., Kövics, G. J., Sandhu, S. S., Rai, M. K. (2010): Morphological and genetic differentiation among four pigment producing Indian species of *Phoma* (Saccardo, 1899), Indian Journal of Microbiology, Vol. 50: 110-116
199. Christov, M. (2008): *Helianthus* species in breeding research on sunflower, Proc. of 17<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Cordoba, Spain, Vol. 2: 709-714
200. Christov, M. (2012): Contribution of interspecific hybridisation to sunflower breeding, Helia, Vol. 35: 37-46
201. Cohen, Y., Ibrahim, K. R. (1975): Changes in phenolic compounds of sunflowers infected by *Plasmopara halstedii*, Canadian Journal of Botany, Vol. 53: 2625-2630
202. Škorić, D. (1985): Sunflower breeding for resistance to Diaporthe/Phomopsis helianthi, Helia, Vol. 8: 21-24
203. Škorić, D. (1988): Sunflower breeding, Uljarstvo, No. 1: 3-90
204. Шкорић, Д., Вребалов, Т., Ђупина, Т., Туркулов, Ј., Маринковић, Р., Маширевић, С, Атлагић, Ј., Тадић, Л., Секулић, Р., Станојевић, Д.,



- Ковачевић, М., Јанчић, В., Сакач, З. (1989): Сунцокрет, Нолит, Београд: 1-613
205. Škorić, D. (1992): Achievements and future directions of sunflower breeding, *Field Crops Research*, Vol. 30: 195-230
206. Шкорић, Д. (2006): Достигнућа у оплемењивању сунцокрета, *Зборник радова*, Вол. 42: 131-171
207. Škorić, D. (2012): Sunflower breeding, In: *Sunflower Genetics and Breeding*, Serbian Academy of Sciences and Arts, Branch in Novi Sad, Serbia: 165-354
208. Weisshaar, B., Jenkins, G. I. (1998): Phenylpropanoid biosynthesis and its regulation, *Current Opinion in Plant Biology*, 1: 251-257
209. West, J. S., Kharbanda, P. D., Barbetti, M. J., Fitt, B. D. L. (2001): Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) on oilseed rape in Australia, Canada and Europe, *Plant Pathology*, Vol. 50: 10-27
210. Wink, M. (1999): Introduction: biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites, In: *Biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites*, M. Wink, (Ed.), 1-16, Annual Plant Reviews, Sheffield Academic Press and CRC Press, Sheffield, UK: 1-16
211. Wu, P. S., Du, H. Z. (2012): Occurrence of *Phoma macdonaldii*, the causal agent of sunflower black stem disease, in sunflower fields in China, *Plant Disease*, Vol. 96: 1696
212. Yakutkin, V. I. (2005): Mapping of sunflower diseases in Russia and CIS countries. Proc. of Second All-Russian Congress of Plant Protection, Saint Petersburg, Russia: 5-10
213. Yasari, E. (2012): Diversity of *macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid based on chlorate phenotypes and pathogenicity, *International Journal of Biology*, Vol. 4: 54-63
214. Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. (1997): POPGENE the user friendly software for population genetic analysis, Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta: Edmonton, Canada

## 10. Прилози

### Прилог 1. Фазе развоја сунцокрета

Фазе развоја сунцокрета према Schneiter и Miller (1981).



V-E Поник са котиледонима и листовима чија дужина не прелази 4 cm



V 4 Фаза вегетативног развоја биљке са 4 листа чија дужина прелази 4 cm. Фазе вегетативног развоја се означавају латиничним словом V и бројем који означава број формираних листова. У каснијим фазама развоја биљке уколико је дошло до одумирања листова броје се места почетка лисне петељке



R 1 Почетак формирања цвасти која има звездаст изглед



R 2 Бутон се налази од 0,5 до 2,0 cm од последњег листа на стаблу биљке



R 3 Дужна стабла између бутона и последњег листа на стаблу прелази 2,0 cm



R 4 Почетак отварања цвасти. Видљиви непотпуно формиран и језичасти цветови



R 5.1 Почетак цветања. Број 1 означава проценат трубастих цветова који су у фази цветања или су завршили цветање (1-10%, 2-20%, 3-30%,..., 9-90%)



R 5.9



R 6 Завршетак цветања



R 7 На наличју главице се почиње појављивати бледо жута боја



R 8 Наличје главице жуте боје, али брактеје задржавају зелену боју



R 9 Брактеје жуте и смеђе боје. Фаза физиолошке зрелости сунцокрета

## 11. Биографија

Бошко Дедић мр., је рођен 23. јула 1980. године у Шибенику, Република Хрватска. Основну школу је завршио у Дрнишу, а гимназију "Вељко Петровић" у Сомбору.

Пољопривредни факултет у Новом Саду, смер Заштита биља је уписао школске 1998/99. Дипломирао је 2. октобра 2003. године са просечном оценом 9,11. Дипломски рад под називом "Одређивање садржаја имидаклоприда у луку течном хроматографијом (HPLC)" одбранио је са оценом 10. Магистарске студије на Пољопривредном факултету, смер Фитофармација је уписао школске 2003/2004 године, а смер Фитопатологија школске 2005/2006 године. Магистарски рад под називом Извори толерантности сунцокрета (*Helianthus annuus* L.) према проузроковачу беле трулежи цвасти сунцокрета (*Sclerotinia sclerotiorum* Lib. de Vary) је одбранио 03.02.2010. године. Планирање и извођење експеримената у оквиру докторске тезе започиње 2010. године.

Од априла 2004. године је запослен на Институту за ратарство и повртарство као стручни сарадник на хербологији, Одељења за заштиту биља, затим од јуна 2005. као стручни сарадник, а од фебруара 2007. као истраживач приправник у Фитопатолошкој лабораторији Одељења за уљане културе. У звање истраживач сарадник изабран је 08.10.2010. године. Учествовао је и тренутно је ангажован на домаћим и међународним пројектима.

Боравио је на усавршавању у Израелу на курсу "Research and Development of New Concepts in Integrated Pest Management" у трајању од месец дана, у мају 2009. године.

Објавио је 72 ауторска и коауторска рада из области фитофармације и фитопатологије. Говори енглески језик.