

# Vrste roda *Diaporthe/Phomopsis* na soji u Srbiji

Miloš Vidić, Stevan Jasnić i Kristina Petrović

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija  
(milos.vidic@ifvcns.ns.ac.rs)

Primljen: 17. juna 2011.  
Pribvaćen: 18. jula 2011.

## REZIME

Kompleks oboljenja na soji izazivaju gljive iz roda *Diaporthe/Phomopsis*. Kao paraziti soje opisana su tri varijeteta vrste *Diaporthe phaseolorum* (anamorf *Phomopsis phaseoli*), i to: *D. phaseolorum* var. *sojae* (syn. *P. sojae*), prouzrokovac paleži mahuna i stabla (pod and stem blight), zatim *D. phaseolorum* var. *caulivora* i *D. phaseolorum* var. *meridionalis* prouzrokovajući „severnog“ i „južnog“ tipa raka stabla (soybean stem canker). *Phomopsis longicolla* (teleomorf nepoznat) je najčešći prouzrokovac truleži semena (soybean seed decay), mada ovo oboljenje izazivaju i sva tri varijeteta gljive *D. phaseolorum*.

Svi pomenuti pripadnici roda, izuzev *D. phaseolorum* var. *meridionalis*, prisutni su na soji u Srbiji, a najveći značaj ima *D. phaseolorum* var. *caulivora*, prouzrokovac raka stabla. Poslednjih nekoliko decenija sprovedena su brojna, sveobuhvatna proučavanja parazita roda *Diaporthe/Phomopsis* na soji u našoj zemlji. Nedavno započeta istraživanja na molekularnom nivou ukazuju da su pored pomenutih na soji prisutne i druge vrste ovog roda. U ovom radu su analizirani rezultati višegodišnjih istraživanja u svetu i kod nas.

**Ključne reči:** Soja; *Diaporthe/Phomopsis* vrste; rak stabla; palež mahuna i stabla; trulež semena

## UVOD

Gljive roda *Diaporthe/Phomopsis* su značajni paraziti soje (*Glycine max.* (L.) Merr.) u većini regiona gajenja ove biljne vrste u svetu (Sinclair, 1999). Prema Kuliku (1983) pripadnici ovog roda prouzrokuju kompleks oboljenja na svim delovima biljke. Kompleks oboljenja izazivaju vrste *Diaporthe phaseolorum* (Cooke & Ellis) Sacc. (anamorf *Phomopsis phaseoli* (Desmaz.) Sacc.) i *Phomopsis longicolla* Hobbs (teleomorf nepoznat). U okviru prvo pomenute vrste egzistiraju tri varijeteta, i to: *D. phaseolorum* var. *caulivora* Athow & Caldwe-

ll, *D. phaseolorum* var. *meridionalis* Fernández, prouzrokovaci raka stable soje (severni i južni tip) i *D. phaseolorum* var. *sojae* (Lehman) Wehmeyer prouzrokovac paleži stabla i mahuna. Vrsta *P. longicolla* je najčešći uzročnik truleži semena (Morgan-Jones, 1989; Sinclair, 1999; Pioli i sar., 2003).

Na soji u Srbiji prisutne su obe pomenute vrste roda *Diaporthe/Phomopsis*: *D. phaseolorum* i *P. longicolla*. Njihova pojava je prvi put uočena u vreme kada se ova industrijska biljka ustalila na značajnim površinama. Radovi Jasnića i Vidića (1981, 1983) među prvima ukazuju na širenje *D. phaseolorum* var. *caulivora* (rak

stabla) izvan severnoameričkog potkontinenta. Nešto kasnije opisana je i *D. phaseolorum* var. *sojae* (palež mahuna i stabla i trulež semena) (Jasnić i Vidić, 1985; Tošić i sar., 1986). Vrsta *P. longicolla*, prouzrokovač truleži semena soje, takođe je uočena na soji u Srbiji, po prvi put u Evropi (Vidić i Jasnić, 1994).

S obzirom da vrste roda *Diaporthe/Phomopsis* mogu značajno umanjiti prinos i kvalitet soje i u našoj zemlji, proučavanju ovih parazitnih gljiva posvećena je značajna pažnja. U poslednjih 30 godina sprovedena su brojna istraživanja rasprostranjenosti, štetnosti, morfoloških i patogenih karakteristika, biologije i epidemiologije ovih parazita, kao i iznalaženje mogućnosti njihovog suzbijanja. Nedavno započeta istraživanja na molekularnom nivou ukazuju da su pored navedenih na soji prisutne i neke druge vrste ovog roda. U radu je dat sažet pregled rezultata dosadašnjih istraživanja vrsta roda *Diaporthe/Phomopsis*, parazita soje u Srbiji.

## RASPROSTRANJENOST I EKONOMSKI ZNAČAJ

Kompleks oboljenja koji na soji prouzrokuju gljive roda *Diaporthe/Phomopsis* uočen je i opisan najpre u SAD, početkom dvadesetog veka. Kao prouzrokovač paleži mahuna i stabla navodi se vrsta *Phomopsis sojae*, a kasnije i teleomorfni stadijum gljive *Diaporthe sojae* (Lehman, 1922, 1923). Bolest se vremenom raširila u svim regionima sveta gde se soja gaji: Južna Amerika, Azija, Afrika i Evropa (Sinclair i Backman, 1989). U Srbiji je utvrđena pojava ovog oboljenja sredinom osamdesetih godina prošlog veka u Vojvodini (Jasnić i Vidić, 1985) i centralnom delu Srbije (Tošić i sar., 1986). Mada je oboljenje na stablu široko rasprostranjeno u većini regiona gajenja soje u svetu, nema podataka o značajnijem uticaju na prinos (Kmetz i sar., 1978). Kulik i Sinclair (1999) iznose da su gubici u svetu, usled pojave paleži mahuna i stabla 1994. godine, bili oko 265000 tona zrna soje. Prema proceni Wrather-a i Koenninga (2009) u periodu od 1996. do 2007. godine gubici u SAD se kreću između 3 i 24 miliona bušela godišnje, a najveće štete registrovane su u 2001. godini. U našoj zemlji nije do sada bilo preciznijih istraživanja uticaja paleži stabla i mahuna na prinos soje, ali se smatra da je oboljenje od minornog značaja.

U periodu od 1943. do 1948. godine u SAD je publikovano nekoliko radova u kojima se ukazuje na pojavu prevremenog uvenuća biljaka soje (Bretz, 1943; Koch i Hildebrand, 1943; King, 1948). Welch (1947) ovo oboljenje naziva rak stabla soje (soybean stem canker),

a Athow i Caldwell (1954) kao prouzrokovača navode *D. phaseolorum* var. *caulivora*. U narednih nekoliko godina rak stabla se naglo širi u severnim i centralnim državama SAD i u Ontariju (Kanada). Izazivajući jake epifitocije postaje ekonomski najznačajnije oboljenje soje (Andrews, 1950; Crall, 1950; Hildebrand, 1951). Nakon nekoliko godina jake pojave raka stabla došlo je do smanjenja intenziteta zaraze, usled eliminisanja iz proizvodnje veoma osetljivih sorti Havkeye i Blackhawk (Hildebrand, 1955; Athow, 1973). Početkom sedamdesetih godina prošlog veka rak stabla se širi i u južne države SAD, prvo sporadično, a zatim u sve jačem intenzitetu (Backman i sar., 1981, 1985; Hilty, 1981; Krause i Fortnum, 1983; Kulik, 1985). Utvrđene su izvesne morfološke razlike između prouzrokovača „severnog“ i „južnog“ raka stabla, pa je prouzrokovač južnog tipa oboljenja prvo označen kao *D. phaseolorum* f. sp. *meridionalis* (Morgan-Jones, 1989), a kasnije *D. phaseolorum* var. *meridionalis* (Fernández i Hanlin, 1996). Oba tipa raka stabla (južni i severni) prisutna su i na soji u Južnoj Americi, a naročito u Argentini (Pioli i sar., 1997, 2001) i Brazilu (Costamilan i sar., 2008).

Pojava raka stabla soje u Evropi (prvi put izvan severnoameričkog potkontinenta) zabeležena je 1980. godine u Srbiji (Jasnić i Vidić, 1981, 1983), a oboljenje je, na osnovu karakterističnih simptoma prvobitno nazvano crna pegavost stabla. Prouzrokovač je *D. phaseolorum* var. *caulivora*, što ukazuje da je na soji u našoj zemlji prisutan „severni“ tip raka stabla, a što je potvrđeno pri kasnijim proučavanjima patogenosti izolata, na različitim test sortama (Vidić, 1991). Oboljenje je uočeno u okolini Novog Sada, a nakon nekoliko godina i u svim delovima Vojvodine, glavnom regionu gajenja soje u Srbiji. Najjače zaraze redovno su konstatovane u južnom i jugoistočnom Banatu, na jugu Bačke i u Sremu (Vidić, 1987). Posle prve pojave, intenzitet raka stabla se progresivno povećavao u narednih 5 do 7 godina. Kasnije se oboljenje javljalo retko, a samo u pojedinim godinama i u nekim regionima dolazilo je do jače pojave (Vidić, lična zapažanja). Do sada nije registrovan „južni“ tip raka stabla na soji u Srbiji, koji izaziva *D. phaseolorum* var. *meridionalis*.

Kompleks oboljenja koja izazivaju vrste roda *Diaporthe/Phomopsis* prouzrokuju veće gubitke u prinosu soje od bilo kojeg drugog pojedinačnog patogena (Hartman i sar., 1999). Prouzrokovači raka stabla *D. phaseolorum* var. *caulivora* i *D. phaseolorum* var. *meridionalis* su potencijalno najštetniji, jer izazivaju uvenuća i sušenje biljaka u porastu. Kada se sredinom prošlog veka oboljenje pojavilo u severnim i centralnim državama SAD (severni tip raka stabla) registrovane su značajne štete,

na šta ukazuje više autora. Tako Andrews (1950) navodi da je na pojedinim parcelama bilo i do 80% obolelih biljaka, što je za 50% umanjilo prinos, a Crall (1956) je utvrdio da svaki procenat zaraženih biljaka smanjuje prinos za 0,268 bušela po akru. Kako je već istaknuto, eliminisanjem iz proizvodnje osetljivog sortimenta dolazi do smanjenja intenziteta zaraze i oboljenje gubi na značaju u severnim i centralnim delovima SAD. Ovo potvrđuju i rezultati do kojih su došli Wrather i Koenning (2009) pri proceni šteta nastalih usled pojave bolesti u SAD i Ontariju (Kanada), u periodu od 1996. do 2007. godine. Širenje raka stabla na jug SAD („južni“ tip) krajem sedamdesetih i početkom osamdesetih godina prošlog veka izazvalo je znatne štete na usevima soje. Na Floridi je 1983. godine oboljenje registrovano u 15 od 18 okruga, a u jednom od njih bilo je zahvaćeno 81% pregledanih parcela (Ploetz i sar., 1986). U državi Misisipi, sledeće godine, rak stabla je uočen na 84% parcela, sa intenzitetom zaraze od 0% do 50%, u proseku oko 10% obolelih biljaka (Roy i McLean, 1984). Velike štete oboljenje je prouzrokovalo 1985. godine u Teksasu na oko 25% površina pod sojom. Na pojedinim njivama usev je u potpunosti uništen (Whitney i Bowers, 1985). U svim pomenutim državama zapažene su znatne razlike u osetljivosti sorti (Backman i sar., 1985), pa je u ugroženim regionima izmenjen osetljiv sortiment i tako umanjene štete (Ploetz i sar., 1986).

Znatne štete uzrokovane pojavom raka stabla registrovane su i na soji u Srbiji. U periodu od 1981. do 1985. godine zabeleženo je naglo širenje i sve intenzivnija pojava oboljenja. Intenzitet varira u zavisnosti od godine, lokaliteta i sorte. Južni i jugoistočni deo Banata i Srem su najugroženija područja u kojima je 1984. godine, na nekim parcelama, registrovano i preko 50% prevremeno uvelih biljaka (Vidić, 1987). Nakon početnih epifitocija, zapaža se postepeno smanjivanje intenziteta raka stabla. Povremeno su konstatovane epifitotične pojave oboljenja, naročito u Podunavlju (Vajska, Bač, Bačka Palanka), a na pojedinim njivama je registrovano 70% do 80% obolelih biljaka (Vidić, lična zapažanja), što se drastično odražava na prinos. Istraživanja u našoj zemlji ukazuju da su simptomi oboljenja oštrij, a gubici veći pri infekciji biljaka u ranijim fenofazama razvića, jer tada dolazi do prevremenog uvenuća i sušenja soje (Vidić i Jasnić, 1988a). Prinos prevremeno uvelih biljaka je za 50% do 62% (u zavisnosti od sorte) niži u odnosu na zdrave, što pri intenzivnijoj pojavi dovodi u pitanje rentabilnost gajenja soje. Prinos biljaka sa blažim simptomima, u našim istraživanjima, umanjen je za 9% do 20% (Vidić i Jasnić, 1988a). Pri sličnim istraživanjima Athow i Caldwell (1954) su utvrdili da je prinos bo-

lesnih biljaka za 60% niži od zdravih, dok je prema Froeseiser-u (1957) sniženje oko 13%. Pokazalo se da su naši rezultati u saglasnosti sa rezultatima prvog autora, kada se radi o prinosu prevremeno uvelih biljaka, dok je prinos biljaka sa blažim simptomima bliži rezultatima drugog autora. U višegodišnjem ogledu izvedenom u okolini Novog Sada (sa četiri sorte soje različitih grupa zrenja) utvrđena je negativna visokosignifikantna korelacija ( $y=0,697$ ) između prinosa i intenziteta pojave raka stabla (Vidić i Jasnić, 1988a), što je u potpunoj saglasnosti sa istraživanjima u SAD (Crall, 1956; Harville i sar., 1986). Ovaj ogled je ukazao da su kasnostasni genotipovi znatno osetljiviji od ranostasnih. Na napad parazita reaguju oštrijim simptomima (prevremenim uvenućem biljaka), pa su i štete veće. Utvrđeno je takođe da parazitna gljiva negativno utiče na sve komponente prinosa, a ponajviše na masu hiljadu zrna. Ne postoji statistički značajna korelacija između intenziteta pojave oboljenja i sadržaja proteina i ulja u zrnu soje, što ukazuje da patogena gljiva nema direktan uticaj na sintezu ovih materija. Ipak, usled smanjenja prinosa zrna obolelog useva, smanjena je ukupna količina proteina i ulja po jedinici površine (Vidić i Jasnić, 1988a).

Trulež semena soje (soybean seed decay) mogu prouzrokovati sve gljive roda *Diaporthe/Phomopsis*, a najčešća i najštetnija je vrsta *P. longicolla*. Ovaj patogen je široko rasprostranjen u Severnoj i Južnoj Americi, Evropi, Aziji i Africi (McGee, 1992). Na soji u Srbiji je takođe prisutan, a prvi put je uočen i opisan početkom devedesetih godina prošlog veka u Vojvodini (Vidić i Jasnić, 1994), i centralnom delu Srbije (Mitić i sar., 1997). Pojava truleži semena prouzrokovana parazitima roda *Diaporthe/Phomopsis* registrovana je u svim regionima gajenja soje u Srbiji, a intenzitet oboljenja znatno varira u zavisnosti od godine i lokaliteta (Vidić i sar., 2006; Petrović i Vidić, 2010).

Trulež semena može biti značajno oboljenje soje. Usled razgradnje proteina u semenjači i kotiledonima dolazi do truleži zrna i ono u potpunosti gubi upotrebnu vrednost (Velicheti i sar., 1992). Česte su latentne infekcije, što je od posebnog značaja u proizvodnji semenske soje. Naime, klijavost zaraženog semena je i do 90% niža u poređenju sa zdravim (Kmetz i sar., 1978), a setvom semena sa više od 40% inficiranih zrna značajno se smanjuje prinos soje (Wall i sar., 1983). Istraživanja u našoj zemlji su pokazala da, za sada, trulež semena ne predstavlja veći problem, ali su latentne infekcije česte. Intenzivnija pojava truleži semena registrovana je u godinama sa čestim padavinama i povišenim temperaturama vazduha u vreme sazrevanja soje (Vidić i sar., 2006; Petrović i Vidić, 2010), kao i pri dužem odlaganju



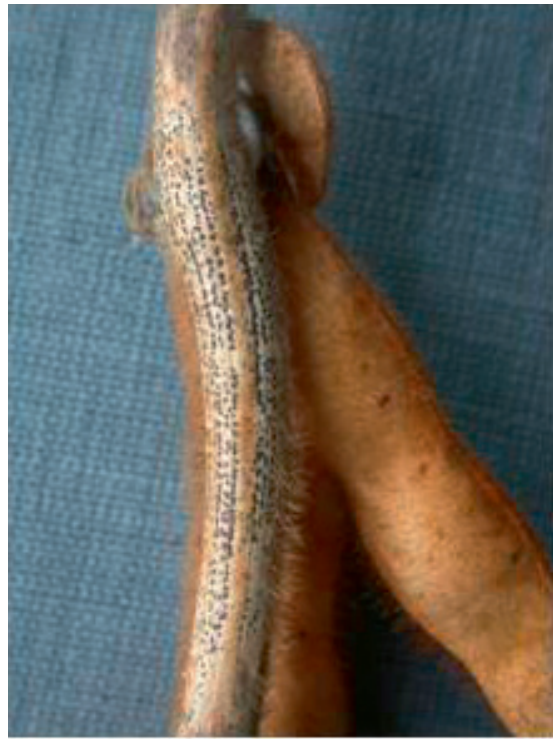
žetve nakon tehnološke zrelosti useva (Vidić i sar., 2002). U ovim istraživanjima zastupljenost trulih zrna najčešće je ispod 10%, dok je latentno inficiranih zrna registrovano znatno više, iznad 65% u pojedinim uzorcima. U stranoj literaturi se ističe da je vrsta *P. longicolla* najčešći prouzrokovatelj truleži semena soje (Hartman i sar., 1999). U ogledu izvedenom u okolini Novog Sada takođe je ova gljiva najčešći parazit semena soje, 70% od ukupno zaraženih zrna, a *D. phaseolorum* var. *caulivora* i *P. sojae* u znatno nižem procentu (Vidić i sar., 2002). Međutim, kada su analizirani uzorci iz više regiona u Srbiji zastupljenost pojedinih gljiva je varirala u zavisnosti od godine. Tako je za period od 2002. do 2004. godine zastupljenost ova tri patogena skoro ujednačena (Vidić i sar., 2006), dok je u 2009. i 2010. godini vrsta *P. longicolla* bila ponovo dominantna (Petrović i Vidić, 2010).

## SIMPTOMI OBOLJENJA

Simptomi oboljenja koje na soji izazivaju paraziti roda *Diaporthe/Phomopsis* pojavljuju se od setve do zrenja useva. Patološke promene na semenu i kljancima su identične kod svih pripadnika roda, tako da se prouzrokovaci ne mogu vizuelno odrediti. Pri jačim zaražama simptomi su karakteristični i jasno uočljivi. Zrno je obično spljošteno, izduženo i deformisano, sa nabranom i ispucalom semenjačom, delimično ili potpuno prekriveno brašnjavo-beličastom navlakom od micelijem (Slika 1). Endosperm je takođe prožet micelijom, te seme u potpunosti truli. Ponekad se na semenjači, ispod bele navlake, formiraju crne strome sa reproduktivnim organima gljiva prouzrokovaca. Na soji u našoj zemlji česte su latentne (skrivenne) infekcije semena, bez vidljivih spoljnih znakova oboljenja. Latentno zaraženo seme ima znatno slabiju klijavost, a iz zaraženog semena razvija-



Slika 1. *Phomopsis longicolla*: trulež semena



Slika 2. *Phomopsis sojae*: piknidi u vertikalnim paralelnim linijama na stablu



Slika 3. *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*: rak stabla

ju se oboleli klijanci. Prvo se na kotiledonima uočavaju bledezelene pege koje vremenom postaju svetlocrvene i na kraju mrke boje. Zatim se na hipokotilu, pri površini ili ispod površine zemlje, pojavljuju uzdužne mrkocrvene pruge. Vršni pupoljci se deformišu, a klijanci trule i propadaju. Pojava propadanja klijanaca nije konstatovana na soji u Srbiji, verovatno usled nepovoljnih uslova u vreme setve i nicanja soje (Vidić i sar., 1999).

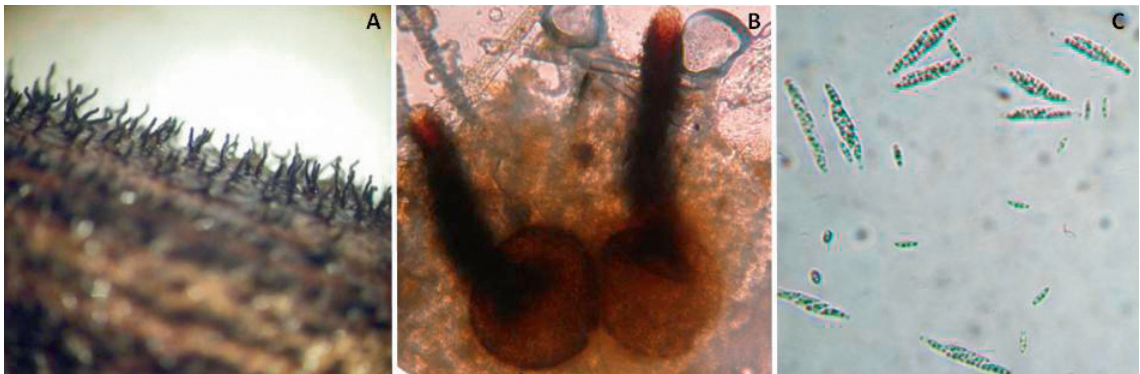
Prouzrokovatelj paleži stabla i mahuna soje je *D. phaseolorum* var. *sojajae*, odnosno, najčešće anamorf ove gljive *P. sojajae*, a skoro identične simptome može izazvati i vrsta *P. longicolla*. Mada infekcije nastaju ranije, simptomi se najčešće uočavaju tek krajem vegetacije, u vreme žućenja i opadanja lista i to na svim nadzemnim organima biljke. Na stablu i granama vidljive su brojne, crne tačkice (piknidi), poredane u vertikalne paralelne linije (Slika 2). Pri povoljnim uslovima, nakon vlažnih i toplih leta, stablo može biti u potpunosti prekriveno piknidima, dok su pri slabijem intenzitetu zaraze simptomi ograničeni na prizemni deo stabla i oko nodusa. Na mahunama su takođe prisutni piknidi u vidu nepravilno raspoređenih crnih tačkica. Seme u obolelim mahunama truli, ili je latentno zaraženo.

Rak stabla (*D. phaseolorum* var. *caulivora*) je jedno od najdestruktivnijih oboljenja soje. U našim agroekološkim uslovima obično se pojavljuje u prvoj polovini avgusta, ređe krajem jula, kada soja formira mahune i počinje nalivanje zrna (Vidić, 1987). Na jednom ili nekoliko nodusa (najčešće na jednom od prvih osam) uočavaju se malo ulegnute pege, eliptičnog ili nepravilnog oblika. Vremenom se sa nodusa pege šire na susedne internodije, dostižući dužinu od 6 do 10 cm, u potpunosti obuhvatajući stablo. Zahvaćeno tkivo nekrotira, što dovodi do prekida u sprovođenju vode i hranljivih materija. Pege su u središnjem delu sivosmeđe, a na periferiji oivičene tankom, mrkocrvenom površinom. Zahvaćeno tkivo starenjem dobija sve tamnije nijanse, od mrko-

crvene i čokoladne do potpuno crne boje (Slika 3). Na vršnim listovima se zapaža hloroza između nerava, praćena postepenim gubljenjem turgora. Lišće zatim vene, postaje sparušeno i na kraju se potpuno osuši. Osušeno lišće ostaje da visi na biljkama i lako se uočava. Pri jakoj pojavi oboljenja bolesne biljke su grupisane u manjim ili većim oazama, a pri slabijoj pojedinačno razbacane na parceli. Mahune se suše i ostaju prazne, ili se u njima formira manji broj sitnog i šturog zrna. Opisani simptomi predstavljaju najizraženiji i najštetniji vid oboljenja koji na soji izaziva *D. phaseolorum* var. *caulivora*. Blaži tip simptoma pojavljuje se krajem vegetacije u vidu neprekidnih, paralelnih linija na stablu i granama, koje se međusobno slivaju i obrazuju kompaktnu crnu površinu. S obzirom da se javlja kasno, ovaj tip simptoma ima manji uticaj na prinos. Na soji u našoj zemlji pegavost stabla je česta pojava, naročito na ranim genotipovima i u godinama nepovoljnim za razvoj parazita prouzrokovaca (Vidić i Jasnić, 1988b). Hobbs i sar. (1981) su zapazili neuobičajeno odumiranje vrhova na biljkama soje. Nekoliko vršnih internodija se suši, poprimajući tamnosmeđu boju, tako da se jasno razlikuju od donjih, nezahvaćenih internodija. Ovakvi simptomi pojavljuju se i na soji u našoj zemlji, a reprodukovani su i pri veštačkim infekcijama askosporama, kada su vršene u kasnijim fenofazama razvika soje (Vidić, 1987).

## MORFOLOŠKE OSOBINE

Gljive iz roda *Diaporthe/Phomopsis* u polnom ciklusu (teleomorfni stadijum) formiraju peritecije sa askusima i askosporama, a u bespolnom ciklusu (anamorfni stadijum) razne tipove konidija u piknidijskim konidimatama (piknidima). Peritecije se obično formiraju u stromama i mogu biti uronjene u tkivo biljke ili miceliju gljive.



Slika 4. *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* A – Peritecije na stablu; B – Peritecije; C – Askusi i askospore



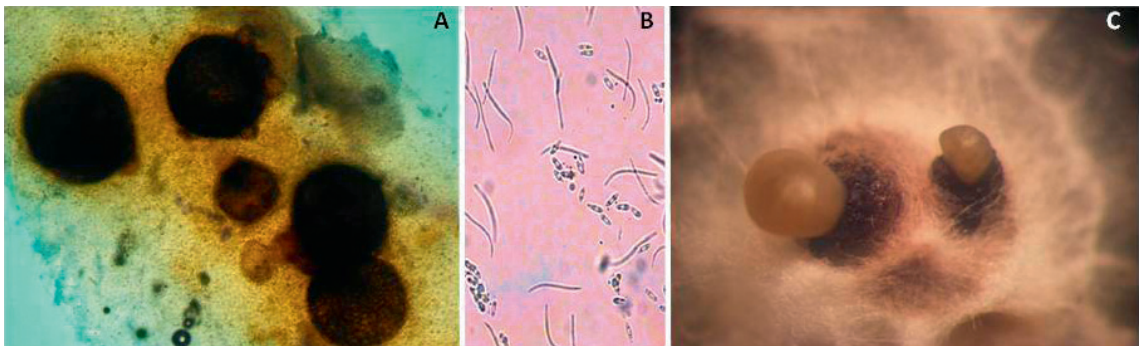
*Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* formira peritecije u epidermisu obolelog stabla. Obično su skupljene u veće grupe, formirajući stromatične tvorevine, koje se uočavaju na stablu u vidu crnih tačkastih ispupčenja. Dugi vratovi peritecija probijaju epidermis izlazeći na površinu u vidu crnih izraštaja, vidljivih golim okom (Slika 4A). Na hranljivoj podlozi od krompir-dekstroznog agara (PDA) gljiva se brzo razvija obrazujući belu, zbijenu vazдушnu i žućkastobelu supstratnu miceliju, koja vremenom postaje žućkastomrka (Jasnić i Vidić, 1983). Posle 8-10 dana micelija gljive počinje da formira stromatične tvorevine, nepravilnog oblika, 1 do 5 mm u prečniku. U okviru stroma se obrazuju mnogobrojne peritecije, najčešće od 5 do 8 u svakoj. Peritecije su crne, u bazi loptaste i uronjene u stromu, sa veoma dugim vratom koji izbija na površinu (Slika 4B). Veličina loptastog tela peritecije se kreće u rasponu 170-450  $\mu\text{m}$  x 180-500  $\mu\text{m}$ . Dužina vrata varira od 320 do 1500  $\mu\text{m}$ , a širina je u osnovi 30-130  $\mu\text{m}$ , a pri vrhu vrata 35-65  $\mu\text{m}$  (Jasnić i Vidić, 1983).

U peritecijama se formiraju askusi sa askosporama, koji kroz otvor vrata izlaze u vidu ružičastih lepljivih kapi. Askusi su izduženog eliptičnog oblika, sa tankim jednoslojnim zidom, zadebljanim pri osnovi askusa (Slika 4C). Dimenzije askusa su 22,5-35,0 x 5,0-8,7  $\mu\text{m}$ . U askusu se stvara po 8 eliptično izduženih dvočelijskih askospora, blago suženih u sredini kod pregradnog zida, sa po dve kapi ulja u svakoj ćeliji (Slika 4C). Veličina askospora se kreće u rasponu 8,7-12,0 x 2,5-3,7  $\mu\text{m}$  (Jasnić i Vidić, 1983). Dimenzije peritecija, askusa i askospora, dobijene tokom naših istraživanja kreću se u granicama koje daju i drugi istraživači (Athow i Caldwell 1954; Muntañola-Cvetković i sar., 1981). Gljiva izuzetno retko stvara piknide u prirodnim uslovima (Sinclair i Backman, 1989). Na kiselim podlogama kao što su Czarek-ova i kisela sintetička podloga (KSP) gljiva prvo formira piknide nakon 5 dana. Piknidi su loptastog oblika, crno obojeni, prečnika 170-230  $\mu\text{m}$ . U piknidima

su samo  $\alpha$  konidije, dok se  $\beta$  konidije nisu formirale (Jasnić i Vidić, 1983). Dimenzije  $\alpha$  konidija su 6,2-10 x 2,5-3,7  $\mu\text{m}$ . Frosheiser (1957) je saopštio da *D. phaseolorum* var. *caulivora* na podlozi od deteline stvara piknide sa  $\alpha$  konidijama. Ovaj autor takođe nije utvrdio i prisustvo  $\beta$  konidija, za razliku od Timnick-a i sar. (1951), koji nalaze da ova gljiva stvara  $\alpha$  i  $\beta$  konidije na različitim podlogama.

*Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* retko stvara peritecije, kako u prirodnim uslovima tako i kada se gaji u kulturi. Peritecije se ponekad formiraju na prezimelim žetvenim ostacima soje, obično pojedinačno u stromatičnim tvorevinama. One su crne, loptastog tela uronjenog u epidermis, sa dugačkim suženim vratom, koji probija epidermis i štrči iznad površine stabla. Dimenzije loptastog dela peritecije su od 185 do 346 x 148 do 282  $\mu\text{m}$ , a dužina vrata je od 0,35 do 1,5 mm (Athow i Caldwell, 1954). U peritecijama se obrazuje veći broj askusa sa 8 askospora. Askusi su bezbojni izduženo eliptični i malo povijeni, dimenzija od 38,0 do 51,2 x 5,0 do 10,3  $\mu\text{m}$ . Askospore su dvočelijske, bezbojne, eliptične, malo sužene kod poprečne pregrade, sa dve kapi ulja u svakoj ćeliji. Veličina im je 9,2-13,5 x 3,3-5,6  $\mu\text{m}$  (Athow i Caldwell, 1954).

*D. phaseolorum* var. *sojae* na stablu soje, ispod epidermisa, obrazuje veliki broj piknida. Piknidi se stvaraju u stromatičnim tvorevinama i obično su grupisani u veće ili manje kompaktne skupine – konidiomate. Konidiomate imaju najčešće jednu šupljinu (unilokularne), a ređe više šupljina (multilokularne), sa ostiolom pri vrhu. Piknidi su sočivastog oblika, bez vrata ili sa kraćim vratom, čija je dužina manja od 200  $\mu\text{m}$  (Slika 5A). Dimenzije piknida na stablu su od 112 do 229 x 92 do 204  $\mu\text{m}$ , dok su na mahunama nešto sitniji 76-121 x 74-117  $\mu\text{m}$  (Dimitrijević i Jurković, 1982). U piknidima, na jednostavnim nerazgranatim konidioforama obrazuju se dva tipa piknospora:  $\alpha$  i  $\beta$  konidije (piknospore) (Slika 5B). Alfa piknospore su jednočelijske, eliptične,



Slika 5. *Phomopsis sojae*: A – Piknidi; B – Alfa i beta konidije; C – Piknidijska konidiomata i oslobađanje konidija

bezbojne, obično sa dve kapi ulja, dimenzija od 5,0 do 10,0 x 1,4 do 3,1  $\mu\text{m}$ . U kapi vode kličaju u kratku infekcionu hifu. Beta piknospore su jednoćelijske izduženo-končaste, bezbojne i obično povijene na jednom kraju u vidu zapete. Dimenzije  $\beta$  konidija su od 13,7 do 19,0 x 1,2 do 1,9  $\mu\text{m}$  (Dimitrijević i Jurković, 1982). Nemaju sposobnost da kličaju, te je njihova uloga nejasna. Gljiva se veoma dobro razvija na hranjivoj podlozi od krompir-dekstroznog agara, obazujući beličastu rastresitu miceliju, koja starenjem dobija žućkasto do svetlormrku boju. U okviru micelije stvara pojedinačne tamnomrke do crne stromatične tvorevine, nepravilno rasute po celoj površini. U stromama se najčešće formiraju piknidi sakupljeni u grupe, a ponekad i peritecije, najčešće pojedinačno.

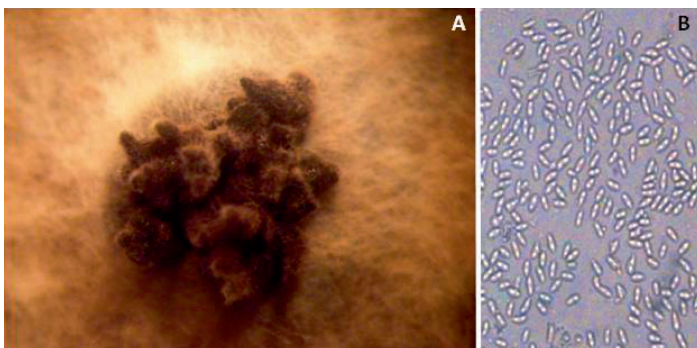
*Phomopsis longicolla*, prouzrokovač truleži semena soje, formira samo anamorfnu stadijum. Savršeni stadijum nije do sada utvrđen. U stromatičnim tvorevinama *P. longicolla* obrazuje piknidijske konidiate, koje su pojedinačne ili združene u manje ili veće grupe sa jednom (unilokularne) ili više (multilokularne) šupljina i veoma dugim vratom dužine od 210 do 422  $\mu\text{m}$ , u proseku 337  $\mu\text{m}$  (Vidić i sar., 1996; Vidić i Jasnić, 1998) (Slika 6A). Šupljine konidiate su loptaste, a u njima se stvaraju  $\alpha$  konidije na razgranatim i septiranim konidioforama i veoma retko  $\beta$  konidije. Alfa konidije su jednoćelijske, bezbojne, eliptične ili na krajevima sužene, sa po dve kapi ulja (Slika 6B), prosečne veličine 6,39 x 2,68  $\mu\text{m}$  (Vidić i sar., 1996; Vidić i Jasnić, 1998). Prema Hobbs-u i sar. (1985) dimenzije  $\alpha$  konidija su 5-9 x 1,5-3,5 što je u granicama prema našim rezultatima. Beta konidije su jednoćelijske, bezbojne, končaste i na jednom kraju povijene. Gljiva veoma retko stvara ovaj tip konidija, međutim  $\beta$  konidije uočili su Cui i sar. (2009) kada su prvi put registrovali pojavu ovog parazita na soji u Kini. Naša novija istraživanja takođe ukazuju na mogućnost formiranja  $\beta$  konidija, kako u polju tako i na nekim hranljivim podlogama (Vi-

dić, neobjavljeni podaci). *P. longicolla* se brzo razvija na podlozi od krompir-dekstroznog agara, obrazujući gustu i kompaktnu belu miceliju. U okviru micelije formiraju se krupne crne, spojene stromatične tvorevine, sa brojnim piknidijskim konidiatama (Vidić i sar., 1996; Vidić i Jasnić, 1998).

## BIOLOGIJA I EPIDEMIOLOGIJA

Analizirajući epidemiološke karakteristike gljiva roda *Diaporthe/Phomopsis* Rupe (1989) konstatuje da postoje značajne razlike, ali i puno sličnosti između pojedinih pripadnika roda. Autor ukazuje da sva četiri patogena oslobađaju spore (askospore ili konidije) u vidu lepljive mase koja curi iz plodonosnih tela (peritecije ili piknidi) (Slika 5C). Infekcije biljaka dešavaju se tokom celog vegetacionog perioda, a simptomi se obično uočavaju kasnije, nakon dužeg vremenskog perioda.

S obzirom na ekonomski značaj, u našoj zemlji najviše pažnje posvećeno je proučavanju biologije i epidemiologije *D. phaseolorum* var. *caulivora*, prouzrokovača raka stabla soje. Ova problematika detaljno je istražena u okviru doktorske teze (Vidić, 1987), sredinom osamdesetih godina prošlog veka. Pošlo se sa stanovišta da su žetveni ostaci i seme soje mogući izvori inokuluma. Utvrđeno je da parazitna gljiva na zaraženim ostacima soje formira peritecije, dok piknidi nisu uočeni u prirodnim uslovima. Vreme pojave peritecija i oslobađanje askospora zavise od spoljnih uslova, a najviše od temperature i vlažnosti. Peritecije se ne obrazuju na zaraženim biljkama tokom vegetacije, mada se masovno javljaju kada su zaraženi delovi stabla ostavljeni u vlažnoj sredini u laboratoriji, odmah nakon pojave simptoma. Ovaj podatak ukazuje da gljiva za fruktifikaciju ne zahteva period niskih temperatura. Peritecije se samo ponekad uočavaju tokom vegetacije, obično na korenu i korenovom vratu, nakon obilnijih padavina u vreme sazrevanja



Slika 6. *Phomopsis longicolla*: A – Piknidijska konidiate; B – Alfa konidije

useva (u 1985. godini zapažena masovnija pojava). Razvoj peritecija na korenu i korenovom vratu je moguć, jer posle kiše zemljište ostaje duže vlažno, dok se nadzemni delovi biljke brže isušuju. Askospore oslobođene iz ovih peritecija mogu inficirati seme soje. U literaturi prevladuje mišljenje da se peritecije ne formiraju na zaraženim biljkama tokom vegetacije, ali su ipak uočene u Ajovi (Crall, 1956) i Ontariju (Hildebrand, 1956).

Tokom jeseni i zime nije evidentirana pojava peritecija na zaraženim žetvenim ostacima soje. U laboratorijskim uslovima je utvrđeno da se peritecije počinju formirati iznad 10°C, a pošto je za njihov potpun razvoj potrebno 25 do 35 dana, nisu se mogle formirati pre nastupanja niskih zimskih temperatura. Padavine tokom prolećnih meseci imaju odlučujući uticaj na dinamiku formiranja peritecija. Tako na primer, kasna pojava u 1983. godini uslovljena je sušom u maju i prvoj dekadi juna. Tek nakon padavina u drugoj dekadi juna registrovane su peritecije. U agroekološkim uslovima Vojvodine masovna pojava dešava se krajem maja – početkom juna, a oslobađanje askospora 5 do 10 dana nakon što se uoče vratovi peritecija. Dinamika oslobađanja askospora je uslovljena rasporedom padavina, a u uslovima Vojvodine obično se zapažaju dva do tri perioda oslobađanja askospora. Prva masovna pojava dešava se u junu. Početkom jula obično ponovo dolazi do oslobađanja askospora, što je naročito bilo izraženo u 1984. i 1986. godini, a zatim nastaje duži prekid usled suše koja je skoro redovna u julu mesecu. Međutim, pojedinih godina tokom ovog meseca padnu obilne kiše, što omogućava masovnu pojavu askospora. Takve godine su karakteristične po veoma jakoj pojavi raka stabla soje, a izrazit primer bila je 1984. godina. Ipak, mnogo češće kišan period nastupa kasnije, pa je treći period oslobađanja askospora obično u drugoj polovini avgusta. Ranostasni genotipovi soje tada ili izbegavaju infekciju, ili se na njima ispoljavaju blaži simptomi oboljenja (Vidić, 1987). Vreme formiranja peritecija i oslobađanje askospora u SAD takođe je uslovljeno klimatskim faktorima i shodno tome, idući od juga prema severu oslobađanje askospora počinje sve kasnije (Frosheiser, 1957; Kmetz i sar., 1979; Backman i sar., 1985). Ovi autori saopštavaju da je oslobađanje askospora ograničeno samo na kraći vremenski period nakon pojave peritecija, dok se u našim uslovima sukcesivno oslobađaju od juna do pred kraj vegetacionog perioda (Vidić i Jasnić, 1988b).

Utvrđeno je da se askospore oslobađaju pasivnim izlučivanjem preko otvora na vrhu vrata peritecije. Na biljne delove dospevaju kišnim kapima, koje se nakon odbijanja od površine zemlje raspršuju i zahvaćene vetrom padaju na biljke. Kontinuirana vlažnost je

neophodna za formiranje peritecija, klijanje askospora i nastanak zaraze (Kmetz i sar., 1979; Backman i sar., 1985; Vidić i Jasnić, 1988b). U literaturi dugo nije bilo pouzdanih podataka o patogenezi *D. phaseolorum* var. *caulivora*, zbog nemogućnosti istraživača iz SAD i Kanade da askosporama reprodukuju simptome oboljenja, pa se njihove pretpostavke baziraju na praćenju spontanih infekcija. Tako Athow (1957) smatra da infekcije nastaju ili preko liske, ili na mestu spajanja liske sa lisnom peteljkom, a zatim gljiva preko lisne drške dospeva u stablo. Crall (1956) pretpostavlja da su infekcije najčešće u osnovi lisnih peteljki, a negira mogućnost infekcije preko povreda na biljkama. U našim istraživanjima, zahvaljujući uspešnom reprodukovanju simptoma raka stabla askosporama u kontrolisanim uslovima, utvrđeno je da infekcije mogu nastati preko liske, lisne peteljke i raznih povreda na stablu (Vidić, 1987). Infekcije preko lisnih peteljki su znatno uspešnije od onih preko liske, što se manifestovalo kako po broju ostvarenih infekcija, tako i oštrijim simptomima. Najtipičniji simptomi dobijeni su unošenjem askospora u povredu na stablu, što je u suprotnosti sa mišljenjem koje zastupa Crall (1956). S obzirom da često dolazi do delimičnog ili potpunog odvajanja lisnih peteljki i bočnih grana od stabla, mišljenja smo da je ovaj način zaražavanja čest. Ogledi u kontrolisanim uslovima pokazali su da askospore mogu zaraziti soju u svim fenofazama razvića. Najveća osetljivost je ispoljena od cvetanja do nalivanja zrna, dok je pri infekcijama u vegetativnoj fazi razvoja intenzitet oboljenja veoma nizak (Vidić i Jasnić, 1988c).

Infekcije semena soje askosporama nastaju direktno preko mahuna (Kmetz i sar., 1979), što je potvrđeno i u našim ispitivanjima pri infekcijama u kontrolisanim uslovima (Vidić i Jasnić, 1990). Nakon prve pojave *D. phaseolorum* var. *caulivora* na soji u severnim i centralnim delovima SAD i Kanadi (severni tip raka stabla) konstatovano je da zaraženo seme služi za širenje parazitne gljive iz jednog regiona u drugi, kao i iz godine u godinu, a da ne utiče značajnije na intenzitet pojave oboljenja. Istraživanja u našoj zemlji potvrđuju ovu konstataciju, s obzirom da setvom zaraženog semena u staklari nisu reprodukovani simptomi raka stabla, a da u polju nisu ustanovljene razlike u intenzitetu pojave oboljenja između biljaka soje izniklih iz zdravog i zaraženog semena. Prema tome, osnovna uloga zaraženog semena je širenje parazitne gljive na veće udaljenosti, kako je verovatno i dospeo iz SAD u našu zemlju i brzo se raširio u svim rejonima gajenja soje (Vidić i Jasnić, 1990).

Varijabilnost u pogledu patogenosti unutar populacije *D. phaseolorum* var. *caulivora* detaljno je istraživana



u svetu i kod nas. Testirajući brojne izolate, odabrane po geografskom principu, Keeling (1984) je na osnovu reakcije sorti diferencijatora izdvojio šest fizioloških rasa. Izolate poreklom sa juga SAD označio je kao južne rase (1, 2 i 3), a izolate sa severa kao severne rase (4, 5 i 6). Kasnija slična istraživanja sugerišu na postojanje samo dve rase – severna i južna (Higley i Tachibana, 1987; McGee i Bidle, 1987). Pošto su utvrđene i izvesne morfološke razlike između gljive poreklom sa severa i juga Morgan-Jones (1989) smatra da se ne radi o fiziološkim rasama, već o dve *forma specialis*. Zatim, Fernández i Hanlin (1996) su na bazi morfoloških i molekularnih istraživanja predložili da se ove gljive svrstaju u dva varijeteta vrste *D. phaseolorum*: var. *caulivora* – prouzrokovatelj „severnog“, a var. *meridionalis* – „južnog“ raka stabla, što je i usvojeno. Na osnovu reakcije test sorti utvrđeno je da su izolati poreklom iz različitih regiona Srbije identični sa *D. phaseolorum* var. *caulivora*, što znači da je na soji u našoj zemlji prisutan „severni“ tip raka stabla (Vidić, 1991; Vidić i sar., 1994).

Otpornost na *D. phaseolorum* var. *meridionalis* kontrolišu četiri major gena (Rdc1, Rdc2, Rdc3 i Rdc4), a identifikovani su u više genotipova soje (Kilen i Hartwig, 1987; Bowers i sar., 1993; Tyler, 1996). Nije identifikovana specifična otpornost na prouzrokovatelja „severnog“ tipa raka stabla (*D. phaseolorum* var. *caulivora*), ali su registrovane značajne razlike u stepenu osetljivosti. U uslovima spontane zaraze u polju i pri infekciji askosporama u kontrolisanim uslovima utvrđeno je da je osetljivost genotipova soje usko povezana sa dužinom njihove vegetacije (Vidić i sar., 1990). Najraniji genotipovi su manje osetljivi i na napade parazita reaguju blažim simptomima (nema prevremenog uvenuća biljaka). Kasnostasni genotipovi su znatno osetljiviji, što se manifestuje većim brojem obolelih, i to prevremeno uvelih biljaka. Pored ranostasnih genotipova, dobru poljsku otpornost ispoljile su i sorte duže vegetacije SRF-100, Reiner i Harosoy 63.

Prouzrokovatelji paleži mahuna i stabla i truleži semena *P. sojae* (teleomorf *D. phaseolorum* var. *sojae*) i *P. longicolla* prezimljavaju u vidu micelije, u zaraženim žetvenim ostacima i semenu soje. Žetveni ostaci su glavni izvor primarnog inokuluma, a zaraženo seme je važan faktor u prenošenju patogena na veće udaljenosti. Na prezimelim biljnim ostacima u proleće se masovno formiraju piknidi, iz kojih se izlučuju konidije u vidu sluzaste kapi. Zahvaćene kišnim kapima i vetrom dospevaju na okolne biljke i vrše infekcije. Početkom leta gljiva *D. phaseolorum* var. *sojae* ponekad formira i peritecije. Konidije mogu inficirati soju već u početnim fenofazama razvića, ali gljiva ostaje duži vremenski period la-

tentna u biljci. Simptomi na stablu i granama su vidljivi tek početkom fiziološke zrelosti. Mahune mogu biti zaražene odmah posle formiranja, ali se masovne infekcije odvijaju nakon fiziološke zrelosti (Kulik i Sinclair, 1999). Infekcija semena odvija se preko mahuna (Kmetz i sar., 1979; McGee, 1986), jer sistemične infekcije iz stabla nisu moguće, s obzirom da je gljiva u zelenom stablu usko lokalizovana samo oko tačke prodiranja u biljno tkivo (Kmetz i sar., 1979; Hill i sar., 1981).

Vremenski uslovi bitno utiču na pojavu i intenzitet truleži semena i palež mahuna i stabla (McGee, 1983; Zimmerman i Minor, 1993). Periodi visoke relativne vlažnosti vazduha, produžena vlažnost biljaka i povišene temperature u vreme mahunanja soje, favorizuju nastanak latentnih infekcija mahuna (Kmetz i sar., 1978; TeKrony i sar., 1996). Ako se ovakvi uslovi produže tokom formiranja zrna i zrenja, preko zaraženih mahuna nastaju infekcije i trulež semena (Mayhew i Cavinnes, 1994; TeKrony i sar., 1996; Wrather i sar., 2003). Istraživanja u našoj zemlji takođe ukazuju da do intenzivnije infekcije semena soje parazitima roda *Diaporthe/Phomopsis* dolazi samo u godinama sa učestalim padavinama početkom jeseni (Vidić i sar., 2006; Petrović i Vidić, 2010). Odlaganje žetve nakon tehnološkog zrenja useva povećava intenzitet zaraze semena, utoliko više ukoliko je odlaganje duže (Wilcox i sar., 1974; Kmetz i sar., 1978; Vidić i sar., 2002).

Znatna pažnja posvećena je iznalaženju odgovarajućih izvora otpornosti na prouzrokovatelje truleži semena, kao i proučavanju načina nasleđivanja, naročito u SAD gde oboljenje prouzrokuje velike štete. Smith i sar. (2008) smatraju da je stvaranje i gajenje otpornih sorti ekonomski opravdana mera, kojom se uspešno može rešiti problem lošeg kvaliteta semena soje, nastalog usled infekcije parazitima iz roda *Diaporthe/Phomopsis*. Ovi autori navode spisak genotipova soje, različitih nivoa otpornosti na prouzrokovatelje truleži semena i paleži mahuna i stabla. Otpornost ispoljava veći broj introdukovanih genotipova (PI) i nekoliko komercijalnih sorti: PI 82264, Delmar, PI 181550, PI 227687, PI 229358, PI 200510, PI 209908, Arksoy, PI 80837, PI 417479, PI 360841 i 0X615. Sorta Delmar poseduje dobru otpornost na palež mahuna i stabla, čiji je prouzrokovatelj *P. sojae* (teleomorf *D. phaseolorum* var. *sojae*). Interesantni rezultati dobijeni su pri testiranju reakcije NS-sorti i linija soje na *P. longicolla*. Pokazalo se da reakcija semena pre početka sazrevanja, pri infekciji biljaka prskanjem suspenzijom konidija u kontrolisanim uslovima (fenofaza razvića R6-R7), nije u korelaciji sa reakcijom zrelog semena, pri testu na filter papiru ( $r = -0,280$ ). Tako linija NS-L-220159 ispoljava visok nivo otpornosti

zrelog semena, a veoma je osetljiva pri infekciji biljaka konidijama u fenofazi R6-R7. Među testiranim sortama i linijama nema potpuno otpornih genotipova, ali su utvrđene značajne razlike u stepenu osetljivosti. U uslovima spontane infekcije u polju kod kasnostasnih genotipova registrovana je slabija zaraženost semena u poređenju sa ranostasnim (Vidić i sar., 1999).

Otpornost introdukovanog genotipa PI 417479 kontrolišu dva komplementarna major gena (Zimmerman i Minor, 1993; Minor i sar., 1995). Ovaj genotip poslužio je za stvaranje linije MO/PSD-0259, u kojoj su Jackson i sar. (2005) utvrdili jedan gen odgovoran za kontrolu rezistentnosti na prouzrokovачe truleži semena. Izgleda da se drugi gen iz PI 417479 izgubio tokom procesa oplemenjivanja. Otpornost u PI 80837 takođe je kontrolisana od strane jednog dominantnog gena, koji nije isti kao u MO/PSD-259. Nedavno su Smith i sar. (2008) utvrdili da je otpornost u PI 360841 kontrolisana od strane dva komplementarna major gena, od kojih je jedan identičan sa genom u PI 80837, a različiti su od gena otpornosti u MO/PSD-0259. Navedeni primeri ukazuju da otpornost u različitim genotipovima soje ne kontrolišu uvek isti geni. Postojanje dobrih izvora rezistentnosti omogućuju uspešno oplemenjivanje na ovo svojstvo.

## MOLEKULARNA ISTRAŽIVANJA

Na osnovu višegodišnjih istraživanja još uvek nisu usaglašena mišljenja vezana za taksonomski status i nomenklaturu predstavnika roda *Diaporthe/Phomopsis*. Do devedesetih godina prošlog veka istraživanja su bazirana na morfološkim i odgajivačkim karakteristikama. Međutim, ove karakteristike nisu dovoljne pri determinaciji predstavnika roda *Diaporthe/Phomopsis* zbog izražene sličnosti među izolatima pojedinih predstavnika, kao i postojanja varijabilnosti unutar svakog od njih. Nova saznanja zasnovana na molekularnim i filogenetskim analizama ukazuju da su na soji, pored poznatih predstavnika ovog roda, prisutne i neke druge vrste, za čiju determinaciju je neophodna primena molekularnih tehnika.

RAPD analiza (Random Amplification of Polymorphic DNA) je prvi put primenjena 1996. godine (Fernández i Hanlin, 1996). Dobijeni profili pokazali su da *D. phaseolorum* var. *caulivora* i *D. phaseolorum* var. *meridionalis* imaju jednoznačne profile, ali međusobno različite, odnosno predstavljaju različite varijetete. Takođe, *P. longicolla* daje jednoznačni profil i predstavlja posebnu vrstu. Za razliku od njih, *D. phaseolorum* var. *sojae* je jako varijabilna i daje mnoštvo različitih profila.

Razlikovanje predstavnika roda *Diaporthe/Phomopsis* od drugih fitopatogenih gljiva koje parazitiraju soju, uspešno je sprovedeno i primenom PCR-PFLP (Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism) tehnike (Zhang i sar., 1997). Razvijeni su *Phomopsis* specifični prajmeri Phom I i Phom II iz polimorfni regiona DNK izolata *D. phaseolorum* i *P. longicolla*.

Pored specifičnih prajmera za razlikovanje pripadnika roda *Diaporthe/Phomopsis* od drugih patogena soje uspešno su primenjeni i univerzalni prajmeri ITS<sub>4</sub> i ITS<sub>5</sub>. Pomoću PCR-RFLP tehnike sprovedena je molekularna karakterizacija i filogenetsko grupisanje gljiva *D. phaseolorum* i *P. longicolla* izolovanih iz biljnog tkiva i semena soje (Riccioni i sar., 1998, 2003, 2005; Zhang i sar., 1998, 1999; Costamilan i sar., 2008). Razvijeni su molekularni markeri za svaku gljivu pomoću DNK sekvence ITS regiona. Restrikcioni enzimi *AluI*, *RsaI*, *HhaI*, *MseI* i *ScrFI* dali su specifičan elektroforetski profil za var. *meridionalis*, var. *caulivora* i vrstu *P. longicolla*, dok su kod *D. phaseolorum* var. *sojae* uočene različite kombinacije, ali uvek drugačije od kombinacija za prethodno navedene varijetete. Sprovedena istraživanja sugerisu da je *P. longicolla* posebna vrsta, var. *meridionalis* i var. *caulivora* varijeteti unutar vrste *D. phaseolorum*, dok u okviru var. *sojae* postoji ili nekoliko varijeteta vrste *D. phaseolorum* ili nekoliko posebnih vrsta (Zhang i sar., 1998; Riccioni i Vrandečić, 2007).

Kao uzročnik propadanja biljke *Aspalathus linearis* determinisana je vrsta *D. phaseolorum* na osnovu morfoloških karakteristika gljive (Smit i Knox-Davies, 1989a, 1989b). Međutim, istovremenim ispitivanjem morfoloških i patogenih karakteristika, kao i sekvencioniranjem ITS (Internal Transcribed Spacer) regiona i dela gena *tef<sub>1</sub>-α* (translacioni elongacioni faktor 1 alfa), ustanovljeno je da propadanje pomenute biljke prouzrokuje *D. phaseolorum* var. *meridionalis* (Jensen van Rensburg i sar., 2006). Autori su zaključili da je var. *meridionalis* morfološki veoma sličan sa vrstom *D. phaseolorum*, ali smatraju da s molekularne tačke gledišta nije varijetet ove gljive, već da je to posebna vrsta za koju su predložili naziv *Diaporthe aspalathi*.

Na osnovu morfoloških karakteristika, sve vrste roda *Phomopsis*, koje se javljaju na vinovoj lozi, Merrin i sar. (1995) su podelili na Taxon 1, Taxon 2, Taxon 3 i Taxon 4. Međutim, rezultati do kojih su došli Van Niekerc i sar. (2005) proučavanjem filogeneze ITS regiona, pokazali su da se *Phomopsis* izolati sa vinove loze mogu podeliti u osam grupa i to od *Phomopsis* sp. 1 do *Phomopsis* sp. 8. Ispitivanjem ITS regiona i gena *tef<sub>1</sub>-α* kod *Phomopsis* vrsta izolovanih iz biljke *Aspalathus li-*

*nearis*, uvedena je i grupa *Phomopsis* sp. 9 (Jense van Rensburg i sar., 2006). Takođe, autori su identifikovali *Phomopsis* sp. 1 kao vrstu *Phomopsis theicola* (teleomorf *Diaporthe theicola*), koja je ranije opisana kao parazit biljke *Camellia sinensis* (Curzi, 1926).

Molekularna karakterizacija predstavnika roda *Diaporthe/Phomopsis* izolovanih iz drvenastih i zeljastih biljaka (među kojima je i soja) ukazala je na prisustvo različitih *Diaporthe/Phomopsis* vrsta (Riccioni i Haegi, 2008). Autori su zaključili da su soja i kivi izuzetno pogodni domaćini za *Diaporthe/Phomopsis* vrste. Na osnovu sekvenci ITS i LSU (velika ribozomalna subjedinica) regiona, kao i dela gena *tef<sub>1</sub>-a*, konstatovali su da su na soji pored poznatih predstavnika roda, prisutne i *P. theicola*, kao i tri neidentifikovane grupe: *Phomopsis* sp. 4, *Phomopsis* sp. 6 i *Phomopsis* sp. 9. Iz iznetog pregleda dosadašnjih molekularnih istraživanja vidi se da je *D. phaseolorum* var. *sojae* izuzetno varijabilan varijetet, što je potvrđeno i proučavanjem izolata poreklom sa soje iz naše zemlje. Takođe, molekularnim i filogenetskim analizama dokazano je prisustvo više vrsta roda *Diaporthe/Phomopsis*, kako na soji, tako i na drugim biljnim vrstama. Pod pretpostavkom da su druge vrste prisutne i na soji u Srbiji urađen je skrining kolekcije izolata roda *Diaporthe/Phomopsis* prikupljenih tokom poslednjih dvadeset godina (Laboratorija za fitopatologiju, Odeljenje za soju, Institut za ratarstvo i povrtarstvo). Kod svih izolata je sekvencioniran ITS region i na osnovu dobijenih rezultata odabrani su reprezentativni izolati, kod kojih je dodatno sekvencioniran deo velike ribozomalne subjedinice (LSU), kao i deo gena *tef<sub>1</sub>-a*. Na osnovu sekvenci sva tri regiona rađena je filogenetska analiza. Pored poznatih predstavnika roda *Diaporthe/Phomopsis*, parazita soje u Srbiji (*D. phaseolorum* var. *caulivora*, *D. phaseolorum* var. *sojae* i *P. longicolla*), utvrđeno je prisustvo i drugih vrsta ovog roda. Kako se moglo i očekivati najveći broj novih vrsta izdvojen je iz grupe izolata, koji su na osnovu morfoloških karakteristika determinisani kao *D. phaseolorum* var. *sojae*. Sa sigurnošću su determinisane vrste *D. eres*, *D. viticola* i *P. theicola*, kao i grupe *Phomopsis* sp. 4, *Phomopsis* sp. 6 i *Phomopsis* sp. 9 (Kristina Petrović, neobjavljeni podaci). Naredna istraživanja trebalo bi da ukažu na stepen patogenosti novootkrivenih *Diaporthe/Phomopsis* vrsta na biljkama i semenu soje.

## LITERATURA

- Andrews, E.A.:** Stem blight of soybeans in Michigan. Plant Disease Reporter, 34: 2134, 1950.
- Atchow, K.L.:** Infected roots as a source of stem canker fungus. Phytopathology, 47: 8, 1957.
- Atchow, K.L.:** Fungal diseases. In: Soybeans: Improvement, Production and Uses (B.E. Caldwell, ed.), Am. Soc. of agronomy, Medison, WI, 1973, pp. 681.
- Atchow, K.L. and Caldwell, R.M.:** A comparative study of *Diaporthe* stem cancer and pod blight of soybean. Phytopathology, 44: 319-325, 1954.
- Backman, P.A., Weaver, D.B. and Morgan-Jones, M.:** Soybean stem canker: An emerging disease problem. Plant Disease, 69: 641-647, 1985.
- Backmann, P.A., Cramford, M.A., White, J., Thurlow, D.L. and Smith, L.A.:** Soybean stem canker: A serious disease in Alabama. Highlights of Agricultural Research, 28: 6, 1981.
- Bowers, G.R., Ngeleka, K. and Smith, O.D.:** Inheritance of stem canker resistance in soybean cultivars Crockett and DOWLING. Crop Science, 33: 67-70, 1993.
- Bretz, T.W.:** Surveys in Iowa and Missouri. Plant Disease Reporter, 27: 377-380, 1943.
- Costamilan, L.M., Yorinari, J.T., Almeida, A.M.R., Seixas, C.D.S., Binneck, E., Araujo, M. R. and Carbonari, J.A.:** First report of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* infecting soybean plants in Brasil. Tropical Plant Pathology, 33(5): 381-385, 2008.
- Crall, J.M.:** Observations on the occurrence of soybean stem canker. Phytopathology, 46: 10, 1956.
- Crall, J.M.:** Soybean disease in Iowa in 1949. Plant Disease Reporter, 34: 96-96, 1950.
- Cui, Y.L., Duan, C.X., Wang, X.M., Li, H.J. and Zhu, Z.D.:** First report of *Phomopsis longicolla* causing soybean stem blight in China. New Disease Reports, 18: 49, 2009.
- Curzi, M.:** De novis *Theae* micromycetibus pathogenis. Atti dell'Istituto Botanico della Università e Laboratorio Crittogamico di Pavia, série 3, (3), 1926, pp. 60-65.
- Dimitrijević, M. i Jurković, D.:** Proučavanje parazita *Phomopsis sojae* Leh. na soji. Zaštita bilja, 162: 421-429, 1982.
- Fernández, F.A. and Hanlin, R.T.:** Morphological and RAPD analyses of *Diaporthe phaseolorum* from soybean. Mycologia, 88: 425-440, 1996.
- Frosheiser, F.J.:** Studies on the etiology and epidemiology of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* the cause of stem canker. Phytopathology, 47: 87-94, 1957.
- Hartman, G.L., Sinclair, J.B. and Rupe, J.C.:** Compendium of Soybean Diseases. Fourth edition. The American Phytopathological Society, 1999.
- Harville, B.G., Berggren, G.T., Snow, J.P., and Whiton, H.K.:** Yield reduction caused by stem canker in soybean. Crop Science, 26: 614-616, 1986.
- Higley, P.M. and Tachibana, H.:** Physiological specialization of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* in soybean. Plant Disease, 71: 815-817, 1987.



- Hildebrand, A.A.:** Soybean diseases in south Western Ontario in 1950. Annual Report of the Canadian Plant Disease Survey, 1951, pp. 40-42.
- Hildebrand, A.A.:** Stem canker. Annual Report of the Canadian Plant Disease Survey, 1954. Ottawa, 1955, pp. 45-46.
- Hildebrand, A.A.:** Observation on stem canker and pod and stem blight of soybean in Ontario. Canadian Journal of Botany, 34: 577-599, 1956.
- Hill, H.C., Horn, N.L., and Steffens, W.L.:** Mycelial development and control of *Phomopsis sojae* in artificially inoculated soybean stems. Plant Disease, 65: 132-134, 1981.
- Hilty, J.W.:** Soybean stem canker, a major disease in 1981. Tennessee Farm and Home Science, 120: 16-17, 1981.
- Hobbs, T.W., Schmittbenner, A.F., Ellett, C.W. and Hite, R.E.:** Top die-back of soybean caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. Plant Disease, 65: 618-620, 1981.
- Hobbs, T.W., Schmittbenner, A.F. and Kuter, G.A.:** A new *Phomopsis* species from soybean. Mycologia, 77: 535-544, 1985.
- Jackson, E.W., Fenn, P. and Chen, P.:** Inheritance of resistance to *Phomopsis* Seed Decay in soybean PI 80837 and MO/PSD-0259 (PI 562694). Crop Science, 45: 2400-2404, 2005.
- Jasnić, S. i Vidić, M.:** Crna pegavost stabla nova bolest soje u Jugoslaviji. Glasnik zaštite bilja, 2: 44-46, 1981.
- Jasnić, S. i Vidić, M.:** *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* – nov parazit soje u Jugoslaviji. Zaštita bilja, 164: 213-223, 1983.
- Jasnić, S. i Vidić, M.:** Occurrence of soybean diseases in Yugoslavia. Eurosoya, 3: 43-46, 1985.
- Jense van Rensburg, J.C., Lamprecht, S.C., Groenewald, J.Z., Castlebury, L.A. and Crous, P.W.:** Characterisation of *Phomopsis* spp. associated with die-back of rooibos (*Aspalathus linearis*) in South Africa. Studies in Mycology, 55: 65-74, 2006.
- Keeling, B.L.:** Evidence for physiologic specialization in *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. Journal of Mississippi Academy of Science (Supplement), 29: 5, 1984.
- Kilen, T.C. and Hartwig, E.E.:** Identification of single genes controlling resistance to stem canker in soybean. Crop Science, 27: 220-222, 1987.
- King, T.H.:** Pod and stem blight on soybean in Ohio. Plant Disease Reporter, 32: 193, 1948.
- Kmetz, K.T., Ellett, C.W. and Schittbenner, A.F.:** Soybean seed decay: Sources of inoculum and nature of infection. Phytopathology, 69: 798-801, 1979.
- Kmetz, K.T., Schmittbenner, A.F. and Ellett, C.W.:** Soybean seed decay: prevalence of infection and symptom expression caused by *Phomopsis* sp., *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* and *D. phaseolorum* var. *caulivora*. Phytopathology, 68: 837-840, 1978.
- Koch, L.W. and Hildebrand, A.A.:** Pod and stem blight. Annual Report Canadian Plant Disease Survey, 23, Ottawa, 1943.
- Krause, J.P. and Fortnum, B.A.:** An epiphytotic of *Diaporthe* stem canker of soybean in South Carolina. Plant Disease, 67: 1128-1129, 1983.
- Kulik, M.M., and Sinclair, J.B.:** Pod and stem blight. In: Hartman, G.L., Sinclair, J.B., Rupe, J.C. (1999): Compendium of Soybean Diseases. Fourth edition. The American Phytopathological Society, 1999.
- Kulik, M.M.:** The current scenario of pod and stem blight - stem canker - seed decay complex of soybean. International Journal of Tropical Plant Diseases, 1: 1-11, 1983.
- Kulik, M.M.:** First report of soybean stem canker in Maryland. Plant Disease Reporter, 9: 811, 1985.
- Lehman, S.G.:** Pod and stem blight of soybean. Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society, 38: 13, 1922.
- Lehman, S.G.:** Pod and stem blight. Annals of the Missouri Botanical Garden, 10: 111-169, 1923.
- Mayhew, W.L. and Caviness, C.E.:** Seed quality and yield of early-planted, short season soybean genotypes. Agronomy Journal, 86: 16-19, 1994.
- McGee, D.C.:** Epidemiology of soybean seed decay by *Phomopsis* and *Diaporthe* spp. Seed Science and Technology, 11: 719-729, 1983.
- McGee, D.C.:** Prediction of *Phomopsis* seed decay by measuring soybean pod infection. Plant Disease, 70: 329-333, 1986.
- McGee, D.C.:** Soybean Diseases: A Reference Source for Seed Technologists. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 1992, pp. 1-15.
- McGee, D.C. and Bidle, J.A.:** Seedborne *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* in Iowa and its Relationship to soybean stem canker in the southern United States. Plant Disease, 71: 620-622, 1987.
- Merrin, S.J., Nair, N.G. and Tarran, J.:** Variation in *Phomopsis* recorded on grapevine in Australia and its taxonomic and biological implications. Australasian Plant Pathology, 24: 44-56, 1995.
- Minor, H.C., Brown, E.A. and Zimmerman, M.S.:** Developing soybean varieties with genetic resistance to *Phomopsis* spp. Journal of the American Oil Chemists Society, 72(12): 1431-1434, 1995.
- Mitić, N., Vukojević, J. and Franić Mihajlović, D.:** A comparative study of *Diaporthe/Phomopsis* fungi on soybean from two different regions of the world. Mycopathologica, 139: 107-113, 1997.

- Morgan-Jones, M.:** The *Diaporthe/Phomopsis* complex: Taxonomic considerations. Proceedings World Soybean Research Conference, Buenos Aires, Argentina, 1989, pp. 1699-1706.
- Muntañola-Cvetković, M., Mihaljčević, M. i Petrov, M.:** Vrste roda *Diaporthe* i *Phomopsis* zabeležene u Jugoslaviji. Savremena poljoprivreda, 7-8: 293-306, 1981.
- Petrović, K. i Vidić, M.:** Rasprostranjenost parazita seme-na soje u Srbiji. Zbornik rezimea X savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor, 2010, str. 108-109.
- Pioli, R., Gattuso, S., Prado, D. and Borbi, A.:** Recent outbreak of stem canker (*Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*) of soybean in Santa Fe, Argentina. Plant Disease, 81: 1215, 1997.
- Pioli, R.N., Morandi, E.N. and Bisaro, V.:** First report of soybean stem canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* in Argentina. Plant Disease, 85: 95, 2001.
- Pioli, R.N., Morandi, E.N., Martinez, M.C., Lucca, F., Tozzini, A., Bisaro, V. and Hopp, E.H.:** Morphologic, molecular and pathologic characterization of *Diaporthe phaseolorum* variability in the Core soybean-producing area of Argentina. Phytopathology, 93(2): 136-146, 2003.
- Ploetz, R.C., Sprengel, R.K. and Shokes, F.M.:** Current status of soybean stem canker in Florida. Plant Disease, 70: 600-602, 1986.
- Riccioni, L., Conca, G. and Pucci, N.:** Identification by PCR-RFLP of *Phomopsis/Diaporthe* species on Italian soybean. Abstracts 8<sup>th</sup> International Congress of Plant Pathology (ICPP), Christchurch, New Zealand, 2003, abstract 1076.
- Riccioni, L., Duwnjak, T., Pucci, N. and Hartman, G.L.:** PCR-RFLP identification of the *Phomopsis/Diaporthe* species on soybean seeds. Abstract Book of 5<sup>th</sup> ISTA – SHC Seed Health Symposium, Angers, France, 2005, p. 12.
- Riccioni, L. and Haegi, A.:** Characterization of *Diaporthe/Phomopsis* species on herbaceous and woody plants in Italy. Journal of Plant Pathology, S2: 437, 2008.
- Riccioni, L. and Vrandečić, K.:** New *Diaporthe/Phomopsis* species on soybean. Journal of Plant Pathology (Supplement), 89: 57, 2007.
- Riccioni, L., Zhang, A. and Hrtman, G.:** Messa a punto di un metodo biomolecolare per la identificazione di *Diaporthe/Phomopsis* spp. Notiziario sulla protezione delle piante, 9: 97-104, 1998.
- Roy, K.W. and McLean, K.S.:** Epidemiology of soybean stem canker in Mississippi. Phytopathology, 74: 632, 1984.
- Rupe, J.C.:** Epidemiology of the *Diaporthe/Phomopsis* complex. Proceedings World Soybean Research Conference, Buenos Aires, Argentina, 1989, pp. 1699-1706.
- Sinclair, J.B.:** *Diaporthe-Phomopsis* Complex. In: Hartman, G.L., Sinclair, J.B., Rupe, J.C. 1999: Compendium of Soybean Diseases. Fourth edition. The American Phytopathological Society, 1999.
- Sinclair, J.B. and Backman, P.A.:** Compendium of Soybean Diseases. Third edition. The American Phytopathological Society, 1989, pp. 1-106.
- Smith, S., Fenn, P., Chen, P. and Jackson, E.:** Inheritance of Resistance to *Phomopsis* Seed Decay in PI 360841 Soybean. Journal of Heredity, 99(6): 588-592, 2008.
- Smith, W.A. and Knox-Davies, P.S.:** Die-back of rooibos tea caused by *Diaporthe phaseolorum*. Phytophylactica, 21: 183-188, 1989a.
- Smith, W.A. and Knox-Davies, P.S.:** Comparison of *Diaporthe phaseolorum* isolates from rooibos tea, *Aspalathus linearis*. Phytophylactica, 21: 301-306, 1989b.
- TeKrony, D.M., Grabau, L.J., Delacy, M. and Kane, M.:** Early planting of early-maturing soybean: Effects on seed germination and *Phomopsis* infection. Agronomy Journal, 88: 428-433, 1996.
- Timnick, M.B., Lilly, V.G. and Barnett, H.L.:** Factors affecting sporulation of *Diaporthe phaseolorum* var. *batatatis* from soybean. Phytopathology, 41: 627-336, 1951.
- Tošić, M., Panić, M., Stojanović, T. i Antonijević, D.:** Bolesti soje na području SR Srbije u 1985. godini. RO Industrija biljnih ulja i proteina Beograd: Zbornik radova Republičkog savetovanja o unapređenju proizvodnje soje, suncokreta i uljane repice, 1986, str. 1-21.
- Tyler, J.M.:** Characterization of stem canker resistance in Hutcheson soybean. Crop Science, 36: 591-593, 1996.
- Van Niekerk, J.M., Groenewald, J.Z., Farr, D.F., Fourie, P.H., Halleen, F. and Crous, P.W.:** Reassessment of *Phomopsis* species on grapevines. Australasian Plant Pathology, 34: 27-39, 2005.
- Velicheti, R.K., Kollipara, K.R., Sinclair, J.B. and Hymowitz, T.:** Selective degradation on proteins by *Cercospora kikuckii* and *Phomopsis longicolla* in soybean seed coats and cotyledons. Plant Disease, 76: 779-782, 1992.
- Vidić, M.:** Epidemiologija *Diaporthe phaseolorum* (Cke et Ell.) Sacc. var. *caulivora* Athow et Caldwell prouzrokovala crne pegavosti stabla soje. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1987.
- Vidić, M.:** Variability of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* on soybean in the Vojvodina province in Serbia. Zaštita bilja, 197: 183-189, 1991.
- Vidić, M. i Jasnić, S.:** Uticaj *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* na prinose i kvalitet soje. Zaštita bilja, 184: 217-225, 1988a.
- Vidić, M. i Jasnić, S.:** Prilog proučavanju epidemiologije *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* na soji. Zaštita bilja, 135: 297-310, 1988b.

- Vidić, M. i Jasnić, S.:** Osetljivost soje prema *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* u različitim fenofazama razvoja. Zaštita bilja, 183: 65-72, 1988c.
- Vidić, M. i Jasnić, S.:** Uloga semena soje u epidemiologiji *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. Zaštita bilja, 193: 263-268, 1990.
- Vidić, M. i Jasnić, S.:** *Phomopsis* vrste na soji u Jugoslaviji. Zbornik rezimeza III jugoslovenskog kongresa o zaštiti bilja, Vrnjačka Banja, 1994, str. 38.
- Vidić, M. i Jasnić, S.:** Soybean seed pathogens from the genus *Phomopsis*. Matica Srpska Proceedings for Natural Sciences, 95: 51-58, 1998.
- Vidić, M., Jasnić, S. i Đorđević, V.:** Rasprostranjenost *Diaporthe/Phomopsis* vrsta na semenu soje u Srbiji. Pesticidi i fitomedicina, 21(1): 39-48, 2006.
- Vidić, M., Jasnić, S., Hrustić M. i Jocković, Đ.:** Virulentnost izolata *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* na soji. Zaštita bilja, 207: 67-71, 1994.
- Vidić, M., Jasnić, S., Hrustić, M. i Miladinović, J.:** Reakcija genotipova soje prema *Phomopsis longicolla* prouzrokovajući truleži semena. Zaštita bilja, 50(3): 229-238, 1999.
- Vidić, M., Jasnić, S., Jocković, Đ. i Hrustić M.:** Reakcija sorti i linija soje prema *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. Zaštita bilja, 191: 31-39, 1990.
- Vidić, M., Jasnić, S. i Stojšin V.:** Cultural and morphological characteristic of *Phomopsis sojae* and *Phomopsis longicolla* originating from soybean. Zaštita bilja, 215: 37-44, 1996.
- Vidić, M., Miladinović, J. i Đorđević, V.:** Uticaj odlaganja žetve na intenzitet pojava truleži semena. Zaštita bilja, 53: 39-50, 2002.
- Wall, M.T., McGee, D.C., and Burris, J.S.:** Emergence and yield of fungicide-treated soybean seed differing in quality. Agronomy Journal, 75: 969-973, 1983.
- Welch, A.W.:** A study of soybean diseases and their control. Report of Agricultural Research for the year ending June 30, 1947. Part I Iowa Agricultural Experiment Station, Ames, 1947, p. 171.
- Whitney, A.R. and Bowers, G.R.:** Stem canker of soybean in Texas. Plant Disease, 69: 361, 1985.
- Wilcox, J.R., Laviolette, F.A., and Athow, K.L.:** Deterioration of soybean seed quality associated with delayed harvest. Plant Disease Reporter, 58: 130-133, 1974.
- Wrather, J.A and Koenig, S.R.:** Effects of diseases on soybean yields in the United States 1996 to 2007. Online. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2009-0401-01-RS, 2009.
- Wrather, J.A., Koenning, S.R. and Anderson, T.R.:** Effect of diseases on soybean yields in the United States and Ontario (1999 to 2002). Online. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2003-0325-01-RV, 2003.
- Zhang, A.W., Hartman, G.L., Curio-Penny, B., Pedersen, W.L. and Becker, K.B.:** Molecular detection of *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis longicolla* from soybean seeds. Phytopathology, 89: 796-804, 1999.
- Zhang, A.W., Hartman, G.L., Riccioni, L., Chen, W.D., Ma, R.Z. and Pedersen, W.L.:** Using PCR to distinguish *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis longicolla* from other soybean fungal pathogens and to detect them in soybean tissues. Plant Disease, 81: 1143-1149, 1997.
- Zhang, A.W., Riccioni, L., Pedersen, W.L., Kollipara, K.P. and Hartman, G.L.:** Molecular identification and phylogenetic grouping of *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis longicolla* isolates from soybean. Phytopathology, 88: 1306-1314, 1998.
- Zimmerman, M.S. and Minor, H.C.:** Inheritance of *Phomopsis* seed decay resistance in soybean PI 417479. Crop Science, 33: 96-100, 1993.



# Diaporthe/Phomopsis Species on Soybean in Serbia

## SUMMARY

A complex of soybean diseases is caused by species from the genus *Diaporthe*/*Phomopsis*. *Diaporthe phaseolorum* (anamorph *Phomopsis phaseoli*) and *Phomopsis longicolla* (teleomorph unknown) are described as soybean pathogens. The first species includes three varieties: *D. phaseolorum* var. *sojae*, anamorph *Phomopsis sojae*, the causal agent of pod and stem blight, and *D. phaseolorum* var. *caulivora* and *D. phaseolorum* var. *meridionalis*, agents of northern and southern stem canker. The species *P. longicolla* is the most common and most damaging agent of soybean seed decay.

The diseases caused by parasites from this genus were first observed and described on soybean in the USA. Presently they are widespread in most soybean-growing regions around the world. Soybean in Serbia is attacked by all pathogens mentioned above, except for *D. phaseolorum* var. *meridionalis*, the causal agent of the southern stem canker. *D. phaseolorum* var. *caulivora* (northern stem canker) has the greatest economic importance because it causes wilt and drying of plants during pod development and grain filling. Most intensive outbreaks of the disease occurred in the 1980s in southern and southeastern Banat, southern Bačka and Srem. Prematurely wilted plants yielded 50% to 62% (depending on variety) less than healthy plants. Such heavy losses raised the question of the profitability of soybean growing. *P. sojae* and *P. longicolla* are less important in Serbia at the moment. Intensive infections of soybean seed break out occasionally. It was found that *P. longicolla* is the primary agent of seed decay and latent infections of seed in our country, although the other members of this genus may cause identical symptoms.

Sexual cycle of development (teleomorph stage) of the fungi of the genus *Diaporthe*/*Phomopsis* form perithecia with asci and ascospores, while in the asexual cycle (anamorph stage) various types of conidia ( $\alpha$  and  $\beta$ ) are formed in pycnidia. The species *P. longicolla* has no teleomorph stage.

Infected harvest residues and soybean seeds are main sources of the inoculum. *D. phaseolorum* var. *caulivora* forms perithecia with ascospores on overwintered harvest residues. During growing season, ascospores infect leaf laminae, petioles, or injured plant parts. *P. sojae* and *P. longicolla* form pycnidia (*P. sojae* sometimes forms perithecia), and they infect plants by means of conidia. Seed infection by conidia or ascospores unfolds via pods. Infected crop residues are the main source of the inoculum, while infected seeds help the parasites spread over large distances. Humidity and temperature (soil and air) are the main factors that affect the dynamics of fruiting body formation, spore release, establishment of infection and the development of disease symptoms on soybean plants.

Considerable attention is devoted to finding effective sources of resistance to the disease complex caused by species from the genus *Diaporthe*/*Phomopsis*. Resistance to the agents of seed decay was found in several introduced (PI) genotypes. This resistance is controlled by one or two pairs of dominant genes. Some cultivars are resistant to *D. phaseolorum* var. *meridionalis* (southern stem canker). Their resistance is controlled by two or four pairs of genes (Rdc). There is no physiological resistance to *D. phaseolorum* var. *caulivora*, the agent of northern stem canker, but significant differences in susceptibility level exist among soybean genotypes.

Molecular techniques (RAPD, PCR-RFLP) showed that significant variability was present within the population of *D. phaseolorum* var. *sojae*. Other species of fungi were suspected to exist within that population, which could not be distinguished on the basis of their morphological characteristics. This was subsequently confirmed by the sequencing of different regions of ribosomal DNA.

**Keywords:** Soybean; *Diaporthe*/*Phomopsis* species; Stem canker; Pod and stem blight; Soybean seed decay