

## POJAVA GLJIVE *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary NA SEMENU SOJE U PERIODU OD 2005. DO 2007. GODINE

Dragana Petrović<sup>1</sup>, Maja Ignjatov<sup>1</sup>, Milka Vujaković<sup>1</sup>,  
Ksenija Taški-Ajduković<sup>1</sup>, Zorica Nikolić<sup>1</sup>, Mirjana Milošević<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

<sup>2</sup>Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije, Beograd

**Izvod:** *Sclerotinia sclerotiorum* je prouzročivač bele truleži biljaka i ima vrlo širok krug domaćina, a posebno su osetljive biljke iz fam. Asteraceae (suncokret) i Fabaceae (soja, pasulj, boranija). Gljiva se u prirodi održava u obliku sklerocija i micelijom u semenu soje. Ispitivanje zdravstvenog stanja semena vrši se u laboratorijskim uslovima, kao jedan od važnih parametara kvaliteta semena. Pravilnikom o zdravstvenom pregledu semena, rasada i sadnog materijala („Službeni glasnik RS“ 119/07), dozvoljeno je do 10% zaraze gljivom *S. sclerotiorum* na semenu soje u prometu. Naša istraživanja obuhvataju ispitivanje 30 pojedinačnih uzoraka soje i utvrđivanje prosečne infekcije semena, proizvedenih u različitim lokalitetima Vojvodine (Vrbas, Bačka Palanka, Srbobran, Rimski Šančevi) tokom 2005, 2006. i 2007. godine. Izvršena je izolacija, identifikacija i determinacija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na hranljivoj PDA podlozi (NSHS Sf 3.1.). Inkubacija semena traje 10 dana na 25 °C, a ocena zaraze vrši se nakon 3, 5, 7. i 10. dana. Gljiva stvara karakteristične i lako prepoznatljive kolonije. Micelija gljive je bele ili smeđe boje, a sklerocije u kulturi se stvaraju redovno, uglavnom na rubovima kolonije. Naši rezultati ukazuju na relativno nisku zarazu semena ovom gljivom i u proseku procenat infekcije zaraženog semena po godinama se kreće: 2005. (0,25–3,25%); 2006. (0,25–1,75 %); 2007. (1,50–2,5%).

**Gljučne reči:** *Sclerotinia sclerotiorum*, soja, filter papir metod, metod hranljive podloge (PDA)

### Uvod

Do sada je poznato više od 100 prouzročivača bolesti soje, a 35 su ekonomski važne. Najčešći uzročnici oboljenja su gljive (80%), zatim bakterije i virusi (Vratarić i Sudarić, 2000). Bolest negativno utiče na prinos i kvalitet semena. Pored toga, zaraženo seme je značajan izvor inokuluma za širenje većine parazita soje, kako iz godine u godinu, tako i iz regiona u region. Intenzivnija pojava bolesti soje zapaža se u godinama sa čestim i obilnim padavinama u vreme sazrevanja useva, naročito ako se zbog nepovoljnih vremenskih uslova žetva odlaže duži vremenski period. Fitopatogene gljive su najčešći i najštetniji prouzročivači oboljenja soje kod nas (Vidić i sar., 2003). Od gljivičnih oboljenja značajno mesto zauzima prouzročivač bele truleži soje (*Sclerotinia sclerotiorum*). Potencijalno je najštetniji parazit soje, s obzirom da prouzrokuje uvenuće i trulež biljaka u porastu. Štete su naročito velike ako do infekcije dođe u vreme cvetanja i mahunanja soje. Obbolele biljke u potpunosti istrule, a

smanjenje prinosa je skoro identično procentu zaraženih biljaka (Vidić, 1982a). *S. sclerotiorum* je izrazito polifagna gljiva, koja parazitira više od 400, uglavnom širokolisnih biljnih vrsta. Pored soje, parazitira veći broj gajenih biljaka (sunčokret, uljana repica, grašak, većina povrtarskih vrsta), kao i velik broj korovskih vrsta (Vidić i sar., 2008).

Seme gajenih biljaka je veoma pogodan supstrat za razviće brojnih prouzrokovala bolesti. Prisustvo parazita na površini ili u unutrašnjosti semena ugrožava njihovu biološku vrednost, a samim tim utiče na zdravstvenu kondiciju i vitalnost biljke. Prouzrokovala bele truleži se u prirodi održava i prezimljava u obliku sklerocija i micelijom u semenu soje. Iz tog razloga ispitivanje zdravstvenog stanja semena je od velikog značaja za proizvodnju ove biljne vrste.

### Materijal i metod rada

Ispitivanje zdravstvenog stanja semena vrši se u laboratorijskim uslovima i predstavlja važan parametar kvaliteta semena. Pravilnikom o zdravstvenom pregledu semena, rasada i sadnog materijala („Službeni glasnik RS“ 119/07), dozvoljeno je do 10% prisustva *S. sclerotiorum* na semenu soje u prometu.

Naša istraživanja obuhvatila su ispitivanje 30 pojedinačnih uzoraka soje i utvrđivanje prosečne infekcije semena, proizvedenih u različitim lokalitetima Vojvodine (Vrbas, Bačka Palanka, Srbobran, Rimski Šančevi) tokom 2005, 2006. i 2007. godine.

U cilju praćenja prisustva patogena u domaćem prometu vršena je izolacija i identifikacija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na filter papiru i hranljivoj PDA podlozi prema NSHS Sf 3.1. metodi (Totir, 2000).

**Filter papir metod.** Ukupno 400 zrna od svakog uzorka je postavljeno u prethodno sterilisane Petri posude (prečnika 9cm) sa 3 filter papira. U svakoj Petri posudi postavljeno je po 10 semenki. Inkubacija je trajala 7 dana u termostatu na temperaturi od 22°C uz smenu svetla (NUV) i mraka svakih 12 sati. Nakon isteka inkubacionog perioda vršena je determinacija patogena.

**Metod hranljive podloge.** Ukupno 400 semenki iz svakog uzorka je inkubirano 10 dana na hranljivoj podlozi od krompir dekstroznog agara (PDA). Pre stavljanja na hranljivu podlogu seme je površinski sterilisano u 1,75% rastvoru natrijum hipohlorita (NaOCl) u trajanju od 30 sekundi. Seme je nakon toga tri puta ispirano u sterilnoj destilovanoj vodi i osušeno na sterilnom filter papiru. Nakon sušenja semena su stavljena na sveže pripremljenu hranljivu podlogu koja je prethodno prokuvana, a potom i sterilisana u autoklavu 15–20 minuta pri pritisku od 1,5 bara i temperaturi od 121°C. Za izolaciju je korišćeno 40 Petri kutija sa po 10 semenki u svakoj, odnosno ukupno 400 semenki. Inkubacija je vršena 10 dana u termostatu, na temperaturi od 25°C. Nakon isteka inkubacionog perioda svako seme je pregledano stereomikroskopom i vršena je identifikacija prisutnog patogena.

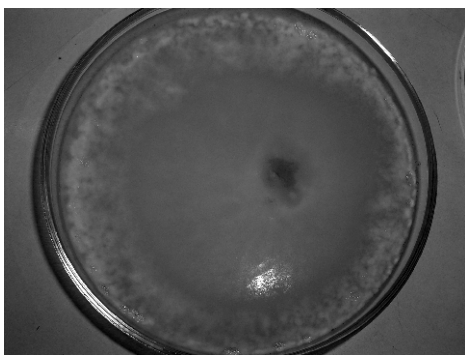
### Rezultati i diskusija

Pregledom semena nakon 7 dana (filter papir), na pojedinim uzorcima zapažena je bela micelija sa krupnim, crnim sklerocijama (Sl.1). Identifikacija

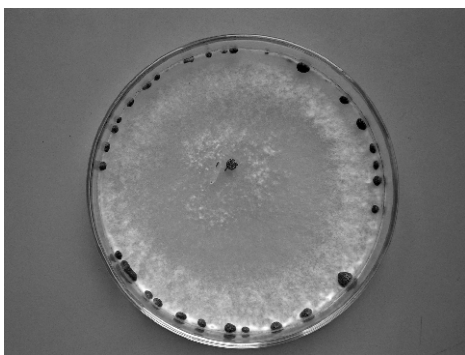
patogena na hranljivoj podlozi izvršena je nakon 3, 5, 7. i 10. dana. Na semenu i oko njega, gljiva je stvarala karakteristične i lako prepoznatljive bele kolonije. Micelija gljive je bila bele ili smeđe boje (Sl. 2), a sklerocije su se stvarale na rubovima kolonije. Desetog dana mogla se uočiti jasna bela micelija uz prisustvo krupnih crnih sklerocija (Sl. 3).



Sl. 1. Bela micelija sa krupnim crnim sklerocijama na filter papiru  
Fig. 1. White mycelium with hard black sclerote on filter paper



Sl. 2. Bela micelija na PDA  
nakon 5 dana  
Fig. 2. White mycelium on PDA  
after 5 days



Sl. 3. Bela micelija sa krupnim crnim  
sklerocijama na PDA nakon 10 dana  
Fig. 3. White mycelium with hard black  
sclerotia on PDA after 10 days

Analizom stepena zaraženosti semena soje prouzrokovačem bele truleži, utvrđeno je da je u sve tri godine procenat zaraze bio nizak.

U prvoj godini ispitivanja, procenat zaraze se kretao od 0,25 do 3,25%, u drugoj godini od 0,25 do 1,75% dok se u trećoj godini ispitivanja procenat zaraze kretao od 1,50 do 2,50% (Tab.1). Ispitivanje metodom hranljive podloge, procenat inficiranih semena bio je ujednačen i bez značajnih odstupanja u odnosu na procenat inficiranih semena metodom filter papira (Tab. 2).

Tab. 1. % zaraženog semena na filter papiru

Tab. 1. % infected seed on filter paper.

Uzorak Sample	Godina - Year 2005	Godina - Year 2006	Godina - Year 2007
1	-	1,75	1,25
2	-	0,25	2,25
3	2,75	-	-
4	-	0,25	2,50
5	0,50	1,00	-
6	1,75	-	1,50
7	3,25	0,75	-
8	-	-	2,25
9	0,25	-	-
10	-	0,25	-

Tab. 2. % zaraženog semena na PDA

Tab. 2. % infected seed on PDA

Uzorak Sample	Godina - Year 2005	Godina - Year 2006	Godina - Year 2007
1	-	1,75	1,50
2	-	0,25	2,50
3	2,75	-	-
4	-	0,50	1,50
5	0,75	1,25	-
6	1,75	-	1,75
7	3,25	0,75	-
8	-	-	2,25
9	0,25	-	-
10	-	0,25	-

Zaraženo seme po pravilu gubi klijavost. Klice nekrotiraju i propadaju. Zaražen koren odumire, a na prizemnom delu stabla nastaju mrke pege ispod kojih se tkiva razmekšavaju, što uzrokuje poleganje i uvenuće biljaka. Pri berbi suncokreta, sklerocije se rasipaju i kontaminiraju zemljište, ali se mogu naći i u semenu, pogotovo one koje se po obliku i veličini podudaraju sa zrnima suncokreta (Jovićević i Milošević, 1990). Sklerocije služe za održavanje gljive u nepovoljnim uslovima. U zemljištu ostaju vitalne više godina, jer su veoma otporne na fungicide, nisku i visoku temperaturu (Sinclair and Shurtleff, 1975). Jedino u zemljištu natopljenom vodom, sklerocije trule i propadaju već nakon 26. do 31. dana (Moore, 1949).

### Zaključak

Dobijeni rezultati ispitivanja ukazuju na nizak procenat prisustva *S. sclerotiorum* u ispitivanim uzorcima tokom 2005, 2006. i 2007. godine. Primeenom dve različite metode za determinaciju patogena može se zaključiti da je procenat zaraze skoro identičan kod obe metode. S obzirom da primena

fungicida daje ograničene efekte u suzbijanju bele truleži soje veću pažnju treba usmeriti na agrotehničke mere borbe. Plodored je vrlo važna mera kao i upotreba zdravog semena.

### Literatura

- Jovičević, B., Milošević, Mirjana (1990): Bolesti semena. NIŠP »DNEVNIK« Novi Sad, 124.
- Moore, W. D. (1949): Flooding as means of destroying the sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 39, 920-927.
- National Seed Health System, method Sf3.1. Culture plate (Totir, 2000)
- Sinclair, J. B., Shurtleff, M. C. (1975): Compendium of Soybean Diseases. The American Phytopath. Soc. Inc. St. Paul. Minnesota.
- Službeni glasnik Republike Srbije, 2007, br. 119.
- Totir, C. (2000): Seed transmission and control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean seeds. Ms. Thesis, Iowa State University, Ames, IA.
- Vidić, M. (1982a): *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary parazit soje u SAP Vojvodini. Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Vidić, M., Jasnić, S., Đorđević, V. (2005): Bolesti semena soje. *Biljni lekar*, broj 6, 585–591.
- Vidić, M., Hrustić, M., Miladinović, J., Đukić, V. (2008): Oplemenjivanje soje na otpornost prema parazitima. *Biljni lekar*, broj 3–4, 186–195.
- Vratarić, Marija, Sudarić, Aleksandra (2000): Soja. Poljoprivredni institut Osijek, 148.

## APPEARANCE OF FUNGUS *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary ON SOYBEAN SEED IN THE PERIOD FROM 2005 TO 2007

Dragana Petrović<sup>1</sup>, Maja Ignjatov<sup>1</sup>, Milka Vujaković<sup>1</sup>,  
Ksenija Taški-Ajduković<sup>1</sup>, Zorica Nikolić<sup>1</sup>, Mirjana Milošević<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad

<sup>2</sup>Ministry of Agriculture, forestry and water management, Belgrade, Republic of Serbia

**Summary:** *Sclerotinia sclerotiorum* causes white rot disease in plants and has a very wide range of hosts. The highest levels of susceptibility to this pathogen are found in plants from the families *Asteraceae* (sunflower) and *Fabaceae* (soybean, bean, string bean). The fungus overwinters in nature in the form of sclerotia and mycelia in soybean seed. Seed health testing is done under laboratory conditions as one of the most important parameters of seed quality. According to the Rulebook on Health Testing of Seed, Seedlings and Planting Material (Official Gazette of RS, Issue No. 119/07), soybean seed is allowed to be 10% infected by *S. sclerotiorum*. Some 30 individual soybean samples were included in our investigation and the average level of seed infection at different localities in Vojvodina (Vrbas, Bačka Palanka, Srbobran, Rimski Šančevi) during 2005, 2006 and 2007 was determined. Isolation, identification and determination of *Sclerotinia sclerotiorum* were done on the PDA nutrient medium according to the NSHS Sf 3.1. method. Seed incubation was done for 10 days at 25°C, and infection was estimated after 3, 5, 7 and 10 days. The fungus develops characteristic and easily recognized colonies. The fungus mycelia are white or cream in colour, and the sclerotia develop regularly, mostly at

the edges of the colony. Our results showed relatively low levels of infection by the fungus, with the average levels over the years being 0.25-3.25% in 2005, 0.25-1.75 % in 2006, and 1.50-2.5% in 2007.

**Key word:** *Sclerotinia sclerotiorum*, soybean, blotter method, potato dextrose agar method.