

Pestic. fitomed. (Beograd), 21 (2006) 289-296
Pestic. Phytomed. (Belgrade), 21 (2006) 289-296

UDC: 635.82:581.4:632.3
Naučni rad * Scientific Paper

Morfološke i patogene karakteristike prouzrokovača suve i mokre truleži šampinjona (*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach) u Srbiji

Ivana Potočnik

Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd

REZIME

Plodonosna tela *Agaricus bisporus* sa simptomima nalik onima koje izazivaju *Verticillium fungicola* i *Mycogone perniciosa* primećena su u osam gajilišta u Srbiji tokom 2002. i 2003. godine. Dobijeno je 9 izolata patogena koji obrazuju supstratne bele ili svetlo smeđe kolonije na PDA podlozi. Izolati su identifikovani na osnovu morfo-fizioloških karakteristika i patogenih osobina a determinacija potvrđena poređenjem sa kontrolnim izolatima *V. fungicola* var. *fungicola* i *M. perniciosa* iz Velike Britanije i *V. fungicola* var. *aleophilum* iz SAD. Veštačkim inokulacijama pokrivke za gajenje *A. bisporus*, dobijenim izolatima, pojavili su se simptomi suve i mokre truleži. Pet izolata je identifikovano kao *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk var. *fungicola* (W. Gams & Van Zaayen), a četiri kao *Mycogone perniciosa* (Magnus) Delacroix.

Ključne reči: šampinjon; *Verticillium fungicola* var. *Fungicola*; *Mycogone perniciosa*; morfološke karakteristike

UVOD

U industriji komercijalno gajenih gljiva, proizvodnja šampinjona (*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach)) zauzima prvo mesto u svetu i kod nas. Suvu trulež izaziva *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk. Simptomi ove bolesti su raznoliki i zavise od stepena razvoja plodonosnog tela *A. bisporus* u trenutku infekcije i od količine spora u inicijalnom inokulumu. Najupečatljiviji simptom suve truleži šampinjona je pojava bezoblične micelijalne mase umesto diferenciranih plodonosnih tela, koji nastaje usled rane i jake infekcije u fazi začetka primordija. Međutim, kod infekcije u kasnijoj fazi razvoja plodonosnih tela *A. bisporus*, promene su razli-

čite: tokom obrazovanja drške ona se uzdužno cepa, a kada je plodonosno telo skoro potpuno diferencirano na njegovoj površini se javljaju smeđe lezije (North i Wuest, 1993). Moku trulež šampinjona izaziva *Mycogone perniciosa* (Magnus) Delacroix, a simptomi koji je karakterišu su deformisana plodonosna tela, uvećana, zadebljala i kvrgava, sa tamnosmeđim kapljicama ekstracelularne tečnosti na površini (Umar i sar., 2000). Primarni izvor inokuluma *V. fungicola* i *M. perniciosa* je pokrivka i njeni sastojci, treset i kreč, dok su sekundarni izvori zaraze obolela plodonosna tela *A. bisporus*, osoblje u gajilištu, mušice, grinje i nematode. Konidije i micelija *V. fungicola* mogu da opstanu u vlažnim uslovima do šest meseci (North i Wuest, 1993).

Zaštita *A. bisporus* od mikopatogenih gljiva je vrlo teška i zasniva se na primeni fungicida i ispunjavanju strogih higijenskih zahteva tokom proizvodnje. Pre početka gajenja, pasterizacijom supstrata uništavaju se nematode i spore gljiva (North i Wuest, 1993). Pokrivka se dezinfikuje 20%-tnim formalinom, a nakon stavljanja na supstrat tretira se fungicidima (Staunton i sar., 1999). Rezistentnost mikopatogenih gljiva na fungicide je jedan od najvećih problema sa kojima se sreće savremena proizvodnja *A. bisporus* (Bonnen i Hopkins, 1997; Grogan i sar., 2000; Gea i sar., 2003).

Pojava mikopatogenih gljiva u gajilištima *A. bisporus* za kratko vreme može naneti velike štete koje u pojedinim slučajevima mogu iznositi i do 100%. Masovna pojava mokre truleži šampinjona primećena je još 1984. i 1985. godine u nekoliko lokaliteta na teritoriji Vojvodine (Korovljević, 1986). Zbog masovne pojave bolesti slične mokroj truleži, tokom 1995. godine potpuno je uništen prinos u gajilištima u Gornjem Milanovcu, Čačku i Užicu (Potočnik i sar., 2004). Uprkos stalnim štetama u proizvodnji šampinjona, biologija i suzbijanje mikopatogenih gljiva nisu detaljno proučavane u Srbiji. Pouzdanih podataka o rasprostranjenosti patogena i ukupnim štetama za sada nema. Iz tih razloga uzeti su uzorci zaraženih plodonosnih tela *A. bisporus* iz osam gajilišta u Srbiji. U ovim gajilištima zapažena su umereno i potpuno deformisana plodonosna tela *A. bisporus* sa smeđim mrljama, što je ukazivalo na prisustvo mikopatogenih gljiva *V. fungicola* i *M. perniciosa*. Brza i tačna identifikacija mikopatogenih gljiva uz ispitivanje njihove osetljivosti na fungicide značajni su za primenu odgovarajućih mera zaštite *A. bisporus*.

MATERIJAL I METODE

Izolati

Izolati *V. fungicola* i *M. perniciosa* dobijeni su iz plodonosnih tela *A. bisporus* uzorkovanih tokom 2002. i 2003. godine iz gajilišta u Vračevšnici kod Gornjeg Milanovca, Beogradu, Vinči, Rakovici, Resniku, Padinskoj Skeli i dva gajilišta u Požarevcu (Tabele 1 i 2). Iz inficiranih plodonosnih tela *A. bisporus*, sa karakterističnim simptomima suve i mokre truleži, isečeni su fragmenti veličine 2 × 2 × 5 mm. Isečci plodonosnih tela *A. bisporus* su površinski dezinfikovani potapanjem u 1% rastvor natrijum-hipohlorita (NaOCl). Posle prosušivanja na sterilnom filter-papiru, isečci su postavljeni na PDA podlogu u petri-kutije u aseptičnim uslovi-

ma. Čiste kulture su zatim presejane na zakošenu PDA podlogu i čuvane u frižideru na temperaturi od 5°C (Dhingra i Sinclair, 1995).

Kontrolni izolati *V. fungicola* var. *fungicola* 182 i *M. perniciosa* 828 dobijeni su iz Velike Britanije (Horticulture Research International, Wellesbourne, Warwick), a izolat *V. fungicola* var. *aleophilum* DC-170 iz SAD (Plant Pathology Department, Pennsylvania State University).

Uslovi gajenja

Analiziran je uticaj različitih uslova gajenja na rast micelije proučavanih izolata. Isečci micelije prečnika 10 mm izolata *V. fungicola* 14 dana starih i *M. perniciosa* 10 dana starih, sa ivica kolonija sa PDA, zasejani su na hranljivu podlogu. Uticaj temperature na rast izolata je praćen na PDA nakon 7 dana inkubacije na različitim temperaturama: 10°C, 13°C, 15°C, 20°C, 22°C, 25°C, 27°C i 30°C. Dijametar kolonija je meren sedam dana nakon zasejavanja. Eksperimenti su izvedeni u tri ponavljanja a podaci obrađeni analizom varijanse. Značajnost razlika u prosečnom porastu testirana je *lsd* testom.

Provera patogenosti izolata

Patogenost izolata *V. fungicola* i *M. perniciosa* je proverena inokulisanjem pokrivke stavljene na supstrat za gajenje šampinjona suspenzijom spora pojedinačnih izolata (približno 10⁶ spora/ml) trećeg dana nakon postavljanja pokrivke (Grogan i sar., 2000; Gea i sar., 2003). Za pravljenje suspenzije korišćene su kolonije gajene u petri-kutijama na PDA podlozi tokom 14 dana *V. fungicola* na temperaturi 20°C i kolonije *M. perniciosa* gajene 10 dana na temperaturi 25°C. Provera patogenosti je postavljena po potpuno slučajnom blok sistemu u četiri ponavljanja (Grogan i sar., 2000). Supstrat je inkubiran na 25°C sedam dana tokom prorastanja pokrivke micelijom *A. bisporus*. Nakon toga, supstrat je inkubiran na 18°C (Maksimović, 1995). Tokom plodonosjenja praćena je pojava simptoma suve i mokre truleži na plodonosnim telima tokom 30 dana. Kohovi postulati su potvrđeni reizolacijom patogena iz plodonosnih tela *A. bisporus* sa karakterističnim simptomima suve i mokre truleži i upoređivanjem sa kontrolnim izolatima.

Drugi način provere patogenosti izolata izveden je inokulacijom ubranih plodonosnih tela *A. bisporus* pi-

Tabela 1. Izolati *Veticillium fungicola*
Table 1. *Veticillium fungicola* isolates

Varijetet Variety	Oznaka izolata Code of isolate	Lokalitet Origin	Godina izolacije Year of isolation
<i>V. fungicola</i> var. <i>fungicola</i>	P2V3	Požarevac 2	2002
	VV2	Vračevšnica	2002
	ViV1	Vinča	2003
	RaV1	Rakovica	2003
	BeV1	Beograd	2003
<i>V. fungicola</i> var. <i>aleophilum</i>	182	Engleska, Velika Britanija	1995
	DC-170	Pensilvanija, SAD	1982

Tabela 2. Izolati *Mycogone perniciosa*
Table 2. *Mycogone perniciosa* isolates

Oznaka izolata Code of isolate	Lokalitet Origin	Godina izolacije Year of isolation
P1M1	Požarevac 1	2002
VM4	Vračevšnica	2002
PSM2	Padinska Skela	2003
ReM2	Resnik	2003
828	Engleska, Velika Britanija	1998

petiranjem 1 ml suspenzije micelije i spora (10^6 spora/ml) izolata u šupljinu plodnosnih tela odakle je prethodno uklonjena drška po modifikovanoj metodi Collopy i saradnici (2001) i Juarez del Carmen i saradnici (2002). Suspenzija spora je pravljena od micelije *V. fungicola* gajene u petri-kutijama na PDA podlozi 14 dana na temperaturi 20°C i *M. perniciosa* gajene 10 dana na temperaturi 25°C. Inokulisani šeširi plodnosnih tela *A. bisporus* i kontrolni, u koje je pipetirana destilovana voda, su postavljeni u petri-kutije na vlažan filter-papir i inkubirani tri dana na temperaturi 20°C. Posle pojave micelije mikopatogenih gljiva na lamelama himenofora, patogen je reizolovan i upoređen sa originalnim izolatima.

Morfo-fiziološke karakteristike izolata

Morfološke karakteristike izolata *V. fungicola* i *M. perniciosa* proučavane su na kulturama starim sedam dana na PDA, rastom izolata na istoj podlozi sedam dana na 20°C (*V. fungicola*) i 25°C (*M. perniciosa*). Analizirane su makroskopske i mikroskopske karakteristike kolonija: tekstura, boja, izgled ivice, pigmentacija podloge, brzina porasta, izgled konidiofora, oblik i dimenzije konidija. Mereno je 30 konidija po izolatu i srednja vrednost upoređena sa kontrolnim izolatima.

REZULTATI I DISKUSIJA

Izolati *V. fungicola* su dobijeni iz inficiranih plodnosnih tela *A. bisporus* prikupljenih tokom 2002. i 2003. godine sa pet lokaliteta: Požarevac, Vračevšnica, Vinča, Rakovica i Beograd. Iz gajilišta u Vinči, Rakovici i Beogradu, na plodnosnim telima *A. bisporus* zapažene su smeđe mrlje i lezije veličine od nekoliko do desetak milimetara (Slika 1). Plodnosna tela *A. bisporus* iz Vračevšnice i Požarevca su imala iskidane drške ili su bila deformisana (Slika 2). Iz plodnosnih tela *A. bisporus* iz gajilišta u Vračevšnici, Padinskoj Skeli, Resniku i Požarevcu, dobijeno je četiri izolata *M. perniciosa*. Plodnosna tela *A. bisporus* iz svih lokaliteta su bila potpuno deformisana, bez diferencirane drške i šešira. Na površini nepravilne kvrgave tumorozne mase *A. bisporus* uočene su smeđe mrlje i lezije veličine od nekoliko do desetak milimetara i kapi ekstracelularne tečnosti (Slika 3). Na poprečnom preseku ovih plodnosnih tela mestimično su uočene šupljine. Kod plodnosnih tela *A. bisporus* iz Padinske Skele ove šupljine su bile ispunjene smeđom ekstracelularnom tečnošću neprijatnog mirisa.

Svi proučavani izolati *V. fungicola* su formirali belu, uniformnu, gustu, supstratnu miceliju ravnog oboda (Slika 4). Konidiofore su bile pršljenasto razgranate sa jednoćelijskim, eliptičnim, prozirnim konidijama, sa zašiljenim vrhom, koje su se obrazovale terminalno u malim grozdovima, karakteristično za rod *Veticillium* (Melouk, 1990) (Slika 6). Konidije su bile splepljene želatinoznom masom kao što navode Calonje i saradnici (2002). Kolonije svih izolata *M. perniciosa* su bile svetlo smeđe boje, ravnog oboda, sa belom ivicom rasta. Nakon četiri do pet dana intenzivne sporulacije kolonije su poprimala smeđu boju. Hife su bile septirane i razgranate. Uočena je, međutim, razlika među izolatima u izgledu kolonija. Izolati VM4 i P1M1 su formirali svetlo smeđu supstratnu miceliju, uniformnog rasta,

dok su izolati PSM2 i ReM2 imali režnjeviti izgled kolonije, neuniformnog rasta sa razuđenim rubom kolonije (Slika 5). Morfologija izolata sa neuniformnim rastom je odgovarala opisu kolonija koje navode Fletcher i saradnici (1995) i Umar i saradnici (2000). Po ovim autorima razlika u izgledu kolonija je posledica prisustva mikovirusa u citoplazmi hifa micelije *M. perniciosa*. Proučavani izolati su formirali dve vrste konidija kao što navode Umar i Van Griensven (1999) i Sharma i Kumar (2000): uzane, eliptične, sitne fijasporne glatkih ćelijskih zidova na dugačkim hifama i dvoćelijske, smeđe, ornamentisane aleuriospore na specijalizovanim konidiogenim ćelijama na kratkim, bočnim hifama (Slika 7).

Prosečne dimenzija konidija ispitivanih izolata *V. fungicola* var. *fungicola* bile su $2.35 (1.97-2.46) \times 4.94 (2.95-7.38) \mu\text{m}$. Razlike u veličini konidija između proučavanih izolata i kontrolnih izolata *V. fungicola* var. *fungicola* 182 i *V. fungicola* var. *aleophilum* DC-170 nisu bile statistički značajne (Tabela 3). Dimenzije konidija svih izolata odgovaraju podacima koje navode Ceden i Carrero (1997) o veličini konidija izolata *V. fungicola*. Izmerene su dimenzije 30 fijaspora i aleuriospora izolata *M. perniciosa*. Prosečan dijametar fijaspora svih proučavanih izolata je bio $3.44 (3.12 - 3.94) \mu\text{m} \times 17.34 (15.60 - 19.68) \mu\text{m}$. Prosečne dimenzije aleuriospora proučavanih izolata *M. perniciosa* su bile $18.90 (14.76 - 24.60) \mu\text{m} \times 24.21 (17.22 - 29.52) \mu\text{m}$.

Tabela 3. Veličina konidija ispitivanih izolata *Verticillium fungicola*
Table 3. Conidial size of investigated *Verticillium fungicola* isolates

Varijetet Variety	Izolat Isolate	Širina konidija (μm) Conidial width (μm)	Dužina konidije (μm) Conidial length (μm)
<i>Verticillium fungicola</i> var. <i>fungicola</i>	VV2	2.34 a* (1.97-2.46)	4.89 a (2.95-7.38)
	ViV1	2.34 a (1.97-2.46)	5.17 a (2.95-7.38)
	RaV1	2.34 a (1.97-2.46)	4.72 a (2.95-7.38)
	P2V3	2.36 a (1.97-2.46)	5.02 a (2.95-7.38)
	BeV1	2.36 a (1.97-2.46)	4.92 a (2.95-7.38)
	182	2.36 a (1.97-2.46)	5.04 a (2.95-7.38)
<i>Verticillium fungicola</i> var. <i>aleophilum</i>	DC-170	2.36 a (1.97-2.46)	5.00 a (2.95-7.38)

* ista slova označavaju da nema statistički značajne razlike, $p=0,05$

*mean values followed by the same letter do not differ significantly, $p=0,05$

Tabela 4. Veličina konidija ispitivanih izolata *Mycogone perniciosa*
Table 4. Conidial size of investigated *Mycogone perniciosa* isolates

Izolat Isolate	Širina fijaspore (μm) Phialospore width (μm)	Dužina fijaspore (μm) Phialospore length (μm)	Širina aleuriospore (μm) Aleuriospore width (μm)	Dužina aleuriospore (μm) Aleuriospore length (μm)
VM4	3.24 a* (3.12-3.44)	16.72 a (15.60-19.68)	18.15 a (14.76-22.14)	22.50 a (17.22-27.06)
P1M1	3.39 a (3.12-3.69)	17.46 a (15.60-19.68)	19.97 a (14.76-24.60)	24.75 a (19.68-29.52)
PSM2	3.64 a (3.12-3.94)	17.96 a (15.99-19.68)	19.09 a (14.76-24.60)	24.45 a (22.14-29.52)
ReM1	3.49 a (3.12-3.94)	17.22 a (15.99-19.68)	18.40 a (14.76-22.14)	25.14 a (22.14-28.29)
828	3.49 a (3.12-3.94)	17.46 a (15.99-19.68)	18.69 a (14.76-22.14)	24.23 a (19.68-27.06)

* ista slova označavaju da nema statistički značajne razlike, $p=0,05$

*mean values followed by the same letter do not differ significantly, $p=0,05$

Razlike u veličini konidija između proučavanih izolata i kontrolnog izolata nisu bile statistički značajne (Tabela 4). Dimenzije konidija svih izolata se poklapaju sa navodima Sharma-e i Kumar-a (2000) o veličini fijaslopora i aelurosopora izolata *M. pernicioso*.

Na PDA i temperaturi od 20°C brzina rasta izolata VV2, P2V3 i kontrolnog izolata 182 je bila 1.67 mm/dan. Izolati BeV1 i kontrolni izolat DC-170 su imali stopu rasta 1.54 mm/dan, a izolat RaV1 1.33 mm/dan. Razlike između izolata *V. fungicola* var. *fungicola* u brzini rasta na nivou značajnosti 0.05 nisu statistički značajne. Dnevni porast izolata *M. pernicioso* VM4 i P1M1 je bio 4.00 mm/dan, izolata PSM2 1.90 mm/dan i ReM1 1.74 mm/dan, dok je kontrolni izolat 828 imao brzinu rasta 2.67 mm/dan. Brzina rasta kontrolnog izolata 828 se nije statistički značajno razlikovala od brzine rasta svih proučavanih izolata *M. pernicioso*. Izolati sa najsporijim rastom, PSM2 i ReM2, su imali neuniformni rast micelije. Ovi izolati su po svojim karakteristikama odgovarali opisu kolonija sa izmenjenim izgledom usled prisustva virusa kao što navode Fletcher i saradnici (1995) i Umar i saradnici (2000). Takođe, rezultati dnevnog porasta micelije se poklapaju sa zapažanjima ovih autora da su izolati sa neuniformnim rastom kolonija imali sporiji rast od kolonija sa uniformnim rastom.

Najbolji rast micelije svih izolata *V. fungicola* var. *fungicola* bio je na 22°C, dok izolati nisu rasli na 10°C, 27°C i 30°C. Kontrolni izolat *V. fungicola* var. *aleophilum* DC-170 je najveći dijametar kolonije imao na 25°C. Ovaj izolat je rastao na 27°C i 30°C. Na osnovu dobijenih podataka, zaključak je da su svi proučavani izolati pripadali varijetetu *fungicola*, jer po kriterijumima Gams-a i Van Zaayen-a (1982) *V. fungicola* var. *fungicola* ne raste na 27°C i 30°C, dok *V. fungicola* var. *aleophilum* raste. Izolati *M. pernicioso* su imali najveći poluprečnik kolonije na 25°C. Kontrolni izolat 828 je imao najbolji rast na 27°C. Na 10°C i 30°C izolati nisu rasli, uključujući i kontrolni izolat. Optimalan rast proučavanih izolata *M. pernicioso* na 25°C odgovara rezultatima Sharma-e i Kumar-a (2000) i Umara-a i saradnika (2000) koji navode optimalne temperature za *M. pernicioso* od 25±1°C, odnosno 26°C.

Prvi simptomi suve truleži javljaju se 12 dana nakon veštačke inokulacije izolatima VV2 i P2V3 i nakon 13 dana od inokulacije izolatima ViV1, BeV1 i RaV1. Plodnosna tela su bila diferencirana na dršku i šešir. Pojedina plodnosna tela su bila pravilnog oblika i veličine ali sa nekrotičnim mrljama na površini šešira i drške, dok su druga imala iskidane drške i šešire umanjениh dimenzija sa smeđim nekrotičnim mrljama na površi-

ni šešira i drške. Intenzivniji simptomi suve truleži su se javili 18. dana nakon veštačke inokulacije izolatima VV2 i P2V3, 19. dana od inokulacije izolatima ViV1 i RaV1 i 20. dana od inokulacije BeV1. Plodnosna tela *A. bisporus* su bila nediferencirana i rasla su u vidu bezoblične mase sa suvom površinom pokrivenom navlakom micelije i konidija. Razlike u patogenim osobinama izolata sa različitih lokaliteta nisu uočene. Pojava prvih simptoma suve truleži 12. dana i simptoma jačeg intenziteta 18. dana nakon inokulacije potvrđuje tvrdnje Nair-a i Macauley-a (1987) da se prvi simptomi suve truleži javljaju od sedam do 14 dana nakon inokulacije, u zavisnosti od soja *A. bisporus* i relativne vlažnosti i temperature u gajilištu. Simptomi slabijeg intenziteta ukazuju da je infekcija nastupila u vreme odmakle faze rasta primordija, dok je inokulacija u samom začetku razvoja primordija izazvala pojavu intenzivnijih simptoma. Ovim su potvrđeni navodi istih autora da intenzitet oboljenja i stepen deformisanosti plodnosnih tela *A. bisporus* zavise od faze razvoja primordije u vreme infekcije. Prvi simptomi mokre truleži su se javili osmog dana nakon inokulacije. Uočena su inficirana plodnosna tela *A. bisporus* u vidu ogromne, nepravilne i kvrgave tumorozne mase, bez tragova diferencijacije na dršku i šešir i bez prisustva lamela. Plodnosna tela *A. bisporus* su dostizala gigantsku veličinu i na površini su uočene smeđe nekrotične mrlje i tamno smeđe kapi ekstracelularne tečnosti. Iste simptome mokre truleži navode Umar i saradnici (2000). Isto tako, plodnosna tela *A. bisporus* su se intenzivno dezintegrisala i trulila uz prisustvo mirisa karakterističnog za prisustvo bakterija. Nije bilo razlika u patogenim osobinama izolata *M. pernicioso* iz različitih lokaliteta.

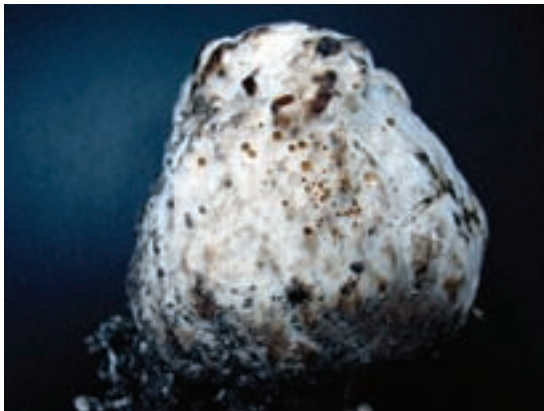


Sl. 1. Nekrotične smeđe mrlje na šeširu *Agaricus bisporus*, nakon prirodne zaraze *Verticillium fungicola* var. *fungicola*
Fig. 1. Necrotic brown spots on the cap of *Agaricus bisporus*, naturally-infected by *Verticillium fungicola* var. *fungicola*

Inokulacija šešira ubranih plodonosnih tela *A. bisporus* je takođe potvrdila patogenost izolata *V. fungicola*. Nakon tri dana inkubacije, svi izolati *V. fungicola* su prouzrokovali pojavu bele micelije na lamelama himenofora plodonosnih tela *A. bisporus*. Od mesta inokulacije micelija se širila zahvatajući listiće himenofora i du-

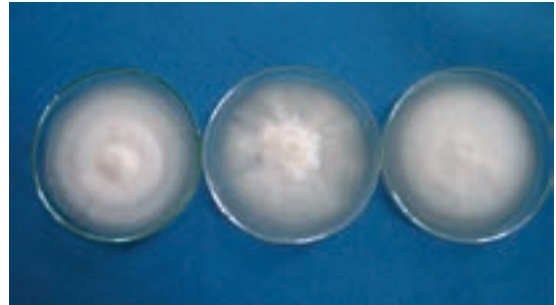


Sl. 2. Plodonosno telo *Agaricus bisporus* sa iskidanom drškom, nakon prirodne zaraze *Verticillium fungicola* var. *fungicola*
Fig. 2. *Agaricus bisporus* fruiting body with split stem, naturally-infected by *Verticillium fungicola* var. *fungicola*

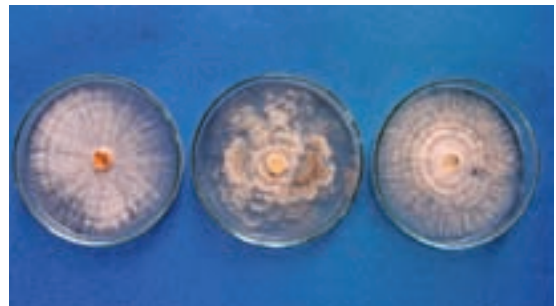


Sl. 3. Nediferencirano plodonosno telo *Agaricus bisporus* sa smeđim kapima ekstracelularne tečnosti na površini, nakon prirodne zaraze *Mycogone perniciosa*
Fig. 3. *Agaricus bisporus* undifferentiated fruit body with tear drop phenomenon, naturally-infected by *Mycogone perniciosa*

blju površinu preseka šešira. Posle pet dana, trulež se proširila na celu površinu himenofora, plodonosno telo je omekšalo i poprimilo tamno smeđu boju. Nekrotirane površine su bile pokrivene gustom navlakom micelije i konidija *V. fungicola*. Razlike u patogenim osobinama izolata sa različitih lokaliteta nisu uočene. Ve-



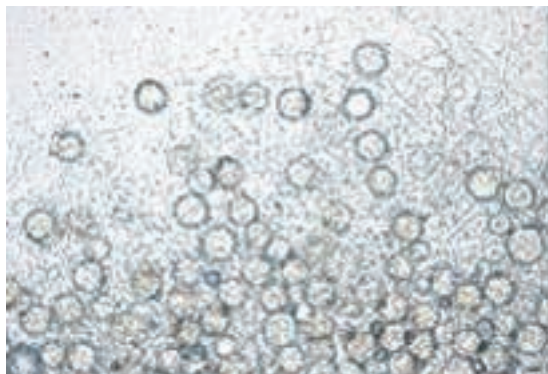
Sl. 4. Kolonije izolata *Verticillium fungicola*: 1) VV2, 2) 182 i 3) DC-170
Fig. 4. Colonies of *Verticillium fungicola* isolates: 1) VV2, 2) 182 i 3) DC-170



Sl. 5. Kolonije izolata *Mycogone perniciosa*: 1) VM4, 2) ReM2 i 3) 828
Fig. 5. Colonies of *Mycogone perniciosa* isolates: 1) VM4, 2) ReM2 i 3) 828



Sl. 6. Pršljenasto razgranate konidiofore sa jednoćelijskim, elipsoidnim konidijama *Verticillium fungicola* var. *fungicola* VV2
Fig. 6. Verticillate branched conidiophores with one-celled, ellipsoid conidia of *Verticillium fungicola* var. *fungicola* VV2



Sl. 7. Hife i konidiofore *Mycogone perniciosa* VM4 sa mnoštvom aleuriospora i fijaspora

Fig. 7. Hyphae and conidiospores of *Mycogone perniciosa* VM4 with clusters of aleuriospores and phialospores

štačka inokulacija ubranih šešira plodonosnih tela *A. bisporus* je takođe potvrdila patogenost ispitivanih izolata *M. perniciosa*. Nakon tri dana inkubacije plodonosnih tela šampinjona na temperaturi od 25°C, svi izolati *M. perniciosa* su prouzrokovali pojavu micelije smeđe boje karakterističnu za *M. perniciosa*. Od mesta inokulacije micelija je zahvatala lamele himenofora i dublju površinu preseka šešira. Posle pet dana, trulež se proširila na celu površinu himenofora, obolela plodonosna tela su omekšala i postala tamno smeđe boje. Površina plodonosnih tela je bila pokrivena gustom navlakom micelije i konidijama *M. perniciosa*. U ovom ogledu nije uočena razlika u patogenim osobinama među izolatima *V. fungicola* var. *fungicola* ni među izolatima *M. perniciosa* različitog porekla.

Rezultati pokazuju da je od devet izolata dobijenih iz obolelih plodonosnih tela *A. bisporus* pet determinisano kao *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk var. *fungicola* (W. Gams & Van Zaayen), a četiri kao *Mycogone perniciosa* (Magnus) Delacroix.

LITERATURA

- Bonnen, A.M. and Hopkins, C.:** Fungicide resistance and population variation in *Verticillium fungicola*, a pathogen of the button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycological Research*, 101: 89-96, 1997.
- Calonje M., Bernardo D., Novaes-Ledieu, M. and Garcia Mendoza, C.:** Properties of a hydrophobin isolated from the mycoparasitic fungus *Verticillium fungicola*. *Canadian Journal of Microbiology*, 48: 1030-1034, 2002.
- Cedeno L. and Carrero, C.:** Deformations and cracks caused by *Verticillium fungicola* on mushroom in Mérida State, Venezuela. *Revista de la Facultad Agronomía (LUZ)*, 14: 67-72, 1997.
- Collopy, P.D., Largeteau-Mamoun, M.L., Romaine, C.P. and Royse, D.J.:** Molecular phylogenetic analyses of *Verticillium fungicola* and related species causing dry bubble disease of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Phytopathology*, 91: 905-912, 2001.
- Dhingra, O.D. and Sinclair, J.B.:** Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, 1995, pp. 359.
- Fletcher, J.T., Jaffe, B., Muthumeenakshi, S., Brown, A.E. and Wright, D.M.:** Variations in isolate *Mycogone perniciosa* and in disease symptoms in *Agaricus bisporus*. *Plant Pathology*, 44: 130-140, 1995.
- Gaams, W. and Van Zaayen, A.:** Contribution to the taxonomy and pathogenicity of fungicolous *Verticillium* species. I. Taxonomy. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 88: 57-78, 1982.
- Gea, F.J., Tello, J.C. and Navarro, M.J.:** Occurrence of *Verticillium fungicola* var. *fungicola* on *Agaricus bitorquis* Mushroom Crops in Spain. *Journal of Phytopathology*, 151: 98-100, 2003.
- Grogan, H.M., Keeling, C. and Jukes, A.A.:** In vivo response of the mushroom pathogen *Verticillium fungicola* (dry bubble) to prochloraz-manganese. In: *Proceeding of Brighton Crop Protection Conference: Pests & Diseases*, (BCPC, Farnham, Surrey, UK), 2000, pp. 273-278.
- Juarez del Carmen, S.J., Largeteau-Mamoun, M.L., Rousseau, T., Regnault-Roger, C. and Savoie, J.M.:** Genetic and physiologic variation in isolates of *Verticillium fungicola* causing dry bubble disease of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycological Research*, 106(10): 1163-1170, 2002.
- Korovljev, D.:** *Mycogone perniciosa* (Magnus) parazit šampinjona (*Agaricus bisporus* – Lange) u Vojvodini. *Zaštita bilja*, 178: 363-368, 1986.
- Maksimović, P.S.:** Proizvodnja i korišćenje šampinjona. Nolit, Beograd, 1995.
- Melouk, H.A.:** *Verticillium*. Methods for Research on Soilborne phytopathogenic Fungi. Edited By L.L. Singleton, J. D. Mihail and C.M. Rush, APS press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 1990, pp. 175-178.
- Nair, N.G. and Macauley, B.J.:** Dry bubble disease of *Agaricus bisporus* and *A. bitorquis*, and its control by prochloraz – manganese complex. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 30: 107-116, 1987.
- North, L.H. and Wuest, P.:** The infection process and symptom expression of *Verticillium* disease of *Agaricus bisporus*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 15: 74-80, 1993.

Potočnik, I., Tanović, B., Vračarević, M., Obradović, A. i Todorović, B.: Suva i mokra trulež šampinjona. Biljni lekar, 1: 41-44, 2004.

Sharma, S.R. and Kumar, S.: Studies on wet bubble disease of white button mushrooms (*Agaricus bisporus*) caused by *Mycogone perniciosa*. Proc. of the 15th International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi, Maastricht, Netherlands, 2000, Vol 2, 569-575.

Staunton, L., Dunne, R., Cormican and T., Donovan, M.: Chemical and Biological Control of Mushroom, Pests and

Diseases. Horticulture and Farm Forestry, Series No, 14, Kinsealy Research Centre, Dublin, Ireland, 1999.

Umar, M.H. and Van Griensven L.J. L.D.: Studies on the morphogenesis of *Agaricus bisporus*: dilemma of normal versus abnormal fruit body development. Mycological Research, 103: 1235-1244, 1999.

Umar, M.H., Geels, F.P. and Van Griensven L.J. L.D.: Pathology and pathogenesis of *Mycogone perniciosa* infection of *Agaricus bisporus*. Proc. of the 15th International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi, Maastricht, Netherlands, 2000, Vol 2, 561-567.

Morphological and Pathogenic Characteristics of the Causal Agents of Dry and Wet Bubble Diseases of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach) in Serbia

SUMMARY

Diseased fruit bodies of *Agaricus bisporus*, bearing symptoms similar to those caused by *Verticillium fungicola* and *Mycogone perniciosa*, were observed during the screening of eight mushroom farms in Serbia in 2002 and 2003. Nine isolates, forming either appressed white or pale brown colonies on PDA medium, were recovered. The isolates were identified on the basis of their morphological, physiological and pathogenic characteristics, and by comparing them to *V. fungicola* var. *fungicola* and *M. perniciosa* isolates originating from United Kingdom, and *V. fungicola* var. *aleophilum* from the USA. Pathogenicity of these isolates was confirmed by casing inoculation, on which occasion symptoms of both dry and wet bubble disease were recorded. Five isolates were identified as *Verticillium fungicola* (Preuss) Hasebrauk var. *fungicola* (W. Gams & Van Zaayen), and four as *Mycogone perniciosa* (Magnus) Delacroix.

Keywords: White button mushroom; *Verticillium fungicola* var. *Fungicola*; *Mycogone perniciosa*; Morphological characteristics