

Zaštita bilja
Vol. 64 (4), N° 286, 2013, Beograd
Plant Protection
Vol. 64 (4), N° 286, 2013, Belgrade

UDK: 633.31-238

Naučni rad
Scientific paper

ISPITIVANJE ZDRAVSTVENOG STANJA RAZLIČITIH GENOTIPOVA SEMENA LUCERKE

RATIBOR ŠTRBANOVIĆ¹, VELJKO GAVRILOVIĆ¹, RADE STANISAVLJEVIĆ¹,
DOBROSLAV DOŠTIĆ¹, JORDAN MARKOVIĆ², NENAD TRKULJA¹, NENAD DOLOVAC¹

¹Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

²Institut za krmno bilje, Kruševac

e-mail: ratibor.strbanovic@yahoo.com

REZIME

U ovom radu je ispitivano prisustvo fitopatogenih rodova gljiva na semenu tri različite sorte lucerke (K-22, NS-Banat i OS-88) sa po tri različite partije (lokaliteta) od svake sorte. Kod ispitivanih sorti identifikovani su sledeći rodovi gljiva: *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp. i sterilna micelija. Prisustvo identifikovanih rodova gljiva kretalo se u rasponu od 0% do 2%. Rod *Alternaria* spp. najmanju prosečnu vrednost imao je kod sorte lucerke K-22 (0.42%), dok je najveću prosečnu vrednost imao kod sorte OS-88 (0.58%), a takođe kod iste sorte konstatovano je najveće prisustvo od (1%) na lokalitetu Osijek I. Kod svih ispitivanih sorata lucerke utvrđen je visok koeficijent varijacije, što ukazuje na visoku varijabilnost unutar samih sorata za ovo svojstvo. Najveće prosečno prisustvo gljiva roda *Fusarium* spp. zabeleženo je kod sorte OS-88 (0.75%), a kod iste sorte je najveće prisustvo (1.25%) zabeleženo na lokalitetu Osijek II. Na proučavanim sortama lucerke ispitani su korelacioni odnosi između parametara kvaliteta semena i prisustva patogena na semenu različitih sorata i partija lucerke. Jake pozitivne korelacije zabeležene su između energije klijanja i ukupne klijavosti ($r=0,891^{***}$), kao i između mase 1000 semena i prisustva gljiva iz roda *Fusarium* spp. ($r=0,797^{**}$). Rezultati ovih ispitivanja ukazuju na zadovoljavajuće zdravstveno stanje svih sorata i partija semena lucerke a posebno u odnosu na ekonomski značajne fitopatogene gljive iz roda *Fusarium* spp.

Ključne reči: lucerka, seme, patogeni, zdravstveno stanje

UVOD

Plava lucerka (*Medicago sativa* L.) jedna je od najstarijih krmnih biljnih vrsta i bila je poznata još pre 8000 godina. Vodi poreklo sa teritorije današnjeg Irana i Arabije, mada se vrste roda *Medicago* mogu naći po celoj Aziji (Michaud et al., 1988). U svetu se gaji na površini od 33 miliona hektara, a u Srbiji je zastupljena na površini od oko 190.000 hektara (Štrbanović, 2010). Areal gajenja lucerke je na svim kontinentima u više od 80 zemalja, od umereno hladnog do tropskog pojasa. Široka geografska rasprostranjenost lucerke uslovljena je njenom velikom adaptabilnošću na različite klimatske i zemljišne uslove (Julier et al., 1995).

Lucerka je višegodišnja leguminozna stranooplodna biljka entomofilnog načina oprašivanja i prirodni je autotetraploid ($2n=4n=32$). Lucerka je, posle kukuruza, najvažnija krmna vrsta u našoj zemlji, zahvaljujući ne samo povoljnom hemijskom sastavu i visokom sadržaju proteina, već i visokim prinosima i veoma dobrim biološkim osobinama. U ishrani domaćih životinja može se koristiti kao zelena masa, seno ili konzervisana u kombinaciji sa drugim krmnim biljkama (Đorđević i Dinić, 2007).

Lucerku napada veliki broj prouzrokovaca biljnih bolesti i biljne štetočine. Mikroorganizmi koji izazivaju trulež korena i uvenuća lucerke su glavni agensi koji izazivaju progresivnu pad produktivnosti lucerke. Mnogi patogeni koji izazivaju bolesti nadzemnog dela i

korena lucerke se prenose zaraženim semenom, tako da seme može da predstavlja veoma opasan izvor zaraze. Razne patogene gljive (*Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Colletotrichum* spp., *Verticillium* spp., *Sclerotinia* spp. itd.) izazivaju određene vrste truleži korena i stabljike lucerke, a mogu se javiti i nespecifični simptomi na biljkama kao što su niži porast, hloroza i uvenuće (Krnjaja i sar., 2011). Seme igra bitnu ulogu u proizvodnji zdravih useva, ali na sebi mogu da nose i neke destruktivne gljive koje mogu da izazovu trulež semena, smanjenje klijavosti i totalno uništenje klijanaca nakon klijanja semena (Abdul-Aziz A. et al., 2011). Najštetniji patogen na semenu lucerke je gljiva *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis* koja izaziva bolest uvenuća lucerke i prenosi se semenom (Štrbac i sar., 1996). Patogeni semena lucerke prouzrokuju štetu u manjoj ili većoj meri, a posledice su smanjen kvalitet i gubitak prinosa krme. Korišćenjem zdravstveno ispravnog semena za setvu lucerke, rasprostranjenost i širenje žarišta iz kojih bi se neke bolesti proširile i na većim površinama bilo bi sprečeno, što je posebno opasno ako se ima u vidu da je lucerke višegodišnja biljna vrsta (Krnjaja i Lević, 2005). Dakle, zbog opasnosti od širenja bolesti lucerke preko zaraženog semena, veoma je važno da se koristi kvalitetno i zdravstveno ispravno seme za setvu.

Istraživanja obuhvaćena ovim radom imaju za cilj utvrđivanje zdravstvenog stanja semena tri različite sorte lucerke i tri različite partije svake sorte i njegovog uticaja na parametre kvaliteta semena.

MATERIJAL I METODE

U cilju realizacije ovog ogleada istraživanje je obavljeno u akreditovanoj laboratoriji za ispitivanje kvaliteta semena i sadnog materijala Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu u Beogradu. Materijal koji se koristi u ovom istraživanju je seme tri različite sorte lucerke (K-22, NS-Banat i OS-88) sa po tri različite partije (lokaliteta) od svake sorte. Žetva semena obavljena je u avgustu mesecu 2013. godine, a seme svih partija ispitivanih sorata lucerke čuvano je u papirnim kesama i kontrolisanim uslovima temperature i relativne vlažnosti vazduha tj. u komori za skladištenje i čuvanje semena.

Ispitivanje zdravstvenog stanja semena lucerke utvrđeno je prema pravilniku o kvalitetu semena poljoprivrednog bilja „Službeni list SFRJ“ br. 47/87 Republike Srbije. Radni uzorak predstavlja 4 x 100 semena od svake partije različitih sorata lucerke. Seme je dezinfikovano u 1% rastvoru natrijum-hiphlorita (NaOCl) u trajanju od 10 minuta a potom isprano sa destilovanom vodom i osušeno na filter papiru. Seme je postavljeno u petri šolje prečnika

90mm koje su predhodno sterilisane u autoklavu a za podlogu je korišćen filter papir natopljen destilovanom vodom do potpunog zasićenja. Uzorci su stavljeni u klijaliste i inkubirani na t20°C sedam dana sa naizmeničnim osvetljenjem, 12h u tami i 12h sa ultravioletnim osvetljenjem (UV) talasne dužine 360nm. Ispitivanje razvijenih kolonija gljiva oko semena izvršeno je na mikroskopu, a na osnovu morfologije konidija rodovi gljiva identifikovani su prema (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Watanabe, 1994). Rezultati ispitivanja zdravstvenog stanja semena iskazani su u % obolelog semena.

Parametri kvaliteta semena, energija klijanja, ukupna klijavost i masa 1000 semena takođe su utvrđeni prema navedenom pravilniku o kvalitetu semena poljoprivrednog bilja.

REZULTATI

Ispitivanjem energije klijanja i ukupne klijavosti kod različitih sorata i partija lucerke utvrđeno je da je u proseku najveću energiju klijanja (76%) i ukupnu klijavost (79%) imala sorta lucerke NS-Banat, a najveće vrednosti za energiju klijanja (84%) i ukupnu klijavost (86%) zabeležene su na lokalitetu Ada. U proseku najveću vrednost za masu 1000 semena imala je sorta lucerke OS-88 (2.08g), dok je najmanja prosečna vrednost zabeležena kod sorte lucerke K-22 (1.82g) (Tabela 1).

Na osnovu morfologije kolonija i njihovih konidija identifikovani su sledeći rodovi gljiva: *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp. i sterilna micelija. Prisustvo identifikovanih rodova gljiva kretalo se u rasponu od 0% do 2%. Rod *Alternaria* spp. najmanju prosečnu vrednost imao je kod sorte lucerke K-22 (0.42%), dok je najveću prosečnu vrednost imao kod sorte OS-88 (0.58%), a takođe kod iste sorte konstatovano je najveće prisustvo od (1%) na lokalitetu Osijek I. Kod svih ispitivanih sorata lucerke utvrđen je visok koeficijent varijacije, što ukazuje na visoku varijabilnost unutar samih sorata za ovo svojstvo. Najveći koeficijent varijacije utvrđen je kod sorte OS-88 (65.84%), kod sorte NS-Banat (48.31%), dok je kod sorte K-22 iznosio (34.37%). Ukupan koeficijent varijacije u okviru svih ispitivanih sorata lucerke iznosio je (49.55%). Najveće prosečno prisustvo roda *Fusarium* spp. zabeleženo je kod sorte OS-88 (0.75%), a kod iste sorte je najveće prisustvo (1.25%) zabeleženo na lokalitetu Osijek II. Najmanje prosečno prisustvo ove fitopatogene gljive konstatovano je kod sorte K-22 (0.33%), dok je kod sorte NS-Banat u proseku utvrđeno (0.48%). Visok koeficijent varijacije utvrđen je kod sorte OS-88 (23.57%), dok kod ostale dve sorte nije bio značajan, K-22 (5.83%)

i NS-Banat (7.37%). Ukupan koeficijent varijacije na nivou svih ispitivanih sorata bio je visok i iznosio je (42.66%). Prisustvo roda *Penicillium* spp. utvrđeno je samo kod sorte NS-Banat i to na lokalitetu Titel (0.5%), dok je prisustvo roda *Mucor* spp. takođe utvrđeno samo kod sorte NS-Banat na lokalitetu Rusko selo (2%). Sterilna micelija utvrđena je kod sorte K-22 na lokalitetu Osipaonica (0.5%) (Tabela 2).

Na proučavanim sortama lucerke ispitani su korelacioni odnosi između parametara kvaliteta semena i prisustva patogena na semenu različitih sorata i partija lucerke. Jake pozitivne korelacije zabeležene su između energije klijanja i ukupne klijavosti ($r = 0,891^{***}$), kao i između mase 1000 semena

i prisustva gljive iz roda *Fusarium* spp. ($r = 0,797^{**}$), što se može videti i u prikazanim rezultatima gde su sorte sa većom masom 1000 semena imala i veći procenat zaraze sa fitopatogenim gljivama iz roda *Fusarium* spp. Tako u slučaju sorte OS-88 koja je imala najveću prosečnu masu 1000 semena (2.08g) u proseku imala prisustvo *Fusarium* spp. (0.75%), sorta NS-Banat imala je prosečnu masu 1000 semena (1.93g) i prosečno prisustvo *Fusarium* spp. (0.48%), dok je sorta K-22 imala najmanju prosečnu masu 1000 semena i prosečno prisustvo *Fusarium* spp. (0.33%). Za ostale praćene parametre kvaliteta i prisustva patogena izračunate korelacije nisu bile statistički značajne (Tabela 3).

Tabela 1. Parametri kvaliteta semena.

Table 1. Seed quality parameters.

Sorta (Cultivar)	Lokalitet/partija Locality/lot	Energija klijanja(%) Germination energy(%)	Ukupna klijavost(%) Total germination(%)	Masa 1000 semena(g) Mass of 1000 seeds(g)
K-22	Ratari	70	74	1.80
	Osipaonica	49	53	1.83
	Aleksandrovo	45	52	1.83
prosek (average)		55	60	1.82
NS-Banat	Titel	72	75	2.03
	Rusko selo	72	75	2.03
	Ada	84	86	1.73
prosek (average)		76	79	1.93
OS-88	Osijek I	50	66	2.15
	Osijek II	69	73	2.13
	Istra	61	79	1.95
prosek (average)		60	73	2.08

Tabela 2. Izolacija fitopatogenih gljiva na semenu lucerke (%).

Table 2. Isolation phytopathogenic fungi on alfalfa seed (%).

Sorta (Cultivar)	Lokalitet/partija Locality/lot	Gljive (%) Fungus (%)				
		<i>Alternaria</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Mucor</i> spp.	sterilna micelija
K-22	Ratari	0.5	0	0	0	0
	Osipaonica	0.25	0.25	0	0	0.5
	Aleksandrovo	0.5	0.75	0	0	0
prosek (average)		0.42	0.33	0	0	0.17
CV (%)		34.37	5.83	-	-	-
NS-Banat	Titel	0.75	0.75	0.5	0	0
	Rusko selo	0.7	0.7	0	2	0
	Ada	0.25	0	0	0	0
prosek (average)		0.57	0.48	0.17	0.67	0
CV (%)		48.31	7.37	-	-	-
OS-88	Osijek I	1	1	0	0	0
	Osijek II	0.25	1.25	0	0	0
	Istra	0.5	0	0	0	0
prosek (average)		0.58	0.75	0	0	0
CV (%)		65.84	23.57	-	-	-
Ukupan CV (%) Total CV (%)		49.55	42.66	-	-	-

Tabela 3. Korelaciona međuzavisnost kvaliteta semena i prisustva patogena na semenu lucerke.
Table 3. Correlation interdependence of seed quality and the presence of pathogens on alfalfa seeds.

	Ukupna klijavost Total germination	Masa 1000 semena Mass of 1000 seeds	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Mucor</i> spp.	Sterilna micelija Sterile mycelium
Energija klijanja Germination energy	0.891***	-0.117 ^{ns}	-0.214 ^{ns}	-0.243 ^{ns}	0.241 ^{ns}	0.241 ^{ns}	-0.416 ^{ns}
Ukupna klijavost Total germination		0.047 ^{ns}	-0.013 ^{ns}	-0.286 ^{ns}	0.153 ^{ns}	0.153 ^{ns}	-0.57 ^{ns}
Masa 1000 semena Mass of 1000 seeds			0.565 ^{ns}	0.797**	0.217 ^{ns}	0.217 ^{ns}	-0.277 ^{ns}
<i>Alternaria</i> spp.				0.356 ^{ns}	0.33 ^{ns}	0.258 ^{ns}	-0.395 ^{ns}
<i>Fusarium</i> spp.					0.181 ^{ns}	0.141 ^{ns}	-0.216 ^{ns}
<i>Penicillium</i> spp.						-0.125 ^{ns}	-0.125 ^{ns}
<i>Mucor</i> spp.							-0.125 ^{ns}

$p < 0,05^*$; $p < 0,01^{**}$; $p < 0,001^{***}$; ns-razlike nisu statistički značajne (differences are not statistically significant)

DISKUSIJA

Seme je veoma pogodan supstrat za održavanje i širenje patogenih prouzrokovala biljnih bolesti. Zdravstvena kontrola semena je neophodna kao preventivna mera u suzbijanju širenja ekonomski značajnih bolesti lucerke. U Srbiji ne postoji dovoljno podataka o zdravstvenom stanju semena lucerke u odnosu na prisustvo važnih patogenih gljiva. Ispitivanjem semena različite starosti na šest sorata lucerke identifikovano je sedam rodova gljiva, *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Stemphylium* spp. i sterilna micelija sa prisustvom od 0 do 6,5% (Krnjaja i sar., 2011). Takođe, analizom zdravstvenog stanja semena šest domaćih sorti lucerke, u tretmanu gde je seme dezinfikovano natrijum-hipohloritom (NaOCl) ustanovljeno je prisustvo gljiva iz sledećih rodova: *Alternaria* spp. (0-5%), *Cladosporium* spp. (0-1%), *Fusarium* spp. (0-2%) and *Stemphylium* spp. (0-1%) (Krnjaja i sar., 2003). Analizom zdravstvenog stanja 10 domaćih sorti lucerke utvrđeno je prisustvo gljiva iz roda *Alternaria* spp. (3-48%), *Botrytis* spp. (0-10%) i *Fusarium* spp. (0-8%) (Lukić i Purar, 1996).

Prema Pravilniku o zdravstvenom pregledu

useva i objekata za proizvodnju semena, rasada i sadnog materijala i zdravstvenog pregleda semena, rasada i sadnog materijala dozvoljen je sledeći nivo infekcije semena lucerke (%): *Colletotrichum* spp. (1%), *Fusarium* spp. (2%), *Kabatiella caulivora* (2%), *Sclerotinia* spp. (0%), *Stemphylium* spp. (1%), *Verticillium albo atrum* (1%), virus mozaika lucerke (AMV) (0%), *Cuscuta* spp. (0%) (Službeni list SRJ, 1999).

Prema navedenom pravilniku i ispitivanja koja su sprovedena u našoj studiji možemo zaključiti da semena svih sorata i partija lucerke u odnosu na prisustvo fitopatogenih gljiva imaju zadovoljavajuće zdravstveno stanje, a najtolerantnija sorta na prisustvo navedenih patogena je K-22. Najmanju tolerantnost na prisustvo navedenih fitopatogenih gljiva pokazala je sorta OS-88 koja je imala najveći procenat prisustva gljive iz roda *Fusarium* spp. u odnosu na druge sorte i partije semena lucerke i to čak na dve lokaliteta, Osijek I (1%) i Osijek II (1.25%).

ZAHVALNICA

Rad je rezultat projekata Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, Projekti TR 31057 i TR 31018.

LITERATURA

Abdul-Aziz A. Al-Askar, Khalid M. Ghoneem, Younes M. Rashad (2012): Seed-borne mycoflora of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in the Riyadh Region of Saudi Arabia. *Annals of Microbiology*, 62: 273-281.

Burgess L.W., Summerell B.A., Bullock S., Gott K.P., Backhouse D. (1994): Laboratory manual for *Fusarium* research. Third edition. *Fusarium Research Laboratory*, Department of Crop Sciences, University of Sydney and Royal Botanic Gardens, Sydney, 133 p.

- Dorđević, N., Dinić, B. (2007): Hrana za životinje. Cenzone tech-Europe, d.o.o., Arandelovac.
- Julier, B., Porcheron, A., Ecalle, C., Guy, P. (1995): Genetic variability for morphology, growth and forage yield among perennial diploid and tetraploid lucerne populations (*Medicago sativa* L.). *Agronomie*, 15: 295-304.
- Krnjaja, V., Lević, J., Ivanović, D., Mandić, V., Tomić, Z., Bijelić, Z., Marinkov, G. (2011): Frequency of Pathogenic Fungi on Alfalfa Seed of Different Age. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 27 (3): 1227- 1234.
- Krnjaja, V., Lević, J., Ivanović, M., Tomić, Z. (2003): *Fusarium* species associated with seeds of alfalfa cultivars. *Czech Journal of Genetic and Plant Breeding*, 39, (special issue): 275-278.
- Krnjaja, V., Lević, J. (2005): Patogeni semena i klijanaca licerke i deteline i mere suzbijanja. *Biljni lekar/Plant Doctor*, XXXIII, 5: 583-589.
- Lukić, D., Purar, B. (1996): Ekonomski značajne bolesti raznih tipova lucerke. *Biljni lekar*, XXIV (4): 334-337.
- Michaud, R., Lehman, W. F., Rumbaugh, M.P. (1988): World distribution and historical development. In *Alfalfa and alfalfa improvement*. Agronomy, USA, pp. 25-82.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O. (1983): *Fusarium* Species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park and London, pp. 193.
- Službeni list SRJ (1999): Pravilnik o zdravstvenom pregledu useva i objekata za proizvodnju semena, rasada i sadnog materijala i zdravstvenog pregleda semena, rasada i sadnog materijala.
- Štrbac, P., Konstatinović, B., Klokočar-Šmit, Z., Dražić, D. (1996): Zaštita lucerke od štetočina, bolesti i korova. Forum, Novi Sad.
- Štrbanović, R. (2010): Genetička varijabilnost agronomskih osobina različitih genotipova lucerke (*Medicago sativa* L.). Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet Zemun, Univerzitet u Beogradu, 1-99.
- Watanabe, T. (1994): Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. Lewis Publishers, Boca Raton, Boston, London, Washington D.C., pp. 410.

(Primljeno: 15.11.2013.)
(Prihvaćeno: 13.12.2013)

HEALTH TESTING DIFFERENT GENOTYPES ALFALFA SEEDS

RATIBOR ŠTRBANOVIĆ¹, VELJKO GAVRILOVIĆ¹, RADE STANISAVLJEVIĆ¹,
DOBRIVOJ POŠTIĆ¹, JORDAN MARKOVIĆ², NENAD TRKULJA¹, NENAD DOLOVAC¹

¹ Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia

² Institute for forage crops, Kruševac, Serbia

e-mail: ratibor.strbanovic@yahoo.com

SUMMARY

In this study we investigated the presence of plant pathogenic genera of fungi on seeds of three different cultivars of alfalfa (K-22, NS-Banat and OS-88) with three different lots (locality) of each cultivars. When tested cultivars were identified following genera of fungi: *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp. and sterile mycelium. The presence of the identified genera of fungi ranged from 0% to 2%. Genus *Alternaria* spp. lowest average value was in alfalfa cultivars K-22 (0.42%), while the highest average value of a cultivar OS-88 (0.58 %), and also at the same cultivar was noted by the presence of one (1%) at the locality of Osijek I. In all the cultivars of alfalfa, a high coefficient of variation, indicating a high variability within the three cultivars for this trait. The highest average attendance of the genus *Fusarium* spp. was observed in cultivar OS-88 (0.75%), and in the same cultivar is the largest presence (1.25%) were recorded at the locality of Osijek II. For the studied alfalfa cultivars were examined correlations between parameters of seed quality and the presence of pathogens on seeds of different cultivars of alfalfa and lots. Strong positive correlations were observed between germination energy and total germination ($r=0.891^{***}$), and between mass of 1000 seeds and the presence of *Fusarium* spp. ($r=0.797^{**}$). The results of these tests indicate satisfactory state of health of all cultivars and alfalfa seed lots and in particular in relation to the economically important phytopathogenic fungi of the genus *Fusarium* spp.

Key words: alfalfa, seed, pathogens, health condition

(Received: 15.11.2013.)

(Accepted: 13.12.2013.)