

Vojislav Trkulja, Jovo Stojić, Bojana Ćurković<sup>1</sup>

Znanstveni rad

## ETIOLOŠKA PROUČAVANJA POJAVE ANTRAKNOZE JAGODE U SJEVEROZAPADNOM DIJELU BOSNE I HERCEGOVINE<sup>2</sup>

### Sažetak

Tijekom obilaska većeg broja jagodnjaka u više lokaliteta na širem području općina Banja Luka, Laktaši, Gradiška i Srbac, u sjeverozapadnom dijelu Bosne i Hercegovine, na pojedinim proizvodnim parcelama utvrđena je pojava oboljelih biljaka s izraženim simptomima antraknoze. Postotak napadnutih biljaka bio je različit, ali se na pojedinim parcelama kretao od 5–20%, a nisu bile rijetke ni proizvodne parcele na kojima je došlo do većeg postotka zaraze, zbog čega je na takvim parcelama došlo do značajnih ekonomskih šteta.

Na osnovu dobivenih rezultata proučavanja patogenih, morfoloških i uzgojnih odlika tri odabrana izolata (Jag-1, Jag-4 i Jag-7) možemo zaključiti da svi pripadaju fitopatogenoj gljivi *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds - uzročniku antraknoze jagode.

**Ključne riječi:** jagoda, izolati gljive, patogene, morfološke i uzgojne odlike, *Colletotrichum acutatum*.

### Uvod

Tijekom obilaska većeg broja jagodnjaka u više lokaliteta na širem području općina Banja Luka, Laktaši, Gradiška i Srbac, u sjeverozapadnom dijelu Bosne i Hercegovine, na pojedinim proizvodnim parcelama utvrđena je pojava oboljelih biljaka s izraženim simptomima antraknoze, koji su se uočavali u vidu uleglih nekrotičnih pjega na plodovima i peteljka listova oboljelih biljaka jagode. Postotak napadnutih biljaka bio je različit, ali se na pojedinim parcelama kretao od 5–20%, a nisu bile rijetke ni proizvodne parcele na kojima je došlo do većeg postotka zaraze, zbog čega je na takvim parcelama došlo do značajnih ekonomskih šteta. Uzimajući u obzir ekonomsku važnost uočene pojave, ali i činjenice da naoko identične simptome mogu uzrokovati četiri vrste iz roda *Colletotrichum*, kao i to da fitopatogene gljive iz ovog roda, kao uzročnici antraknoze jagode, na ovom području do sada nisu eksperimentalno proučavane, poslužile su nam kao povod da u ovom radu detaljnije proučimo etiologiju uočene bolesti, kao i neke značajnije patogene, morfološke i uzgojne odlike izoliranog parazita, što bi sve zajedno moglo utjecati na

<sup>1</sup> Poljoprivredni institut RS, Banja Luka, BiH

<sup>2</sup> Prevod na hrvatski dipl.oec. Katarina Lučić

---

njegovo uspješno suzbijanje, a samim tim i ostvarivanje stabilnijih i većih prinosa te značajne voćne vrste kod nas.

### **Materijal i metode**

Iz nekoliko lokaliteta sa šireg područja općina Banja Luka, Laktaši, Gradiška i Srbac prikupljen je veći broj uzoraka oboljelih biljaka jagode na kojima su se uočavali karakteristični simptomi antraknoze izražene na plodovima i peteljka listova. Oboljele biljke su u više navrata dostavljene u Fitopatološku laboratoriju Poljoprivrednog instituta RS u Banjoj Luci gdje su i vršena istraživanja koja su predstavljena u ovom radu.

Uzročnik te bolesti izoliran je standardnim postupkom, aseptičnim postavljanjem sitnih fragmenata, uzetih s prijelaza zdravog i bolesnog tkiva oboljelih plodova i peteljki listova jagode, na krumpir-dekstroznu podlogu u Petri kutije. Nakon tri dana razvoja u termostatu, pri temperaturi od 25°C oko zasijanih fragmenata razvile su se kolonije gljiva, sa čijih rubova su pažljivo isječeni dijelovi micelije, zajedno s tankim slojem podloge, koji su potom preneseni u epruvete s kosom krumpir-dekstroznom podlogom. Na taj način je dobiven veći broj čistih kultura gljive, od kojih su za dalja proučavanja odabrana tri izolata, označeni šiframa: Jag-1, Jag-4 i Jag-7.

Za istraživanje patogenosti tri odabrana izolata gljive korišteni su plodovi i lisne peteljke jagode sorti selen i hanoj. Prije inoklacije svi plodovi su površinski sterilizirani brisanjem vatom namočenom u 70% alkohol, poslije čega su plodovi na središnjem dijelu plitko povrijeđeni pomoću sterilne kopljaste igle skidanjem pokožice ploda u obliku "prozorčića" kvadratnog oblika dužine stranica 0,5 cm. Na taj način povrijeđeni plodovi potom su inokulirani postavljanjem sitnih fragmenata kolonije proučavanih izolata gljive u načinjene otvore ili tzv. „prozorčice“. Inokulirani plodovi su potom blago poprskani vodom i postavljeni u vlažnu komoru pri sobnoj temperaturi. Kontrolni plodovi su samo poprskani vodom, bez nanošenja fragmenata gljive. Na sličan način postavljen je ogled provjere patogenosti na pažljivo odabranim zdravim biljkama dviju navedenih sorti jagoda koje su prethodno presađene u tegle. Sama inokulacija je obavljena na središnjem dijelu peteljke gdje su pomoću sterilnog skalpela napravljeni plitki rezovi dužine oko 0,5 cm i u njih nanoseni sitni fragmenti kolonija proučavanih izolata gljive, poslije čega su oni poprskani vodom i zavijeni vlažnom vatom, a potom i staniol folijom. Tako inokulirane biljke su potom postavljene u vlažnu komoru pri sobnoj temperaturi. Kao kontrola su poslužile biljke jagode čije su peteljke samo poprskane vodom i zavijene vlažnom vatom, a potom i staniol folijom, bez nanošenja fragmenta gljive. Ogled je postavljen u sedam ponavljanja, a prva ocjena rezultata vršena je 3 dana nakon inokulacije, poslije čega su rezultati redovno očitavani i tijekom sljedećih 10 dana.

Morfološke odlike tri odabrana izolata *Colletotrichum* spp. (Jag-1, Jag-4 i Jag-7) proučavane su promatranjem pod svjetlosnim mikroskopom izgleda hifa micelije

i reproduktivnih organa parazita na prirodnom supstratu (vještački inokuliranim plodovima i lisnim peteljka jagode), kao i na pet različitih hranjivih podloga, prema metodi Baxter *et al.* (1983.).

**Morfologija konidija-** Kod tri odabrana izolata *Colletotrichum* spp. proučavani su oblik, struktura, boja, dimenzije i način klijanja konidija.

*Oblik konidija* - S prirodnog supstrata (vještački inokuliranih plodova i lisnih peteljki jagode), kao i iz kulture promatrano je po 100 slučajno izabranih konidija koje su, na osnovu oblika, prema Smith i Blacku (1990.), svrstane u jednu od tri grupe: 1) elipsoidne, zaoštrene prema vrhovima oba kraja („*fusiformne*“); 2) cilindrične, zaoštrene na jednom kraju i zaobljene na drugom, i 3) cilindrične, zaobljene na oba kraja.

*Boja konidija*- Određivanje boje konidija proučavanih izolata je izvršeno prema metodi Smith i Blacka (1990.) promatranjem mase konidija na bijeloj keramičkoj podlozi. Konidije su za tu namjenu uzete s 14 dana starih kultura uzgojenih na krumpir-dekstroznoj podlozi u tami pri temperaturi od 25°C.

*Dimenzije konidija*- Dimenzije konidija su određene mjerenjem dužine i širine po 100 slučajno izabranih konidija tri proučavana izolata gljive, uzgojenih na krumpir-dekstroznoj podlozi, pomoću svjetlosnog mikroskopa pri uvećanju 10 x 40.

**Morfologija apresorija-** Morfološke karakteristike apresorija proučavanih izolata su određene korištenjem nešto modificirane metode Hawkswortha (1974.), koja podrazumijeva stavljanje kapi ohlađene podloge od vode i agara (25 g agara/l) na sterilne mikroskopske pločice i nanošenje nekoliko kapi konidijske suspenzije svakog proučavanog izolata na podlogu. Preko tako zasijane podloge postavljena je sterilna ljušpica, poslije čega su pločice tijekom 6–8 dana držane u Petri kutijama, koje su služile kao vlažne komore, nakon čega je formiranje apresorija u dodiru s ljušpicom promatrano pod mikroskopom. Kod tri odabrana izolata *Colletotrichum* spp. proučavani su oblik, struktura, boja i dimenzije apresorija. Minimalno je promatrano 25 apresorija po izolatu.

**Morfologija seta-** Prisustvo ili odsustvo seta u kulturi određeno je prema metodi Smith i Blacka (1990.), promatranjem pomoću svjetlosnog mikroskopa 7 do 15 dana starih kultura svakog proučavanog izolata uzgajanog na krumpir-dekstroznoj podlozi i podlozi od mrkve, u tami pri temperaturi od 25°C. Formiranje seta na domaćinu je određeno mikroskopskim promatranjem epidermalnih traka s površine nekrotičnih pjega vještački inokuliranih plodova i lisnih peteljki jagode. Svako proučavanje formiranja seta je ponovljeno pet puta.

---

**Formiranje teleomorfno stadija-** Za praćenje formiranja teleomorfno stadija tri proučavana izolata *Colletotrichum* spp. su uzgajani na pet različitim hranjivih podloga u po 7 ponavljanja. Kulture su uzgajane u termostatu pri temperaturi od 25°C, a formiranje peritecija je promatrano nakon 3 tjedna. Mogućnost formiranja teleomorfno stadija proučavanih izolata je također praćena i na inokuliranim plodovima i lisnim peteljka dvije testirane sorte jagode.

Od uzgojnih odlika triju odabranih izolata (Jag-1, Jag-4 i Jag-7) proučen je izgled, struktura, boja i porast micelije, kao i fruktifikacija, odnosno formiranje reproduktivnih organa - konidija parazita na pet različitim podloga: krumpir-dekstroznoj i Čapekovej podlozi, kao i na podlogama od škrobnog agara, mrkve i luka.

Zasijavanje proučavanih izolata gljive na podloge vršeno je aseptičnim nanošenjem okruglih fragmenata kolonija čistih kultura proučavanih izolata promjera 4 mm, u centar Petri kutija pomoću kopljaste igle. Zasiyane Petri kutije potom su uzgojene u termostatu pri temperaturi od 25°C, bez prisustva svjetlosti.

Prvo mjerenje porasta kolonija vršeno je poslije tri dana, a potom je, tijekom sljedećih sedam dana, sve dok prvi izolat nije u potpunosti ispunio Petri kutiju, linearnim mjerenjem promjera praćen porast kolonija, dok je mikroskopskim pregledom utvrđivana pojava fruktifikacije, odnosno formiranja reproduktivnih organa patogena.

Određivanje nivoa sporulacije vršeno je pomoću hemocitometra po Thomu sa 16 polja, čija je veličina 1 mm<sup>2</sup>, a dubina 0,2 mm, s ciljem da se utvrde razlike u intenzitetu sporulacije tri odabrana izolata *Colletotrichum* spp. (Jag-1, Jag-4 i Jag-7) uzgojenih 10 dana u Petri kutijama na pet različitim proučavanih podloga.

Nivo sporulacije iskazan je prema skali Quesada i Lopeza (1980.), gdje je: + = slaba sporulacija (<5.000 spora/ml), ++ = srednja sporulacija (5.000 - 10.000 spora/ml) i +++ = obilna sporulacija (>10.000 spora/ml).

Ogled je postavljen u 7 ponavljanja. Fotografiranje rezultata ogleada vršeno je 10 dana poslije zasijavanja podloge.

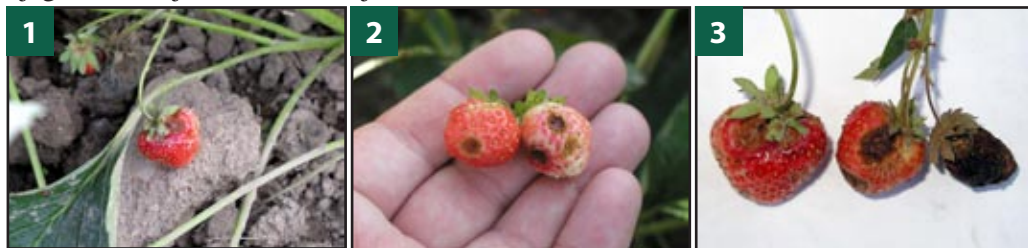
## **REZULTATI**

### **Simptomi bolesti**

Simptomi bolesti se manifestiraju na svim nadzemnim dijelovima oboljelih biljaka jagode: plodu, cvijetu, listu, lisnoj peteljci i stolonu.

Početni simptomi na plodu se manifestiraju u vidu pojave svjetlijih, okruglih, u početku vodenih, a kasnije blago uleglih, čvrstih i tamnijih pjega (**sl. 1**). U daljoj

fazi razvoja bolesti obično dolazi do povećavanja broja pjega, pri čemu one postaju udubljene, tamnije i čvršće (sl. 2). Pjege se pri toplom i vlažnom vremenu brzo šire, a na njihovoj površini parazit često sporulira stvarajući micelijsku prevlaku s obiljem konidija ružičaste, bijele ili narančaste boje. Na kraju patogen zahvaća cijeli plod, uzrokujući njegovo sušenje i mumificiranje (sl. 3).

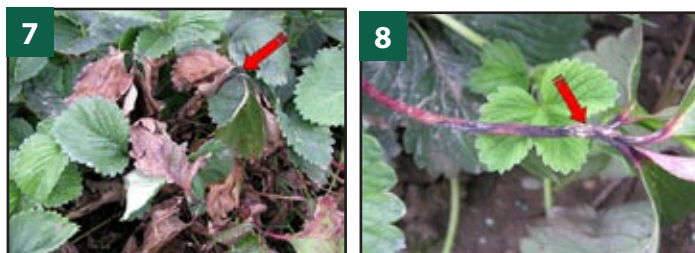


Na oboljelim cvjetovima, listovima, lisnim peteljka i stolonima u početku dolazi do stvaranja svjetlijih, vodenastih pjega, poslije čega one postaju ulegle, nešto tamnije i čvršće (sl. 4).

Pri povoljnim vremenskim uvjetima za razvoj patogena, a to je nešto toplije i vlažnije vrijeme, pjege se brzo šire i po dužini i po širini, tako da za relativno kratko vrijeme prstenasto zahvaćaju lisnu peteljku, šireći se ponekad i do samih listova (sl. 5), što zbog zračnih strujanja ili jačih kiša često dovodi i do lomljenja peteljki (sl. 6).



Zbog lomljenja lisnih peteljki dolazi do prekida snadbijevanja listova vodom i hranjivim tvarima što uzrokuje sušenje napadnutih listova (sl. 7). Pri povoljnim vremenskim uvjetima (kišovito i toplije vrijeme) često dolazi do obilne sporulacije patogena i na samim lisnim peteljka (sl. 8), što pridonosi njegovom brzom širenju po napadnutom jagodnjaku.



### **Patogenost**

Iz rezultata oglada provjere patogenosti koji su navedeni u tablici 1 vidi se da među dvjema testiranim sortama jagode postoje izvjesne manje razlike u

očitovanju osjetljivosti njihovih plodova i lisnih peteljki prema tri proučavana izolata gljive (Jag-1, Jag-4 i Jag-7).

Tako npr. na plodovima sorte *selen* tri dana nakon inokulacije izolati Jag-1 i Jag-4 uzrokuju nekrozu slabog intenziteta, dok izolat Jag-7 uzrokuje nekrozu srednjeg intenziteta. Već nakon 5 dana od inokulacije izolati Jag-1 i Jag-4 uzrokuju nekrozu srednjeg intenziteta, dok izolat Jag-7 uzrokuje nekrozu jakog intenziteta. Poslije 7 dana izolati Jag-1, Jag-4 i Jag-7 na toj sorti uzrokuju nekrozu jakog intenziteta (tab. 1).

*Tab. 1. Pregled inteziteta izražene nekroze poslije vještačke inokulacije plodova i lisnih peteljki dvije testirane sorte jagode proučavanim izolatima gljive*

Sorta	Poslije	Izolati		
		Jag-1	Jag-4	Jag-7
		<i>Intezitet nekroze izražene na plodovima</i>		
<i>Selena</i>	3 dana	+	+	++
	5 dana	++	++	+++
	7 dana	+++	+++	+++
<i>Hanoj</i>	3 dana	++	+	++
	5 dana	+++	++	+++
	7 dana	+++	+++	+++
		<b>Intezitet nekroze izražene na lisnim peteljka</b>		
<i>Selena</i>	3 dana	+	+	+
	6 dana	++	+	++
	10 dana	+++	+++	+++
<i>Hanoj</i>	3 dana	+	+	‡
	6 dana	++	++	+
	10 dana	+++	+++	+++

#### LEGENDA:

- bez nekroze; + slaba nekroza (promjer nekrotičnih pjega 5–10 mm); ++ srednja nekroza (promjer nekrotičnih pjega 10,1–20 mm); +++ jaka nekroza (promjer nekrotičnih pjega >20,1 mm).

Na plodovima sorte *hanoj* tri dana nakon inokulacije izolat Jag-4 uzrokuje nekrozu slabog intenziteta, dok izolati Jag-1 i Jag-7 uzrokuju nekrozu srednjeg intenziteta. Već nakon 5 dana od inokulacije izolat Jag-4 uzrokuje nekrozu srednjeg intenziteta (sl. 9), a izolati Jag-1 i Jag-7 uzrokuju nekrozu jakog intenziteta. Poslije 7 dana sva tri izolata na sorti *hanoj* uzrokuju nekrozu jakog intenziteta (tab. 1).



Iz rezultata istraživanja navedenih u tablici 1 vidi se da su plodovi obje testirane sorte osjetljivi prema sva tri proučavana izolata gljive, pri čemu su plodovi sorte hanoj pokazali nešto veći stupanj osjetljivosti od plodova sorte selena.

Osim navedenog, iz rezultata oglada prikazanih u tablici 1 vidi se da su na lisnim peteljka jagode sorte *selen*a tri dana nakon inokulacije izolati Jag-7 i Jag-1 uzrokovali nekrozu slabog intenziteta, dok izolati Jag-4 nije uzrokovao nekrozu. Nakon 6 dana od inokulacije izolati Jag-1 i Jag-7 su uzrokovali nekrozu srednjeg intenziteta, a izolati Jag-4 nekrozu slabog intenziteta, dok su poslije 10 dana sva tri proučavana izolata (Jag-1, Jag-4 i Jag-7) uzrokovali nekrozu jakog intenziteta (**sl. 10**).



Na lisnim peteljka jagode sorte *hanoj* tri dana nakon inokulacije izolati Jag-1 i Jag-4 su uzrokovali nekrozu slabog intenziteta, dok izolati Jag-7 nije uzrokovao pojavu nekroze inokuliranog tkiva lisnih peteljki jagode. Nakon 6 dana od inokulacije izolati Jag-1 i Jag-4 su uzrokovali nekrozu srednjeg intenziteta, dok je izolati Jag-7 uzrokovao nekrozu slabog intenziteta. Poslije 10 dana sva tri izolata (Jag-1, Jag-4 i Jag-7) su uzrokovali nekrozu jakog intenziteta inokuliranog tkiva lisnih peteljki date sorte (tab. 1).

Iz rezultata istraživanja navedenih u tablici 1 vidi se da postoje i izvjesne manje razlike u izražanju stupnja virulentnosti između tri proučavana izolata gljive izraženih na lisnim peteljka dviju testiranih sorti jagode.

### **Morfološke odlike**

Za proučavanje morfoloških odlika uzročnika antraknoze jagode kod nas korištena su tri odabrana izolata *Colletotrichum* spp. koji su uzgojeni na pet različitih hranjivih podloga, kao i plodovi i lisne peteljke dviju sorti jagoda vještački inokulirane tim izolatima.

Vegetativni organi proučanih izolata *Colletotrichum* spp. – micelija- Razvoj micelije odabranih izolata *Colletotrichum* spp. praćen je na krumpir-dekstroznoj podlozi na kojoj su mlade hife sva tri proučavana izolata *Colletotrichum* spp. izgledale hijaline, septirane, s granuliranim staničnim sadržajem. Vremenom njihov zid postaje deblji, a boja tamnija. Promjer hifa se obično kreće od 2,7–3,2  $\mu\text{m}$ . Brojne hife stvaraju tamna, stromatična zadebljanja, koja kasnije evoluiraju u acervule ili pak ostaju u obliku nepravilnih stromatičnih tvorevina u kojima ne dolazi do stvaranja reproduktivnih organa.

**Reproduktivni organi proučanih izolata *Colletotrichum* spp. – plodonosno tijelo (konidiomata)**- Sva tri proučavana izolata *Colletotrichum* spp. formiraju plodonosna

tijela - acervule, koje se formiraju kako na oboljelim plodovima i lisnim peteljka jagode s izraženim karakterističnim simptomima antraknoze, tako i u kulturi. Bazalni dio acervule pokriven je fialidičnim konidioforama na kojima se formiraju konidije. Zbog njihovog porasta, pri vlažnom vremenu, dolazi do rasprskavanja epidermisa i oslobađanja konidija, koje se nalaze u želatinoznoj masi (matriksu), blijedonarančaste do blijedoružičaste boje (sl. 8).

**Morfologija seta** – Sva tri proučavana izolata u okviru konidiomata veoma rijetko formiraju sete koje, ako se pak i formiraju, imaju smeđu boju. Nešto su tamnije pri osnovi i svjetlije prema vrhu, najčešće su neseptirane, ili povremeno s jednom septom, uspravne su ili nešto povijene, s glatkom ili blago naboranom površinom, dimenzija 49,5–61 x 2,9–3,9  $\mu\text{m}$ , i nije primjećeno da formiraju konidije.

**Morfologija konidija** – Na osnovu morfologije, prema metodi Smith i Blacka (1990.), konidije sva tri proučavana izolata *Colletotrichum* spp. su svrstane u jednu od tri grupe: 1) cilindrične, zaobljene na oba kraja; 2) cilindrične, sužene na jednom kraju i zaobljene na drugom, i 3) elipsoidne, sužene prema vrhovima oba kraja („fusiform-ne“). Na bazi navedenih morfoloških kriterija sva tri proučavana izolata porijeklom sa jagode s vinskoružičastom bojom kolonija, uklapaju se u opis konidija vrste *Colletotrichum acutatum*, jer su kod sva tri navedena izolata prevladavale jednostanične, glatke, hijaline sa sitno granuliranim sadržajem, elipsoidne konidije, zaoštrene u točku na oba kraja („fusiform“), koje su činile 72–100% konidija tih izolata (sl. 11). Preostale konidije su bile ili zaobljene na jednom kraju, i zašiljene u točku na drugom (0–25%) ili zaobljene na oba kraja 0–3%. Ta tri izolata s dominantno elipsoidnim konidijama će se u nastavku teksta odnositi na vrstu *C. acutatum*.



**Dimenzije konidija** – Tijekom mjerenja dimenzija konidija tri proučavana izolata *C. acutatum* utvrdili smo da postoje izvjesne razlike u dimenzijama konidija među pojedinim izolatima, i to kako u srednjim, tako i u ekstremnim vrijednostima. Dimenzije konidija proučavanih izolata *C. acutatum* bile su 13,3-(15,4)-17,4 x 3,7-(4,0)-4,4  $\mu\text{m}$ , što je u okvirima vrijednosti dimenzija konidija koje navode i drugi autori za vrstu *C. acutatum* izoliranu s jagode i drugih domaćina.

**Boja konidija** – Konidije sva tri proučavana izolata *C. acutatum* su naračaste do roza boje u masi. Zato što su se nijanse boja među izolatima preklapale, boja konidija nije mogla biti korištena kao sredstvo za diferencijaciju među proučavanim izolatima.

**Morfologija klijanja konidija** – Tijekom klijanja konidije trpe određene morfološke





promjene. Tako u početku dolazi do izvjesnog bubrenja konidija, poslije čega one vremenom gube granulirani sadržaj i postaju prozračnije, dok se u ekvatorijalnom dijelu konidije formira septa (sl. 12).

Pri klijanju konidija sva tri proučavana izolata *C. acutatum* formiraju inicijalne hife, apresorije i sekundarne konidije. Konidije klijanju uglavnom formirajući jednu ili dvije (sl. 13), a veoma rijetko tri ili četiri inicijalne hife. Također je uočeno da pri klijanju konidija proučavanih izolata veoma često dolazi do anastomoze inicijalnih hifa, što se najčešće događa ako su konidije blizu jedna drugoj.

**Morfologija apresorija** – Sva tri proučavana izolata *C. acutatum* formiraju apresorije pri klijanju konidija, direktno na konidiji ili na kraćoj ili dužoj inicijalnoj hifi.

Najčešće se na jednoj konidiji formira jedna, a rjeđe dvije do tri apresorije. One nastaju tako što se vrh hife, spriječen tvrdom površinom u porastu, proširi i nabrekne i odvoji od ostalog dijela hife septom. Kasnije se, obično pri njenoj osnovi, pojavljuje inicijalna hifa u koju prelazi sadržaj apresorije i koja osigurava dalji razvoj micelije. Smatra se da ovi organi prvenstveno služe vezanju parazita za površinu domaćina u prvom stadiju infekcije. Apresorije sva tri proučavana izolata *C. acutatum* uglavnom su sferičnog, jajastog ili obrnuto jajastog oblika, u početku su bezbojne, a kasnije postaju smeđe boje (sl. 13), veličine 6,7–10,1 x 4,6–5,5  $\mu\text{m}$ .

**Reproduktivni organi teleomorfog stadija** – Tijekom proučavanja morfoloških karakteristika tri odabrana izolata *C. acutatum* utvrđeno je da ni jedan od njih nije formirao peritecije, ni u kulturi (i pored vrlo dugog čuvanja kultura), niti na vještački inokuliranim plodovima, kao ni na lisnim peteljicama dviju testiranih sorti jagoda.

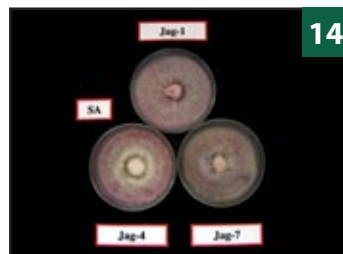
### **Uzgojne karakteristike**

Na krumpir-dekstroznoj podlozi svi proučavani izolati formiraju bujnu miceliju svijetloroze do vinkoružičaste boje. Naličje kolonije je ružičasto-bijelo, tamnije sa starošću kulture. Nakon 6 dana od zasijavanja na ovu podlogu sva tri izolata su u potpunosti ispunili Petri kutije, dok je 10 dana poslije zasijavanja fruktifikacija, odnosno stvaranje reproduktivnih organa – konidija parazita kod izolata Jag-4 bila srednjeg, a kod ostala dva izolata jakog intenziteta (tab. 2).

Na podlozi od mrkve proučavani izolati formiraju slabo bujnu miceliju bjeličastonaračaste do vinkoružičaste boje. Nakon 6 dana od zasijavanja svi izolati su ispunili Petri kutije. Poslije 10 dana nakon zasijavanja sva tri proučavana izolata na ovoj podlozi su ostvarili fruktifikaciju jakog intenziteta (tab. 2).

Na podlozi od luka proučavani izolati formiraju miceliju ružičaste ili bijele boje. Na toj podlozi sva tri izolata Jag-1, Jag-4 i Jag-7 su već nakon 6 dana zasijavanja ispunili Petri kutije. Također, nakon 10 dana od zasijavanja sporulacija kod izolata Jag-1 i Jag-4 je ocijenjena kao srednja, a kod izolata Jag-7 kao veoma jaka (tab. 2).

Na podlozi od škrobnog agara proučavani izolati formiraju miceliju bjeličaste do ružičaste boje (sl. 14). Svi proučavani izolati su na toj podlozi već 6 dana poslije zasijavanja ispunili Petri kutije. Također, 10 dana od zasijavanja svi izolati su ostvarili fruktifikaciju jakog inteziteta (tab. 2).



Tab. 2. Porast micelije i intezitet sporulacije tri proučavana izolata gljive uzgojena na pet različitim hranjivih podloga

Izolat ⇒ Podloga		Jag-1			Jag-4			Jag-7		
		3 dana	6 dana	10 dana	3 dana	6 dana	10 dana	3 dana	6 dana	10 dana
Kr-dekst. podloga	Σ	35,0	65,0	86,0	19,8	44,0	60,0	30,9	64,0	89,5
	f <sub>r</sub>	++	++	+++	+	++	++	++	++	+++
Podloga od mrkve	Σ	27,0	51,8	76,0	21,0	42,5	74,0	26,7	45,3	68,3
	f <sub>r</sub>	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++
Podloga od luka	Σ	30,2	58,0	83,0	18,5	45,0	68,0	28,3	56,0	85,0
	f <sub>r</sub>	+	++	++	+	++	++	+	++	+++
Podl. od sk. agara	Σ	21,0	51,0	73,0	25,3	58,0	86,0	31,1	63,3	85,3
	f <sub>r</sub>	++	++	+++	+	++	+++	++	+++	+++
Čapekova podloga	Σ	28,0	54,0	83,5	21,3	50,2	80,0	26,3	54,3	76,0
	f <sub>r</sub>	+	++	+++	+	++	++	+	++	+++

LEGENDA: Sporulacija: + = slaba, ++ = srednja, i +++ = obilna (Quesada i Lopez, 1980).

Na Čapekovej podlozi svi proučavani izolati formiraju miceliju bjeličastoroze do vinkoružičaste boje. Nakon 6 dana od zasijavanja na toj podlozi su sva tri izolata ispunili Petri kutije. Izolat Jag-4 je 10 dana nakon zasijavanja ostvario sporulaciju srednjeg, a izolati Jag-1 i Jag-7 sporulaciju jakog itenziteta (tab. 2).

Iz rezultata oglada navedenih u tablici 2 može se vidjeti da je u prosjeku najveći porast micelije kod sva tri proučavana izolata gljive bio na krumpir-dekstroznoj i podlozi od škrobnog agara, a najslabiji na podlozi od mrkve, dok je najjača sporulacija bila na podlogama od mrkve i škrobnog agara, a najslabija na krumpir-dekstroznoj i čapekovej podlozi.

## Diskusija

Prema Freeman *et al.* (1997., 1998.), Smith i Black (1990.) i Mass i Howard (1985.) antraknozu jagode uzrokuju četiri fitopatogene gljive iz roda *Colletotrichum*, i to: *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. et Sacc., *Colletotrichum fragariae* Brooks, *Colletotrichum dematium* (Pers. ex Fr.) Grove i *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds.

Međutim, te vrste kao paraziti jagode do sada nisu utvrđene niti eksperimentalno proučavane na teritoriju Republike Srpske. Imajući to u vidu, ali i značajan postotak oboljelih plodova i lisnih peteljki jagode koji se pojavio na pojedinim proizvodnim parcelama te biljne vrste na širem području općina Banja Luka, Laktaši, Gradiška i Srbac, kao i činjenicu da pojavu naoko sličnih simptoma mogu uzrokovati i neke druge fitopatogene gljive, kao što su npr. *Rhizoctonia solani* Kühn ili *Botryotinia fuceliana* (de Bary) Whetzel, a koje se suzbijaju na drugačiji način u odnosu na uzročnika antraknoze, pristupili smo proučavanju etiologije te bolesti laboratorijskom analizom prikupljenog biljnog materijala jagode s izraženim karakterističnim simptomima antraknozne truleži.

Pri laboratorijskoj analizi izvršenoj u Fitopatološkoj laboratoriji Poljoprivrednog instituta RS u Banjoj Luci iz oboljelog tkiva prikupljenih plodova i lisnih peteljki jagode standardnim postupkom smo izolirali veći broj izolata gljive, od kojih smo za daljnja proučavanja odabrali tri, i to: Jag-1, Jag-4 i Jag-7.

Pri proučavanju patogenih odlika tri odabrana izolata na plodovima i lisnim peteljkama dvije testirane sorte jagode, koje su među najzastupljenijim sortama te biljne vrste u sjeverozapadnom dijelu Bosne i Hercegovine, utvrdili smo da obje testirane sorte pokazuju osjetljivost prema sva tri proučavana izolata gljive, pri čemu su plodovi i lisne peteljke sorte hanoj pokazale nešto veći stupanj osjetljivosti od plodova i lisnih peteljki sorte selen.

Na bazi nekoliko morfoloških kriterija, među kojima su najvažniji morfologija i učestalost formiranja seta, morfologija i dimenzije apresorija, a posebno morfologija i dimenzije konidija, utvrđeno je da sva tri proučavana izolata porijeklom s jagode s vinkoružičastom bojom kolonija, najveću sličnost od četiri opisane vrste iz roda *Colletotrichum* pokazuju s vrstom *Colletotrichum acutatum*, jer su kod sva tri navedena izolata prevladavale jednostanične, glatke, hijaline, sa sitno granuliranim sadržajem, elipsoidne konidije (sl. 11), zaoštrene u točku na oba kraja („fusiform“), dimenzija 13,3-(15,4)-17,4 x 3,7-(4,0)-4,4 µm. Osim toga, naši izolati sete formiraju rijetko ili nikako, nemaju teleomorfa, i formiraju roze do vinkoružičaste boje kolonije koje su crvenonarančaste s naličja, što se sve zajedno, uz opis i drugih morfoloških kriterija, slaže i s opisima drugih autora za tu vrstu (Dyko i Mordue, 1979.; Eastburn i Gubler, 1990.; Smith i Black, 1990.; Gunnell i Gubler, 1992.; Howard *et al.*, 1992.;

---

Freeman *et al.*, 1998.; Munda *et al.*, 2000.).

Iz rezultata proučavanja uzgojnih odlika može se vidjeti da su sva tri odabrana izolata na svih pet ispitivanih podloga formirali kolonije bjeličastoroze do vinskirožičaste boje, pri čemu je u prosjeku najveći porast micelije kod sva tri proučavana izolata gljive bio na krumpir-dekstroznoj i podlozi od škrobnog agara, a najslabiji na podlozi od mrkve, dok je najjača sporulacija bila na podlogama od mrkve i škrobnog agara, a najslabija na krumpir-dekstroznoj i čapekovoju podlozi.

Na osnovu naprijed navedenog može se zaključiti da je tijekom proučavanja patogenih, morfoloških i uzgojnih odlika tri odabrana izolata (Jag-1, Jag-4 i Jag-7), uzročnika antraknoze jagode u sjeverozapadnom dijelu Bosne i Hercegovine, utvrđeno da oni najveću sličnost izražavaju s vrstom *Colletotrichum acutatum* Simmonds *ex* Simmonds, čije prisustvo do sada nije eksperimentalno utvrđeno na području Republike Srpske.

Prema Smithu (1998.) fitopatogena gljiva *Colletotrichum acutatum* se od jedne do druge vegetacije održava u kontaminiranom zemljištu i u biljnim ostacima, dok se na veće udaljenosti prenosi pomoću inficiranih sadnica jagode. Prema ovom autoru *C. acutatum* inficira plodove jagode tijekom cijele vegetacije, ali je infekcija intenzivnija od sredine do kraja vegetacijskog perioda. Parazit u plod obično prodire direktno ili kroz povrede nastale djelovanjem insekata. Osim toga, prema Mass i Howard (1985.) i Simmonds (1965.) ta gljiva može napasti plod jagode i direktno, na taj način što pri toplom i vlažnom vremenu navedeni patogen producira obilje konidija, koje se raznose vodom i vjetrom, poslije čega dospijevaju na zdrave i mlade plodove, uzrokujući njihovu infekciju. Inficirani plodovi prema navedenim autorima ponekad mogu izgledati sasvim dobro u vrijeme berbe, ali zbog latentnih infekcija, naknadno u prodaji mogu istrunuti.

Osim toga, prema Munda *et al.* (2000.) na razvoj ove bolesti veliki utjecaj imaju vremenski faktori. Tako, prema timm autorima, pri suhom i hladnom vremenu ne dolazi do nastajanja bolesti, a ako ona i nastane, ne širi se brzo, dok se pri toplom i vlažnom vremenu ona znatno češće pojavljuje i brzo se širi. Optimalna temperatura za razvoj bolesti je 25°C, a gljiva je aktivna i do 35°C. Na infekciju su najosjetljiviji otvoreni cvjetovi i dozreli plodovi.

Suzbijanje *Colletotrichum acutatum* je veoma teško kad su vanjski uvjeti odgovarajući za infekciju. Što se tiče mjera suzbijanja, one mogu početi sa sadnjom da bi se reducirao nivo inokuluma i usporilo širenje patogena u polju. Za sadnju je potrebno isključivo koristiti zdrav sadni materijal, i to sorti koje su otpornije prema uzročnicima antraknoze. Osim toga, preporučuj se navodnjavanje kapanjem, a ne vještačkom kišom, kao i umjereno korištenje dušičnih gnojiva, jer visok nivo dušika podstiče razvoj te bolesti.

Isto tako, odstranjivanje mumificiranih plodova i zaraženih biljnih ostataka iz polja, kao i druge mjere sanitacije i higijene se preporučuju, jer pridonose smanjenju infekcijskog potencijala parazita. Na kraju je bitno istaći da je kontrola uvoza sadnog materijala jagode veoma bitna mjera suzbijanja tog patogena, a naročito u područjima gdje ta bolest još nije pronađena. Prema Smithu (1998.) *Colletotrichum acutatum* se može suzbijati i korištenjem fungicida, mada njihova efikasnost često nije zadovoljavajuća. Isti autor navodi da su mnogi izolati tog patogena rezistentni prema benomilu.

Na kraju, važno je istaći da prema Dyko i Mordue (1979.), Gunnell i Gubler (1992.); Smith i Black (1990.) i Trkulji (2004.) *Colletotrichum acutatum* napada i mnoge druge kako uzgojene, tako i korovske biljne vrste, među kojima su posebno važne: jabuka, kruška, breskva, nektarina, marelica, šljiva, višnja, grožđe, kivi, banane, limun, paprika, paradajz, krastavaca, tikvica, boranija, grašak, lubenica, soja, lucerka, i mnoge druge, o čemu također treba voditi računa, jer ove biljne vrste mogu odigrati važnu ulogu kako u održavanju, tako i u daljem širenju tog parazita.

### **Zaključak**

Na osnovu rezultata postignutih tijekom ovih proučavanja mogu se izvesti sljedeći zaključci:

Pri proučavanju patogenih odlika tri odabrana izolata na plodovima i lisnim peteljka dviju testiranih sorti jagoda, koje su među najzastupljenijim sortama ove biljke na području općina Banja Luka, Gradiška i Laktaši, utvrdili smo da obje testirane sorte pokazuju osjetljivost prema sva tri proučavana izolata gljive, pri čemu su plodovi i lisne peteljke sorte hanoj pokazale nešto veći stupanj osjetljivosti u odnosu na plodove i lisne peteljke sorte selen.

Kod sva tri proučavana izolata gljive prevladavale su jednostanične, glatke, hijaline, sa sitno granuliranim sadržajem, elipsoidne konidije, zaoštrene u točku na oba kraja („fusiform“), dimenzija 13,3-(15,4)-17,4 x 3,7-(4,0)-4,4 µm.

Osim toga, svi proučavani izolati sete formiraju rijetko ili nikako, nemaju teleomorfa i formiraju kolonije roze do vinskirožičaste boje, koje su crvenonarančaste s naličja, što se sve zajedno, uz opis i drugih morfoloških kriterija, slaže i s opisima drugih autora za vrstu *Colletotrichum acutatum*.

Da na krumpir-dekstroznoj i Čapekovej podlozi, kao i na podlozi od luka i škrobnog agara, svi proučavani izolati formiraju kompaktnu ružičastu i ružičasto bijelu micelijjsku pokrivač, dok je na podlozi od mrkve micelija bijela do narančasta i slabo kompaktna.

Da je pri proučavanju uzgojnih odlika na pet različitih podloga u prosjeku najveći

---

porast micelije kod sva tri proučavana izolata gljive bio na krumpir-dekstroznoj i podlozi od škrobnog agara, a najslabiji na podlozi od mrkve, dok je najjača fruktifikacija bila na podlogama od mrkve i škrobnog agara, a najslabija na krumpir-dekstroznoj i čapekovoju podlozi.

Na osnovu dobivenih rezultata proučavanja patogenih, morfoloških i uzgojnih odlika tri odabrana izolata (Jag-1, Jag-4 i Jag-7) možemo zaključiti da svi pripadaju fitopatogenoj gljivi *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds - uzročniku antraknoze jagode.

### **Literatura**

- Baxter, A.P., Westhuizen, G.C.A. van der, Eicker, A. (1983.): Morphology and taxonomy of South African isolates of *Colletotrichum*. South African J. Bot. 2: 259–289.
- Dyko, B.J., Mordue, J.E.M. (1979.): *Colletotrichum acutatum*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 630. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England.
- Eastburn, D.M., Gubler, W.D. (1990.): Strawberry anthracnose: Detection and survival of *Colletotrichum acutatum* in soil. Plant Dis. 74: 161–163.
- Freeman, S., Katan, T., Shabi, E. (1998.): Taxonomy and morphology of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. Mycologia 84: 157–165.
- Freeman, S., Nizani, Y., Dotan, S., Even, S., Sando, T. (1997.): Control of *Colletotrichum acutatum* in strawberry under laboratory, greenhouse, and field conditions. Plant Dis. 81: 749–752.
- Gunnell, P.S., Gubler, W.D. (1992.): Taxonomy and morphology of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. Mycologia 84: 157–165.
- Howard, C.M., Maas, J.L., Chandler, C.K., Albregts, E.E. (1992.): Anthracnose of strawberry caused by the *Colletotrichum* complex in Florida. Plant Dis. 76: 976–981.
- Mass, J.L., Honjard, C.M. (1985.): Variation of several anthracnose fungi in virulence to strawberry and apple. Plant Disease 69: 164–166
- Munda, A., Lapajne, S., Pajmon, A., Škerlavaj, V., Urek, G., Weilguny, H., Žerjav, M., Šabec-Paradiž, M., Zemljč-Urbančić, M. (2000.): Črna pegavost jagod. Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana.
- Quesada, L.G., Lopez, E.H. (1980.): Forma sexual medios de cultivo para *Colletotrichum gloeosporioides*, patógeno del mango en Cuba. Ciencias de la Agricultura 7: 11–17.
- Simmonds, J.K. (1965.): A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences 22: 437–459.
- Smith, B.J. (1998.): Anthracnose fruit rots (black spot). In: „Compendium of Strawberry Diseases“ (Ed. J.L. Maas), pp. 31–33. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.
- Trkulja, V. (2004.): Patogene, morfološke i uzgojne odlike *Colletotrichum* spp. prouzrokovaca gorke truleži ploda jabuke. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun.
- Smith, B.J., Black, L.L. (1990.): Morphological, cultural, and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. Plant Dis. 74: 69–76.

## **ETIOLOGICAL STUDIES OF APPEARANCE OF ANTHRACNOSE OF STRAWBERRY IN NORTH WEST PART OF BOSNIA AND HERZEGOVINA\***

### **Summary**

*During the supervision of large number of strawberry plots on several localities in wider area of districts of Banja Luka, Laktaši, Gradiška and Srbac in northwestern part of Bosnia and Herzegovina, the appearance of diseased plants with evident symptoms of anthracnose was determined in certain production plots. The percentage of the diseased plants differed, but in certain plots it was from 5- 20%, although the production plots with higher percent of contracted disease weren't rare as well, because of which in such plots there were significant economic damages.*

*Based on the obtained results of studying pathogen, morphological and cultivating characteristics of three chosen isolates (Jag-1, Jag- 4 and Jag-7), we can conclude that they all belong to phytopathogenic fungus *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds- which is the cause of anthracnose of strawberry.*

**Key words:** *strawberry, isolates of fungus, pathogen, morphological and cultivating characteristics, *Colletotrichum acutatum*.*