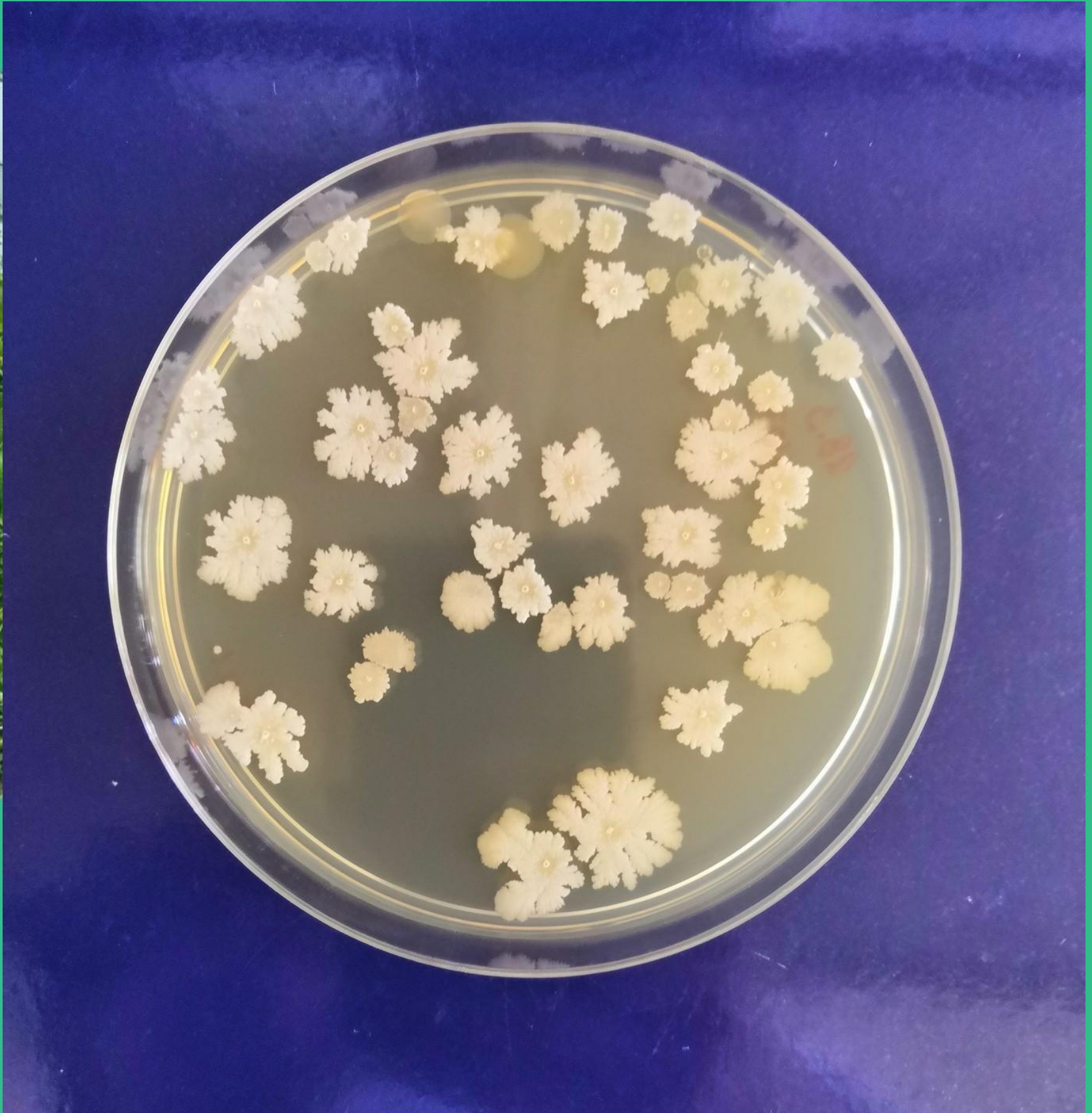


Biljni lekar



Plant Doctor



Biljni lekar Plant Doctor

Časopis Društva za zaštitu bilja Srbije

2025. godina

Vol. 53

Časopis "Biljni lekar" izlazio je od 1956. do 1977. godine u Beogradu (između 1978. i 1991. godine postojao je "Glasnik zaštite bilja" – Zagreb, kao glasilo Saveza društava za zaštitu bilja bivše SFR Jugoslavije). Izlaženje časopisa "Biljni lekar" obnovljeno je 1995. godine.

"Plant Doctor" ("Biljni lekar") is a Journal of The Plant Protection Society of Serbia, published by the Department for Environmental and Plant Protection, Faculty of Agriculture, Novi Sad. The journal was continually published from 1956 to 1977, when it was discontinued and a new Journal for the former Yugoslavia was introduced. In 1995 the Journal "Plant Doctor" was re-established and has been published bimonthly ever since.

Glavni i odgovorni urednik / Chief Editor: dr Tatjana Konja (biljnilekar@polj.uns.ac.rs)

Zamenik glavnog urednika / Deputy Editor: dr Aleksa Obradović

Urednici oblasti / Consulting Editors

Bolesti i suzbijanje / *Diseases and Control*: dr Mladen Petreš

Štetočine i suzbijanje / *Pests and Control*: dr Mihaela Kavran

Korovi i suzbijanje / *Weeds and Control*: dr Nataša Samardžić

Sredstva za zaštitu bilja / *Plant Protection Products*: dr Slavica Vuković

Mašine u zaštiti bilja / *Plant Protection Machinery*: dipl. inž. master Filip Vasić

Sekretar / Secretary: Sonja Vučinić, Dušanka Popović

Redakcioni odbor / Editorial Board

Dr Goran Aleksić⁸, dr Aleksa Obradović¹, dr Aleksandra Bulajić¹, mast. inž. MBA Dijana Eraković¹², dr Jelena Fajić Umiljendić⁹, dr Nikola Grujić¹, dr Snježana Hrnčić⁶, dr Aleksandra Konjević², dr Renata Iličić², dr Aleksandar Ivezić³, dr Radivoje Jevtić⁷, dr Aleksandar Jurišić², dr Petar Kljajić⁸, dr Bojan Konstantinović², mr sci. Biochem. Katarina Krinulović¹¹, dr Sanja Lazić², dr Dušan Marinković², dr Mladen Petreš², dr Leopold Poljaković Pajnik¹⁰, dr Milena Popov², dr Aleksandra Popović², dr Milivoj Radojčin², dr Anda Radonjić¹, dr Marija Sarić-Krsmanović⁹, dr Mira Starović⁸, dr Milan Stević¹, dr Danijela Šikuljak⁸, dr Bojana Špirović Trifunović¹, dr Snežana Tanasković⁴, dr Vojislav Trkulja⁵, dr Slavica Vuković², dr Mihaela Kavran², dipl. inž. Master Filip Vasić², dr Nataša Samardžić² i dr Tatjana Konja².

¹Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet / University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia

²Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet / University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Novi Sad, Serbia

³Univerzitet u Novom Sadu, Institut Biosens, Centar za biosisteme / University of Novi Sad, Biosense Institute, Center for Biosystems, Novi Sad, Serbia

⁴Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku / University of Kragujevac, Faculty of Agronomy, Čačak, Serbia

⁵Univerzitet u Banja Luci, Poljoprivredni fakultet / University of Banja Luka, Faculty of Agriculture, Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

⁶Univerzitet Crne Gore, Biotehnički fakultet, Podgorica / University of Montenegro, Biotechnical Faculty, Podgorica, Montenegro

⁷Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju / Institute of Field and Vegetable Crops, National Institute of the Republic of Serbia, Serbia

⁸Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd / Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia

⁹Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd / Institute of Pesticides and Environmental Protection, Belgrade, Serbia

¹⁰Institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu Novi Sad / Institute of Lowland Forestry and Environment, Novi Sad, Serbia

¹¹Udruženje za održivu poljoprivredu i zaštitu bilja u Srbiji – SECPA, Beograd / Serbian Sustainable Agriculture and Crop Protection Association – SECPA, Belgrade, Serbia

¹²Galenika fitofarmacija, Beograd – Zemun / Galenika phytopharmacy, Belgrade – Zemun, Serbia

Izdavač / Publisher

Poljoprivredni fakultet / Faculty of Agriculture

Department za fitomedicinu i zaštitu životne sredine / Department of Environmental and Plant Protection, 21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8.

kontakt: biljnilekar@polj.uns.ac.rs

POZIV NA SARADNJU U ČASOPISU "BILJNI LEKAR"

Uredništvo časopisa "BILJNI LEKAR" poziva na saradnju sve stručnjake zaštite bilja i biljne proizvodnje uopšte, koji rade u raznim ustanovama, preduzećima i kompanijama (poljoprivrednim i šumskim gazdinstvima, zemljoradničkim zadrugama, zavodima za poljoprivredu i poljoprivrednim stanicama, preduzećima za proizvodnju i promet pesticida, poljoprivrednim apotekama, obrazovnim i naučnim ustanovama, te upravnim službama).

Dragocena iskustva kolega koji rade u neposrednoj biljnoj proizvodnji, kao i poljoprivrednoj i šumarskoj službi, dobrodošla su na stranicama časopisa "Biljni lekar".

Članke, obima četiri do osam strana, kao i manje priloge od jedne do dve strane iz oblasti zaštite bilja, treba pripremiti po UPUTSTVU ZA PRIPREMU RUKOPISA, koje se nalazi na poslednjim stranicama časopisa.

Redakcija se zahvaljuje na interesovanju i spremnosti za saradnju.

UREDNIŠTVO ČASOPISA

OBAVEŠTENJE

Časopis "Biljni lekar" od 2025. godine prelazi u online izdanje sa Open Access pristupom.

Redakcija časopisa



Naslovna strana:

Slika: Izgled kolonija *Bacillus amyloliquefaciens* (Karačić i sar., uz rad na str. 1).

Cover page:

Photo: Colony of *Bacillus amyloliquefaciens* (Photo: Karačić et al., article on page 1).

SADRŽAJ

MEHANIZMI BIOSTIMULATIVNOG DELOVANJA BAKTERIJA RODA BACILLUS (Vasiljka Karačić, Dragana Miljaković, Milan Ivanović).....	1
OSETLJIVOST PROUZROKOVAČA PLAVE TRULEŽI PLODOVA JABUKE (<i>Penicillium expansum</i>) PREMA FLUDIOKSONILU (Vojin Puzić, Tatjana Dudaš, Mila Grahovac, Slavica Vuković, Marta Loc, Mladen Petreš, Dragana Budakov)	12
BIOLOŠKI AKTIVNE KOMPONENTE KUKURUZA (Tatjana Dudaš, Marta Loc, Mladen Petreš, Dobrila Kovačević, Milica Meseldžija, Jozef Gašparovski, Mila Grahovac)	25
MIKOTOKSINI U LANCU ISHRANE: POREKLO, TOKSIČNOST I UTICAJ NA ZDRAVLJE LJUDI I ŽIVOTINJA (Nikola Laćarac, Aleksandra Popović, Miloš Petrović, Vojin Puzić).....	32
<i>Alternaria</i> spp. – PROUZROKOVAČI TRULEŽI PLODA JABUKE (Milica Meseldžija, Dobrila Radić, Jozef Gašparovski, Miljan Miljanović, Mila Grahovac, Snežana Rajkov, Marta Loc)	38
VRSTE RODA <i>Rhizoctonia</i> - PROUZROKOVAČI BOLESTI ŠEĆERNE REPE U SRBIJI (Mira Vojvodić i Aleksandra Bulajić)	57
UPUTSTVO ZA PRIPREMU RUKOPISA.....	66

CONTENT

MECHANISMS OF THE BIOSTIMULANT ACTION OF <i>BACILLUS</i> SPP. (Vasiljka Karačić, Dragana Miljaković, Milan Ivanović).....	1
SENSITIVITY OF CAUSING AGENT OF APPLE BLUE MOLD (<i>Penicillium expansum</i>) TO FLUDIOXONIL (Vojin Puzić, Tatjana Dudaš, Mila Grahovac, Slavica Vuković, Marta Loc, Mladen Petreš, Dragana Budakov).....	12
BIOACTIVE COMPOUNDS IN MAIZE (Tatjana Dudaš, Marta Loc, Mladen Petreš, Dobrila Kovačević, Milica Meseldžija, Jozef Gašparovski, Mila Grahovac).....	25
MYCOTOXINS IN THE FOOD CHAIN: ORIGIN, TOXICITY, AND IMPACT ON HUMAN AND ANIMAL HEALTH (Nikola Laćarac, Aleksandra Popović, Miloš Petrović, Vojin Puzić).....	32
<i>Alternaria</i> spp. – CAUSATIVE AGENTS OF APPLE FRUIT ROT (Milica Meseldžija, Dobrila Radić, Jozef Gašparovski, Miljan Miljanović, Mila Grahovac, Snežana Rajkov, Marta Loc).....	38
SPECIES OF THE GENUS <i>Rhizoctonia</i> CAUSING DISEASES OF SUGAR BEET IN SERBIA (Mira Vojvodić and Aleksandra Bulajić).....	57
INSTRUCTIONS TO AUTHORS	66

MEHANIZMI BIOSTIMULATIVNOG DELOVANJA BAKTERIJA RODA *BACILLUS*

Vasiljka Karačić¹, Dragana Miljaković², Milan Ivanović¹

¹Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Beograd;

²Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad

E-mail: vasiljka.dragic@gmail.com

Izvod

Primena mikroorganizama koji stimulišu rast i razvoj biljaka predstavlja alternativu primeni sintetičkih đubriva u konvencionalnoj poljoprivrednoj proizvodnji. Dosadašnja istraživanja pokazala su da bakterije iz roda *Bacillus* ispoljavaju biostimulativno delovanje na različite gajene biljne vrste. Ove bakterije imaju brojne direktne i indirektne mehanizme delovanja zahvaljujući velikoj metaboličkoj raznovrsnosti. Pojedine vrste roda *Bacillus* povećavaju dostupnost hranljivih materija putem biološke fiksacije azota i solubilizacije fosfata u zemljištu, čime deluju kao biofertilizatori i direktno utiču na rast biljaka. Kao biostimulatori, *Bacillus* spp. proizvode fitohormone koji utiču na rast i razvoj biljaka, a najznačajniji su auksini, giberelini i citokinini. Ovaj rad navodi najznačajnije mehanizme delovanja *Bacillus* spp. i daje pregled prethodnih istraživanja efektivnosti ovih bakterija na različitim biljnim vrstama. Poznavanje mehanizama delovanja je od suštinskog značaja za uspešnu primenu preparata na bazi *Bacillus* spp. i postizanje stabilnih prinosa.

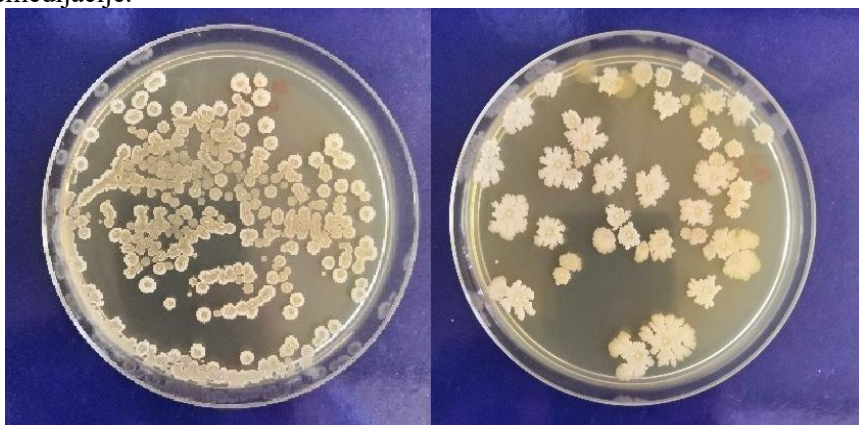
Ključne reči: *Bacillus* spp., fiksacija azota, solubilizacija fosfata, fitohormoni, biljni rast, prinos biljaka

UVOD

Rod *Bacillus* obuhvata Gram-pozitivne, pokretne bakterije, štapićastog oblika ćelije, dužine 2 μm – 6 μm i prečnika nešto manjeg od 1 μm (Errington i Aart, L., 2020). Ovaj rod je jedan od najviše proučavanih i najrasprostranjenijih u prirodi. U nepovoljnim uslovima za rast ove bakterije imaju sposobnost produkcije dormantnih endospora (Tan, I., i Ramamurthi, 2014).

Vrste roda *Bacillus* jedne su od najbolje proučenih bakterija – stimulatora biljnog rasta (engl. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria - PGPR) koje kolonizuju rizosferu, obezbeđuju biljke hranljivim materijama i proizvode fitohormone te ispoljavaju stimulatívni efekat na rast i prinos biljaka. Zahvaljujući produkciji sekundarnih metabolita, isparljivih organskih i neorganskih jedinjenja, siderofora, kao i indukciji sistemíčne otpornosti biljaka (engl. Induced Systemic

Resistance - ISR), bakterije iz roda *Bacillus* povećavaju toleranciju biljaka na biotički stres (patogene, štetočine). Osim toga, važno je istaći da ove bakterije poboljšavaju otpornost na različite faktore koji predstavljaju abiotički stres za biljku, kao što su suša, visoke i niske temperature, salinitet, UV zračenje i različiti oksidativni stresovi. *Bacillus subtilis* je tipičan predstavnik ovog roda i prvi put je identifikovan od strane Ferdinand Kon 1872. godine. Osim *B. subtilis*, druge vrste poput *B. amyloliquefaciens* (Slika 1), *B. pumilus* i *B. velezensis* koriste se kao sredstva za biokontrolu različitih patogena i stimulisanje rasta biljaka (Dobrzyński i sar., 2022). Bakterije kao što su *B. subtilis* i *B. amyloliquefaciens* prepoznate su kao jedne od najperspektivnijih bakterija za primenu u biokontroli i biostimulaciji zahvaljujući višestrukim mehanizama delovanja, bez štetnih efekata na životnu sredinu. Osim navedenog, *Bacillus* spp. imaju važnu ulogu i u procesima bioremedijacije.



Slika 1. Izgled kolonija *Bacillus subtilis* (a) i *Bacillus amyloliquefaciens* (b) (orig.)

Mehanizmi biofertilizacije *Bacillus* spp. Najznačajniji mehanizmi kojima *Bacillus* spp. povećavaju dostupnost hranljivih materija za biljke su biološka fiksacija azota i solubilizacija fosfata. Zahvaljujući pomenutim mehanizmima delovanja, *Bacillus* spp. direktno utiču na plodnost zemljišta, stimulisanje rasta i razvića biljnih organa i povećanje prinosa.

Biološka fiksacija azota. Azot (N) je jedan od esencijalnih elemenata koji je neophodan biljkama za pravilan rast i razvoj. Biljke, kao i većina mikroorganizama, azot ne mogu da koriste u njegovom molekularnom obliku. Zbog toga, za ishranu biljaka i postizanje visokih prinosa, upotrebljavaju se azotna đubriva. Prekomerna upotreba azotnih đubriva dovodi do zagađenja voda, zemljišta i vazduha. U cilju očuvanja životne sredine, raste potreba za uvođenjem mikrobioloških preparata kao ekološke i održive alternative sintetičkim đubrivima. Navedeni mikrobiološki preparati sadrže simbiotske ili slobodno živeće bakterije koje su selekcionisane na osnovu njihove visoke efektivnosti u

fiksaciji azota. Biološka fiksacija azota predstavlja proces pretvaranja atmosferskog azota (N_2) u amonijak (NH_3) i nitrata (NO_3^-), koje potom mogu da koriste biljke, kao i drugi mikroorganizmi. Količina fiksanog azota kroz proces biološke fiksacije azota godišnje dostiže vrednosti u rasponu od $1,95-2,5 \times 10^{11}$ kg. Bakterije koje imaju značajnu ulogu u biološkoj fiksaciji azota, ponekad imaju i druga korisna svojstva, kao što su produkcija siderofora, polisaharida, fitohormona i biološka kontrola patogenih (Aasfar i sar., 2024). Prethodna istraživanja su potvrdila da bakterije iz roda *Bacillus*, koje imaju sposobnost azotofiksacije, značajne za stimulisanje rasta različitih biljnih vrsta. Stepien i sar. (2022) su utvrdili veći prinos zrna pšenice nakon primene sojeva *Paenibacillus azotofixans*, *B. megaterium* i *B. subtilis* u poređenju sa primenom mineralnog đubriva. Soj *B. subtilis* sa sposobnošću fiksacije azota povećao je rast biljaka kineskog kupusa za 27% u odnosu na kontrolu (Ma i sar., 2022), dok je soj *B. pumilus* u kombinaciji sa azotnim đubrivom, uticao na povećanje sadržaja hlorofila i visine biljaka pirinča (Khin, T.W., i sar., 2018).

Solubilizacija fosfata. Fosfor je drugi esencijalni element koji je važan za rast i razvoj biljaka. Takođe, fosfor je direktno uključen u ćelijske procese kao što su fotosinteza, metabolizam ugljenih hidrata i redoks homeostaza. Ovaj element ima ključnu ulogu u procesima aktivacije enzima, formiranju nukleinskih kiselina i sintezi adenozin trifosfata (ATP) (Solangi i sar., 2023). Ukoliko zemljište nije obezbeđeno dovoljnom količinom fosfora rast biljaka je ograničen, što dovodi do smanjenja prinosa. Efikasnost primene fosfornih đubriva može biti niska usled fiksacije fosfora za dvovalentne katjone u zemljištu, kao što su aluminijum, kalcijum i gvožđe, čime se stvaraju nerastvorljivi mineralni oblici fosfata u zemljištu. Mikroorganizmi koji rastvaraju neorganske fosfate – fosfosolubilizatori (engl. Phosphate Solubilizing Microorganisms - PSMs) imaju bitnu ulogu u procesima transformacije teško rastvorljivih jedinjenja fosfora u oblike koji su dostupni biljkama. Bakterije koje imaju sposobnost rastvaranja fosfata čine do 50% celokupne mikrobne populacije, a vrste roda *Bacillus* su među najznačajnijim fosfosolubilizatorima (Kalayu, 2019). Elhaissoufi, W., i sar. (2022) ističu da upotreba mikroorganizama sa sposobnošću P-solubilizacije predstavlja obećavajuću strategiju za postizanje visokih prinosa. U istraživanjima Mažylytė, R., i sar. (2022) utvrđena je sposobnost fosfosolubilizacije soja *Bacillus* sp., koja je rezultat produkcije organskih kiselina (limunska, jantarna, 2-ketoglukonska, glukonska, jabučna, mlečna i oksalna kiselina). Primena soja *Bacillus* sp. u kombinaciji sa mineralnim đubrivom (NPS-12:40:10), povećala je količinu dostupnog fosfora u zemljištu za 10–15% u poređenju sa primenom đubriva. Han i sar. (2024) su utvrdili da bakterija *B. subtilis* povećava parametre rasta kod biljaka dinje posredstvom mehanizma P-solubilizacije. Inokulacija krompira sojem *B. subtilis* je povećala dužinu nadzemnog dela i korena u poređenju sa kontrolom. Pomenuti soj produkovao je indol-3-sirćetnu kiselinu i pokazao sposobnost solubilizacije fosfata (Hanif i sar. 2015). Izolat *B. pumilus* produkovao je IAA, egzopolisaharide, biofilm i pokazao sposobnost solubilizacije fosfora, čime je

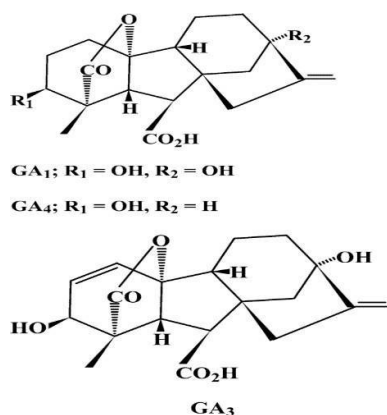
pozitivno uticao na parametre rasta pšenice (Ansari i sar. 2019). S obzirom da hormonalni status biljaka delimično zavisi od dostupnosti mineralnih hranljivih materija u zemljištu, *Bacillus* spp. sa sposobnošću fiksacije azota i solubilizacije fosfata indirektno utiču i na koncentraciju fitohormona u biljkama (Kudoyarova i sar., 2019).

Mehanizmi biostimulacije *Bacillus* spp. Produkcijom fitohormona (auksini, giberelini, citokinini, apscinska kiselina, etilen) bakterije roda *Bacillus* utiču na regulisanje rasta biljaka u optimalnim i stresnim uslovima. Na ovaj način, *Bacillus* spp. regulišu važne procese, kao što su usvajanje vode i mineralnih materija iz zemljišta, ali i povećavaju otpornost biljaka na stresne uslove.

Produkcija indol-3-sirćetne kiseline (IAA). Auksini su biljni hormoni koji imaju ključnu ulogu u regulisanju rasta i razvoja biljnih organa i povećanju gustine korenskih dlaka i bočnih korenova. Tokom procesa deobe biljnih ćelija, kao i stimulaciji diferencijacije vaskularnog tkiva, auksini imaju značajnu ulogu. Najzastupljeniji biljni hormon iz klase auksina je indol-3-sirćetna kiselina (engl. Indole Acetic Acid – IAA). Sinteza IAA odvija se tokom prelaska iz ekspanzionalne u stacionarnu fazu rasta bakterija. U sintezi IAA, glavni prekursor je aminokiselina L-triptofan (Trp). Bakterije iz roda *Bacillus*, kao i druge PGPR bakterije, imaju nekoliko puteva sinteze IAA, kao što su: indol-3-piruvat (IPA), triptamin (TAM) i indol-3-acetamid (IAM) put. Vrste roda *Bacillus* poznate su po širokom spektru produkcije IAA. Soj *B. subtilis* ispoljio je stimulatívni efekat na klijavost semena, rast paradajza i sadržaj azota, fosfora i kalijuma u zemljištu, zahvaljujući sintezi IAA, siderofora i solubilizaciji fosfata (Walia i sar., 2014). Benítez, S.V., i sar. (2024) istakli su potencijal primene *B. pumilus* kao biođubriva na nosaču od alginata i skroba, zbog velike održivosti prilikom skladištenja na sobnoj temperaturi i visoke produkcije auksina. Sojevi *B. velezensis*, *B. paralicheniformis* i *B. tequilensis*, koji su rastvarali organski i neorganski fosfor i produkovali IAA, uticali su na povećanje rasta krastavca u odnosu na kontrolu (Wang i sar., 2022). Kazerooni, E. A., i sar. (2021) su utvrdili da soj *B. amyloliquefaciens* ima sposobnost produkcije IAA i siderofora, kao i rastvaranja neorganskih jedinjenja fosfora, kalijuma i cinka. Primenom ovog soja povećan je sadržaj hlorofila, šećera, aminokiselina i prolina kod biljaka paprike. Izolati *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp., *Pantoea* sp. i *Burkholderia phytofirmans*, koji produkuju IAA, poboljšali su kvalitet semena i rast biljaka šargarepe (Noor, A., i sar., 2023). Soj *B. subtilis*, koji je imao sposobnost rastvaranja fosfata i produkcije IAA, uticao je na povećanje visine biljaka paprike u odnosu na kontrolu (Huang, Y., i sar., 2017).

Produkcija giberelina. Giberelini (engl. Gibberellic Acid - GA) su biljni hormoni sa stimulatívnim delovanjem na rast biljaka, klijanje semena, zametanje i rast plodova (Slika 2.). Kako navode Mukherjee i sar. (2022), najuočljiviji efekat GA u rastu biljaka je izduživanje internodija izdanaka, pojačana apikalna dominacija i rast listova. Giberelini obuhvataju grupu tetracikličnih diterpenoidnih karboksilnih kiselina sa ugljeničnim skeletom sa C₁₉ ili C₂₀ atoma (Hedden i

Thomas, 2012). Do sada, kod biljaka je identifikovano ukupno 136 strukturno različitih giberelina (GA1-GA136). Produkcija hormona iz ove grupe potvrđena je i kod bakterija, pri čemu su GA1, GA3 i GA4 najaktivniji giberelini. Međutim, za razliku od biljaka, putevi biosinteze giberelina kod bakterija nisu još uvek objašnjeni. Samo mali broj bakterija proizvodi gibereline, a koncentracija proizvedenih hormona je veoma niska. Bakterijski proizvedeni giberelini regulisani su pomoću GA-DELLA mehanizma i mogu da indukuju rast i razvoj izdanaka, kao i da inhibiraju rast korena. Kang i sar. (2019) su pokazali da soj *B. subtilis* produkcijom giberelina GA1, GA4, i GA7 značajno utiče na povećanje visine, biomase i sadržaja hlorofila biljaka kupusa. Inokulacija semena rotkvice sa *B. subtilis* i *Pseudomonas fluorescens* dovela je do značajnog povećanja sveže i suve mase korena i listova, kao i sadržaja fotosintetičkih pigmenta, prolina i ukupnih slobodnih aminokiselina u odnosu na kontrolni tretman, u uslovima saliniteta (Mohamed i Gomaa, 2012). Hu, Q., i sar. (2024) su utvrdili da soj *B. subtilis* stimuliše klijavost semena pšenice indukcijom biosinteze GA. Soj *B. amyloliquefaciens* poboljšao je rast biljaka kineskog kupusa, rotkvice i paradajza zahvaljujući produkciji giberelina (GA4, GA8, GA9, GA19 i GA20) (Kim i sar., 2017). U istraživanjima Shahzad i sar. (2021), *B. pumilus* je povećao dužinu korena i izdanaka, ali i svežu masu biljaka kukuruza, dok su kao mogući mehanizmi delovanja navedeni produkcija fitohormona IAA i GA56. Patel, M., i sar. (2023) su utvrdili efikasnost soja *B. subtilis* u ublažavanju štetnih efekata abiotičkog stresa kod piskavice zahvaljujući produkciji IAA, GA3, siderofora, egzopolisaharida i litičkih enzima.



Slika 2. Hemijska struktura giberelina GA₁, GA₃ i GA₄ (Bottini i sar., 2004).

Produkcija citokinina. Citokinini (engl. Cytokinins - CK) su grupa biljnih hormona koji predstavljaju N⁶-derivate adenina. Ovi biljni hormoni stimulišu ćelijsku deobu, diferencijaciju hloroplasta, otvaranje stoma, regulišu

mirovanje i klijanje semena, cvetanje, razvoj korena i listova. Na osnovu strukture citokinina postoje dve grupe: adeninski tip i tip fenil uree. Adeninski tip uključuje kinetin i zeatin, dok tip fenil uree uključuje 1,3-difenil ureu i tidiazuron (Piotrowska, A i sar., 2005). Citokinini su izolovani iz viših biljaka, ali je njihova produkcija potvrđena i kod gljiva i bakterija. Do danas, otkriveno je 20 prirodnih citokinina, čiju biosintezu katalizuje enzim izopentil-transferaza, kodiran *ipt* genom. Uticaj citokinina je povezan i sa drugim fitohormonima, kao što su auksini. Interakcija između pomenuta dva fitohormona smatra se ključnim regulatorom razvojnih procesa, kao što su formiranje i održavanje meristema i organogeneza biljaka. Produkcija citokinina je dokazana kod mnogih PGPR, uključujući *Bacillus* spp. (Tsoetsi i sar., 2022). Citokinin-prodajući *B. subtilis* utiče na nivo citokinina i drugih biljnih hormona (auksini, apscisinska kiselina) i na taj način stimuliše biljni rast (Arkhipova, T i sar., 2005). Pomenuti autori, istakli su u svom radu da inokulacija zelene salate bakterijom *B. subtilis* povećava sadržaj citokinina u biljkama. Soj *B. velezensis* ispoljio je biostimulativni efekat na arhitekturu korena, biomasu korena i izdanaka *Arabidopsis thaliana* u korelaciji sa produkcijom citokinina i pojačanom mitozom u meristemima (Barrera-Ortiz i sar., 2023).

Produkcija apscisinske kiseline. Apscinska kiselina (engl. Abscisic Acid - ABA) je biljni hormon koji ima ulogu u inhibiciji biljnog rasta. Apscinska kiselina je poznata pod imenom „hormon stresa“ jer deluje kao signalni molekul kada je biljka izložena stresu (Muhammad Aslam i sar., 2022). Dokazano je da, u uslovima suše, ABA utiče na zatvaranje stoma i time sprečava gubitak vode. Istovremeno, ABA obezbeđuje odbranu biljaka od patogenih mikroorganizama (Bharath i sar., 2021). Rizosferne bakterije mogu da produkuju ABA, ali i druge „hormone stresa“, kao što su brasinosteroidi, jasmonska kiselina i salicilna kiselina, čiji je uticaj povezan sa nivoom ABA. U radu Han i sar. (2018) navedeno je da prekomerna ekspresija gena, koji je uključen u sintezu ABA, povećava koncentraciju ABA u biljkama, a viši nivo povećava toleranciju na stres. Utvrđeno je da endofitna bakterija *B. amyloliquefaciens* proizvodi ABA i povećava rast i otpornost pirinča na soni stres (Shahzad i sar., 2017). Soj *B. subtilis* koji produkuje IAA, indol-3-acetaldehid, ABA, jasmonsku kiselinu i druge regulatore rasta stimuliše rast biljaka pamuka (Zhang i sar., 2022).

Produkcija etilena. Etilen (engl. Ethylene - ET) je gasoviti biljni hormon koji reguliše širok spektar fizioloških procesa, kao što su starenje, rast i razvoj biljaka, izduživanje korena i stabla biljaka, formiranje primordija listova i korena, i cvetanje. Osim toga, ET reguliše odgovor biljaka na nepovoljne i stresne uslove, kao što su napad patogena, salinitet i suša. Osim biljaka, i mikroorganizmi mogu da produkuju etilen (Ravanbakhsh i sar., 2018). Međutim, još uvek nije otkriveno kako etilen mikrobiološkog porekla utiče na biljni rast. Rizosferne bakterije, uključujući *Bacillus* spp., produkuju enzim 1-aminociklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminazu. Pomenuti enzim, reguliše nivo etilena tako što metaboliše ACC (prekursor etilena) u α -ketobutirat i amonijak. Produkcijom ACC

deaminaze, rizosferne bakterije smanjuju produkciju etilena čime podstiču rast biljaka u uslovima stresa. Prema Singh, S., i Shyu (2024), *Bacillus* spp. produkcijom ACC deaminaze znatno olakšavaju akumulaciju osmolita u biljnim ćelijama, posebno u uslovima stresa. Eksperiment u staklenicima potvrdio je da sojevi *B. subtilis* i *B. safensis* stimulišu rast biljaka kukuruza i smanjuju uticaj saliniteta, zahvaljujući produkciji ACC deaminaze i ublažavanju efekta etilena (Misra i Chauhan, 2020).

ZAKLJUČAK

Na osnovu pregleda dosadašnjih istraživanja može se zaključiti da su bakterije roda *Bacillus* često korišćeni agensi u stimulaciji rasta različitih biljnih vrsta. S obzirom da na poljoprivrednu proizvodnju utiče veliki broj faktora, veoma je važno pronaći efikasno rešenje u cilju postizanja uniformne klijavosti semena, optimalnog rasta biljaka i stabilnih prinosa. Zahvaljujući mehanizmima delovanja koji pospešuju usvajanje hranljivih materija, *Bacillus* spp. podstiču rast i razvoj biljaka, kako u optimalnim tako i u stresnim uslovima.

Zahvalnica

Ovo istraživanje je podržalo Ministarstvo nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije, br. Ugovora: 451-03-137/2025-03/200116 i 451-03-136/2025-03/200032.

LITERATURA

- Aasfar, A., Kadmiri, I.M., Azaroual, S.E., Lemriss, Sanaâ., Mernissi, N.E., Bargaz, A., Zeroual, Y., Hilali, A. (2024): Agronomic advantage of bacterial biological nitrogen fixation on wheat plant growth under contrasting nitrogen and phosphorus regimes. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1-16.
- Ansari, F.A., Ahamd, I., Pichtel, J. (2019): Growth stimulation and alleviation of salinity stress to wheat by the biofilm forming *Bacillus pumilus* strain FAB10. *Applied Soil Ecology*, 143, 45-54.
- Arkhipova, Tatiana., S. U, Veselov., Melentiev, A. I., Martynenko, Elena. V., Kudoyarova, Guzel. (2005): Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*, 272, 201–209.
- Barrera-Ortiz, S., Balderas-Ruiz, Kariana Alejandra., López-Bucio, J. S., López-Bucio, J., Flores, Celia., Galindo, E., Serrano-Carreón, L., Guevara-García, Á. A. (2023): A *Bacillus velezensis* strain improves growth and root system development in *Arabidopsis thaliana* through cytokinin signaling. *Rhizosphere*, 28, 100815.

- Benítez, Solange V., Carrasco, Rocio., Giraldo, J. D., Schoebitz, M. (2024): Microbeads as carriers for *Bacillus pumilus*: A biofertilizer focus on auxin production. *Journal of Microencapsulation*, 41, 170–189.
- Bharath, P., Gahir, S., Raghavendra, A.S. (2021): Abscisic Acid-Induced Stomatal Closure: An Important Component of Plant Defense Against Abiotic and Biotic Stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 1-18.
- Dobrzyński, J., Jakubowska, Zuzanna., Dybek, Barbara. (2022): Potential of *Bacillus pumilus* to directly promote plant growth. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1-6.
- Elhaissofi, Wissal., Ghoulam, C., Barakat, A., Zerual, Y., Bargaz, A. (2022): Phosphate bacterial solubilization: A key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. *Journal of Advanced Research*, 38, 13-28.
- Errington, J., Aart, Lizah. (2020): Microbe Profile: *Bacillus subtilis*: model organism for cellular development, and industrial workhorse. *Microbiology*, 166, 425-427.
- Han, S.E., Kim, K.Y., Maung, Chaw Ei Htwe. (2024): *Bacillus subtilis* PE7-Mediated Alleviation of Phosphate Starvation and Growth Promotion of Netted Melon (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus* Naud.). *Microorganisms*, 12, 1-17.
- Han, X., Zeng, Huiru., Bartocci, P., Fantozzi, F., Yan, Y. (2018): Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review. *Fermentation*, 4, 1-15.
- Hanif, M.K., Hameed, S., Imran, Asma., Naqqash, T., Shahid, M., Elsas, J.D.V. (2015): Isolation and characterization of a β -propeller gene containing phosphobacterium *Bacillus subtilis* strain KPS-11 for growth promotion of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Frontiers in Microbiology*, 6, 1-12.
- Hedden, P., Thomas, S. G. (2012): Gibberellin biosynthesis and its regulation. *Biochemical Journal*, 444, 11–25.
- Hu, Qingping., Xiao, Ya., Liu, Z., Huang, X., Dong, Bingqi., Wang, Q. (2024): *Bacillus subtilis* QM3, a Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, can Promote Wheat Seed Germination by Gibberellin Pathway. *Journal of Plant Growth Regulation*, 43, 2682-2695.
- Huang, Yuanzuan., Wu, Z., He, Yanhui., Ye, B.C., Li, C. (2017): Rhizospheric *Bacillus subtilis* Exhibits Biocontrol Effect against *Rhizoctonia solani* in Pepper (*Capsicum annuum*). *BioMed Research International*, 2017, 1-9.
- Kalayu, G. (2019): Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, 2019, 1–7.
- Kang, S.M., Hamayun, M., Khan, M.A., Iqbal, A., Lee, I.J. (2019): *Bacillus subtilis* JW1 enhances plant growth and nutrient uptake of Chinese cabbage through gibberellins secretion. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 92, 172-178.

- Kazerooni, Elham Ahmed., Maharachchikumbura, Sajeewa, S.N., Adhikari, A., Al-Sadi, A.M., Kang, S.M., Kim, L.R., Lee, I.J. (2021): Rhizospheric *Bacillus amyloliquefaciens* Protects Capsicum annuum cv. Geumsugangsan From Multiple Abiotic Stresses via Multifarious Plant Growth-Promoting Attributes. *Frontiers in Plant Science*, 12, 1-19.
- Khin, Thuzar Win., Oo, A.Z., Okhama-Ohtsu, Naoko., Yokoyama, T. (2018): *Bacillus Pumilus* Strain TUAT-1 and Nitrogen Application in Nursery Phase Promote Growth of Rice Plants under Field Conditions. *Agronomy*, 8, 1-12.
- Kim, Min-Ji., Radhakrishnan, R., Kang, S.M., You, Young-Hyun, Jeong, Eun-Ju., Kim, J.G., Lee, I.J. (2017): Plant growth promoting effect of *Bacillus amyloliquefaciens* H-2-5 on crop plants and influence on physiological changes in soybean under soil salinity. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 1-10.
- Kudoyarova, G., Arkhipova, Tatiana., Korshunova, Tatiana., Bakaeva, Margarita., Loginov, O., Dodd, I. C. (2019): Phytohormone Mediation of Interactions Between Plants and Non-Symbiotic Growth Promoting Bacteria Under Edaphic Stresses. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1-11.
- Ma, Y., Zhang, S., Hu, J., Chen, S., Wang, J. (2022): Effects of Molybdenum Fertilizer Combined with *Bacillus subtilis* Strain on the Growth of Chinese Cabbage and the Content of Nitrate in Soil. *Horticulturae*, 8, 1-14.
- Mažylytė, Raimonda., Kaziūnienė, Justina., Orola, Liana., Valkovska, Valda., Lastauskienė, Eglė., Gegeckas, A. (2022): Phosphate Solubilizing Microorganism *Bacillus* sp. MVY-004 and Its Significance for Biomineral Fertilizers' Development in Agrobiotechnology. *Biology*, 11, 1-17.
- Misra, S., Chauhan, P.S. (2020): ACC deaminase-producing rhizosphere competent *Bacillus* spp. mitigate salt stress and promote *Zea mays* growth by modulating ethylene metabolism. *Biotech*, 10, 119.
- Mohamed, H.I., Gomma, E.Z. (2012): Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. *PHOTOSYNTHETICA*, 50, 263-272.
- Muhammad Aslam, M., Waseem, M., Jakada, B. H., Okal, E. J., Lei, Z., Saqib, H. S. A., Yuan, W., Xu, W., Zhang, Q. (2022): Mechanisms of Abscisic Acid-Mediated Drought Stress Responses in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 1-21.
- Mukherjee, A., Gaurav, A.K., Singh, S., Yadav, Shweta., Bhowmick, S., Abeysinghe, S., Verma, J.P. (2022): The bioactive potential of phytohormones: A review. *Biotechnology Reports*, 35, 1-9.
- Noor, Anam., Ziaf, K., Naveed, M., Khan, K.S., Ghani, M.A., Ahmad, I.A., Anwar, R., Siddiqui, M.H., Shakeel, A., Khan, A.I. (2023): L-Tryptophan-Dependent Auxin-Producing Plant-Growth-Promoting Bacteria Improve

- Seed Yield and Quality of Carrot by Altering the Umbel Order. Horticulture, 9, 1-19.
- Patel, Margi., Islam, S., Husain, F.M., Yadav, V.K., Park, Hyun-Kyung., Yadav, K.K., Bagatharia, S., Joshi, M., Jeon, B.H., Patel, A. (2023): *Bacillus subtilis* ER-08, a multifunctional plant growth-promoting rhizobacterium, promotes the growth of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) plants under salt and drought stress. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1-20.
- Piotrowska, Alicja., Czerpak, R., Adamowicz, Joanna., Biedrzycka, Alicja., Potocka, Marta. (2005): Comparison of stimulatory effect of cytokinins adenine and urea derivatives on the level of some components in *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm. (Lemnaceae). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 74, 111–118.
- Ravanbakhsh, M., Sasidharan, R., Voesenek, L. A. C. J., Kowalchuk, G. A., Jousset, A. (2018): Microbial modulation of plant ethylene signaling: Ecological and evolutionary consequences. *Microbiome*, 6, 1-10.
- Shahzad, A., Qin, M., Elahie, M., Naem, M., Bashir, Tasmia, Yasmin, Humaira., Younas, M., Areeb, A., Irfan, M., Billah, M., Shakor, A., Zulfigar, S. (2021): *Bacillus pumilus* induced tolerance of Maize (*Zea mays* L.) against Cadmium (Cd) stress. *Scientific Reports*, 11, 1-11.
- Shahzad, R., Khan, A. L., Bilal, S., Waqas, M., Kang, S.-M., Lee, I.-J. (2017): Inoculation of abscisic acid-producing endophytic bacteria enhances salinity stress tolerance in *Oryza sativa*. *Environmental and Experimental Botany*, 136, 68–77.
- Singh, Shubhra., Shyu, D.J.H. (2024): Perspective on utilization of *Bacillus* species as plant probiotics for different crops in adverse conditions. *Microbiology*, 10, 220-238.
- Solangi, F., Zhu, X., Khan, Shumaila., Rais, Nazia., Majeed, Asma., Sabir, M. A., Iqbal, R., Ali, S., Hafeez, Aqsa., Ali, B., Ercisli, S., Kayabasi, E. T. (2023): The Global Dilemma of Soil Legacy Phosphorus and Its Improvement Strategies under Recent Changes in Agro-Ecosystem Sustainability. *ACS Omega*, 8, 23271–23282.
- Stępień, A., Wojtkowiak, Katarzyna., Kolankowska, Ewelina. (2022): Effect of Commercial Microbial Preparations Containing *Paenibacillus azotofixans*, *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis* on the Yield and Photosynthesis of Winter Wheat and the Nitrogen and Phosphorus Content in the Soil. *Applied Sciences*, 12, 1-18.
- Tan, Irene. S., Ramamurthi, K. S. (2014): Spore formation in *Bacillus subtilis*. *Environmental Microbiology Reports*, 6, 212–225.
- Tsotetsi, T., Nephali, L., Malebe, Motumiseng., Tugizimana, F. (2022): *Bacillus* for Plant Growth Promotion and Stress Resilience: What Have We Learned? *Plants*, 11, 1-23.
- Walia, A., Mehta, Preeti., Chauhan, Anjali., Shirkot, C. K. (2014): Effect of *Bacillus subtilis* Strain CKT1 as Inoculum on Growth of Tomato Seedlings

- Under Net House Conditions. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 84, 145–155.
- Wang, J., Qu, F., Liang, Jiayi., Yang, M., Hu, X. (2022): *Bacillus velezensis* SX13 promoted cucumber growth and production by accelerating the absorption of nutrients and increasing plant photosynthetic metabolism. *Scientia Horticulture*, 301, 111151.
- Zhang, H., Yang, Qilin., Zhao, Jingjing., Chen, J., Wang, S., Ma, Mingyue., Liu, H., Zhang, Q., Zhao, Q., Zhao, H., Zhou, Dongyuan., Wang, Xianxian., Gao, Jie., Zhao, Huixin. (2022): Metabolites from *Bacillus subtilis* J-15 Affect Seedling Growth of *Arabidopsis thaliana* and Cotton Plants. *Plant Physiology and Metabolism*, 11, 1-18.

Abstract

MECHANISMS OF THE BIOSTIMULANT ACTION OF *BACILLUS* SPP.

Vasiljka Karačić¹, Dragana Miljaković², Milan Ivanović¹

¹Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Beograd;

²Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad

E-mail: vasiljka.dragic@gmail.com

The use of microorganisms that stimulate the growth and development of plants is an alternative to the use of synthetic fertilizers in conventional agricultural production. Previous research has shown that bacteria from the genus *Bacillus* exert a biostimulating effect on various cultivated plant species. These bacteria have numerous direct and indirect mechanisms of action due to their great metabolic diversity. Certain *Bacillus* spp. increase the availability of nutrients through biological nitrogen fixation and phosphate solubilization in the soil, which directly affects plant growth. Also, *Bacillus* spp. produce phytohormones that affect the growth and development of plants, the most important of which are auxins, gibberellins and cytokinins. This paper discusses the most important mechanisms of action of *Bacillus* spp. and provides an overview of previous research on the effectiveness of these bacteria on different plant species. Knowledge of the mechanisms of action is essential for the successful application of preparations based on *Bacillus* spp. and achieving stable yields.

Keywords: *Bacillus* spp., nitrogen fixation, phosphate solubilization, phytohormones, plant growth, crop yield

OSETLJIVOST PROUZROKOVAČA PLAVE TRULEŽI PLODOVA JABUKE (*Penicillium expansum*) PREMA FLUDIOKSONILU Vojin Puzić, Tatjana Dudaš, Mila Grahovac, Slavica Vuković, Marta Loc, Mladen Petreš, Dragana Budakov

Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet
E-mail: vojin.puzic@polj.edu.rs

Izvod

Plava trulež, prouzrokovana gljivama iz roda *Penicillium*, predstavlja jedno od najznačajnijih oboljenja uskladištenih plodova jabuke. Među vrstama koje prouzrokuju pojavu plave truleži, najzastupljenija je vrsta *P. expansum*. Prouzrokovani plave truleži dovode do propadanja plodova, a proizvode i mikotoksine koji narušavaju zdravstvenu bezbednost plodova. Usled ukidanja sve većeg broja dozvoljenih aktivnih supstanci sa tržišta, dolazi do izlaganja populacije patogena uskom krugu mehanizama delovanja fungicida, te je prisutan rizik od pojave rezistentnosti. S obzirom da su fungicidi na bazi aktivne supstance fludioksonil najčešće korišćeni u zaštiti od prouzrokovani plave truleži plodova jabuke u Republici Srbiji, u ovom radu je ispitana osetljivost 65 izolata *P. expansum* koji vode poreklo iz različitih skladišta jabuke u R. Srbiji. Nakon determinacije vrste kojoj pripadaju izolati, ispitana je osetljivost populacije *P. expansum* merenjem porasta micelije pri izlaganju koncentracijama od 0,5 i 1 µg/ml fludioksonila u hranljivoj podlozi. Rezultati ovog rada ukazuju na postojanje populacija *P. expansum* sa smanjenim nivoom osetljivosti prema aktivnoj supstanci fludioksonil u R. Srbiji.

Ključne reči: jabuka, *Penicillium expansum*, plava trulež, rezistentnost, fludioksonil

UVOD

Globalno gledano, domaća jabuka (*Malus domestica* L.) predstavlja jednu od najznačajnijih voćnih vrsta (Kljajić i Vuković, 2014; Bramel i Volk, 2019) i smatra se najznačajnijom vrstom u okviru roda *Malus* (Keserović i sar., 2016). Plodovi jabuke se, prvenstveno, konzumiraju sveži, ali su i vrlo značajna sirovina u prerađivačkoj industriji i industriji hrane (Petreš i sar., 2022). Od ukupne proizvodnje, oko 2/3 jabuke u R. Srbiji konzumira se u svežem stanju. Da bi se zadovoljile potrebe tržišta, postoji potreba za dužim čuvanjem plodova jabuke u svežem stanju, te se plodovi čuvaju u hladnjačama (Stevanović i sar., 2015;

Keserović i sar., 2016). Međutim, tokom skladištenja plodovi jabuke mogu da budu izloženi napadu mnogobrojnih patogenih, koji na njima mogu da prouzrokuju značajne ekonomske štete (Trkulja i Bagi, 2022). Godišnji gubici u proizvodnji jabuke koji se javljaju kao posledica delovanja patogenih u periodu nakon branja se u zemljama u razvoju procenjuju na 20-50%, dok se u razvijenim zemljama procenjuju na 5-35% (Porat i sar., 2018). Do sada je opisano više od 90 gljivičnih patogenih koji mogu da prouzrokuju štete na plodovima za vreme skladištenja jabuke (Leibinger i sar., 1997). Prema Trkulja i Bagi (2022) neki od najznačajnijih prouzrokovaca truleži uskladištenih plodova jabuke u R. Srbiji su fitopatogene vrste: *Penicillium* spp., *Botrytis cinerea*, *Monilinia* spp., *Colletotrichum* spp., *Neofabraea* spp., *Botryosphaeria obtusa*, *Mucor pyriformis* i dr.

Mnogobrojni autori posebno ističu značaj vrsta iz roda *Penicillium*, koje su odgovorne za pojavu simptoma plave truleži – *P. expansum*, *P. crustosum*, *P. solitum*, *P. digitatum*, *P. chrysogenum*, *P. commune*, *P. verrucosum* i *P. regulosum* (Habib i sar., 2021). Plava trulež širom sveta predstavlja jedno od najznačajnijih oboljenja plodova jabuke u periodu nakon berbe (Trkulja i sar., 2020). Thomidis i Prodromou (2020) su u svom istraživanju sprovedenom u Grčkoj utvrdili da su vrste iz roda *Penicillium* odgovorne za 78%, odnosno 84% simptoma truleži plodova jabuke u periodu nakon branja u 2016, odnosno 2017. godini. Prema procenama Luciano-Rosario i sar. (2020) godišnji gubici u SAD (Sjedinjene Američke Države) prouzrokovani pojavom plave truleži iznose 50-250 miliona dolara. Prouzrokovaci plave truleži dovode do propadanja plodova jabuke, kao i kontaminacije plodova mikotoksinima (Morales i sar., 2007). Među mikotoksinima koje produkuju vrste iz roda *Penicillium*, najvažniji i najčešći je patulin, koji ima izraženo toksično i potencijalno kancerogeno dejstvo (Puel i sar., 2010).

Simptome plave truleži karakteriše pojava kružnih, vodenastih pega mrkožute boje koje se šire, kako po površini, tako i prema unutrašnjosti ploda, dok se između obolelog i zdravog tkiva ploda uočava jasna granica. U uslovima povoljnim za razvoj gljiva sporuliše, obrazujući masu plavo-zelenih konidija, što je karakteristično za kasnije faze zaraze. Zaraženi plodovi se prepoznaju po karakterističnom zemljanom, plesnivom, ustajalom mirisu (Trkulja, 2003; Ivanović i Ivanović, 2017).

Prouzrokovaci plave truleži smatraju se patogenima rana, te zarazu vrše preko rana koje nastaju u polju, u toku berbe ili u procesu manipulacije i skladištenja plodova (Grahovac i sar., 2011; Wencker i Thomma, 2020). U epidemiologiji gljiva iz roda *Penicillium* najveći značaj imaju konidije. Konidije predstavljaju primarni izvor inokuluma i mogu da se pronađu u zemljištu, u organskim ostacima, na kori drveta, na plodovima, u vazduhu, vodi i na zidovima hladnjača (Sutton i sar., 2014). Konidije su okrugle, jednočelijske, prečnika 4,5-5 μm , a formiraju se u nizovima na složeno razgranatim konidioforima koje se nazivaju penicilusi (Dudaš i sar., 2022).

Među vrstama roda *Penicillium* koje napadaju plodove jabuke i drugih jabučastih voćaka, posebno je važna vrsta *P. expansum*. Ova vrsta je, prema mišljenju mnogobrojnih autora, najčešći i ekonomski najznačajniji prouzrokovač plave truleži (Zhong i sar., 2018; Luciano-Rosario i sar., 2020; Habib i sar., 2021). U istraživanjima Amiri i Bompeix (2005) i Habib i sar. (2021) vrsta *P. expansum* se ističe kao najzastupljenija vrsta roda *Penicillium* na obolelim uskladištenim plodovima jabuke. Trkulja i sar. (2020) ukazuju na polifagnost vrste *P. expansum*, koja u prirodi, osim plodova jabuke, napada i plodove narandže, limuna, mandarine, jagode, breskve, paradajza, krastavca, luka i mnogih drugih voćnih i povrtarskih biljnih vrsta. Gljiva *P. expansum* se odlikuje prisustvom srednjeg rizika od pojave rezistentnosti (FRAC, 2024). Faktori koji doprinose riziku od pojave rezistentnosti kod *P. expansum* su kratak životni ciklus patogena, kao i veliki kapacitet sporulacije (Baraldi i sar., 2003). Podaci velikog broja naučnika govore o smanjenoj osetljivosti populacija fitopatogene gljive *P. expansum* prema različitim fungicidima, kao i fludioksonilu (Karaoglanidis i sar., 2011; Gaskins i sar., 2015; Amiri i sar., 2017; Samaras i sar., 2020).

Upotreba fungicida već dugo predstavlja najznačajniji i najčešći metod borbe protiv skladišnih patogena, pa tako i protiv pojave prouzrokovača plave truleži. Plava trulež se u proizvodnoj praksi kontroliše primenom fungicida koji su registrovani za suzbijanje većeg broja prouzrokovača truleži plodova u skladištima, aplikacijom u polju najkasnije 7-14 dana pre berbe (Kolektiv autora, 2022). Za razliku od pojedinih delova sveta, u R. Srbiji nijedan od preparata nije registrovan za tretiranje plodova posle berbe (Sekulić i Jeličić, 2011). Zbog evropskih regulativa koje se primenjuju i u R. Srbiji, Uprava za zaštitu bilja (Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede R. Srbije) revidira listu dozvoljenih aktivnih supstanci, zbog čega dolazi do smanjenja broja dostupnih fungicida. Sve se manji broj aktivnih supstanci primenjuje za suzbijanje prouzrokovača plave truleži plodova jabuke, što za posledicu ima izlaganje populacije patogena uskom krugu mehanizama delovanja fungicida, te postoji rizik od pojave rezistentnosti. U našoj zemlji su registrovani fungicidi na bazi aktivnih supstanci: tiofanat-metil, fludioksonil, tebukonazol, fluopiram, boskalid, piraklostrobin, ciprodinil, trifloksistrobin (Kolektiv autora, 2022). U R. Srbiji su preparati na bazi aktivne supstance fludioksonil najčešće korišćeni fungicidi u zaštiti od prouzrokovača plave truleži plodova jabuke (Ivanović i Ivanović, 2017). Prema podacima FRAC fludioksonil je svrstan u grupu E2, kod koje postoji nizak do srednji rizik od nastajanja rezistentnosti.

Prema definiciji FAO, rezistentnost predstavlja pojavu opadanja reakcije životinjskih i biljnih vrsta i biljnih patogena na pesticide ili druge agense, koja nastaje kao posledica njihove upotrebe. Rezistentnost se javlja kao rezultat mutacije genetičkog materijala patogena, te je nasledna (Brent i Hollomon, 2007). Prema Bagi i sar. (2012), poljska rezistentnost gljiva prema fungicidima se zapaža u trenutku kada se očekivani nivo zaštite od bolesti ne ostvaruje preporučenom dozom fungicida. Zbog pojave rezistentnosti, troškovi suzbijanja štetnih

organizama u svetu povećani su za par stotina miliona dolara godišnje (Janjić i sar., 2020). Monitoring predstavlja ključan deo u proučavanju rezistentnosti. Pod monitoringom rezistentnosti prema fungicidima podrazumeva se ispitivanje nivoa osetljivosti ciljanih patogena prema određenim fungicidima. Na osnovu monitoringa se može predvideti prelaz populacije patogena ka rezistentnosti i intezivno otpočeti sa primenom antirezistentne strategije u cilju njenog odlaganja (Brent i Hollomon, 2007). Kako bi se utvrdilo da li je određeni izolat fitopatogene gljive rezistentan na određen fungicid često se koristi diskriminativna koncentracija (Russell, 2004). Russell (2004) definiše diskriminativnu koncentraciju pesticida kao onu koncentraciju na osnovu koje je moguće utvrditi koji izolat patogena je osetljiv na određenu aktivnu supstancu, a koji je rezistentan. Kako bi zaštita jabuke od prouzrokovaca plave truleži plodova bila što efikasnija, neophodno je sprovoditi monitoring osetljivosti populacije patogena prema fludioksonilu, kao i drugim dominantno korišćenim aktivnim supstancama (Kolektiv autora, 2022).

Cilj ovog rada bilo je utvrđivanje osetljivosti izolata *P. expansum*, prouzrokovaca plave truleži plodova jabuke, prema fungicidu na bazi aktivne supstance fludioksonil, na osnovu izlaganja diskriminativnoj koncentraciji aktivne supstance (0,5 µg/ml), kao i koncentraciji od 1 µg/ml.

MATERIJAL I METOD RADA

Istraživanja su sprovedena u laboratorijama za fitopatologiju, na Departmanu za fitomedicinu i zaštitu životne sredine Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu. Plodovi jabuke sa simptomima plave truleži prikupljeni su tokom 2020. i 2021. godine iz skladišta na 26 lokaliteta u R. Srbiji. Plodovi jabuke sa simptomima plave truleži pripadali su sortama: fudži, zlatni delišes, crveni delišes, gala, ajdared, greni smit, breburn, jonagold i Red Jonaprince.

Izolacija patogena i formiranje kolekcije izolata. Izolacija patogena iz zaraženih plodova jabuke sa simptomima plave truleži vršena je standardnim fitopatološkim metodama u komorama za izolaciju, na hranljivu podlogu krompir dekstrozni agar (KDA). Plodovi su površinski dezinfikovani 70% alkoholom, a zatim su sterilnim skalpelom presečeni po sredini nekroze. Po tri fragmenta tkiva iz unutrašnjosti ploda, uzeta na prelasku zdravog u oboleli deo, postavljana su u Petri kutiju. Petri kutije su inkubirane u mraku pri temperaturi od 24 ± 1 °C. Nakon sedam dana, fragmenti kolonija karakterističnog izgleda *P. expansum* prebačeni su u nove Petri kutije radi dobijanja čistih kultura. Monosporijalni izolati dobijeni su razmazom suspenzije konidija na površinu hranljive podloge vodeni agar (2,5%) i nakon inkubacije 16-18 h pri temperaturi 24 ± 1 °C u sterilnim uslovima, pod mikroskopom su pomoću kopljaste igle isečeni pojedinačni fragmenti podloge sa po jednom konidijom koja klija i preneseni u nove Petri kutije sa podlogom KDA. Nakon 7 dana inkubacije u mraku pri temperaturi 24 ± 1 °C, formirana je kolekcija

monosporijalnih izolata koji se čuvaju u formi suspenzije na temperaturi 4 °C i koji su korišćeni u istraživanju. U eksperimentima su korišćene suspenzije konidija izolata u sterilnoj destilovanoj vodi sa 0,05% Tween 20 (10⁶ konidija/ml). Suspenzije su pripremljene od kolonija izolata sa KDA podloge nakon 7 dana inkubacije pri temperaturi 24±1 °C.

***In vitro* testiranje osetljivosti kolekcije izolata *P. expansum*.**

Određivanje osetljivosti izolata zasnivalo se na poređenju porasta kolonija 65 izolata *P. expansum* pri razvoju na: KDA podlozi; KDA podlozi koja sadrži diskriminativnu koncentraciju aktivne supstance; na KDA podlozi koja sadrži koncentraciju aktivne supstance koja je duplo veća od diskriminativne. U ogledu je korišćena diskriminativna koncentracija za rezistenost vrste *P. expansum* prema fludioksonilu (0,5 µg/ml) koju su prethodno utvrdili Li and Xiao (2008), kako bi se utvrdilo prisustvo izolata *P. expansum* sa nižim nivoom rezistentnosti. Za utvrđivanje prisustva visoko rezistentnih izolata, korišćena je koncentracija od 1 µg/ml. U radu je korišćena SC formulacija aktivne supstance fludioksonil koncentracije 225 g/l. Kako bi se postigla koncentracija fludioksonila u hranljivoj podlozi KDA od 0,5 µg/ml, u 300 ml hranljive podloge KDA dodato je 66,67 µl preparata. Kako bi se postigla koncentracija fludioksonila u hranljivoj podlozi KDA od 1 µg/ml, u 300 ml hranljive podloge KDA dodato je 133,33 µl preparata.

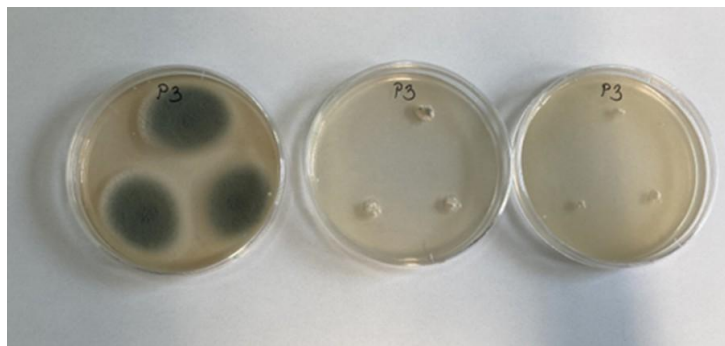
Za svaki izolat *P. expansum* ispitivana su 3 tretmana: netretirana kontrola (samo KDA), fludioksonil 0,5 µg/ml i fludioksonil 1 µg/ml. Za svaki tretman ispitivana su 3 ponavljanja. Inokulacija je za svako ponavljanje svakog tretmana izvršena Eppendorf pipetom na 3 mesta u Petri kutiji, sa po 1 µl suspenzije konidija koncentracije 10⁶ konidija/ml. Petri kutije su stavljene na inkubaciju u mraku u periodu od 7 dana na temperaturi od 25 ± 1 °C (Slika 1). Nakon 7 dana inkubacije u mraku na temperaturi od 25 ± 1 °C, lenjirom su mereni prečnici kolonija. Za svako ponavljanje svakog tretmana na kolonijama *P. expansum* merena su po 2 prečnika (koji se seku u sredini kolonije pod pravim uglom), a zatim je računat prosek prečnika kolonije. Prosečne vrednosti prečnika kolonija svakog ponavljanja svakog tretmana su upoređivane kako bi se uočilo prisustvo rezistentnih izolata *P. expansum*.

Izračunat je i procenat inhibicije porasta micelije prema formuli:

$$\% \text{ inhibicije} = (a-b)/a \times 100$$

a = prečnik kolonije u kontroli, b = prečnik kolonije u tretmanu fungicidom

Rezultati ogleada statistički su analizirani u programu STATISTICA 14.0.1.25 (TIBCO Software Inc) primenom dvofaktorskog ANOVA testa, a značajnosti između parova testirane su putem Tuckey HSD testa (p=0,05).



Slika 1. Izgled kolonija izolata P3 *P. expansum* u 3 ispitivana tretmana nakon 7 dana inkubacije u mraku na temperaturi od 25 ± 1 °C (foto: Puzić, 2023)

REZULTATI I DISKUSIJA

Prikupljanje izolata *P. expansum* i formiranje kolekcije. Iz plodova jabuke sa simptomima plave truleži izvršene su fitopatološke izolacije. Šezdeset i pet izolata identifikovano je kao *P. expansum*. Micelija koju su formirali izolati bila je plavkaste do zelenkaste boje, a posmatranjem pod mikroskopom uočeno je prisustvo karakterističnih konidija, koje su okrugle, jednoćelijske, formirane u nizovima na složeno razgranatim penicilusima. Dobijeni izolati su korišćeni u nastavku oglada. Do sada su kao prouzrokovani plave truleži plodova jabuke u R. Srbiji identifikovane vrste: *P. expansum*, *P. crustosum*, *P. solitum* i *P. chrysogenum*, pri čemu se *P. expansum* navodi kao najdominantnija vrsta (Vico i sar., 2014; Žebeljan i sar., 2021; Dudaš i sar., 2025).

***In vitro* testiranje osetljivosti kolekcije izolata *P. expansum*.** Osetljivost izolata prema fludioksonilu 0,5 µg/ml i 1 µg/ml prikazana je u Tabeli 1.

Tabela 1. Veličina kolonija i procenat inhibicije porasta kolonije izolata *P. expansum* na hranljivim podlogama sa 0,5 i 1 µg/ml fludioksonila posle 7 dana inkubacije u mraku na temperaturi 25 ± 1 °C.

(*vrednosti označene istim slovima su na istom nivou statističke značajnosti $p < 0,05$)

Izolat	Prečnik kolonije (cm)				% inhibicije porasta kolonije			
	Kontrola		Fludioksonil 0,5 µg/ml		Fludioksonil 1 µg/ml		Fludioksonil 0,5 µg/ml	Fludioksonil 1 µg/ml
P1	4.1	no	0.9	cde	0.3	abc	79.44	92.34
P2	4.0	mn	0.4	abc	0.3	abc	89.50	92.02

P3	4.6	op	0.7	bcd	0.4	abc	85.97	92.45
P4	4.9	p	0.6	bcd	0.3	abc	86.94	94.50
P5	4.0	mn	1.2	ef	0.5	bc	71.25	88.33
P6	3.9	lmn	1.1	e	0.8	bcd	72.46	78.81
P7	3.9	lmn	0.7	bcd	0.2	ab	81.39	94.37
P8	3.8	lmn	1.2	ef	0.6	bcd	68.14	84.96
P9	4.1	no	1.6	fg	0.6	bcd	60.48	86.29
P10	4.2	no	1.5	efg	0.5	bc	63.86	88.76
P11	4.0	mn	0.8	bcd	0.7	bcd	78.99	81.93
P12	3.8	lmn	1.3	efg	0.5	bc	65.78	88.00
P13	3.8	lmn	1.9	gh	1.1	e	49.78	72.00
P14	3.9	lmn	0.5	bc	0.2	ab	87.45	95.67
P15	3.6	klm	0.6	bcd	0.3	abc	84.79	92.17
P16	4.0	mn	1.1	e	0.7	bcd	73.53	83.61
P17	3.6	klm	0.4	abc	0.2	ab	88.32	94.39
P18	3.5	klm	0.7	bcd	0.0	a	79.52	99.05
P19	3.9	lmn	1.5	efg	1.1	ef	62.34	71.43
P20	3.8	lmn	0.5	bc	0.0	a	86.34	100.00
P21	3.9	lmn	1.4	efg	1.6	fg	65.24	59.66
P22	4.2	no	0.8	bcd	0.4	abc	82.21	89.72
P23	3.2	j	1.2	ef	0.3	abc	62.69	92.23
P24	3.1	j	1.2	ef	0.2	ab	60.33	92.39
P25	4.2	no	1.5	efg	0.5	bc	63.35	89.24
P26	3.5	klm	1.1	e	0.4	abc	69.05	88.57
P27	4.2	no	1.6	fg	0.3	abc	61.11	92.46
P28	3.8	lmn	1.1	e	0.3	abc	71.93	91.67
P29	4.1	no	0.5	bc	0.3	abc	87.90	93.95
P30	4.4	nop	0.8	bcd	0.0	a	81.95	100.00
P31	3.9	lmn	0.7	bcd	0.2	ab	81.47	94.83
P32	3.9	lmn	0.9	cde	0.1	ab	76.27	97.46
P33	3.4	j-m	1.0	de	0.0	a	72.06	100.00
P34	4.1	no	1.0	de	0.1	ab	75.51	96.73
P35	3.8	lmn	0.7	bcd	0.0	a	82.53	100.00
P36	4.2	no	0.7	bcd	0.0	a	83.27	100.00
P37	3.6	klm	0.8	bcd	0.0	a	77.57	100.00

P38	4.3	nop	1.0	de	0.0	a	77.69	100.00
P39	4.0	mn	0.7	bcd	0.5	bc	81.51	87.39
P42	4.0	mn	0.9	cde	0.1	ab	78.24	96.65
P43	4.3	nop	0.7	bcd	0.0	a	83.92	100.00
P44	4.0	mn	0.7	bcd	0.0	a	82.92	100.00
P45	4.2	no	1.3	efg	0.0	a	68.92	100.00
P46	4.2	no	1.4	efg	0.1	ab	67.60	96.80
P47	3.8	lmn	1.5	efg	0.1	ab	60.43	97.39
P48	3.9	lmn	1.1	e	0.0	a	71.91	100.00
P49	3.8	lmn	1.3	efg	0.2	ab	66.81	95.58
P50	3.3	j-m	1.5	efg	0.1	ab	56.50	97.50
P51	3.4	j-m	1.4	efg	0.0	ab	59.90	99.01
P52	3.8	lmn	1.5	efg	0.0	a	61.33	99.11
P53	4.0	mn	1.4	efg	0.0	a	65.00	100.00
P54	3.9	lmn	1.3	efg	0.1	ab	66.24	97.01
P56	3.9	lmn	1.4	efg	0.1	ab	64.96	98.29
P57	3.8	lmn	1.5	efg	0.3	abc	62.17	92.61
P58	3.9	lmn	1.5	efg	0.6	bcd	62.71	86.02
P59	4.2	no	0.6	bcd	0.2	ab	85.94	95.58
P60	3.5	klm	0.9	cde	0.4	abc	73.46	87.68
P61	3.6	klm	0.4	abc	0.0	a	89.25	100.00
P62	2.6	i	1.3	efg	0.4	abc	51.28	86.54
P65	3.2	j	0.6	bcd	0.2	ab	81.87	93.26
P66	3.9	lmn	0.7	bcd	0.0	a	82.76	100.00
P67	4.6	op	1.2	ef	0.7	bcd	74.37	85.56
P68	4.0	mn	0.6	bcd	0.0	a	85.77	99.16
P69	3.9	lmn	0.5	bc	0.0	a	88.09	100.00
P70	2.7	i	1.1	e	0.5	bc	58.49	79.87

Dvofaktorijalna analiza varijanse pokazala je da i izolat i tretmani fungicidom značajno utiču na veličinu kolonije *P. expansum*, kao i da postoje statistički značajne razlike između tretmana ($p=0,05$). Veličina kolonije u tretmanu sa fludioksonilom 1 $\mu\text{g/ml}$ bila je od 0 do 1,6 cm. U tretmanu sa fludioksonilom 0,5 $\mu\text{g/ml}$ veličina kolonija kretala se u opsegu od 0,4 do 1,9 cm, dok je u kontroli bila od 2,6 do 4,9 cm.

Najmanja inhibicija rasta kolonija (49,78%) zabeležena je za izolat P13 u tretmanu fludioksonil 0,5 µg/ml. U tretmanu fludioksonil 0,5 µg/ml ni za jedan izolat nije postignuta inhibicija rasta kolonija od 100%, dok je inhibicija manja od 80% zabeležena kod 42 izolata, a porast 5 izolata inhibiran je za manje od 60% (izolati P13, P50, P51, P62, P70). U tretmanu sa fludioksonilom 1 µg/ml, porast 15 izolata inhibiran je 100%, dok je porast 5 izolata inhibiran manje od 80%. U istom tretmanu, samo je porast jednog izolata inhibiran za manje od 60%, preciznije porast izolata P21 za 59,66%.

U istraživanju Li i Xiao (2008) sprovedenom u SAD, utvrđena je diskriminativna koncentracija za osetljivost vrste *P. expansum* prema fludioksonilu (0,5 µg/ml) pri kojoj je došlo do inhibicije rasta micelije kod 119 testiranih izolata *P. expansum*, dok je razvoj micelije zabeležen samo kod jednog izolata. Gaskins i sar. (2015) su testirali osetljivost 5 izolata *P. expansum* izlažući ih diskriminativnoj koncentraciji od 0,5 µg/ml. Zabeležen je rast micelije kod 4 izolata sa smanjenom osetljivošću prema fludioksonilu, dok je jedan izolat definisan kao osetljiv, odnosno, rast njegove micelije je bio u potpunosti inhibiran. U istraživanju Li i Xiao (2008) pri koncentraciji od 0,1 µg/ml zabeležena je potpuna inhibicija klijanja konidija i izduživanja klicine cevčice kod svih izolata, osim kod jednog izolata koji je pokazao smanjenu osetljivost i prilikom ispitivanja rasta micelije. Amiri i sar. (2017) su u svom istraživanju ispitivali osetljivost 1200 izolata *P. expansum*. Kako bi ispitali osetljivost, beležili su izduživanje klicine cevčice prilikom izlaganja izolata koncentracijama od 0,5 µg/ml i 1 µg/ml fludioksonila. Prilikom izlaganja koncentraciji od 0,5 µg/ml fludioksonila, zabeleženo je izduživanje klicine cevčice kod 10,6% testiranih izolata, dok je pri koncentraciji od 1 µg/ml došlo do potpune inhibicije.

U ovom radu je zabeležen razvoj micelije svih ispitivanih izolata *P. expansum* pri izlaganju koncentraciji fludioksonila od 0,5 µg/ml, dok je pri izlaganju koncentraciji od 1 µg/ml razvoj micelije zabeležen kod 76,9%, što je drastičan porast u poređenju sa rezultatima Li i Xiao (2008). Ovo ukazuje na postojanje izolata sa smanjenom osetljivošću prema fludioksonilu, što je zabeleženo i u istraživanjima drugih autora (Karaoglanidis i sar., 2011; Gaskins i sar., 2015; Amiri i sar., 2017; Samaras i sar., 2020). Kada se rezultati ovog rada uporede sa rezultatima gore navedenih autora može da se pretpostavi prisustvo rezistentnih populacija *P. expansum* u R. Srbiji. Ovo ukazuje na potrebu za dodatnim ispitivanjima osetljivosti populacije *P. expansum* na širem spektru koncentracija fungicida. Takođe, s obzirom na rezultate istraživanja Karaoglanidis i sar. (2011) i Samaras i sar. (2020) o postojanju unakrsne rezistentnosti izolata *P. expansum* prema fungicidima iz drugih hemijskih grupa koji se koriste za suzbijanje skladišnih patogena jabuke, nameće se potreba za daljim ispitivanjima izolata *P. expansum* u cilju otkrivanja ove pojave.

ZAKLJUČAK

Fitopatološkim izolacijama iz plodova jabuke iz skladišta na kojima su opisani karakteristični simptomi plave truleži, dobijena je kolekcija od 65 izolata za koje je putem morfoloških odlika utvrđeno da pripadaju vrsti *P. expansum*. Kada je u pitanju osetljivost izolata prema fludioksonilu, dokazano je da i izolat i tretmani fungicidom značajno utiču na veličinu kolonije *P. expansum*, kao i da postoje statistički značajne razlike između tretmana. U tretmanu sa 0,5 µg/ml fludioksonila kod izolata P13 zabeležena je najmanja inhibicija rasta kolonija (49,78%). Kod ove koncentracije, ni za jedan izolat nije postignuta inhibicija rasta kolonija od 100%. U tretmanu sa 1 µg/ml fludioksonila, porast 15 izolata inhibiran je 100%, dok je najmanja inhibicija zabeležena kod izolata P21 i iznosila je 59,66%. Osetljivost izolata *P. expansum* koji su ispitivani u ovom istraživanju se kretala u širokom rasponu 49,78-100% inhibicije porasta micelije, u zavisnosti od primenjene koncentracije fungicida. Rezultati ovog rada ukazuju na postojanje izolata *P. expansum* sa smanjenom osetljivošću prema fludioksonilu u R. Srbiji. Kako bi se dobili precizniji podaci o osetljivosti populacije, potrebno je da se buduća ispitivanja sprovedu na širem spektru koncentracija fludioksonila.

LITERATURA

- Amiri, A., Bompeix, G. (2005): Diversity and population dynamics of *Penicillium* spp. on apples in pre-and postharvest environments: consequences for decay development. *Plant pathology*, 54(1), 74-81.
- Amiri, A., Mulvaney, K. A., Pandit, L. K. (2017): First report of *Penicillium expansum* isolates with low levels of resistance to fludioxonil from commercial apple packinghouses in Washington State. *Plant Disease*, 101(5), 835-835.
- Bagi, F., Konstantinović, B., Stojšin, V., Lazić, S., Indić, D., Meseldžija, M., Bugarin, R., Sedlar, A., Budakov, D., Mile, L., Monoštri, T., (2012): *Fitomedicina*. Izd. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad.
- Baraldi, E., Mari, M., Chierici, E., Pondrelli, M., Bertolini, P., Pratella, G.C. (2003): Studies on thiabendazole resistance of *Penicillium expansum* of pears: pathogenic fitness and genetic characterization. *Plant Pathology* 52, 362-370.
- Bramel P. J., Volk, G. (2019): A global strategy for the conservation and use of apple genetic resources. Global Crop Diversity Trust. Bonn, Germany.
- Brent, K. J. i Hollomon, D. J. (2007): Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed. FRAC Monograph No.1. Brussels, Belgium: Fungicide Resistance Action Committee.
- Dudaš, T., Cotugno, P., Budakov, D., Grahovac, M., Stojšin, V., Mihajlović, M., Ippolito, A., Sanzani, S. M. (2025): Diversity and Patulin Production of

- Penicillium spp. Associated with Apple Blue Mold in Serbia. *Journal of Fungi*, 11(3), 175.
- Dudaš, T., Todić, A., Budakov, D., Grahovac, M., Loc, M., Stojšin, V. (2022): Penicillium spp., Prouzrokovajući plave truleži uskladištenih plodova jabuke. *Biljni lekar*, 50(2), 93.
- FRAC (Fungicide Resistance Action Committee), 2024. Pathogen risk list. <https://www.frac.info/>. <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/frac-pathogen-list-2019.pdf>.
- Grahovac, M., Indić, D., Tanović, B., Lazić, S., Vuković, S., Hrustić, J., Gvozdencac, S. (2011): Integralna zaštita jabuka od prouzrokovaca truleži u skladištima. *Pesticidi i fitomedicina*, 26(4), 289-299.
- Habib, W., Masiello, M., Chahine-Tsouvalakis, H., Al Moussawi, Z., Saab, C., Tawk, S.T., Piemontese, L., Solfrizzo, M., Logrieco, A.F., Moretti, A., Susca, A. (2021): Occurrence and characterization of Penicillium species isolated from post-harvest apples in Lebanon. *Toxins*, 13: 730
- Ivanović, M.S., Ivanović, M.M. (2017): Bolesti voćaka i vinove loze. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet. Beograd.
- Janjić, V., Mitrić, S., Marčić, D., Stević, M. (2020): Zaštita biljaka i rezistentnost štetnih organizama. U: Janjić, V., Pržulj, N. (urednici). *Ograničenja i izazovi u biljnoj proizvodnji. Akademija nauka i umjetnosti Republike Srpske, Banja Luka, Monografija LXII: 223–231; 297–322.*
- Karaoglanidis, G. S., Markoglou, A. N., Bardas, G. A., Doukas, E. G., Konstantinou, S., Kalampokis, J. F. (2011): Sensitivity of Penicillium expansum field isolates to tebuconazole, iprodione, fludioxonil and cyprodinil and characterization of fitness parameters and patulin production. *International journal of food microbiology*, 145(1), 195-204.
- Keserović, Z., Magazin, N., Milić, B., Dorić, M. (2016): Voćarstvo i vinogradarstvo. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.
- Kljajić, N. i Vuković, P. (2014): Fruit Production Analysis in Republic of Serbia in the Function of Rural Development. In D. Cvijanović, J. Subić, A. Vasile (Ed.), *Sustainable agriculture and rural development in terms of the Republic of Serbia strategic goals realization within the Danube region – rural development and (un)limited resources.* (pp. 444-460). Belgrade: Institute of Agricultural Economics.
- Kolektiv autora (2022): *Pesticidi u poljoprivredi i šumarstvu u Srbiji.* Izd. Društvo za zaštitu bilja. 1-700.
- Leibinger, W., Breuker, B., Hahn, M., Mendgen, K. (1997): Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathology* 87: 1103–1110.
- Li, H. X. i Xiao, C. L. (2008): Baseline sensitivities to fludioxonil and pyrimethanil in Penicillium expansum populations from apple in Washington State. *Postharvest biology and technology*, 47(2), 239-245.

- Luciano-Rosario, D., Keller, N. P., Jurick, W. M. (2020): *Penicillium expansum*: biology, omics, and management tools for a global postharvest pathogen causing blue mould of pome fruit. *Molecular Plant Pathology*, 21: 1391–1404.
- Morales, H., Sanchis, V., Rovira, A., Ramos, A.J., Marin, S. (2007): Patulin accumulation in apples during postharvest: Effect of controlled atmospheres and fungicide treatments. *Food Control*, 18, 1443–1448.
- Petreš, M., Grahovac, M., Budakov, D., Stojšin, V., Loc, M., Dudaš, T. i Došen, N. (2022): The causal agent of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cooke) Winter). *Biljni lekar*, 50(6), 427-437.
- Porat, R., Lichter, A., Terry, L. A., Harker, R., Buzby, J. (2018): Postharvest losses of fruit and vegetables during retail and in consumers' homes: Quantifications, causes, and means of prevention. *Postharvest Biology and Technology* 139: 135-149.
- Puel, O., Galtier, P., Oswald, I.P. (2010): Biosynthesis and toxicological effects of patulin. *Toxins*, 2, 613–631.
- Russell, P.E. (2004): Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management. FRAC Monograph No. 3. Crop Life International, Brussels, Belgium.
- Samaras, A., Ntasiou, P., Myresiotis, C., Karaoglanidis, G. (2020): Multidrug resistance of *Penicillium expansum* to fungicides: whole transcriptome analysis of MDR strains reveals overexpression of efflux transporter genes. *International Journal of Food Microbiology*, 335, 108896.
- Sekulić, J. i Jeličić, S. (2011): Sredstva za zaštitu bilja u prometu u Srbiji. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Stevanović, S., Radojević, R., Kosi, F., Marković, D., Simonović, V., Milovančević, U. (2015): Optimalni režim za skladištenje jabuke u ULO hladnjačama. Zbornik 46. Međunarodnog kongresa o KGH, Beograd 02-04. decembar, 170-176.
- Sutton, T.B., Aldwinckle, A., Agnello, A.M., Walgenbach, J.F. (2014): *Compendium of apple and pear diseases and pests*, 2nd edition. St Paul, MN: American Phytopathological Society.
- Trkulja, V. (2003): Bolesti uskladištenih plodova jabuke. *Glasnik zaštite bilja* 6: 5–29, Zagreb.
- Trkulja, V., Bagi, F. (2022): Patogeni uskladištenih plodova jabuke. *Biljni lekar*, 50(6), 462-492.
- Trkulja, V., Predić, T., Zavišić, N., Simić, D., Miladinović, Z., Tanasić, B., Babić, G., Mihić Salapura, J., Cvijanović, T., Vuković, B., Nedić, B. (2020): Integralna proizvodnja jabučastog voća. JU Poljoprivredni institut Republike Srpske, Banja Luka.
- Thomidis, T. and Prodromou, I. (2020): Evaluation of fungicides for the control of postharvest fruit rot pathogens of apple in Northern Greece. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(11-12), 581-590.

- Vico, I., Gaskins, V., Duduk, N., Vasić, M., Yu, J. J., Peter, K. A., Jurick, W. M. (2014): First report of *Penicillium crustosum* causing blue mold on stored apple fruit in Serbia. *Plant disease*, 98(10), 1430-1430.
- Wenneker, M. and Thomma B. P. H. J. (2020): Latent postharvest pathogens of pome fruit and their management: From single measures to a systems intervention approach. *Eur. J. Plant Pathol.* 156:663–681.
- Zhong, L., Carere, J., Lu, Z., Lu, F., Zhou, T. (2018): Patulin in apples and apple-based food products: The burdens and the mitigation strategies. *Toxins*, 10(11), 475.
- Žebeljan, A., Duduk, N., Vučković, N., Jurick, W. M., & Vico, I. (2021): Incidence, speciation, and morpho-genetic diversity of *Penicillium* spp. causing blue mold of stored pome fruits in Serbia. *Journal of Fungi*, 7(12), 1019.

Abstract

**SENSITIVITY OF CAUSING AGENT OF APPLE BLUE MOLD
(*Penicillium expansum*) TO FLUDIOXONIL
Vojin Puzić, Tatjana Dudaš, Mila Grahovac, Slavica Vuković, Marta Loc,
Mladen Petreš, Dragana Budakov**

Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet
E-mail: vojin.puzic@polj.edu.rs

Blue mold, caused by the fungi from the genus *Penicillium*, is one of the most important diseases of stored apple fruits. Among the species that cause the apple blue mold, the most common is *P. expansum*. The causal agents of blue mold lead to the decay of fruits, and they also produce mycotoxins which compromise the safety of the fruits. Due to the abolition of an increasing number of permitted active substances from the market, the population of pathogens is exposed to a limited range of fungicide action mechanisms, and hence there is a risk of resistance development. Given that fungicides based on the active substance fludioxonil are most frequently used to protect apple fruit against blue mold in the Republic of Serbia, sensitivity of 65 isolates of *P. expansum* originating from a various storage facilities in the Republic of Serbia was tested in this work. After determining the species of isolates, the sensitivity of the *P. expansum* population was tested by measuring the growth of mycelium when exposed to concentrations of 0,5 and 1 µg/ml of fludioxonil incorporated into the growth medium. The results of this work indicate the existence of populations of *P. expansum* with a reduced level of sensitivity to fludioxonil in the Republic of Serbia.

Key words: apple, *Penicillium expansum*, blue mold, resistance, fludioxonil

BIOLOŠKI AKTIVNE KOMPONENTE KUKURUZA

Tatjana Dudaš, Marta Loc, Mladen Petreš, Dobrila Kovačević, Milica Meseldžija, Jozef Gašparovski, Mila Grahovac

Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

e-mail: tatjana.dudas@polj.edu.rs

Izvod

Biološki aktivne komponente kukuruza predstavljaju značajan segment njegove nutritivne i funkcionalne vrednosti, sa direktnim uticajem na zdravlje ljudi i životinja. Kukuruz, kao strateški važna kultura u Srbiji, koristi se u ishrani, industriji i proizvodnji biogoriva, dok njegovo zrno obiluje skrobom, proteinima, lipidima, vlaknima, vitaminima i mineralima. Iako je bogat energijom, kvalitet proteina je ograničen zbog niskog sadržaja lizina, što je predmet oplemenjivačkih programa. Poseban značaj imaju bioaktivne komponente nenutritivnog porekla, poput fenolnih jedinjenja, flavonoida i karotenoida, koje ispoljavaju antioksidativno, antikancerogeno i zaštitno dejstvo. Fenolne kiseline mogu inhibirati razvoj mikotoksigenih gljiva, dok karotenoidi doprinose očuvanju vida i kognitivnih funkcija. Takođe, rezistentni skrob i vlakna pozitivno utiču na digestivno zdravlje. Kukuruz predstavlja važan izvor funkcionalnih komponenti sa potencijalom za unapređenje ishrane i prevenciju bolesti.

Ključne reči: kukuruz, biološki aktivne komponente, ishrana, zdravlje

UVOD

Biološki aktivne supstance su supstance koje poseduju određenu biološku aktivnost. Biološki aktivna supstanca ima direktne fiziološke efekte na živi organizam, a ti efekti mogu biti kako pozitivni, tako i negativni (Walia i sar., 2019). Prema definiciji Američke asocijacije za ishranu (American Dietetic Association, ADA) biološki aktivne komponente hrane su fiziološki aktivni sastojci prehrambenih namirnica ili suplemenata biljnog ili životinjskog porekla, uključujući i nutritivne sastojke, koji dokazano pozitivno utiču na prevenciju bolesti i očuvanje zdravlja (ADA, 2004). Biološki aktivne komponente hrane mogu biti nutritivnog porekla (amino kiseline, ugljeni hidrati, masne kiseline, vitamini, minerali, biljna vlakna) i nenutritivnog porekla (polifenoli, flavonoidi, hlorofil, izotiocijanati, fitoestrogeni glikozidi, alkaloidi, steroli, karoteonoidi, i dr.) (Jašić, 2010).

U Srbiji se kukuruz tradicionalno uspešno gaji na velikim površinama i predstavlja strateški izvozni proizvod. Kukuruz se koristi za ishranu životinja od kojih dobijamo različite prehrambene proizvode: meso, mleko, jaja, čak i ribe i rakove. U direktnoj ljudskoj ishrani koriste se zrna, brašno, kao i različiti prerađeni proizvodi: sirupi, zaslađivači, alkoholna pića. Tokom poslednje decenije

intenzivnije je počeo da se koristi za proizvodnju biogoriva, naročito bioetanola (Garcia-Lara i Serna-Saldivar, 2019).

Zrno kukuruza sadrži 72% skroba, 10% proteina i 4% lipida (Nuss i Tanumihardjo, 2010). Prema Američkoj nacionalnoj bazi podataka nutrijenata (USDA National Nutrient Database, 2021), 100 g kukuruza prosečno sadrži 165 kcal. U proseku, 100 g kukuruza sadrži: 10,4 g vode; 9,4 g proteina; 4,7 g masti; 74,3 g polisaharida; 7,3 g vlakana; 1,2 g mineralnih materija. Kukuruz je bogat niacinom, vitaminom B-6, pantoteničnom kiselinom, tiaminom i riboflavinom.

UGLJENI HIDRATI U KUKURUZU

Skrob je najzastupljeniji u zrnju kukuruza, gde čini 61-78% suve materije, a najviše ga ima u endospermu (Watson, 2003). Različiti genotipovi kukuruza sadrže skrob sa različitim udelima amiloze i amilopektina. Takođe, neki genotipovi imaju smanjen sadržaj skroba usled nedostatka enzima potrebnih za biosintezu skroba. To je slučaj kod kukuruza šećerca koji ima smanjen sadržaj skroba, ali povećan sadržaj prostih šećera i fitoglikogena, što mu daje ugodan sladak ukus (Dinges i sar., 2001).

Sadržaj prostih šećera u kukuruzu varira od 1% do 3%, a najviše ih ima u klici. Od prostih šećera najzastupljenija je saharoza, dok maltoze, glukoze, fruktoze i rafinoze ima u tragovima (Nuss i Tanumihardjo, 2010).

PROTEINI U KUKURUZU

Zrno kukuruza u proseku sadrži 6-12% proteina, od kojih je većina locirana u endospermu, gde čine 7-10% suve materije i u klici gde čine 17-19% suve materije. Endosperm obično sadrži 70-79% ukupnih proteina zrna kukuruza (Watson, 2003). Kukuruz je važan izvor proteina u onim populacijama gde predstavlja osnovnu hranu, međutim, proteini prosečnog kukuruza su oskudnog kvaliteta, zbog niskog sadržaja lizina, esencijalne aminokiseline. Kukuruz sadrži oko 1% lizina, dok bi za optimalnu ljudsku ishranu bilo potrebno bar pet puta toliko (Young i sar., 1998). Oplemenjivači kukuruza radili su na poboljšanju kvaliteta proteina u kukuruzu, te su razvijeni mutanti kukuruza opaque-2 (o2) i floury-2 (fl2), sa povećanim sadržajem lizina. Međutim, mek endosperm i nizak prinos ovih mutanata onemogućili su njihovu komercijalnu upotrebu, ali su oni poslužili kao polazna tačka za razvoj različitih varijeteta kukuruza sa visokokvalitetnim proteinima koji su danas dostupni širom sveta (Prasanna i sar., 2001; Gibbon i Larkins, 2005).

MASTI U KUKURUZU

Sadržaj masti u kukuruzu se kreće od 3 do 6% suve materije, a najviše ih ima u klici. (Watson, 2003). Trigliceridi iz ulja kukuruza sadrže visok nivo (oko 60%)

linolne kiseline, koja je esencijalna polinezasićena masna kiselina (White i Weber, 2003). Iako je sadržaj masti u zrnu kukuruza relativno nizak, kukuruzno ulje se promovise kao superiorni proizvod baš zbog sadržaja linolne kiseline koja je „zdrava za srce” (Nuss i Tanumihardjo, 2010). Pored linolne masne kiseline, u kukuruzu se mogu se naći oleinska i palmitinska masna kiselina, u zavisnosti od genotipa i uslova gajenja. U egzotičnim divljim rasama kukuruza pronađen je širok spektar različitih masnih kiselina, što je iskorišćeno u oplemenjivanju, pri stvaranju hibrida kukuruza za proizvodnju zdravog ulja (Ortiz-Islas i sar., 2019).

SIROVA BILJNA VLAKNA U KUKURUZU

Vlakna su, uglavnom, sastavni delovi biljnih ćelija, koji se ne vare u tankom crevu kada se unesu u organizam putem hrane, dok se u debelom crevu samo delomično razgrađuju dejstvom bakterija (Jašić, 2010). U zrnu kukuruza se nalaze uglavnom u perikarpu, ali su prisutna i u endospermu i klicinom zidu. Perikarp sadrži 67% hemiceluloze, 23% celuloze i 0,1 % lignina (Burge i Duensing, 1989). Vlakna čine oko 7% ukupnog sastava zrna kukuruza, ali se njihov sadržaj drastično smanjuje prilikom prerade (uklanjanja omotača zrna), stoga se preporučuje upotreba proizvoda od celog zrna kukuruza (USDA National Nutritional Database, 2021). U vlakna spada i rezistentni skrob, ugljeni hidrat koji nije potpuno svarljiv, a prema strukturi, poreklu i osobinama razlikujemo pet tipova rezistentnog skroba. U kukuruzu su prisutni: rezistentni skrob tip 1 koji je nesvarljiv zbog fizičkih osobina, tip 2, granulirane neželatinozne strukture koji α -amilaza ne razgrađuje dok ne pređe u želatinozno stanje i tip 3 koji nastaje usled zagrevanja i hlađenja tokom prerade namirnica, a njegovo stvaranje zavisi od odnosa amiloze i amilopektina u skrobu (Palacios-Rojas i sar., 2020). Rezistentni skrob povoljno utiče na probavu, nivo šećera i holesterola u krvi (Siyuan i sar., 2018).

MINERALI U KUKURUZU

Sadržaj mineralnih materija u kukuruzu u najvećoj meri zavisi od agroekoloških uslova gajenja. Najviše mineralnih materija u zrnu kukuruza prisutno je u klici, skoro 80%. Tri hemijska elementa čine skoro 85% mineralnih materija u kukuruzu, a to su: fosfor (u vidu fitata), kalijum i magnezijum (USDA National Nutrient Database, 2021). Na četvrtom mestu je sumpor, koji je uglavnom prisutan unutar metionina i cisteina. Nivo kalcijuma i gvožđa je zanemarljiv i ovi elementi obično nisu biopristupačni usled prisustva fitata (Nuss i Tanumihardjo, 2010). Najviše cinka ima u endospermu, a njegov sadržaj je u proseku oko 20 $\mu\text{g/g}$ kukuruza. Pošto je nedostatak cinka prisutan kod 17% svetske populacije, značajan napor se ulaže u stvaranje hibrida kukuruza sa povećanim sadržajem cinka, ili hibrida sa smanjenim sadržajem fitata, što bi povećalo biodostupnost cinka (Prasanna i sar., 2020).

FENOLI U KUKURUZU

Fenoli su hemijska jedinjenja koja u strukturi imaju jedan ili više aromatičnih prstenova sa jednom ili više hidroksilnih grupa. U kukuruzu su u najvećoj meri prisutne fenolne kiseline i flavonoidi (Liu, 2013).

Fenolne kiseline koje su prisutne u kukuruzu, kao što su trans-cinaminska kiselina i ferulinska kiselina, imaju toksično delovanje na mikotoksiogene gljive kukuruza, *Aspergillus flavus* i *A. parasiticus* (Siyuan i sar., 2018). Ferulinska kiselina ima dokazano antiupalno i antikancerogeno dejstvo, a povoljno deluje i na nivo šećera u krvi. Takođe, ferulinska kiselina ima i neuroprotektivno dejstvo (Mancuso i Santangelo, 2014). Fenolne kiseline su u zrnu kukuruza u najvećoj meri vezane za celulozu, lignin ili proteine i njihova antioksidantna aktivnost se povećava do 44% usled prerade (zagrevanja, pasterizacije, fermentacije) (Dewanto i sar., 2002).

Flavonoidi smanjuju rizik od pojave hroničnih oboljenja kao što su kardiovaskularni poremećaji, dijabetes i rak (Liu, 2004). Antocijani su jedna od najznačajnijih klasa flavonoida koji se mogu naći u kukuruzu i oni mu daju ružičastu do ljubičastu boju u zavisnosti od pH vrednosti i koncentracije. Boja zrna ukazuje na sadržaj antocijana: najviše ih ima u varijetetima crvenkastoružičaste boje (141,7 mg antocijana na 100 g kukuruznog brašna) (Moreno i sar., 2005). Perikarp sadrži najviše antocijana (do 50%), dok aleuronski sloj sadrži manju količinu (Luna-Vital i sar., 2017).

KAROTENOIDI U KUKURUZU

Karotenoidi su prirodni pigmenti žute, narandžaste i crvene boje. Najpoznatije su njihove uloge antioksidanasa i provitamina A (Liu, 2013). Deluju preventivno na razvoj hroničnih oboljenja i kancera (Siyuan i sar., 2018). Karotenoidi se dele u dve klase: karoteni i ksantofili. U kukuruzu se mogu naći α -karoten, β -karoten i β -kriptoksantin koji su prekursori vitamina A. Oplemenjivanjem kukuruza stvoren je narandžasti biofortifikovani kukuruz koji sadrži više karotenoida provitamina A i koji je upotrebom u Zambiji doprineo zadovoljenju dnevnih potreba za vitaminom A kod dece (Gannon i sar., 2014). Kukuruz sadrži i lutein i zeaksantin, koji se selektivno nakupljaju u oku u regionu žute mrlje, gde sprečavaju oksidativni stres i oštećenja koja izaziva svetlost kratkih talasnih dužina, stoga pozitivno deluju na sprečavanje degeneracije oka i očuvanje vida. Osim u oku, zeaksantin je pronađen i u mozgu čoveka, gde pozitivno deluje na kognitivne funkcije, i u koži, gde pomaže u zaštiti od UV zračenja. Zrno kukuruza prosečno sadrži 15,54 $\mu\text{g/g}$ luteina, 5,84 $\mu\text{g/g}$ zeaksantina i 0,54 $\mu\text{g/g}$ kriptoksantina (Murillo i sar., 2019).

VITAMIN E U KUKURUZU

Vitamin E predstavlja smešu osam izomera koji se prema strukturi dele u dve grupe: tokoferole i tokotrienole. Značajan je kao lipofilni antioksidans, pojačava imuni sistem i čuva DNK od oštećenja (Siyuan i sar., 2018). Takođe, pomaže u prevenciji Alchajmerove bolesti, neuroloških poremećaja, raka i katarakte. Ukupan sadržaj vitamina E u zrnu žutog kukuruza je 66,9 mg/kg suve materije, a najviše ga ima u klici, oko 95 odsto. Das i sar. (2021) su razvili nove visokorodne hibride kukuruza koji pored povećanog sadržaja vitamina E imaju visok sadržaj vitamina A, lizina i triptofana, što predstavlja mogućnost za rešavanje problema nehranjenosti na holistički i održiv način.

FITOSTEROLI U KUKURUZU

Fitosteroli su biljni steroli, slične strukture kao holesterol. Kukuruzno ulje je bogato fitosterolima, prosečan sadržaj je od 5,13 do 9,79 g/kg. U ukupnom sadržaju fitosterola, najzastupljeniji je sitosterol (77-87% ukupnog sadržaja), zatim sledi kampestanol (13-23%), dok je stigmasterol detektovan u tragovima (Harrabi i sar., 2008).

LITERATURA

- American Dietetic Association (2004): Comments on defining bioactive food components.
- Burge, R. M., Duensing, W. J. (1989). Processing and dietary fiber ingredient applications of corn bran, *Cereal Foods World*. 34: 535–8.
- Das, A. K., Gowda, M. M., Muthusamy, V., Zunjare, R. U., Chauhan, H. S., Baveja, A., Bhatt, V., Chand, G., Bhat, J. S., Guleria, S. K., Saha, S., Gupta, H. S., Hossain, F. (2021). Development of maize hybrids with enhanced vitamin-E, vitamin-A, lysine, and tryptophan through molecular breeding, *Frontiers in Plant Science*. 12: 1427
- Dewanto, V., Wu X. Z., Liu, R. H. (2002). Processed sweet corn has higher antioxidant activity, *J. Agric. Food Chem*. 50: 4959–4964.
- Dinges, J. R., Colleoni, C., Myers, A. M., James, M. G. (2001). Molecular structure of 3 mutations at the maize sugary1 locus and their allele-specific phenotypic effects, *Plant Physiol*. 125 (3): 1406–18.
- Gannon, B. M., Kaliwile, C., Arscott, S., Schmaelzle, S., Chileshe, J., Kalungwana, N., Mosonda, M., Pixley K., Masi, C., Tanumihardjo, S. A. (2014). Biofortified orange maize is as efficacious as a vitamin A supplement in Zambian children even in the presence of high liver reserves of vitamin A: A community-based, randomized placebo-controlled trial, *American Journal of Clinical Nutrition*, 100 (6): 1541–1550.

- García-Lara, S., Serna-Saldivar, S. O. (2019). Corn history and culture, in *Corn. Chemistry and Technology*, 3rd ed., S. O. Serna-Saldivar, Ed. Oxford, UK: AACC International Press.
- Gibbon, B. C., Larkins, B. A. (2005). Molecular genetic approaches to developing quality protein maize, *Trends Genet.* 21 (4): 227–33.
- Harrabi, S., St-Amand, A., Sakouhi, F., Sebei, K., Kallel, H., Mayer, P. M., Boukhchina, S. (2008). Phytosterols and phytostanols distributions in corn kernel, *Food Chem.* 111: 115–120.
- Jašić, M. (2010). *Uvod u biološki aktivne komponente hrane*. Univerzitet u Tuzli, Tehnološki fakultet, Tuzla.
- Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action, *J. Nutr.* 134: 3479–3485.
- Liu, R.H. (2013): Dietary bioactive compounds and their health implications, *J. Food Sci.* 78: 18–25.
- Luna-Vital, D., Li, Q., West, L., West, M., de Mejia, E. G. (2017). Anthocyanin condensed forms do not affect color or chemical stability of purple corn pericarp extracts stored under different pHs, *Food Chem.* 232: 639–647.
- Mancuso, C., Santangelo, R. (2014). Ferulic acid: Pharmacological and toxicological aspects, *Food and chemical Toxicology.* 65: 185-195.
- Moreno, Y. S., Sanchez, G. S., Hernandez, D. R., Lobato, N. R. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels, *J. Chromatogr. Sci.* 43: 483–487.
- Murillo, A. G., Hu, S., Fernandez, M. L. (2019). Zeaxanthin: metabolism, properties, and antioxidant protection of eyes, heart, liver, and skin, *Antioxidants (Basel, Switzerland).* 8 (9): 390.
- Nuss, E. T., Tanumihardjo, S. A. (2010). Maize: a paramount staple crop in the context of global nutrition, *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9 (4): 417-436.
- Ortiz-Islas, S., Garcia-Lara, S., Preciado-Ortiz, R. E., Serna-Saldivar, S. O. (2019). Fatty acid composition and proximate analysis of improved high-oil corn double haploid hybrids adapted to subtropical areas, *Cereal Chemistry.* 96: 182–192.
- Palacios-Rojas, N., McCulley, L., Kaeppler, M., Titcomb, T. J., Gunaratna, N. S., Lopez-Ridaura, S., Tanumihardjo, S. A. (2020). Mining maize diversity and improving its nutritional aspects within agro-food systems, *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2020; 19: 1809– 1834.
- Prasanna, B. M., Palacios-Rojas, N., Hossain, F., Muthusamy, V., Menkir, A., Dhliwayo, T., Ndhlela, T., San Vicente, F., Nair, S. K., Vivek, B. S., Zhang, X., Olsen, M., Fan, X. (2020). Molecular breeding for nutritionally enriched maize: status and prospects, *Frontiers in Genetics.* 10: 1392.
- Prasanna, B. M., Vasal, S. K., Kassahun, B., Singh, N. N. (2001). Quality protein maize, *Curr Sci.* 81 (10): 1308–1319.

- Siyuan, S., Tong, L., Liu, R. H. (2018). Corn Phytochemicals and Their Health Benefits, Food Science and Human Wellness.
- USDA - United States Department of Agriculture. 2021. National nutrient database for standard reference. Dostupno na: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/> . Pristupljeno: Avgust, 2024.
- Walia, A., Gupta, A. K., Sharma, V. (2019). Role of bioactive compounds in human health, Acta Scientific Medical Sciences. 3 (9): 25-33.
- Watson, S. A. (2003). Description, development, structure, and composition of the corn kernel. pp. 69–106.
- White, P. J., Weber, E. J. (2003). Lipids of the kernel. pp 355–406. In: White, P. J., Johnson, L. A., editors. Corn: chemistry and technology. 2nd ed. St. Paul, MN: American Association Of Cereal Chemists, Inc.
- Young, V. R., Scrimshaw, N. S., Pellett, P. L. (1998). Significance of dietary protein source in human nutrition: animal or plant proteins? pp 205–221.

Abstract

BIOACTIVE COMPUNDS IN MAIZE

Tatjana Dudaš, Marta Loc, Mladen Petreš, Dobrila Kovačević, Milica Meseldžija, Jozef Gašparovski, Mila Grahovac
Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad
e-mail: tatjana.dudas@polj.edu.rs

Bioactive components of maize represent an important part of its nutritional and functional value, with a direct impact on human and animal health. Maize, as a strategically important crop in Serbia, is widely used in nutrition, industry, and biofuel production, while its grain is rich in starch, proteins, lipids, dietary fiber, vitamins, and minerals. Although it is energy-dense, the protein quality is limited due to a low lysine content, which has been a target of breeding programs. Particular importance is attributed to non-nutritive bioactive compounds such as phenolic compounds, flavonoids, and carotenoids, which exhibit antioxidant, anticancer, and protective effects. Phenolic acids can inhibit the development of mycotoxigenic fungi, while carotenoids contribute to the maintenance of vision and cognitive functions. Additionally, resistant starch and dietary fiber positively affect digestive health. Overall, maize represents an important source of functional components with significant potential for improving nutrition and preventing disease.

Key words: maize, bioactive compounds, nutrition, health

MIKOTOKSINI U LANCU ISHRANE: POREKLO, TOKSIČNOST I UTICAJ NA ZDRAVLJE LJUDI I ŽIVOTINJA

Nikola Laćarac, Aleksandra Popović, Miloš Petrović, Vojin Pužić

Univerzitet u Novom Sadu – Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

E-mail: nikola.lacarac@polj.edu.rs

Izvod

Mikotoksini su sekundarni produkti metabolizma gljiva. Imaju veoma širok spektar delovanja koji je rezultat njihove raznolikosti. Alimentiranim unošenjem toksina gljiva u organizam životinja i ljudi nastaju intoksikacije, tzv. mikotoksikoze. Najznačajniji rodovi gljiva koje produkuju mikotoksine su: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* i *Claviceps*. Pored navedenih rodova gljiva utvrđeno je da postoji još preko stotinu različitih rodova koji mogu da produkuju mikotoksine. Do danas je potvrđeno i hemijski identifikovano više od 400 različitih mikotoksina. Mikotoksini uglavnom ispoljavaju opštu toksičnost prema ćelijama organizma, međutim neki mikotoksini pokazuju afinitet prema određenim ćelijama odnosno ćelijama određenih organa npr. bubrega, jetre, srca, nervnog i hematopoetskog tkiva. Toksičnost mikotoksina zavisi od mnogo faktora, pre svega od vrste i količine mikotoksina u hrani, trajanja izloženosti i načina unošenja mikotoksina u organizam kao i od opšteg zdravstvenog stanja organizma. U ovom radu akcenat je stavljen na sledeća tri mikotoksina: aflatoksin, zearalenon i deoksinivalenol (DON).

Cljučne reči: mikotoksini, aflatoksin, zearalenon, deoksinivalenol, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp.

UVOD

Do pojave mikotoksina u poljoprivrednim proizvodima, naročito žitaricama, dolazi kao posledica infekcije biljaka fitopatogenim gljivama tokom vegetacije, ili kolonizacijom proizvoda tokom transporta i skladištenja. Pojava mikotoksina je povezana sa vremenskim prilikama koje prate biljnu proizvodnju i koje, ukoliko su nepovoljne, mogu izazvati stres kod biljaka i učiniti ih podložnijim napadu patogena. Žetveni ostaci koji ostaju na parcelama su potencijalni izvor zaraze, dok insekti i druge štetočine mogu doprineti slabljenju biljaka i stvaranju ulaznih rana za napad patogena, što doprinosi pojavi mikotoksina. Iz navedenih razloga je veoma važno obezbediti što bolje uslove za razvoj biljaka tokom vegetacije kako bi na kraju dobili proizvod koji je zdravstveno bezbedan. Takođe, posebnu pažnju treba posvetiti adekvatnom skladištenju proizvoda posle žetve odnosno berbe. S obzirom da smo svedoci sve izraženijih klimatskih promena, uočeno je da do pojave mikotoksina koje

produkuju gljive iz roda *Aspergillus* dolazi u toku sušnih leta, dok u godinama sa velikom količinom padavina postoji povećan rizik od pojave mikotoksina koje produkuju gljive iz roda *Fusarium*.

TOKSINI GLJIVE ASPERGILLUS FLAVUS

Odavno je poznato da su pojedine vrste iz roda *Aspergillus* producenti mikotoksina koji kontaminiraju hranu za ljude i životinje. Antonio Micheli 1729. je prvi opisao rod *Aspergillus*. U okviru ovog roda nalazi se oko 250 vrsta, a jedna od najvažnijih sa aspekta bezbednosti hrane je *A. flavus*. Ova vrsta je kosmopolitski rasprostranjena, opstaje kao saprofit u zemljištu, a značajna je kao biljni patogen, ali i patogen insekata, životinja i ljudi. *A. flavus* se navodi kao patogen i može da kontaminira toksinima različite biljne vrste: kukuruz, pamuk, kikiriki, duvan i dr. Kod kukuruza prouzrokuje trulež klipa (Taubenhaus, 1920). Na biljkama kikirikija dovodi do pojave hloroze, nekrotičnih lezija i redukuje formiranje sekundarnih korena formirajući tzv. aflaroot, a takođe može izazvati i trulež zrelog ploda kikirikija u zemljištu (Pettit, 1984). Na duvanu inhibira razvoj korenskih dlačica (McLean, 1994), dok na pamuku izaziva trulež vlakana unutar čaure (Marsh i sar., 1955). Studije su pokazale da prisustvo aflatoksina B1 u semenima mnogih biljaka smanjuje njihovu klijavost, npr. seme pšenice, kukuruza, pamuka i dr. (McLean, 1994). Prema potrebama za ekološkim faktorima, *A. flavus* je mezofilna gljiva koja može da se razvija pri temperaturama od 17-48°C, dok su optimalne temperature za njen razvoj između 25 i 42 °C. Optimalna pH vrednost je 7,5 za rast micelije i 6,5 za razvoj konidija. Optimalna vlažnost za rast ove gljive je 80-85%.

Aflatoksini. Aflatoksini su sekundarni metaboliti gljiva *Aspergillus*. Aflatoksini su otkriveni 60-ih godina prošlog veka kada je u Engleskoj došlo do uginuća 100.000 ćuraka za šta se kasnije ispostavilo da je posledica prisustva aflatoksina u brašnu od kikirikija koje je korišćeno u ishrani ćuraka (Blout, 1961). Prema hemijskoj strukturi aflatoksini su difurokumarolaktoni koji u svojoj strukturi imaju bifuranski prsten koji se sastoji od kumarinskog jezgra i pentanskog prstena (aflatoksini B1, B2, M1) ili šestočlanog laktonskog prstena (aflatoksini G1 i G2). Identifikovano je 18 vrsta aflatoksina, ali je po svojoj zastupljenosti i toksičnosti najznačajniji aflatoksin B1. Kukuruz, kikiriki, začini i ostale žitarice poreklom iz tropskih i suptropskih oblasti predstavljaju glavne izvore aflatoksina u ishrani ljudi i životinja (EFSA, 2004).

Uticaj aflatoksina na zdravlje ljudi. Izloženost ljudi aflatoksinima može biti i preko namirnica animalnog porekla koje su dobijene od životinja hranjenih hranom kontaminiranom aflatoksinima –mleko, meso, jaja. Posebnu opasnost za decu, predstavlja mogućnost da se aflatoksin B1 unet u organizam majke izlučuje putem mleka u obliku aflatoksina M1, koji je svrstan u kancerogenu grupu 1 (IARC, 2002). Ukoliko su deca u dužem periodu izložena velikim količinama

aflatoksina, može doći do smetnji u psihofizičkom razvoju, kao i do nastanka raka jetre u kasnijem periodu života. S obzirom da je dokazano kancerogeno i citotoksično svojstvo aflatoksina, posebno aflatoksina B1 u razvoju primarnog karcinoma jetre kod ljudi, sve više istraživanja je posvećeno aflatoksinima. Ciljno tkivo aflatoksina u organizmu je jetra, međutim istraživanja su pokazala da može imati uticaja i na stvaranje tumora u bubrezima (Williams i sar., 2004). Od strane WHO označeni su kao jedinjenja za koja ne postoji tolerantan dnevni unos, tako da su maksimalne dozvoljene količine definisane po principu ALARA (As Low As Reasonably Achievable-najniži nivo koji je moguće postići). Prema propisima Evropske unije, kada je u pitanju aflatoksin B1, dozvoljena granica je od 2 do 12 µg/kg u različitim namirnicama: suvo voće, kukuruz, začini, ulje, orasi, pirinač. Za ukupnu količinu aflatoksina B1, B2, G1 i G2, dozvoljena količina je od 4 do 15 µg/kg. Kod nas su ove granice usaglašene sa Evropskom unijom. Za aflatoksin M1 prihvatljiva količina je 0,05 µg/kg kada je u pitanju sirovo, fabrički obrađeno mleko i mleko za proizvodnju mlečnih proizvoda u EU, dok je granica u hrani za bebe još niža i iznosi 0,025 µg/kg. U našoj zemlji je, kada je reč o aflatoksinu M1 koji se može naći u mleku, trenutno dozvoljena granica 0,25 µg/kg (Pravilnik o maksimalnim koncentracijama određenih kontaminanata u hrani, 2022).

Uticaj aflatoksina na zdravlje životinja. Kod većine životinja posledica konzumacije hrane kontaminirane aflatoksinom manifestuje se smanjenjem apetita, usporavanjem telesnog prirasta, smanjenjem nosivosti i proizvodnje mleka, anemijom, otokom jetre i nizom drugih poremećaja. U slučaju akutnog trovanja, odnosno unošenjem velike količine mikotoksina u kratkom periodu u organizam može doći i do težih poremećaja pa čak i uginuća životinja. Akumulacija aflatoksina je uglavnom u jetri, mišićima, želucu, bubrezima i masnom tkivu, ali i u mleku, jajima i mesu. U jetri se vrši transformacija aflatoksina B1 u M1 nakon čega dolazi do njegovog ekskreciranja u mleko. Aflatoksin M1 je u mleku vezan za kazeinsku komponentu tako da proizvodi kao što su pavlaka ili maslac sadrže manje aflatoksina u odnosu na mleko od koga su napravljeni, dok sirevi sadrže veće količine. U svrhu detekcije aflatoksina najčešće se koriste hromatografske metode kao što su tankoslojna hromatografija, tečna hromatografija visokih performansi, tečna hromatografija sa masenom spektrometrijom ali isto tako se može koristiti i imunisorbentni enzimski test (ELISA). Glavni nedostaci ovih metoda su ti što su nepovoljne za brze testove u realnom vremenu u uzorcima hrane za ljude i životinje, takođe zahtevaju i kvalifikovano osoblje za rad.

TOKSINI *FUSARIUM* spp.

Poznato je da su gljive iz roda *Fusarium* prouzrokovajući bolesti na različitim biljnim vrstama, kao i da produkuju mikotoksine, od kojih su najznačajniji zearalenon i deoksinivalenol. Bolesti žitarica prouzrokovane gljivama iz ovog roda javljaju se širom sveta, u svim klimatskim područjima.

Gljiva *F. graminearum* se najbolje razvija pri povišenoj vlažnosti vazduha (70%) i temperaturama od 18 do 24°C. Najveća produkcija zearalenona prilikom naizmeničnog smenjivanja srednjih i visokih temperatura, dok je optimalna pH vrednost medijuma za razvoj gljive i produkciju zearalenona 4,0-6,5 (Sinovec i sar. 2006). Gljive iz roda *Fusarium* kontaminaciju žitarica vrše još u polju ali se dalji razvoj i sinteza mikotoksina nastavlja i tokom skladištenja.

Zearalenon. Zearalenon je mikotoksin izolovan 60-tih godina prošlog veka iz gljive *Fusarium graminearum*. Kada su u pitanju žitarice, zearalenon se uglavnom javlja u kukuruzu koji kolonizuje *F. graminearum*, ali se može naći i u ječmu, prosu, pirinču, soji, pšenici i u drugim biljnim vrstama koje parazitira ova vrsta.

Uticaj zearalenona na zdravlje ljudi i životinja. Zearalenon ispoljava uterotropno, estrogeno i anaboličko delovanje kod životinja. Odgovoran je za reproduktivne poremećaje kod domaćih životinja pri čemu su svinje najosetljivije. Ovaj mikotoksin se vezuje za estrogene receptore i uzrokuje hormonsku neravnotežu što dovodi do hipersetrogenizma, prolapsusa vagine i rektuma, resorpcije fetusa i pobačaja. Kod ljudi izloženost većim količinama zearalenona u hrani može dovesti do preuranjenog puberteta (Minervini i Dell'Aquila, 2008).

Deoksinivalenol (DON). Deoksinivalenol (DON) pripada široj grupi mikotoksina tzv. trihotecenima, to su sekundarni produkti metabolizma gljiva iz rodova *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys* i *Fusarium* (WHO, 1990). DON kao najrasprostranjeniji mikotoksin iz ove grupe može se javiti u različitim žitaricama: pšenica, kukuruz, ječam, raž, ovas i pirinač (Kuiper-Goodman, 2002). DON je sekundarni produkt metabolizma gljiva iz roda *Fusarium*, posebno *F. graminearum* i *F. culmorum*. DON se prirodno javlja u namirnicama i uglavnom se javlja kao posledica negativnih uslova spoljašnje sredine u kojoj se biljka razvijala, veoma je termostabilan što dovodi do njegove česte pojave u namirnicama (Zhou i sar., 2020). Za razvoj gljiva producenata ovog toksina posebno su pogodne umerene temperature i visoka vlažnost u vreme cvetanja i sazrevanja biljaka. Nepovoljni uslovi tokom vegetacije izazivaju stres biljke i pogoduju razvoju pomenutih gljiva iz roda *Fusarium*.

Uticaj deoksinivalenola na zdravlje ljudi i životinja. Upotreba hrane i hrane za životinje kontaminirane DON-om predstavlja opasnost po zdravlje ljudi i životinja. Ovaj toksin izaziva probavne probleme, odbijanje hrane, dijareju, reproduktivne probleme, povećava osetljivost na druge bolesti i izaziva endokrine poremećaje. Čak i kratka izloženost visokoj koncentraciji DON-a uzrokuje gastrointestinalne probleme kod ljudi i životinja (Berthiller i sar., 2011).

ZAKLJUČAK

Gljive rodova *Fusarium* i *Aspergillus* predstavljaju značajne producente mikotoksina koji mogu kontaminirati različite poljoprivredne proizvode, naročito žitarice i proizvode od žitarica. Najvažniji mikotoksini koje ove gljive produkuju,

poput aflatoksina, deoksinivalenola i zearalenona, mogu imati štetne posledice po zdravlje ljudi i životinja, uključujući toksične, imunotoksične i kancerogene efekte. Razvoj toksigenih gljiva može se javiti tokom vegetacije biljaka na polju, ali i tokom skladištenja u uslovima povišene vlage i temperature, što dodatno povećava rizik od kontaminacije hrane i stočne hrane. S obzirom na to da potpuno uklanjanje mikotoksina iz hrane često nije moguće, poseban značaj imaju preventivne mere koje obuhvataju primenu odgovarajućih agrotehničkih postupaka, pravilno skladištenje i kontrolu uslova čuvanja proizvoda. Pored toga, savremene analitičke metode omogućavaju pouzdanu detekciju i kvantifikaciju mikotoksina, što je od ključnog značaja za procenu rizika i kontrolu bezbednosti hrane. Kontinuirani monitoring i primena preventivnih mera doprinose smanjenju njihovog prisustva na najniži razumno ostvariv nivo u skladu sa ALARA principom.

LITERATURA

- Berthiller, F., Krska, R., Domig, K.J., Kneifel, W., Juge, N., Schuhmacher, R., Adam, G. (2011): Hydrolytic fate of deoxynivalenol-3- glucoside during digestion. *Toxicol. Lett.* 206, 264– 267.
- Blout, W.P. (1961): Turkey 'X' disease., 9, 52, 55–58, 61, 77. 20.
- EFSA, 2004. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal*, 39, 1–27. 4.
- Kuiper-Goodman, T. (2002): Recent developments in the risk assessment of deoxynivalenol. *Toxicology, quality and impact on industry. Second Canadian workshop on Fusarium head blight*, Ottawa
- Marsh, P.B., Bollenbacher, K., San Antonio, J.P. and Merola, G.V. (1955): Observations on certain fluorescent spots in raw cotton associated with growth of microorganisms. *Textile Res. J.* 25, 1007–1016.
- McLean, M. (1994): The phytotoxic effects of aflatoxin B1: a review (1984–94). *S. Afr. J. Sci.* 90, 385–391.
- Micheli, P. A. (1729). *Nova plantarum genera. Florentiae.* 18 19
- Minervini, F., & Dell'Aquila, M. E. (2008). Zearalenone and reproductive function in farm animals. *International journal of molecular sciences*, 9(12), 2570-2584.
- Pettit, R.E. (1984): Yellow mold and aflatoxin. In: *Compendium of Peanut Diseases* (Porter, D.M., Smith, D.H. and Rodriguez-Kabana, R., eds), pp. 35–36. St. Paul MN: The American Phytopathological Society. Pravilnik o maksimalnim koncentracijama određenih kontaminenata u hrani, "Službeni glasnik RS", br. 81 od 15. novembra 2019, 126 od 23. oktobra 2020, 90 od 17. septembra 2021, 118 od 9. decembra 2021, 127 od 18. novembra 2022.
- Sinovec, Z., Resanovic, R., Sinovec, S. (2006): *Mikotoksini, pojava, efekti i prevencija*. Beograd 2006.

- Taubenhaus, J.L. (1920): A study of the black and yellow molds of ear-corn. Texas Agric. Exp. Sta. Bull. 270
- WHO (1990): Environmental health criteria 105, Selected mycotoxins: Ochratoxins, trichothecenes, ergot. 18
- Williams J. H., Philips T. D., Jolly P. E., Stiles J. K., Jolly C. M., Aggarwal D. (2004): Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions 1e3. American Journal of Clinical Nutrition, 80, 1106–1122.
- Zhou, H., Guog, T., Dai, H., Yu, Y., Zhang, Y., Ma, L. (2020): Deoxynivalenol: Toxicological profiles and perspective views for future research. World Mycotoxin J.13, 179–188.

Abstract

MYCOTOXINS IN THE FOOD CHAIN: ORIGIN, TOXICITY, AND IMPACT ON HUMAN AND ANIMAL HEALTH

Nikola Laćarac, Aleksandra Popović, Miloš Petrović, Vojin Puzić

University of Novi Sad – Faculty of Agriculture, Novi Sad

E-mail: nikola.lacarac@polj.edu.rs

Mycotoxins are secondary metabolic products of fungi. They have a very broad spectrum of action, which is the result of their diversity. The ingestion of fungal toxins through food causes intoxications, known as mycotoxicoses. The most significant genera of fungi that produce mycotoxins are: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, and *Claviceps*. In addition to these genera, it has been determined that there are more than a hundred other genera capable of producing mycotoxins. To date, more than 400 different mycotoxins have been chemically identified. Mycotoxins primarily exhibit general toxicity to cells, however, some mycotoxins show affinity for certain cells, specifically cells of certain organs, such as the kidneys, liver, heart, nervous, and hematopoietic tissues. The toxicity of mycotoxins depends on many factors, primarily the type and amount of mycotoxins in food, the duration of exposure, the method of toxin intake, and the general health status of the organism. This paper will focus on the following three mycotoxins: aflatoxins, zearalenone, and deoxynivalenol (DON).

Key words: fungi, mycotoxins, aflatoxin, zearalenone, deoxynivalenol

***Alternaria* spp. – PROUZROKOVAČI TRULEŽI PLODA JABUKE**
Milica Meseldžija, Dobrila Radić, Jozef Gašparovski, Miljan Miljanović,
Mila Grahovac, Snežana Rajkov, Marta Loc

Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8,
21000 Novi Sad
E-mail: milica.meseldzija@polj.edu.rs

Izvod

Vrste iz roda *Alternaria* prouzrokuju različite simptome pegavosti i truleži na velikom broju biljnih vrsta, kao i kvarenje nekih namirnica u čitavom lancu proizvodnje hrane. Osim kvantitativnih gubitaka, gljive iz roda *Alternaria* mogu prouzrokovati i kvalitativne gubitke u vidu kontaminacije mikotoksinima. Posležetvena fitopatologija plodova jabuke ima zadatak da pronade rešenja za suzbijanje većeg broja prouzrokovača truleži plodova jabuke tokom skladištenja, među kojima je i *Alternaria* spp. Identifikacija vrsta iz roda *Alternaria* na osnovu morfoloških karaktera nije dovoljno precizna, tek su molekularnom detekcijom jasno razdvojene vrste koje prouzrokuju trulež plodova jabuke. Simptomi oboljenja na plodovima jabuke obuhvataju pegavost pegavost lišća jabuke i plodova, koja se javlja tokom vegetacije, ali i trulež ploda koja se razvija nakon berbe, gde spada i trulež jezgra ploda jabuke. Vrste iz roda *Alternaria* su veoma metabolički aktivne i proizvode preko 70 različitih vrsta toksina kojima mogu kontaminirati biljke ili namirnice na kojima se razvijaju. Za suzbijanje *Alternaria* spp. na jabuci preporučuju se tretmani toplom vodom, primena neorganskih soli, kao i primena korisnih mikroorganizama sa izraženim antagonističkim delovanjem prema ovom patogenu.

Ključne reči: posležetvena fitopatologija, trulež plodova jabuke, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*.

UVOD

Jabuka je jedna od najznačajnijih voćnih vrsta koja se u Srbiji gaji na preko 26 000 ha, a prosečan prinos za period 2023-2025 je iznosio 13,6 t/ha (Republički zavod za statistiku, 2025, <https://www.stat.gov.rs/>). Veoma je podložna infekcijama fitopatogenim gljivama i pre i nakon berbe, a ekonomski najštetnijim se smatraju one koje dovode do kvarenja plodova posle berbe (Patriarca, 2019a). Mnoge fitopatogene gljive, koje prouzrokuju trulež plodova, uključujući vrste roda *Alternaria* imaju sposobnost rasta i na niskim temperaturama, te do infekcije može doći i tokom skladištenja u hladnjačama ili tokom transporta. Ekonomski gubici koji nastaju od ovih prouzrokovača oboljenja dostižu 30-40%, pa i do 60% u najekstremnijim slučajevima (Köhl i sar., 2018; Naets i sar., 2018).

Fitopatogene vrste iz roda *Alternaria* na jabuci prouzrokuju više tipova simptoma: alternarijsku pegavost lišća i alternarijsku pegavost ploda, simptomi koji se javljaju pre berbe i alternarijsku trulež ploda, simptom koji se javlja nakon berbe, prilikom čuvanja i skladištenja plodova. Još jedan značajan tip simptoma je trulež semene kućice ploda, a prodor patogena se u ovom slučaju dešava prilikom formiranja plodova. Ove infekcije su skrivene, a primećuju se tek kada se plod preseče, uglavnom tokom konzumiranja ili prerade ploda (Harteveld, 2014). Pored vidljivih fizičkih oštećenja na plodovima jabuke, vrste roda *Alternaria* imaju visok potencijal stvaranja mikotoksina, a najpoznatiji od njih su alternarioli (alternariol i alternariol monometil etar), tenuazonska kiselina, altenuen, tentoksin i alterotoksin (Li i sar., 2025).

Zadatak ovog rada je da na osnovu dostupnih literaturnih podataka pruži pregled značaja i zastupljenosti vrsta fitopatogenih gljiva roda *Alternaria*, sa posebnim osvrtom na tipove simptoma, puteve infekcije i potencijal produkcije mikotoksina. Cilj rada je da analizira savremene pristupe u detekciji i kontroli ovih patogena, kao i da navede principe održive strategije u kontroli ovih prouzrokovaca truleži, koje su zasnovane prvenstveno na biološkim i fizičkim merama kao alternativni konvencionalnoj hemijskoj zaštiti.

ROD *Alternaria*

Rod *Alternaria* je prvi put opisao Nees 1816. godine proučavajući vrstu *A. alternata* (originalan naziv: *A. tenuis*). Danas, rod *Alternaria* obuhvata oko 300 različitih vrsta koje mogu biti izolovane iz velikog broja supstrata (Thomma, 2003; Simmons, 2007; Woudenberg i sar., 2013; Fontaine i sar., 2021). Vrste roda *Alternaria* najčešće su saprofiti koji se nalaze u zemljištu ili na raspadajućim biljnim tkivima, a energiju dobijaju kao rezultat celulitičke aktivnosti, što znači da su u velikoj meri uključeni u razlaganje različitih organskih materija.

Alternaria spp. su jedne od najprisutnijih patogenih gljiva u poljoprivredi i prehrambenoj industriji i prouzrokuju bolesti kod mnogih ekonomski važnih useva uključujući žitarice, ukrasno bilje, uljarice, povrće kao što su karfiol, brokoli, mrkva, krompir, ali i voće poput citrusa, lešnika i jabuke (Meena i sar., 2017; Thomma, 2003; Fontaine i sar., 2021). Vrste roda *Alternaria* su sposobne da izazovu i latentne infekcije koje rezultiraju bolestima nakon žetve ili tek nakon klijanja u slučaju zaraženog semena. *Alternaria* spp. su veoma česti skladišni patogeni gde mogu da prouzrokuju velike ekonomske gubitke pogotovo u hladnjačama u kojima se čuvaju plodovi jabuka.

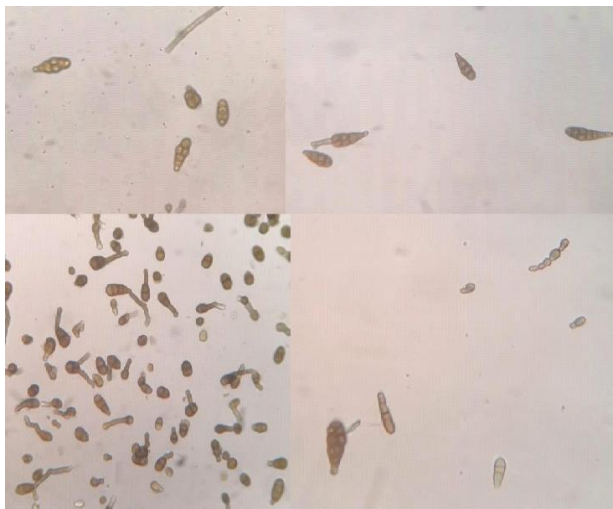
Li i sar. (2013) navode da vrsta *A. alternata* prouzrokuje pegavost lišća i pegavost plodova jabuke pre berbe. Hartevelde i sar. (2013) navode da su vrste: *A. mali*, *A. alternata*, *A. arborescens*, *A. longipes* i *A. tenuissima* najčešći patogeni jabuke. Rotondo i sar. (2012) u svom istraživanju navode da vrste *A. alternata*, *A. tenuissima* i *A. arborescens* prouzrokuju alternarijsku pegavost listova i pegavost voća pre berbe u Italiji. Isti patogeni se takođe navode kao najčešći prouzrokovajući alternarijske truleži ploda jabuke koja se javlja nakon berbe (Serdani i sar., 2002, Gao i sar., 2013). Pavicich i sar. (2019) navode da je populacija *Alternaria* spp. poreklom sa ploda jabuke pokazala nizak stepen biodiverziteta sa apsolutnom dominacijom vrste *A. tenuissima* (95%). U SAD na plodovima jabuke sa simptomima truleži, poreklom iz hladnjača, detektovane su vrste *Alternaria alternata* (Jurick i sar., 2014) i vrsta *Alternaria tenuissima* (Kou i sar., 2014). Da je vrsta *A. arborescens* patogena i da prouzrokuje trulež semene kućice na plodovima jabuke, kod sorte Svitango, dokazali su Ali i sar. (2021) u Novom Zelandu. U Srbiji, alternarijska pegavost lista jabuke je detaljno opisana od strane Bulajić i sar., 1996.

Neke *Alternaria* spp. su od kliničkog značaja, jer su poznate po proizvodnji toksičnih sekundarnih metabolita, od kojih su neki moćni mikotoksini štetni za ljude i životinje. Pored toga vrste roda *Alternaria* se povezuju sa alergijama kod ljudi kao i sa kožnim infekcijama (Schultze-Werninghaus, 2012).

Pravilna determinacija vrsta ovog roda se danas postiže proučavanjem morfoloških karakteristika i primenom molekularne identifikacije.

MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE

Rod *Alternaria* se lako razlikuje od drugih rodova gljiva po karakterističnim konidijama koje produkuje. Konidije su tamno obojene, višćelijske, sa poprečnim i uzdužnim pregradama (Slika 1). Obično se pojavljuju u lancima, ili pojedinačno i sadrže apikalni kljun ili sužene apikalne ćelije (Elliott, 1917).



Slika 1. Konidije *Alternaria* (Orig.)

Kolonije su obično sive, zelenkaste, tamno maslinaste, tamno smeđe ili crne boje (Slika 2.) Micelija je površinska, a hife su bezbojne, maslinasto-braon ili braon boje (Lawrence et al., 2016).



Slika 2. Izgled micelije *Alternaria* spp. na KDA podlozi (Orig.)

MOLEKULARNA IDENTIFIKACIJA

Kroz istoriju bilo je mnogo neuspešnih pokušaja da se utvrde ključ identifikacije i sistem klasifikacije roda *Alternaria*, zasnovani na morfološkim, fiziološkim i genetičkim metodama. Razvoj molekularnih tehnika identifikacije pomogao je da se razjasni genetički diverzitet vrsta iz roda *Alternaria* (Woudenberg i sar., 2013). Razvojem biotehnologije dizajnirani su specifični parovi prajmera koji amplifikuju proizvode različitih veličina baznih parova za svaku vrstu i podvrstu, što olakšava i ubrzava detekciju vrsta unutar roda *Alternaria*.

Prilikom molekularne identifikacije mogu se koristiti različiti lokusi, kao što su rDNK, ITS, mala podjedinica mitohondrija i mnogi geni koji kodiraju proteine (Andrew i sar. 2009; Hong i sar. 2005; Lawrence i sar. 2013, Woudenberg i sar., 2013). Lawrence i sar. (2013) su u svojoj multi lokusnoj studiji pokazali da su pri identifikaciji *Alternaria* spp. najkorisniji geni koji kodiraju proteine kao što su: ATPaza plazma membrane (ATPaza), kalmodulin (CAL), glavni *Alternaria* alergen Alt a1 (Alt a1), gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza i aktin. ATPaza i kalmodulin se preporučuju kao najprikladniji markeri za molekularnu identifikaciju unutar roda *Alternaria*. Geni kao što su β -tubulin i tef 1- α su se pokazali kao najmanje informativni za identifikaciju *Alternaria* spp. Gen histon 3 (HIS3) se uspešno upotrebljava za odvajanje *A. alternata* od *A. tenuissima* (Lawrence i sar. 2013).

PATOGENEZA *Alternaria* spp.

Pripadnici roda *Alternaria* često izazivaju latentne infekcije tokom kojih gljiva prodire u tkivo biljke, gde ostaje neaktivna sve dok se ne stvore povoljni uslovi sredine koji podstiču početak infekcije. Gljive iz roda *Alternaria* prezimljavaju micelijom ili sporama koje se zadržavaju na biljnim ostacima, ili u semenu mnogih biljaka (Rotem, 1994). U proleće gljiva na mestu prezimljavanja formira konidije koje ostvaruju primarnu infekciju. Spore se veoma lako šire vetrom i kada dospeju na biljku mogu da ostvare infekciju. Broj zaraza se povećava nakon kišnih perioda, dok generalno razvoju bolesti pogoduje kišovito vreme tokom leta i povišene temperature. Optimalna temperatura za infekciju, porast micelije, sporulaciju i klijanje spora je 25-30 °C.

Oslabljena tkiva usled stresa, starenja ili ranjavanja su podložnija infekciji od zdravih tkiva. Saprofitne vrste *Alternaria* mogu postati parazitske u kontaktu sa oslabljenim domaćinom.

Uprkos taksonomskim i patogenim razlikama između vrsta *Alternaria*, one izazivaju slične obrasce infekcije. Dormantne spore koje imaju jako melanizovane zidove, pod povoljnim uslovima, stvaraju jednu ili više klicinih cevi, pomoću kojih prodiru u domaćina putem stoma, direktno kroz kutikulu ili rane, sa ili bez formiranja malih apresorija. Kod manje virulentnih vrsta mesto prodiranja su rane i stome, dok virulentnije vrste mogu da prodru direktno u biljku (Rotem, 1994). Enzimski procesi koji prate infekciju biljke vrstama iz roda *Alternaria* su u suštini slični kao i kod drugih biljnih bolesti (Trail i Köller, 1993; Yao i Köller, 1994). Fitopatogene vrste iz roda *Alternaria* na jabuci prouzrokuju više tipova simptoma: alternarijsku pegavost lišća, alternarijsku pegavost ploda i alternarijsku trulež ploda (Harteveld, 2014).

SIMPTOMI OBOLJENJA NA JABUCI

Simptom alternarijske pegavosti na listovima. Tokom kasnog proleća ili ranog leta u voćnjacima, na listovima jabuke se pojavljuju okrugle, ljubičaste ili crne tačkaste pege čiji se prečnik postepeno povećava, a ivica pege poprima ljubičastu boju. Lezije podležu sekundarnom uvećanju, poprimaju nepravilan oblika i postaju tamnije. Ovaj simptom je zbog specifičnog izgleda dobio naziv “žablje oko” (Slika 3). Ukoliko se infekcija proširi na peteljku, lišće žuti i prerano opada (Filajdić i sar., 1995).

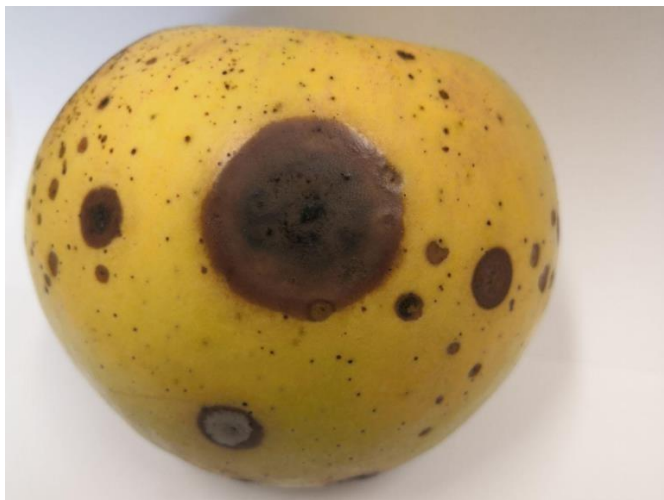


Slika 3. Alternarizona pegavost lista jabuke (Orig.)

Simptomi na plodu jabuke pre berbe. Infekcija ploda jabuke u voćnicama, fitopatogenim vrstama roda *Alternaria* uglavnom započinje u lenticelama, a manifestuje se simptomom alternarijske pegavosti. Simptom se odlikuje pojavom okruglih, tačkastih, tamnih, blago ulegnutih pega oko lenticela. Ova pegavost ploda jabuke započinje u lenticelama, a prouzrokovatelj ne izaziva truljenje ploda. Na plodu, u letnjem periodu, se uočavaju krastaste pege ili tačkasta suva trulež na mestu infekcije (Sawamura, 1990).

Simptom truleži jezgra ploda jabuke karakteriše se pojavom tamno smeđe boje tkiva unutar semene kućice. Ovaj simptom započinje u semenoj kućici i širi se po mezodermu ploda. Trulež jezgra ploda jabuke može biti suva (DCR, dry core rot eng.) i vlažna (WCR, wet core rot, eng.). Kod suve truleži jezgra ploda dolazi do pojave tamnosmeđih, suvih i plutastih tkiva. Ovaj tip simptoma se razvija sporo i trulež je ograničena na semenu kućicu i tkivo oko nje (Shtienberg, 2012). Vlažna trulež jezgra ploda se takođe karakteriše tamno smeđe obojenim tkivom, međutim, bolest napreduje brže i trulež se širi dublje u mezoderm. Spoljašnji simptomi nisu primetni do berbe, već se uglavnom identifikuju tek kada se plod preseče na pola, ili tokom skladištenja ukoliko se trulež proširi i na spoljašnji deo ploda. Pored DCR i WCR, postoji još jedna vrsta simptoma na jezgru ploda, a to je plesnivo jezgro (MC moldy core, eng.). Ovaj simptom karakteriše pojava i razvoj micelije gljive unutar semene kućice, bez širenja na mezoderm ploda. Ova bolest ima manji ekonomski značaj (Serdani i sar., 2002). Infekcija jezgra ploda uglavnom započinje prilikom zametanja ploda ili u kasnijim fazama razvoja ploda (Combrink i sar., 1984; Reuveni i sar., 2002). U nekim slučajevima može doći do preranog sazrevanja i opadanja plodova (Biggs i sar., 1993; Reuveni i sar., 2006a; Reuveni i sar., 2006b; Spotts, 1990; Shtienberg, 2012).

Simptom truleži ploda posle berbe. Alternarijska trulež ploda jabuke nakon berbe se javlja se širom sveta. Inicijalne infekcije se mogu javiti u voćnjaku pre berbe ili tokom skladištenja na hladnom, i manifestuju se pojavom crvenih tačkastih pega smeštenih oko lenticela. Kasnije, u toku skladištenja, na plodovima, dolazi do pojave okruglih, tamnih, suvih i sunderastih lezija (Slika 4).



Slika 4. Tamne pege oko lenticela, prouzrokovane gljivom iz roda *Alternaria* (Orig.)

U vlažnoj sredini, na površini ploda primećuje se prisustvo micelije svetlo-sive do maslinaste boje. Kada gljiva inficira oštećene plodove izaziva meku trulež, mrke boje koja se širi po površini ploda (Slika 5).



Slika 5. Simptom alternarijske truleži ploda jabuke tokom perioda skladištenja (Orig.)

MIKOTOKSIGENI POTENCIJAL

Alternaria je rod koji se odlikuje sposobnošću stvaranja izuzetno velikog broja sekundarnih metabolita (oko 70), od kojih su mnogi potencijalno štetni zagađivače hrane. Mnoga od tih jedinjenja su priznati mikotoksini (Tabela 1), dok su neki zbog sličnosti svoje hemijske strukture sa drugim poznatim toksičnim jedinjenjima, sumnjivi, i potrebno ih je detaljnije istraživati (Lopez i sar., 2016; Fernandez i sar., 2017; Patriarca i sar., 2019b).

Početak proučavanja *Alternaria* toksina datira iz 1960-1970-ih. U tom periodu je prvi put prijavljeno da neki metaboliti, koje proizvode *Alternaria* spp., ispoljavaju toksične efekte (Pero i sar., 1973). Najznačajniji mikotoksini koje proizvode vrste iz roda *Alternaria* su alternarioli (alternariol i alternariol monometil etar), tenuazonska kiselina, altenuen, tentoksin i alterotoksin.

Tabela 1 Mikotoksini i toksični sekundarni metaboliti koje proizvode vrste *Alternaria* se mogu svrstati u pet klasa supstanci (Puntscher et al., 2018)

Derivati dibenzo-a- pirona	Derivati perilen kinona	Derivati tetraminske kiseline	minopentol estri	Razne strukture
alternariol (AOH)	altertoksin I ATX-I	tenuazonska kiselina (TeA)	TA1	tentoksi n (TEN)
alternariol monometil etar (AME)	altertoksin II ATX-II	alo- tenuazonska kiselina (alloTeA)	TA2	altenuin ska kiselina III (AA-III)

altenuen (ALT)	altertoksin III ATX-III	altersetin (AST)	TB1
izoaltenuen (isoALT)	alterperilenol (ALP)		TB2
altenuzin (ALS)	stemfiltoksin III (STTX-III)		

Pavicich i sar. (2020) su u svom radu naveli da je većina ispitivanih *Alternaria* izolata bila u stanju da proizvede alternariol, alternariol monometil etar i tenuazonsku kiselinu *in vitro*, u medijumu sa jabučnim agarom. Ntasiou i sar. (2015) su objavili da su izolati *A. tenuissima* i *A. arborescens* su proizveli alternariol, alternariol monometil etar i tenuazonsku kiselinu *in vitro* i *in vivo*. Puntscher i sar. (2020) su prvi otkrili prisustvo altertoksina II (ATX-II) u prirodnom kontaminiranim jabukama poreklom iz voćnjaka. Ovaj toksin je visoko genotoksičan i ima sposobnost prekidanja lanca DNK. Fleck i sar. (2012) su zaključili da je altertoksin II najmanje 50 puta snažniji mutagen od alternariola (AOH) i alternariol metil-etra (AME). Alternarioli su genotoksični i mutageni *in vivo*, i povezani su sa pojavom raka jednjaka, što je proučavano u Kini.

Tenuazonska kiselina se dovodi u vezu sa akutnom toksičnošću kod životinja i sa hematološkim poremećajima kod ljudi u Africi (Fernandez i sar., 2017; Patriarca, 2016).

U poljoprivrednim proizvodima koncentracije *Alternaria* mikotoksina su niske. Za detekciju tragova mikotoksina, koriste se visoko osetljive analitičke tehnike detekcije. U upotrebi su gasna hromatografija (GC), tečna hromatografija (LC), tankoslojna hromatografija (TLC), enzimski imunosorbentni test (ELISA), tečna hromatografija zajedno sa masenom spektrometrijom (MS) i gasna hromatografija u kombinaciji sa masenom spektrofotometrijom (Chen i sar., 2021)

U aprilu 2022. godine usvojena je preporuka Evropske komisije (EU) 2022/553 o praćenju prisustva *Alternaria* toksina u hrani. Po ovoj preporuci države članice, u bliskoj saradnji sa subjektima u poslovanju sa hranom, treba da prate prisustvo

alternariola, alternariol monometil etra i tenuazonske kiseline u prerađenim proizvodima od paradajza, paprike u prahu, susama, suncokretovog semena, suncokretovog ulja, oraha, suvih smokvi i hrane na bazi žitarica za odojčad i malu decu. Količina alternariola i alternariola monometil etra ne bi trebalo da bude veća od 2 mg/kg, u hrani na bazi žitarica za odojčad i malu decu i 4 mg/kg u ostaloj hrani. Količina tenuazonske kiseline ne bi trebalo da bude veća od 20 mg/kg u svim ispitivanim namirnicama.

SUZBIJANJE *Alternaria* spp.

Suzbijanje gljivičnih infekcija ploda pre i posle berbe bi trebalo da podrazumeva primenu svih raspoloživih mera. Sintetički fungicidi se najčešće koriste prilikom zaštite bilja jer su efikasni i imaju nisku cenu, ali mnogi od njih, poput benzimidazola i dikarboksimida, gube svoju efikasnost usled razvoja rezistencije kod mnogih patogena. Pored toga česta pojava prilikom korišćenja fungicida je prisustvo ostataka fungicida u hrani što ugrožava zdravlje ljudi i šteti životnoj sredini (Banoo i sar., 2020).

Biološke mere kontrole. U poslednjim godinama sve veću pažnju dobijaju mikrobni agensi za biokontrolu, posebno u proizvodnji voća i u suzbijanju skladišnih patogena, jer biofungicidi imaju dobru efikasnost i kratku karencu. U tu svrhu sve više se ispituje međusobni odnos mikroorganizama, koji su prirodno prisutni na površini voća i povrća. Ovi mikroorganizmi su poznati kao epifiti, a njihova efikasnost u suzbijanju fitopatogenih gljiva je dokazana u mnogim istraživanjima. Preparati koji sadrže mikrobne antagoniste se mogu primeniti pre ili posle berbe, mada se primena posle berbe pokazala efikasnijom od primene pre berbe (Abano i sar., 2012). Nakon berbe, preparati koji sadrže mikrobne kulture se mogu primeniti prskanjem plodova ili portapanjem plodova u rastvor antagonista (Barkai-Golan i sar., 2001).

Biasi i sar. (2021) su u svom ogledu primenili kvasac *Metschnikowia fructicola* kao agens za biokontrolu skladišnih patogena jabuke i dokazali su da je primenjeni kvasac opstao na površini ploda jabuke tokom čitavog perioda skladištenja i da je značajno smanjio populaciju nekoliko gljivičnih patogena jabuke, među kojima su i vrste iz roda *Alternaria*.

Pojedini bakterijski sojevi *Pseudomonas* spp. i *Bacillus* spp. su sposobni da inhibiraju radikalni rast micelije fitopatogenih gljiva iz roda *Alternaria*, koje ugrožavaju plodove jabuke posle berbe (Banoo i sar., 2020).

Vrsta *Trichoderma asperellum*, koja je prirodno prisutna u zemljištu je pokazala antagonističko delovanje prema izolatu *Alternaria* spp. poreklom sa zaraženih listova jabuke. Prema rezultatima testa biokontrole efikasnost inhibicije je bila između 50% i 93% (Matas-Baca i sar., 2021). Pandey (2010) je u svom istraživačkom radu otkrio da vrste *Trichoderma harzianum* i *T. viride* inhibiraju razvoj vrste *A. alternata*.

Fizičke mere kontrole. Sa istim ciljem smanjenja upotrebe sintetičkih hemijskih aktivnih materija u suzbijanju fitopatogenih gljiva, efikasne mere pri suzbijanju vrsta *Alternaria* na jabukama posle berbe su upotreba toplotnih tretmana i upotreba neorganskih soli.

Temperatura je veoma bitan faktor, čija promena utiče na rast i razvoj gljiva. Abdulla i Alhdad (2022) su uspešno primenili toplotni tretman u cilju suzbijanja truleži na plodovima jabuka, prouzrokovane vrstama *Alternaria porri* i *Alternaria mali*, na temperaturi 55°C, a vreme izlaganja plodova tim temperaturama je bilo od 4 do 6 minuta. Uspešnu kontrolu prouzrokovača truleži plodova jabuke primenom toplotnih tretmana su zabeležili Petreš i sar. (2020).

Fallik i sar. (2001) navode da je tretman toplom vodom i četkicama značajno umanjio trulež plodova jabuke, ali da je i usporio proces sazrevanja, kao i promenu u boju plodova koja je karakteristična za postizanje pune zrelosti.

Kalijum-bikarbonat, kalcijum-hlorid, natrijum-bikarbonat i amonijum-bikarbonat su soli koje su se pokazale kao koristan agens u prevenciji gljivičnih oboljenja biljaka (Ziv i Zitter 1992; Palmer i sar., 1997, Zaker, 2014). Zaker (2014) je ispitivao antifungalno delovanje kalcijum-hlorida, natrijum-bikarbonata, kalijum-bikarbonata i amonijum-bikarbonata na plodovima jabuke koje su inokulisane vrstama *Alternaria porri* i *Alternaria mali*. U svim tretmanima rast gljiva se smanjivao sa povećanjem koncentracije soli, a najbolji antifungalni efekat je pokazao kalijum-bikarbonat u suzbijanju *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* i *B. cinerea*. Slične rezultate koji pokazuju efikasnost neorganskih soli kalcijum-hlorida i natrijum-bikarbonata dobili su Nahal i sar., (2009). Inhibitorni uticaj koji imaju bikarbonatne soli na mikroorganizme može biti posledica smanjenja turgora u ćelijama mikroorganizama kada se nađu u slanoj sredini, što prouzrokuje sušenje i dehidrataciju hifa i spora i dovodi do ograničenja sposobnosti rasta gljive i kljivanja spora, tj. do fungistaze (Abdulla i Alhdad, 2022).

ZAKLJUČAK

Alternaria spp. su jedne od najprisutnijih patogenih gljiva u poljoprivredi i prehrambenoj industriji i prouzrokuju bolesti kod mnogih ekonomski važnih biljnih vrsta, među kojima je i jabuka. Pored direktnih šteta koje se ogledaju u smanjenju prinosa, ove gljive produkujú mikotoksine koji su dokazano štetni po zdravlje ljudi i životinja. Dobra poljoprivredna praksa, dobri uslovi skladištenja i transporta, kao i dobra proizvodna praksa mogu smanjiti ili sprečiti prisustvo toksina u hrani. Patogene vrste roda *Alternaria* su prisutne u svim regionima gajenja jabuke, a posebno u državama koje su najveći proizvođači ovog voća. Tokom prošlog veka identifikacija vrsta iz roda *Alternaria* se zasnivala na morfološkim karakteristikama i izgledu konidija, što je pogrešno, jer se po tim karakteristikama ove vrste veoma teško definišu zbog njihove sposobnosti da formiraju različite oblike konidija pod različitim uslovima sredine. Tek krajem prošlog veka, upotrebom molekularnih metoda identifikacije, postiglo se preciznije definisanje vrsta unutar roda. Upotrebom molekularnih metoda identifikacije i proverom patogenosti utvrđeno je da su vrste: *A. mali*, *A. alternata*, *A. arborescens*, *A. longipes* i *A. tenuissima* najčešće fitopatogene gljive iz roda *Alternaria* na jabuci. U našoj zemlji prvi opis štetnosti vrste *Alternaria mali* na lišću i plodu jabuke datira iz 1996 godine. Od tada ova vrsta, kao i oboljenje koje izaziva, se sve češće detektuje, a pogotovo u periodu kišovito g i toplog leta. Ostale nabrojane vrste su pretežno patogeni koji prouzrokuju trulež plodova jabuke nakon berbe, u uslovima skladištenja gde su temperature značajno niže, posebno u hladnjačama. Primena odgovarajućih mera kontrole patogena posle berbe, predstavlja osnovu profitabilne proizvodnje jabuke. Nove tehnologije i njihova primena u zaštiti bilja teže ka smanjenju upotrebe sintetičkih fungicida i pronalaženju dovoljno efikasnih alternativnih mera. Jedna od tih alternativnih mera je i biološka kontrola (biokontrola). Biokontrola je važna strategija upravljanja bolestima biljaka, jer podrazumeva upotrebu živih mikroorganizama za smanjenje i održavanje populacije fitopatogenih vrsta ispod nivoa koji izaziva ekonomske gubitke. Poslednjih godina, sve više istraživanja se bazira na otkrivanju mikroorganizama antagonista štetnih vrsta, pa su tako mikroorganizmi *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* spp. i *Metschnikowia fructicola* našli svoju primenu u suzbijanju štetnih vrsta *Alternaria* na jabuci.

LITERATURA

- Abano EE, Amoah LK. (2012): Application of antagonistic micro-organism for the control of post-harvest decays in fruits and vegetables. *Int J Adv Biol Res.*2:1-8.
- Abdulla, A., Alhdad, G. (2022): Control of Apple Fruit Rot Caused By *Alternaria porri* And *Alternaria mali* By Using Hot Water Treatment And Some Inorganic Salts. *Scientific Journal for the Faculty of Science-Sirte University.* 2, 1, 47-56.
- Ali S, Abbasi P, Rehman S, Ellouze W. (2021): First Report of Moldy Core of Sweet Tango Apples from New Zealand Caused by *Alternaria arborescens*. *Plant Disease*. DOI: 10.1094/pdis-01-21-0025-pdn. PMID: 33761775.
- Andrew, M., Peever, T. L., Pryor, B. M. (2009): An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. *Mycologia* 101:95-109.
- Banoo A, Shahnaz E, Banday S, Rasool R, Bashir T, Latif R (2020): Studies on Predominant Epiphytic Micro-flora as Antagonists to Post-harvest Pathogens of Apple. *J Plant Pathol Microbiol.* 11:512. doi: 10.35248/2157-7471.20.11.512
- Barkai-Golan R. (2001): Biological Control. In: *Post-harvest diseases of fruit and vegetables: Development and Control*. Elsevier, Amsterdam. 2001;147-188.
- Biasi, A.; Zhimo, V.Y.; Kumar, A.; Abdelfattah, A.; Salim, S.; Feygenberg, O.; Wisniewski, M.; Droby, S. (2021): Changes in the Fungal Community Assembly of Apple Fruit Following Postharvest Application of the Yeast Biocontrol Agent *Metschnikowia fructicola*. *Horticulturae*, 7, 360.
- Biggs, A. R., Ingle, M., Solihati, W. D. (1993): Control of *Alternaria* infection of fruit of apple cultivar Nittany with calcium chloride and fungicides. *Plant Dis.* 77:976- 980.
- Bulajic A, Flajdic N, Babovic M, Sutton TB, (1996): First report of *Alternaria mali* on apples in Yugoslavia. *Plant Disease* 80, 709.
- Chen Anqi, Xin Mao, Qinghui Sun, Zixuan Wei, Juan Li, Yanli You, Jiqiang Zhao, Guibin Jiang, Yongning Wu, Liping Wang, Yanshen Li (2021): *Alternaria* Mycotoxins: An Overview of Toxicity, Metabolism, and Analysis in Food *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2021 69 (28), 7817-7830 DOI: 10.1021/acs.jafc.1c03007
- Combrink, J.C., Visagie, T.R., Grobbelaar, C.C. (1984): Variation in the incidence and occurrence in different production areas of core rot in Starking apples. *Deciduous Fruit Grow.* 34, 88–89.
- Commission Recommendation (EU) 2022/553 of 5 April 2022 on monitoring the presence of *Alternaria* toxins in food C/2022/2020, OJ L 107, 6.4.2022, p. 90–92
- Elliott JA (1917): Taxonomic characters of the genera *Alternaria* and *Macrosporium*. *American Journal of Botany* 4: 439–476.

- Fallik, E., Tuvia-Alkalai, S., Feng, X., Lurie, S. (2001). Ripening characterisation and decay development of stored apples after a short pre-storage hot water rinsing and brushing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(2), 127-132.
- Fernandez Pinto VE, Patriarca A. (2017): *Alternaria* species and their associated mycotoxins. In *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, , vol 1542. Edited by Moretti A, Susca A. Springer Science+Business Media; http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-6707-0_2.
- Filajdić N, Sutton TB, Walgenbach JF, Unrath CR (1995): The influence of European red mites on intensity of *Alternaria* blotch of apple and fruit quality and yield. *Plant Disease* 79, 683-90.
- Fleck, B. Burkhardt, E. Pfeiffer, M. Metzler (2012): *Alternaria* toxins: altertoxin II is a much stronger mutagen and DNA strand breaking mycotoxin than alternariol and its methyl ether in cultured mammalian cells, *Toxicol. Lett.* 214 (1) 27e32.
- Fontaine K, Fourrier-Jeandel C, Armitage AD, Boutigny A, Crépet M, Caffier V, Gnide DC, Shiller J, Le Cam B, Giraud M, Ioos R, Aguayo J. (2021): Identification and pathogenicity of *Alternaria* species associated with leaf blotch disease and premature defoliation in French apple orchards. *PeerJ* 9:e12496 <https://doi.org/10.7717/peerj.12496>
- Gao LL, Zhang Q, Sun XY, Jiang L, Zhang R, Sun GY, Zha YL, Biggs AR (2013): Etiology of moldy core, core browning and core rot of Fuji apple in China. *Plant Disease* 97, 510-6.
- Harteveld DOC, Akinsanmi OA, Drenth A, (2013): Multiple *Alternaria* species groups are associated with leaf blotch and fruit spot diseases of apple in Australia. *Plant Pathology* 62, 289-97
- Harteveld, Dalphy. (2014): Etiology and diversity of *Alternaria* leaf blotch and fruit spot of apples in Australia. 10.13140/RG.2.1.4183.9129.
- Hong SG, Cramer RA, Lawrence CB, Pryor BM. (2005): Alta 1 allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. *Fungal Genetics and Biology* 42:119–129 DOI 10.1016/j.fgb.2004.10.009.
- Jurick, W. M., Kou, L. P., Gaskins, V. L., Luo, Y. G. (2014): First Report of *Alternaria alternata* Causing Postharvest Decay on Apple Fruit During Cold Storage in Pennsylvania. *Plant Disease*, 98(5), 690–690. doi:10.1094/pdis-08-13-0817-pdn
- Köhl, J., Wenneker, M., Groenenboom-de Haas, B.H., Anbergen, R., Goossen-van de Geijn, H.M., Lombaers-van der Plas, C.H., Pinto, F.A.M.F. Kastelein, P. (2018): Dynamics of post-harvest pathogens *Neofabraea* spp. and *Cadophora* spp. in plant residues in Dutch apple and pear orchards. *Plant Pathol*, 67: 1264-1277. <https://doi.org/10.1111/ppa.12854>
- Kou LP, Gaskins VL, Luo YG, Jurick WM 2nd. (2014): First Report of *Alternaria tenuissima* Causing Postharvest Decay on Apple Fruit from Cold Storage in

- the United States. *Plant Dis.* 98(5):690. doi: 10.1094/PDIS-07-13-0802-PDN. PMID: 30708506.
- Lawrence DP, Gannibal PB, Peever TL, Pryor BM (2013): The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. *Mycologia* 105: 530–546
- Lawrence, D.P.; Rotondo, F.; Gannibal, P.B. (2016): Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria*. *Mycol. Prog.* 15
- Li, Y., Cai, Y., Yu, K., Chao, Y., Li, J., Zhang, L. (2025): Identification, mycotoxigenic ability and biosynthesis genes of *Alternaria* spp. from apples in China. *International Journal of Food Microbiology*, 111491.
- Li Y, Aldwinckle HS, Sutton T, Tsuge T, Kang G, Cong P, Cheng Z, (2013): Interactions of apple and the *Alternaria alternata* apple pathotype. *Critical Reviews in Plant Sciences* 32, 141-50.
- Lopez P, Venema D, de Rijk T, de Kok A, Scholten JM, Mol HGJ, de Nijs M (2016): Occurrence of *Alternaria* toxins in food products in The Netherlands. *Food Control*, 60:196-204.
- Matas-Baca, Miguel & Urías García, Crescencio & Pérez Álvarez, Sandra & Flores Cordova, Maria & Escobedo-Bonilla, César & Magallanes-Tapia, Marco, Sánchez- Chávez, Esteban. (2021): Morphological and molecular characterization of a new autochthonous *Trichoderma* sp. isolate and its biocontrol efficacy against *Alternaria* sp. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 29. 10.1016/j.sjbs.2021.12.052.
- Meena M, Gupta SK, Swapnil P, Zehra A, Dubey MK, Upadhyay RS. (2017): *Alternaria* toxins: potential virulence factors and genes related to pathogenesis. *Frontiers in Microbiology* 8:1451 DOI 10.3389/fmicb.2017.01451.
- Naets M, van Dael M, Vanstreels E, Daelemans D, Verboven P, Nicolai B, Keulemans W, Geeraerd A. (2017): To disinfect or not to disinfect in postharvest research on the fungal decay of apple? *Int J Food Microbiol* 266:190-199. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.003.
- Nahal, S. .El-Mougy and Mokhtar M. Abdel-Kader. (2009): Salts application for suppressing potato early blight disease. *J. of Pl. Prot. Res.* 49(4):353-361. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10045-009-0055-8>.
- Nees von Esenbeck CG. (n.d.) 1816 (“1817” in some copies). *Das System der Pilze und Schwämme*:72.
- Ntasiou P, Myresiotis C, Konstantinou S, Papadopoulou-Mourkidou E, Karaoglanidis GS. (2015): Identification, characterization and mycotoxigenic ability of *Alternaria* spp. causing core rot of apple fruit in Greece. *Int J Food Microbiol* 16, 197:22-9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.008.
- Palmer CL, Horst RK and Langhans RW. (1997): Use of bicarbonates to inhibit *in vitro* growth of *Botrytis cinerea*. *Plant Dis.* 81: 1432–1438. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.12.143 2.
- Pandey A. (2010): Antagonism of two *Trichoderma* species against *Alternaria alternata* on *Capsicum frutescens* *J. Exp. Sci.*, 1 (5) pp. 18-19

- Patriarca A, da Cruz Cabral L, Pavicich MA, Nielsen KF, Andersen B. (2019a): Secondary metabolite profiles of small-spored *Alternaria* support the new phylogenetic organization of the genus. *Int J Food Microbiol*, 291:135-143.
- Patriarca A. (2016): *Alternaria* in food products. *Curr Opin Food Sci*, 11:1-9.
- Patriarca, A. (2019a). Fungi and mycotoxin problems in the apple industry. *Current Opinion in Food Science*.
- Pavicich, María & Boevre, Marthe & Vidal, Arnau & Iturmendi, Facundo & Mikula, Hannes & Warth, Benedikt & Saeger, Sarah & Patriarca, Andrea. (2020): Fate of free and modified *Alternaria* mycotoxins during the production of apple concentrates. *Food Control*. 118. 107388. 10.1016/j.foodcont.2020.107388.
- Pero R, Posner H, Blois M, Harvan D, Spalding J. (1973): Toxicity of metabolites produced by the *Alternaria*^ . *Environ Health Perspect*; 4:87.
- Petreš, M., Kalajdžić, J., Milić, B., Magazin, N., Stankov, A., Vukotić, J., Grahovac, M. (2020): Effect of hot water treatments on apple fruit rot caused by *Fusarium* spp. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127(5), 651-655.
- Puntscher H, Kütt ML, Skrinjar P, Mikula H, Podlech J, Fröhlich J, Marko D, Warth B. (2018): Tracking emerging mycotoxins in food: development of an LC-MS/MS method for free and modified *Alternaria* toxins. *Anal Bioanal Chem*. 410(18):4481- 4494. doi: 10.1007/s00216-018-1105-8.
- Puntscher, Hannes & Marko, Doris, Warth, Benedikt. (2020): First determination of the highly genotoxic fungal contaminant altertoxin II in a naturally infested apple sample. *Emerging Contaminants*. 6. 82-86. 10.1016/j.emcon.2020.01.002.
- Reuveni, M. (2006a): Inhibition of germination and growth of *Alternaria alternata* and mouldy-core development in Red Delicious apple fruit by Bromuconazole and Syngnum. *Crop Prot*. 25:253-258
- Reuveni, M., Sheglov, D., Sheglov, N., Ben-Arie, R., Prusky, D., (2002): Sensitivity of Red Delicious apple fruit at various phenologic stages to infection by *Alternaria alternata* and moldy-core control. *Eur. J. Plant Pathol*. 108, 421–427
- Reuveni, M., Sheglov, N., Eshel, D., Prusky, D., and Ben-Arie, R. (2006b): Virulence and the production of endo-1,4- β -glucanase by isolates of *Alternaria alternata* involved in the moldy-core disease of apples. *J. Phytopathol*. 155:50-55
- Rotem J (1994): *The genus Alternaria: biology, epidemiology, and pathogenicity*. APS, St. Paul
- Rotondo F, Collina M, Brunelli A, Pryor BM. (2012): Comparison of *Alternaria* spp. collected in Italy from apple with *A. mali* and other AM-toxin producing strains. *Phytopathology* 102:1130–1142 DOI 10.1094/PHYTO-04-12-0076-R.
- Sawamura K, (1990): *Alternaria blotch*. In: Jones AL, Aldwinckle HS, eds. *Compendium of Apple and Pear diseases*. St Paul, MN, USA: American Phytopathology Society Press, 24-5.

- Schultze-Werninghaus G, 2012. Allergic airway and lung diseases by airborne molds. *Allergologie* 35, 624-8.
- Serdani M, Kang JC, Andersen B, Crous PW. (2002): Characterisation of *Alternaria* species- groups associated with core rot of apples in South Africa. *Mycological Research* 106:561–569.
- Shtienberg, D., (2012): Effects of host physiology on the development of Core rot caused by *Alternaria alternata*, in Red Delicious apples. *Phytopathology* 102, 769– 778
- Simmons EG. (2007): *Alternaria: an identification manual*. Utrecht: CBS Fungal Biodiversity Centre.
- Spotts, R. A. (1990): Moldy core and core rot. Pages 29-30 in: *Compendium of Apple and Pear Diseases*. A. L. Jones and H. S. Aldwinckle, eds. American Phytopathology Society, St. Paul, MN
58. Thomma, B.P.H.J. (2003): *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4: 225-236. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x>
- Trail, F. and Köller, W. (1993): Diversity of cutinases from plant pathogenic fungi: purification and characterization of two cutinases from *Alternaria brassicicola*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 42, 205 –220.
- Woudenberg JHC, Groenewald JZ, Binder M, Crous PW. (2013): *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology* 75:171–212 DOI 10.3114/sim0015.
- Yao, C. and Köller, W. (1994): Diversity of cutinases from plant pathogenic fungi: Cloning and sequence analysis of a cutinase gene from *Alternaria brassicicola*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 44, 81–92.
- Zaker M. (2014): Antifungal evaluation of some inorganic salts against three phyto- pathogenic fungi. *International Journal of Agric. And Crop Sci.*7:(14):1352-1358.
- Ziv O. and Zitter T.A. (1992): Effects of Bicarbonates and film-forming polymers on cucurbit foliar diseases. *Plant Dis.* 76: 513–517. DOI:10.1094/PD-76-0513.

Abstract

***Alternaria* spp. – CAUSATIVE AGENTS OF APPLE FRUIT ROT**

**Milica Meseldžija, Dobrila Radić, Jozef Gašparovski, Miljan Miljanović,
Mila Grahovac, Snežana Rajkov, Marta Loc**

Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8,
21000 Novi Sad

E-mail: milica.meseldzija@polj.edu.rs

Alternaria species cause various symptoms of spotting and rotting on a large number of plant species, as well as spoilage of some foods throughout the food production chain. In addition to quantitative losses, *Alternaria* fungi can also cause qualitative losses in the form of mycotoxin contamination. The post-harvest phytopathology of apple fruits has the task of finding solutions for controlling a number of causes of apple fruit rot during storage, among which *Alternaria* spp. The identification of species from the genus *Alternaria* based on morphological characters is not precise enough, only by molecular detection were the species that cause apple fruit rot clearly separated. Disease symptoms on apple fruits include spotting, spotting of apple leaves and fruit, which occurs during the growing season, but also fruit rot that develops after harvest, which also includes apple core rot. Species from the genus *Alternaria* are very metabolically active and produce over 70 different types of toxins that can contaminate the plants or foods on which they grow. For the control of *Alternaria* spp. on the apple, warm water treatments, the application of inorganic salts, as well as the application of beneficial microorganisms with pronounced antagonistic action against this pathogen are recommended.

Key words: post-harvest phytopathology, apple fruit rot, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*.

VRSTE RODA *Rhizoctonia* - PROUZROKOVAČI BOLESTI ŠEĆERNE REPE U SRBIJI

Mira Vojvodić i Aleksandra Bulajić

Poljoprivredni fakultet-Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

E-mail: bulajic_aleksandra@yahoo.com

Izvod

Rod *Rhizoctonia* obuhvata ekonomski značajne gljive koje uzrokuju bolesti velikog broja biljnih vrsta, uključujući šećernu repu. One predstavljaju raznoliku grupu patogena koji se održavaju u zemljištu i rasprostranjene su širom sveta. U okviru roda *Rhizoctonia* razlikuju se anastomozne grupe (AG) i nekoliko ih se povezuje sa značajnim bolestima šećerne repe koje dovode do velikih gubitaka u prinosu. U Srbiji, *Rhizoctonia solani* predstavlja jednog od najznačajnijih patogena truleži korena šećerne repe, a potvrđeno je prisustvo nekoliko AG, uključujući AG-2-2 i AG-4 HGII. U Srbiji kao i u svetu najzastupljenija je AG-2-2. Suzbijanje vrsta roda *Rhizoctonia* je veoma teško, zahteva kombinaciju različitih metoda i jedino je moguće nakon pravilne identifikacije proukovača.

Ključne reči: *Rhizoctonia* spp., šećerna repa, anastomozne grupe, trulež krena

UVOD

Šećerna repa je vredna i isplativaindustrijska gajena biljka. U 2024. godini gajila se na preko 1,5 milliona ha u Evropskoj uniji (<http://fao.org/faostat>), a veliki proizvođači su i SAD i Rusija (www.isosugar.org). U Srbiji je šećerna repa takođe vrlo značajna i u periodu od 2020-24. godine površine pod ovom kulturom rastu, sa 37 000 do 46 000 ha (www.stat.gov.rs). Međutim, ukupan prinos varira ili čak pokazuje blagi trend opadanja što se između ostalog povezuje sa izazovima kao što su bolesti, štetočine i klimatske promene, a moguća rešenja

traže se kroz istraživanja nastvaranju otpornijih sortii uspostavljanju održivih metoda uzgoja (Pathak i sar., 2022). Šećerna repa je podložna napadu patogena, a ističe se *Rhizoctonia solani*, kao jedan od najznačajnijih prouzrokovaca truleži korena i izumiranja biljaka (Bolton i sar., 2010).

OPŠTE KARAKTERISTIKE VRSTA RODA *RHIZOCTONIA*

Rod *Rhizoctonia* (carstvo Fungi, razdeo Basidiomycota, klasa Agaricales, red Cantharellales, familija Ceratobasidiaceae) predstavlja grupu gljiva, koje se održavaju u zemljištu i koje su veoma različite po mnogim osobinama. Rasprostranjene su širom sveta i obuhvataju značajne biljne patogene, kako one kojese održavaju u zemljištu, tako i patogene nadzemnih biljnih organa, saprobne i mikorizne vrste (Sneh i sar., 1991).

Klasifikacija. Mada je mali broj morfoloških karakteristika koje bi se mogle koristiti za identifikaciju, vrsta roda *Rhizoctonia* ipak ispoljavaju značajnu varijabilnost. Kolonije mogu biti od bež do smeđe boje. Hife se granaju na karakterističan način - pod pravim uglom, u blizini mesta grananja nalazi se suženje, a neposredno posle i septa. Trenutno važeća klasifikacija *Rhizoctonia* spp. sprovodi se na osnovu broja jedara u hifama i hifalnih anastomoza (mesta spajanja istih ili različitih hifa) (Sharon i sar., 2008). Na osnovu broja jedara u ćelijama hifa *Rhizoctonia* spp. podeljene su na jednojedarne, dvojedarne i višejedarne. Koncept anastomoznih grupa (AG) služi za grupisanje izolata koji su srodni, odnosno hife izolata iz iste grupe mogu da se spajaju tako što formiraju anastomoze. Naknadno, u koncept AG koji je trenutno prihvaćen uključuje se i spektar domaćina i patogenost, kao i osetljivost na fungicide (Amaradasa i sar., 2014). U okviru dvojedarnih *Rhizoctonia* vrsta trenutno je opisano 19 AG, AG-A do AG-W (teleomorf *Ceratobasidium*) (Sneh i sar., 1991; Yang i sar., 2015), a u okviru višejedarnih opisano je 13 AG, AG-1 do AG-13 i AG-Bi (premošćujući izolati) (telomorf *Thanatephorus*), i pet varijeteta *R. zea*, *R. circinata*, *R. oryzae*, *R. agrotis*, *R. prodigus* (teleomorf *Waitea*) (Sharon i sar., 2008).

Epidemiologija. Najvažnije tvorevine za održavanje vrsta roda *Rhizoctonia* su sklerocije - čvrste vegetativne tvorevine koje ostaju vitalne u zemljištu duži niz godina i koje predstavljaju najvažnije izvore zaraze. *Rhizoctonia* spp., se pored sklerocijama, mogu održavati i micelijom u zemljištu, u zaraženim biljnim ostacima ili materijalu za sadnju, dok kod nekih domaćina zaražavaju i seme. Sklerocije klijaju pri povoljnim uslovima i zaražavaju koren i stablo biljaka. Posle ostvarenih primarnih infekcija, bolest se u zemljištu širi

kružno oko mesta infekcije. Sklerocije se dalje mogu širiti kišom, vodom za zalivanje, oruđem, zaraženim sadnim materijalom, tako da je glavni izvor inokuluma zapravo zemljište u kome se nalaze tvorevine ovih gljiva. Optimalna temperatura za ostvarivanje infekcije je od 15 do 18°C. Pri relativnoj vlažnosti vazduha od 40 do 100% i temperaturi od 20 do 30°C, u prirodi se retko mogu formirati i tvorevine polnog razmnožavanja u vidu bazida sa bazidiosporama (Garcia i sar., 2006). Bazidiospore se šire vetrom, zaražavaju nadzemne delove biljaka. Smatra se da one omogućavaju brže širenje patogena, kao i da polno razmnožavanje povećava genetički diverzitet što doprinosi prevazilaženju otpornosti biljaka domaćina.

Simptomi. *Rhizoctonia* spp. mogu izazivati više simptoma uključujući trulež korena i stabla, sušenje listova, propadanje celih biljaka, palež klijanaca i trulež semena. Prve zaraze obično počinju od korena, a zahvaćeni delovi postaju nekrotični, odnosno uočava se pojava smeđe boje. Nekroza je često mestično raspoređena, odnosno smenjuju se nekrotične zone i zone naizgled zdravog tkiva (Slika 1A). Na poprečnom preseku često se javlja nekroza koja podseća na suhu trulež (Slika 1B). Na zaraženim biljkama mogu sejaviti tamne sklerocije (bespolni stadijum), ili bela micelijska navlaka, sa bazidima i bazidiosporama (polni stadijum). Generalno se smatra da vrste roda *Rhizoctonia* imaju vrlo širok krug domaćina uključujući povrtarske, neke ratarske, voćarske i ukrasne biljke, kao i razne vrste šumskih biljka. Simptomi variraju zavisno od biljne vrste, uzrasta biljke kao i spoljnih uslova. Međutim, ustanovljeno je da različite AG zapravo imaju različit krug domaćina, tako da postoje AG koje su usko specijalizovane, kao i one sa izuzetno širokim krugom domaćina (Garcia i sar., 2006). Štete se ogledaju u slabijem nicanju (palež klijanaca), proređenosti useva, kržljivosti i usporenom porastu biljaka. Zaražene biljke uvek imaju umanjen prinos, a procenjene štete kreću se od 10 do 100%, u proseku 30%, u zavisnosti od vrste, jačine napada, kao i uslova spoljašnje sredine. Godišnji gubici u proizvodnji šećerne repe usled zaraza sa *Rhizoctonia* spp. takođe su veoma značajni (Sneh i sar., 1991 Sharon i sar., 2008).

VRSTE RODA *RHIZOCTONIA* PATOGENI ŠEĆERNE REPE

Više dvojedarnih i višejedarnih *Rhizoctonia* AG opisane su kao patogeni šećerne repe, a višejedarna *R. solani* AG-2-2 je najčešća i najdestruktivnija (Bolton i sar., 2010). Pored toga, od dvojedarnih *Rhizoctonia* spp. AG kao

patogeni šećerne repe javljaju se AG-A, AG-E i AG-K, a od višejedarnih *R. solani* AG-4, AG-5, AG-8, AG-10, AG-11 (Avan i sar., 2021).

***Rhizoctonia solani* AG-2** *R. solani* AG-2-2 predstavlja najčešću podgrupu na šećernoj repi, a ujedno je i najvarijabilnija i postoji pet definisanih podgrupa (AG-2-1, AG-2-2, AG-2-3, AG-2-4 i AG-2 Bi). Dalje podeljena na još niže kategorije: 2-2 IIIB, 2-2 IV, 2-2 LP, 2-2 WB na osnovu patogenosti i morfoloških karakteristika. *R. solani* AG-2-2 je široko rasprostranjena u Evropi I pojava je zabeležena i u Holandiji, Nemačkoj, Španiji, Srbiji, Poljskoj i Italiji. Spektrar domaćina *R. solani* AG-2-2 je širok. Pored šećerne repe (Bolton i sar., 2010; Stojšin i sar., 2011), zaražava duvan, pasulj, krompir, soju, crni luk, ukrasne biljke, kao i kukuruz. Zbog prisustva u mnogim delovima sveta, kao i ovako širokog kruga domaćina, može očekivati da značaj *R. solani* AG-2-2 i dalje raste u narednim godinama, što će sigurno biti praćeno značajnim gubicima prinosa različitih useva. Gubici u proizvodnji šećerne repe izazvani *R. solani* AG 2-2 mogu dostići i više od 25%. U većini područja proizvodnje šećerne repe u Evropi, *R. solani* AG-2-2 je takođe najčešće izolovana i smatra se da čestoj pojavi pogoduje monokultura ili uzak plodored.

***Rhizoctonia solani* AG-4** je sledeća po značaju na šećernoj repi, a može se javiti i na velikom broju uglavnom povrtarskih vrsta, kao što su mrkva, paprika, paradajz, krompir, kupus i druge. Podeljena je na tri podgrupe (HGI - HGIII) na osnovu izgleda sklerocija i sličnosti određenih fragmenata DNK. AG-4 uglavnom izaziva sušenje i propadanje biljaka šećerne repe. Zhang et al. (2015) opisuju simptome prouzrokovane AG-4 kao trulež glave korena, crne lezije na listovima, a može se javiti i trulež korena.

Ostale višejedarne *R. solani* detektovane na šećernoj repi su AG-1, AG-5, AG-6, AG-10 i AG-11, ali se značajno ređe javljaju i smatra se da su manje agresivne.

Dvojedarene *Rhizoctonia* spp. se sve ukupno posmatrano ređe javljaju i smatra se da izazivaju slabije zaraze od višejedarnih vrsta (Avan i sar., 2021). Postoje navodi o bolestima koje izazivaju AG-A, AG-E i AG-K, ali sa manje podataka o značaju i učestalosti.

VRSTA RODA *RHIZOCTONIA* NA ŠEĆERNOJ REPI U SRBIJI

U Srbiji je trulež korena među najznačajnijim bolestima šećerne repe. Do 2000. godine, *Fusarium* spp. i *Macrophomina phaesolina* smatrane su se najzastupljenijim prouzrokovateljima bolesti šećerne repe u Srbiji, a zatim je

utvrđeno prisustvo i široka rasprostranjenost *R. solani*. Uočeno je da značajno utiče na kvantitativno i kvalitativno smanjenje prinosa šećerne repe (Vico i sar., 2006). Nakon prvih detaljnijih molekularnih analiza potvrđeno je prisustvo I *R. solani* AG-2-2 IIIB i AG-4-HGII, sa incidencom od 18% (Stojšin i sar., 2011).

Novija višegodišnja istraživanja u našoj zemlji, u okviru kojih su analizirane mlade biljke šećerne repe sa simptomima propadanja, truleži korena i glave korena, kao i nekroze listova na dva lokaliteta - Vašica i Adaševci (Vojvodić i sar., 2019) ukazala su na veliki značaj vrsta roda *Rhizoctonia*. Procenjena učestalost bolesti iznosila je 30%, a morfološka i molekularna identifikacija dokazala je prisustvo *R. solani* AG-2-2. Izolati su formirali smeđe kolonije sa tamno smeđim krupnim sklerocijama. Odabrani

Zbog velikog značaja koji pravovremena detekcija i identifikacija prouzrokovaca ima za primenu mera kontrole, izolati *R. solani* AG-2-2 sa šećerne repe dalje su korišćeni za razvoj i poređenje konvencionalnih i real-time PCR protokola za specifičnu detekciju *R. solani* AG-2-2 (Vojvodić i sar., 2019). Specifičnost razvijenih protokola testirana je u odnosu na četiri izolata dvojedarnih, kao i pet izolata višejedarnih AG koje bi mogle da ugroze ne samo šećernu repu, nego i druge gajene biljke. Osetljivost i konvencionalnog i real-time PCR upoređena je korišćenjem 10^{-1} do 10^{-5} razblaženja ciljane DNK. Oba protokola pokazala su visoku specifičnost, reagujući samo sa *R. solani* AG-2-2, ali se konvencionalni PCR pokazao 100x manje osetljivim od real-time PCR. Real-time PCR protokol razvijen u Srbiji bio je zasnovan na SYBR Green metodologiji, što je značajno smanjilo cenu analiza po jednom uzorku u poređenju sa Taqman tehnologijom. Ova studija pokazala je da real-time PCR može uspešno koristiti za brzu i specifičnu detekciju i identifikaciju *R. solani* AG-2-2, i stoga predstavlja kandidat metodu za rutinsku detekciju u uzorcima biljaka i zemljišta, a zbog širokog kruga domaćina *R. solani* AG-2-2 ima potencijal za širu primenu, ne samo u dijagnostici oboljenja šećerne repe.

SUZBIJANJE TRULEŽI KORENA ŠEĆERNE REPE PROUZROKOVANO VRSTAMA RODA *RHIZOCTONIA*

Suzbijanje truleži korena šećerne repe je teško zbog toga što se patogen veoma dugo održava u zemljištu i ima širok krug domaćina. Zbog postojanja razlika među AG u krugu domaćina i osetljivosti na fungicide, tačno i brzo otkrivanje i identifikacija AG suštinski je prvi korak u razvoju uspešne strategije kontrole (Amaradasa i sar. 2014). Određivanje prisustva određene AG

konvencionalnim morfološkim metodama ili sekvenciranjem i filogenetskim analizama je dugotrajan posao. Protokoli za specifičnu detekciju, zasnovani na konvencionalnom i real-time PCR su dostupni za nekoliko AG (Vojvodić i sar., 2019).

Selekcija novih sorti šećerne repe sa povećanom tolerancijom na *Rhizoctonia* vrste predstavlja dugoročno rešenje u borbi protiv ovog patogena. Iako trenutno ne postoje potpuno otporne sorte, neki genotipovi pokazuju povećanu toleranciju, što može značajno smanjiti gubitke u prinosu (Amaradasa i sar., 2014).

Suzbijanje *Rhizoctonia* spp. se može sprovoditi primenom agrotehničkih, fizičkih, hemijskih i bioloških mera, odnosno pre svega kombinacijom ovih mera.

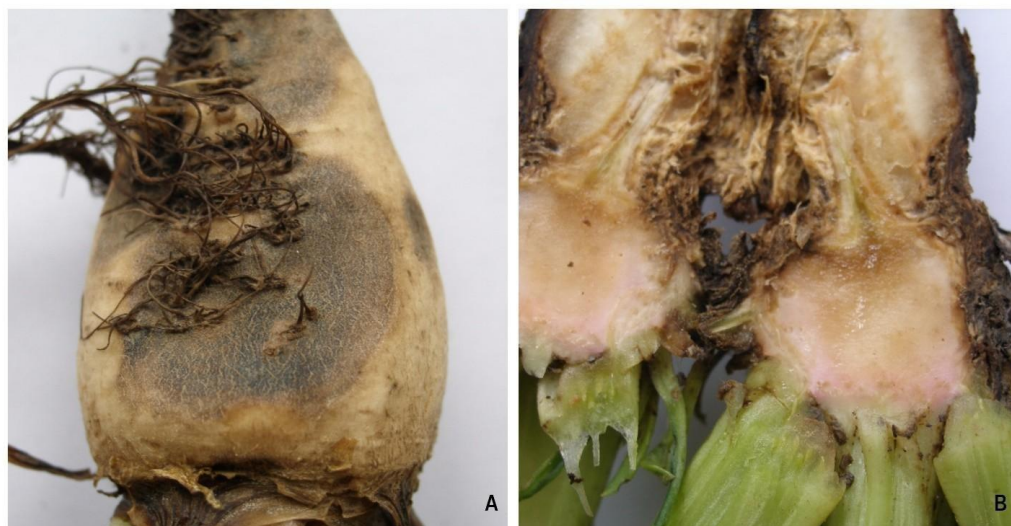
- Agrotehničke mere obuhvataju upotrebu zdravog setvenog materijala, plodored, dobru aeraciju zemljišta i biljaka, uništavanje zaraženih biljnih ostataka, suzbijanje korova i dezinfekciju opreme i mehanizacije (Sneh i sar., 1991).

- Fizičke mere podrazumevaju sterilizaciju zemljišta parom ilisolarizaciju imogu biti efikasne, ali uglavnom neisplative na velikim površinama. Malčiranje može sprečiti širenje inokuluma *Rhizoctonia* spp. nošenog vetrom (Tsrör, 2010).

-Hemijske mere kao što je dezinfekcija zemljišta hemijskim fungicidima jeste svakako najdelotvorniju mera, ali je upotreba ograničena. Metil bromid kao najefikasnije sredstvo odavno je zabranjen, dok su alternative poput metil izotiocijanata, dazometa i formaldehida predmet istraživanja (Tsrör, 2010). U Srbiji je dozvoljena je primena samo dazometa (Tim priređivača, 2022). Primena fungicida, naročito onih koji sadrže aktivne supstance poput azoksistrobina i fludioksonila, može biti efikasna u smanjenju infekcije izazvane vrstama *Rhizoctonia*. Međutim, efikasnost tretmana zavisi od načina aplikacije: tretiranje semena i zemljišta pre setve pokazalo se kao najdelotvornije (Harveson i sar., 2009). Zbog mogućnosti razvoja rezistentnih populacija, preporučuje se kombinacija fungicida sa različitim mehanizmima delovanja i njihova racionalna upotreba u okviru integrisanih strategija zaštite. Fungicidi iz grupa inhibitora sukcinat dehidrogenaze (SDHI) (sedaksan, pentiopirad i fluksapiroksad) i inhibitora kinona (QoI) (piraklostrobin i azoksistrobin) efikasni u suzbijanju izolata *R. solani* AG 2-2 pri niskim koncentracijama *in vitro*. U Srbiji su za tretiranje šećerene repe protiv *Rhizoctonia* vrsta trenutno registovan samo azoksistrobin (Tim privređivača,

2022), a kao optimalno vreme tretmana savetuje se primena od faze kada je razvijeno 5 listova do razvijenih 9 i više listova.

- Biološke mere su predmet brojnih istraživanja, pre svega mikroorganizama poput mikovirusa, gljiva, bakterija i mikofagnih nematoda. Istražuje se njihov potencijal za upravljanje bolestima koje izazivaju *Rhizoctonia* spp. Mikovirusi mogu smanjiti virulentnost *Rhizoctonia* spp. prenoseći hipovirulentne infekcije putem anastomoza potencijal imaju gljive roda *Trichoderma*, koje proizvode antibiotike (gliotoksin, glioviridin, viridin, trihoviridin), podstiču rast biljaka i kompetitivno deluju na patogene U biološkoj kontroli najčešće se koriste *T. viridae*, *T. harzianum*, *T. virens*, *T. atroviridae*, *T. asperelum*, *T. ligorum*, *T. saturnisporum* i druge (Abbas i sar., 2017). Utvrđeno je su da kombinacija primene fungicida i nekog od agenasa biološke kontrole daje dobre rezultate. Takođe, bakterije roda *Bacillus* su pokazale potencijal u pogledu inhibitorynog delovanja na vrste roda *Rhizoctonia* poreklom sa šećerne repe. U Srbiji je za suzbijanje vrsta roda *Rhizoctonia* registrovana upotreba izolata *Bacillus amyloliquefaciens* u jagodi i krompiru, dok za primenu u šećernoj repi nema preporučenih odnosno registrovanih preparata za biološku kontrolu (Tim priređivača, 2022).



Slika 1. Višejedarna *Rhizoctonia solani* AG-2-2:A) izolat 270-15 - nekroza korena prirodno zaraženih biljaka šećerne repe; B) izolat 270-15 - nekroza na poprečnom preseku korena korena šećerene repe (Bulajić, A., 2015).

ZAHVALNICA

Rad je nastao kao rezultat istraživanja u okviru Ugovora o realizaciji i finansiranju naučnoistraživačkog rada u 2025. godini između Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije i Poljoprivrednog fakulteta - Univerziteta u Beogradu, evidencioni broj 451-03-137/2025-03/200116.

LITERATURA

- Abbas, A., Jiang, D., Fu, Y. (2017): *Trichoderma* spp. as Antagonist of *Rhizoctonia solani*. Journal of Plant Pathology and Microbiology, 8, 402.
- Amaradasa, B. S., Lakshman, D. K., McCall, D. S., Horvath, B. J. (2014): *In vitro* fungicide sensitivity of *Rhizoctonia* and *Waitea* isolates collected from turfgrasses. Journal of Environmental Horticulture, 32, 126-132.
- Avan, M., Palacioglu, G., Aksoy, C., Kaya, R., Bayraktar, H., Katrcioglu, Y.Z., Maden, S. (2021): Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* species causing root rot and damping-off on sugar beet in Turkey. Current Microbiology, 78, 1939–1948.
- Bolton, M. D., Panella, L., Campbell, L., Khan, M. F. R. (2010): Temperature, moisture, and fungicide effects in managing *Rhizoctonia* root and crown rot of sugar beet. Phytopathology, 100, 689-697.
- Garcia, V. G., Onco, M. A. P., Susan, V. R. (2006): Review. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. Spanish Journal of Agricultural Research, 4, 55-79.
- Pathak, A.D., Srivastava, S., Misra, V., Mall, A.K., Srivastava, S. (2022): Evolution and History of Sugar Beet in the World: An Overview. In: Misra, V., Srivastava, S., Mall, A.K. (eds) Sugar Beet Cultivation, Management and Processing. Springer, Singapore.
- Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M., Naito, S., Sneh, B. (2008): Classification of *Rhizoctonia* spp. using rDNA-ITS sequence analysis supports the genetic basis of the classical anastomosis grouping. Mycoscience, 49, 93–114.
- Sneh, B., Burpee, L., Ogoshi, A. (1991): Identification of *Rhizoctonia* Species, American Phytopathological Society Press: St. Paul. MN, USA.
- Stojšin, V., Budakov, D., Jacobsen, B., Bagi, F., Grimme, E., Neher, O. (2011): Analysis of *Rhizoctonia solani* isolates associated with sugar beet crown and root rot from Serbia. African Journal of Biotechnology, 10, 19049-19055.
- Tim priređivača (2022): Pesticidi u poljoprivredi i šumarstvu u Srbiji. Dvadeseto prvo, izmenjeno i dopunjeno izdanje. Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd.

- Tsrur, L. (2010): Biology, Epidemiology and Management of *Rhizoctonia solani* on Potato. Journal of Phytopathology, 158, 649–658.
- Vico, I. M., Janković, D. B., Krstić, B. B., Bulajić, A. R., Dukić, N. D. (2006): Multinucleate *Rhizoctonia* spp. – Pathogen of Sugar Beet and Susceptibility of Cultivars under Field Conditions. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke / Matica Srpska Novi Sad, 110, 109-121.
- Vojvodić, M., Lazić, D., Mitrović, P., Tanović, B., Vico, I., Bulajić, A. (2019): Conventional and real-time PCR assays for detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-2-2, the causal agent of root rot of sugar beet. Pesticides and Phytomedicine, 34, 19-29.
- Yang, Y. G., Zhao, C., Guo, Z. J., Wu, X. H. (2015): Characterisation of new anastomosis group (AG-W) of binucleate *Rhizoctonia*, causal agent for potato stem cancer. Plant Disease, 99, 1757-1763.
- Zhang, X., Dong, B., Zhou, H., Xie, J., Hao, J. J. (2015): First report of *Rhizoctonia solani* AG4-HG-I infecting sugar beet in China. Plant Disease, 99, 1185.

Abstract

SPECIES OF THE GENUS *Rhizoctonia* CAUSING DISEASES OF SUGAR BEET IN SERBIA

Mira Vojvodić i Aleksandra Bulajić

University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia

E-mail: bulajic_aleksandra@yahoo.com

The genus *Rhizoctonia* comprises economically important fungi that cause diseases in a variety of plant species, including sugar beet. The species of the genus *Rhizoctonia* represent a heterogeneous group of soil-borne pathogens that are distributed worldwide. Numerous anastomosis groups (AG) have been described within the genus *Rhizoctonia*, which cause significant diseases on sugar beet and lead to considerable yield losses. In Serbia, *Rhizoctonia solani* is one of the most important pathogens of sugar beet causing root rot, and the presence of several AGs, including AG-2-2 and AG-4 HGII, has been confirmed. In Serbia and worldwide, AG-2-2 is the most common and most destructive pathogen. Control of the disease is only possible if the pathogen is correctly identified and individual or combined control measures are applied.

Key words: *Rhizoctonia*, sugar beet, anastomosis groups, root rot

UPUTSTVO ZA PRIPREMU RUKOPISA

Časopis „Biljni lekar” objavljuje naučne i stručne radove iz oblasti zaštite bilja, životne sredine i komunalne higijene, uključujući pesticide i tehniku za njihovu primenu, kao i zakonske propise iz te oblasti. Radovi treba da sadrže podatke određenih istraživanja, iskustva iz prakse ili zapažanja sa terena.

Radovi se štampaju na srpskom jeziku, latiničnim pismom. Rad treba da sadrži naslov, ime(na) autora sa adresama, izvod sa ključnim recima, uvod, metod rada, rezultate sa diskusijom, zaključak, literaturu i Abstract sa Key words.

Stručni radovi (iskustva iz prakse i slični prilozi) ne moraju sadržavati uobičajena poglavlja, već samo određena, po opredeljenju autora, koja će davati obeležje određenom segmentu rada. Nije poželjno da ceo rad bude bez ikakvih podnaslova, jer bi to bilo isuviše monotono za čitanje. Kod ovih radova potrebno je prevesti samo naslov na engleski.

NASLOV RADA ispisati velikim slovima, bold i centrirano. Ispod naslova, takođe, centrirano, navode se bez titule, **ime(na) i prezime(na)** autora (malim boldiranim slovima), sa nazivom organizacije/ustanove, sedištem i E-mailom prvog autora. Ispod toga, centrirano, daju se podnaslovi.

Izvod sa ključnim rečima treba da sadrži do 200, a ključnih reči do šest (6).

Slede **UVOD**, **Metod rada**, **REZULTATI I DISKUSIJA**, **ZAKLJUČAK**, **LITERATURA** i **Abstract** sa **Key words**. Eventualne podnaslove u okviru poglavlja ne centrirati, već staviti na početak pasusa – uvučeno, bold, sa tačkom na kraju, iza koje u produžetku sledi tekst. Ispred podnaslova ne stavljati redni broj. Latinske nazive ispisivati *italic* slovima.

Kod citiranja literature, navodi se prezime autora i godina (Antić, 2001; Brkić i Dudić, 2002), a ako je broj autora veći od dva, navodi se samo prvi autor (Gajić i sar., 2003). Dozvoljeni broj bibliografskih jedinica je do deset (izuzetno i više). Citirana literatura u tekstu mora biti u popisu i obratno, ona koja je u popisu mora biti u tekstu. Kod popisa literature navodi se prezime i prvo slovo imena autora, godina i naslov rada, časopis ili izdanje, broj strane i mesto izdanja. Ispred referenci ne stavljati redne brojeve.

Abstract, uključujući naslov rada, sa autorima i adresama i Key words, dati na srpskom i engleskom jeziku, obima 15-20 redova. Prevod mora biti korektno ura-

đen, jer se radovi citiraju u izdanjima CABI Abstracts. U protivnom, vratiće se autoru na doradu.

Dozvoljeni obim rada je do osam strana, uključujući tabele, grafikone i ostale priloge. Izuzetno, uz saglasnost Uredništva časopisa, obim rada može biti i nešto opširniji.

Priloge uz rad (tabele, grafikone, slike, šeme i sl.), ne stavljati u tekst, već ih dati na kraju rada (tabele), ili u posebnim fajlovima (slike, grafikone, šeme). Fotografije (crno-bele ili kolor) moraju biti kvalitetno urađene (kontrastne i oštre), ske-nirane u minimum 300 dpi, a snimljene u (jpg) ili (.tif) formatu. Umesto fotografija, mogu se dostaviti i kvalitetno urađeni slajdovi. Mesto gde prilozi dolaze u tekst, treba na vidljiv način označiti, a u tekstu se treba pozivati na svaki prilog. Na posebnoj stranici priložiti tekst koji ide uz priloge.

Pored objavljivanja radova, u časopisu postoje stalne i povremene rubrike u kojima se daju iskustva iz prakse, novosti iz zaštite bilja, kratki izvodi značajnijih domaćih i stranih radova iz zaštite bilja, kao i druge aktuelnosti i zanimljivosti iz struke. Novosti, prikazi, izvodi, osvrti, izveštaji i zanimljivosti iz struke, daju se u obimu 30-45 redova teksta.

Rukopise radova i ostalih priloga pripremiti latiničnim, pismom na računaru u Microsoft Word for Windows (.doc) ili Rich Text Formatu (.rtf), font Times New Roman, style Normal, font Size 12 pt, Single Space i marginama sa sve četiri strane po 2,5 cm.

Radovi i ostali prilozi prolaze recenziju, koju obavljaju Urednici oblasti, a u pojedinim slučajevima, gde je to neophodno, dostavljaju se kompetentnim naučno-stručnim radnicima za specifičnu problematiku. Uredništvo časopisa zadržava pravo da vrši manja skraćivanja ili doterivanja, gde proceni da je to potrebno i moguće. Međutim, radovi koji nisu pisani prema ovom Uputstvu (preobimni ili radovi u kojima se iznose samo opšte, poznate stvari i sl.), odnosno u slučajevima kada Uredništvo ne može obaviti određene ispravke, biće vraćeni autorima na doradu. Rukopisi objavljenih i neobjavljenih radova ne vraćaju se autorima.

Autor(i) odgovara(ju) za sadržaj rada, odnosno priloga.

Rukopise radova i priloga dostaviti na E-mail: biljnilekar@polj.uns.ac.rs

Redakcija časopisa
„Biljni lekar”