



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ



# ТРУЛЕЖ КОРЕНА И ПРИЗЕМНОГ ДЕЛА СТАБЛА ПШЕНИЦЕ

- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА -

**ментор:**  
проф. др Стеван Маширевић

**кандидат:**  
маст. инж. Немања Стошић

Нови Сад, 2019. година

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**

**КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА**

|   |   |
|---|---|
| Redni broj:<br>RBR                              |   |
| Identifikacioni broj:<br>IBR                    |   |
| Tip dokumentacije:<br>TD                        | Монографска документација   |
| Tip zapisa:<br>TZ                               | Текстуални штампани материјал   |
| Vrsta rada (dipl., mag., dokt.):<br>VR          | Докторска дисертација   |
| Ime i prezime autora:<br>AU                     | Немања Стошић   |
| Mentor (titula, ime, prezime,<br>zvanje):<br>MN | проф. др Стеван Маширевић, редовни<br>професор, Пољопривредни факултет Нови<br>Сад  |
| Naslov rada:<br>NR                              | Трулеж корена и приземног дела стабла<br>пшенице  |
| Jezik publikacije:<br>JP                        | српски  |
| Jezik izvoda:<br>JI                             | српски/енглески   |
| Zemlja publikovanja:<br>ZP                      | Република Србија  |
| Uže geografsko područje:<br>UGP                 | АП Војводина  |
| Godina:<br>GO                                   | 2019.   |
| Izdavač:<br>IZ                                  | ауторски репринт  |
| Mesto i adresa:<br>MA                           | Пољопривредни факултет, Департман за<br>фитомедицину и заштиту животне средине,<br>Трг Доситеја Обрадовића бр. 8, 21000 Нови<br>Сад |
| Fizički opis rada:<br>FO                        | број поглавља 10/ страница 76/ слика 11/<br>графикона 9/ табела 12/ референци 164/<br>прилога 3/ биографија                         |
| Naučna oblast:<br>NO                            | Биотехничке науке   |
| Naučna disciplina:<br>ND                        | Фитопатологија  |

|  |   |
|--|---|
| Predmetna odrednica, ključne reči:<br>PO | пшеница, трулеж корена и приземног дела стабла, <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>   |
| UDK                                      | 632.25(043.3)   |
| Čuva se:<br>ČU                           | Библиотека, Пољопривредни факултет, Трг Доситеја Обрадовића бр. 8, 21000 Нови Сад   |
| Važna napomena:<br>VN                    | -   |
| Izvod:<br>IZ                             | <p>Пшеница је једна од најзначајнијих ратарских култура у свету. Трулеж корена и приземног дела стабла је обољење које проузрокује велике штете по принос и квалитет зрна, и угрожава производњу ове културе. Због тога су истраживања у овој области јако значајна. Добро познавање особина патогена, климатских и других фактора који доприносе њиховој појави и развијању је од великог значаја за сузбијање истих. Основни циљеви овог истраживања су утврђивање интезитета појаве комплекса проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у годинама које су по климатским факторима значајно различите (вегетациона сезона 2013/2014, и вегетациона сезона 2016/2017), као и утврђивање биодиверзитета патогених гљива које су заступљене у комплексу ових патогена на испитиваном подручју.</p> <p>Утврђена је статистички значајна разлика између заражености пшенице проузроковачима трулежи корена и приземног дела стабла, у две вегетационе сезоне. Средња вредност индекса обољења у вегетационој сезони 2013/2014 била је 48,9%, док је та вредност у вегетационој сезони 2016/2017 износила 25,8%. Утврђено је да су фактори који су значајно утицали на разлику у оствареним индексима обољења били: средња месечна температура у јануару месецу, локалитети, број понављања по локалитету, као и интеракција локалитета и вегетационе сезоне, и интеракција броја понављања и вегетационе сезоне.</p> <p>Средња месечна температура у јануару 2014. године (4,2 °C) била је виша од десетогодишњег просека температура за тај месец (1,8 °C), док је 2017. године (-5 °C) температура била нижа од десетогодишњег просека, што је допринело значајно мањој појави трулежи корена и приземног дела стабла пшенице 2017. године у односу на 2014. годину. У вегетационој сезони 2013/2014 индекси обољења на свим локалитетима су били виши од 29%. У вегетационој сезони 2016/2017, која је била мање погодна за развој проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла, индекси обољења су били виши од 29% само на 5 локалитета, од испитаних 16 локалитета.</p> <p>Процењене вредности индекса обољења по локалитетима у две вегетационе сезоне биле су условљене разликом у просторној расподели биљака оцењених различитим категоријама заражености приземног дела стабла. То је довело до статистички значајног утицаја броја понављања, као и интеракције броја понављања и вегетационе сезоне на процену индекса обољења. Доминантан проузроковач трулежи корена и приземног дела стабла у области Мачве био је <i>Fusarium graminearum</i> са заступљеношћу од 72,6% у вегетационој сезони 2016/2017. У вегетационој сезони 2016/2017, неповољној за развој трулежи корена и приземног дела стабла <i>Fusarium oxysporum</i> је био заступљен у далеко већем проценту (27,4%) него што се то наводи у литературним подацима.</p> |

|  |  |
|--|--|
| Datum prihvatanja teme od strane Senata:<br>DP   | 28.12.2017.  |
| Datum odbrane:<br>DO   |  |
| Članovi komisije:<br>(ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status)<br>KO | <p>Председник:</p> <p>_____</p> <p>др Радивоје Јевтић, научни саветник,<br/>Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад</p> <p>Ментор:</p> <p>_____</p> <p>др Стеван Маширевић, редовни професор,<br/>Пољопривредни факултет, Нови Сад</p> <p>Члан:</p> <p>_____</p> <p>др Ференц Баги, редовни професор,<br/>Пољопривредни факултет, Нови Сад</p> |

**UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF AGRICULTURE**

**KEY WORD DOCUMENTATION**

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| Accession number:<br>ANO       |   |
| Identification number:<br>INO  |   |
| Document type:<br>DT           | Monograph documentation   |
| Type of record:<br>TR          | Textual printed material  |
| Contents code:<br>CC           | PhD thesis  |
| Author:<br>AU                  | Nemanja Stošić  |
| Mentor:<br>MN                  | PhD Stevan Maširević, professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad   |
| Title:<br>TI                   | Root and crown rot of wheat   |
| Language of text:<br>LT        | Serbian   |
| Language of abstract:<br>LA    | Serbian/English   |
| Country of publication:<br>CP  | Republic of Serbia  |
| Locality of publication:<br>LP | Vojvodina   |
| Publication year:<br>PY        | 2019.   |
| Publisher:<br>PU               | Author's reprint  |
| Publication place:<br>PP       | University of Novi Sad, Faculty of Agriculture,<br>Department for Environmental and Plant<br>Protection, Dositeja Obradovića sq. 8, 21000<br>Novi Sad |

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| Physical description:<br>PD | 10 chapters/ 76 pages/ 11 photos/ 9 graphs/ 12<br>tables/ 164 references/ 3 attachments/ biography |
| Scientific field<br>SF      | Biotechnical Sciences  |
| Scientific discipline<br>SD | Phytopathology   |

|  |  |
|--|--|
| Subject, Key words<br>SKW  | wheat, root and crown rot, <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> |
| UDC  | 632.25(043.3)  |
| Holding data:<br>HD  | Library, Faculty of Agriculture, Novi Sad  |
| Note:<br>N   | -  |
| <p>Abstract:<br/>AB</p> <p>Wheat is one of the most significant field crops worldwide. Wheat root and crown rot is a disease causing substantial yield loss and grain quality decrease, endangering wheat production, which makes studies such as this one very important. Understanding the pathogen characteristics, climatic and other factors that facilitate incidence and growth of these pathogens is crucial for their control and management. The aims of this trial were to determine the intensity of wheat root and crown rot complex agents in years which differed greatly in terms of weather (growing seasons of 2013/2014 and 2016/2017), as well as biodiversity of pathogenic fungi occurring in the pathogen complex on the analysed area.</p> <p>There was a statistically significant difference between wheat infection with agents of root and crown rot in two growing seasons. The average value of disease index was 48.9% in 2013/2014 and 25.8% in 2016/2017. Factors which significantly affected the difference in disease indices included: mean monthly temperature in January, locations, number of repetitions per location, location and year interaction, and repetitions and year interaction.</p> <p>The average monthly temperature (4.2 °C) in January 2014 was above a ten-year average for January (1.8 °C), but in 2017 the temperature (-5 °C) was below the ten-year average, which contributed to a significantly lower occurrence of wheat root and crown rot in 2017 than in 2014. In 2013/2014 disease indices on all locations were above 29%, but in 2016/2017, which was less favourable for root and crown rot, disease indices were above 29% on only 5 locations out of 16 analysed locations.</p> <p>The assessed values of disease index per location in two years were conditioned by the difference in spatial distribution of crops with different infection categories of the wheat crown rot. This caused statistically significant effect of number of repetitions, as well as number of repetitions and year interaction on the assessment of disease index. The dominant agent of root and crown rot in Mačva was <i>Fusarium graminearum</i> with 72.6% incidence in 2016/2017. In 2016/2017, which was unfavourable for root and crown rot, <i>Fusarium oxysporum</i> had a much higher incidence (27.4%) than found in other published studies.</p> |  |
| Accepted on Senate on:<br>AS   | 28.12.2017.  |
| Defended:<br>DE  |  |

Thesis Defend Board:  
DB

President:

---

Radivoje Jevtić, PhD, Principal Research  
Fellow  
Institute of Field and Vegetable Crops, Novi  
Sad

Mentor:

---

Stevan Maširević, PhD, Professor  
Faculty of Agriculture, Novi Sad

Member:

---

Ferenc Bagi, PhD, Professor  
Faculty of Agriculture, Novi Sad

# САДРЖАЈ

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. УВОД.....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ .....</b>   | <b>4</b>  |
| 2.1 Значај проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице .....  | 4         |
| 2.2 Доминантни патогени комплекса трулежи корена и приземног дела стабла пшенице .....                               | 7         |
| 2.3. Утицај климатских промена на појаву комплекса проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице..... | 10        |
| 2.4 Најзначајнији проузроковачи трулежи корена и приземног дела стабла пшенице .....                                 | 11        |
| 2.4.1 Фузариозна трулеж корена и приземног дела стабла (проуз. <i>Fusarium</i> spp.).....                            | 11        |
| 2.4.2 Црна трулеж корена (проуз. <i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i> ).....                           | 14        |
| 2.4.3 Сочиваста пегавост приземног дела стабла (проуз. <i>Oculimacula</i> spp.).....                                 | 16        |
| <b>3. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА .....</b>  | <b>18</b> |
| <b>4. РАДНА ХИПОТЕЗА.....</b>  | <b>19</b> |
| <b>5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА.....</b>  | <b>20</b> |
| 5.1 Прикупљање и обрада узорака .....  | 20        |
| 5.2 Оцена заражености стабала пшенице .....  | 25        |
| 5.3 Изолација патогена.....  | 28        |
| 5.4 Добијање моноспорних изолата.....  | 29        |
| 5.5 Молекуларна идентификација .....   | 30        |
| 5.5.1 Идентификација изолата прајмерима специфичним за врсту <i>F. graminearum</i> .....                             | 30        |
| 5.5.2 Идентификација изолата прајмерима специфичним за врсту <i>F. oxysporum</i> .....                               | 31        |
| 5.6. Метеоролошки подаци .....   | 32        |
| 5.7 Статистичка обрада података .....  | 33        |
| <b>6. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА .....</b>  | <b>35</b> |
| 6.1 Утицај климатских фактора на индекс обољења .....  | 38        |
| 6.2 Утицај локалитета и броја понављања на индекс обољења пшенице .....  | 40        |
| 6.2.1 Утицај локалитета и интеракције локалитета и вегетационе сезоне на индекс обољења.....                         | 40        |
| 6.2.2 Утицај броја понављања и интеракције броја понављања и вегетационе сезоне на индекс обољења.....               | 42        |
| 6.3 Диверзитет <i>Fusarium</i> врста .....   | 48        |
| <b>7. ДИСКУСИЈА.....</b>   | <b>51</b> |
| <b>8. ЗАКЉУЧАК .....</b>   | <b>57</b> |
| <b>9. ЛИТЕРАТУРА .....</b>   | <b>59</b> |



|  |           |
|--|-----------|
| <b>10. ПРИЛОЗИ</b> .....   | <b>71</b> |
| ПРИЛОГ 1 .....   | 71        |
| Оцене стабала пшенице за 16 локалитета у вегетационој сезони 2013/2014 ..... | 71        |
| ПРИЛОГ 2 .....   | 72        |
| Оцене стабала пшенице за 16 локалитета у вегетационој сезони 2016/2017 ..... | 72        |
| ПРИЛОГ 3 .....   | 73        |
| Поступак изолације ДНК (Möller et al., 1992) .....                           | 73        |
| <b>БИОГРАФИЈА</b> .....  | <b>76</b> |

## 1. УВОД

Пшеница је једна од најважнијих ратарских култура, са великим привредним значајем. То је прва култивисана биљка од стране човека. Увек се истицао допринос пшенице егзистенцији једне земље и народа. По значају у ратарској производњи, пшеница у Србији заузима друго место после кукуруза, а у свету треће место после кукуруза и пиринча. Највећим делом се користи у људској исхрани. Око 53% производње пшенице у развијеним земљама се користи за исхрану људи, а око 85% у земљама у развоју (Рена, 2007).

Пшеница води порекло из старог света, првенствено из Азије и јужних делова Европе, одакле је проширена на друге континенте (Тодоровић и сар., 2003). Била је позната старим цивилизацијама Месопотамије, где је гајена пре шест хиљада година (Боројевић, 1981). Постоје подаци да је пшеница била позната у Ираку 6.500 година п.н.е., а од 6.000-5.000 година п.н.е. гајена је у старом Египту, Малој Азији и Кини. При кретањима и сеобама народа пшеница је преношена у различите области (Јевтић, 1992). О историјском значају пшенице говори велики број записа, од Библије, разних историјских списа, па до савремених научних књига и радова. Она је била једна од основних сировина за справљање хлеба. Од тих прапочетака гајења па до данас пшеница и код нас припада групи доминантних пољопривредних култура (Денчић и сар., 2009). Пшеница поседује велику генетичку варијабилност и формира преко 25.000 типова. Они се деле на две основне форме – озиме и јаре. То јој омогућава одличну прилагодљивост различитим климатским условима и гајење у многим деловима света (Feldman и сар, 1995; Рена, 2002).

Према Републичком заводу за статистику Републике Србије површине засејане пшеницом у периоду 2008-2017. године заузимале су просечно 606.852 хектара годишње, уз остварену годишњу производњу од 2,5 милиона тона, и просечан принос од 4,12 t/ha. Према FAOSTAT-у, на листи производње пољопривредних производа пшеница се у Србији налази на другом месту, одмах иза кукуруза, а према нето производној вредности, поново на другом месту, одмах иза млека.

Према подацима FAOSTAT (просек за период 2007-2016. године) производња пшенице у свету одвија се на скоро 220 милиона хектара, уз годишњу производњу од 690 милиона тона, а просечан принос је 3,14 t/ha. Највећи произвођач пшенице у свету је

Кина (више од 131 милион тона произведене пшенице годишње), а затим Индија (више од 93 милиона тона) и Сједињене Америчке Државе (више од 62 милиона тона).

Основна намена пшенице је производња брашна за хлеб. Хлеб од пшеничног брашна има високу енергетску вредност, богат је минералним материјама, као и витаминима Б комплекса. Захваљујући особинама резервних протеина у ендосперму зрна пшенице, глијадина и глутеина, пшенични хлеб је идеална храна за људску популацију. Квалитет хлеба употпуњују остали резервни протеини, албумини и глобулини, затим скроб, шећери, целулоза, масти, витамини и минералне материје (Денчић и сар., 2011). Захваљујући поменутиим особинама пшеница данас чини више од 40% светске хране (Akhtar и сар., 2011; Coventry и сар., 2011). Зрно пшенице се користи у млинској, пиварској, фармацеутској индустрији, за производњу декстрина, у пекарству, за производњу колача и алкохола. Споредни производи су мекиње (богате минералним материјама и витаминима), које представљају квалитетну концентровану храну у сточарској производњи. Нуспроизвод који се добија након жетве пшенице је пшенична слама, која се може користити за производњу хартије, целулозе, биогаза, као простирка, итд.

Педесетих и шездесетих година двадесетог века почиње стварање оплемењивачког програма пшенице у Србији, и унапређивање технологије гајења пшенице. Резултат тога је стварање првих интензивних сорти пшенице седамдесетих година. Стабилност и економичност су неопходни чиниоци производње пшенице, а подразумевају смањење заступљености и значаја ограничавајућих фактора. Остваривање ефикасне, економски и еколошки оправдане заштите усева могуће је интензивним радом на стварању отпорних сорти пшенице према проузроковачима обољења. Проучавање биологије патогена, познавање интеракције патоген-домаћин, међусобне интеракције различитих патогена и утицаја климатских фактора на појаву и развој патогена од велике су важности са становишта њихове ефикасне контроле.

На квалитет и принос пшенице утичу многи фактори: клима, агротехничке мере, одабир сорти, итд. Један од битних ограничавајућих фактора су и проузроковачи болести. Трулеж корена и приземног дела стабла пшенице је економски значајно обољење која проузрокује смањење приноса и до 50% (Agrios, 1997; Smiley и сар., 2005). Проузроковачи трулежи корена и приземног дела стабла пшенице чине комплекс патогена. Више патогена овог комплекса може истовремено да проузрокује оштећења на корену и приземном делу стабла исте биљке (Fernandez и Conner 2011; Matusinsky и сар.,

2008). Географска дистрибуција ових патогена је углавном условљена климатским условима, сортама пшенице, плодоредом, начином обраде земљишта и начином гајења пшенице (конвенционална или органска).

Проузроковачи трулежи корена и приземног дела стабла пшенице који се најчешће јављају су гљиве из рода *Fusarium*, и то *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* и *F. graminearum*, проузроковачи фузариозне трулежи. Такође, јављају се и патогене гљиве из других родова: *Oculimacula* (*O. yallundae* и *O. aciformis*), проузроковачи сочивасте пегавости приземног дела стабла; *Gaeumannomyces graminis* и *G. graminis* var. *tritici*, проузроковачи црне трулежи корена и приземног дела стабла; *Rhizoctonia* spp., проузроковач мрке сочивасте пегавости приземног дела стабла пшенице (Fernandez и Conner 2011; Matusinsky и сар., 2008; Xu и сар., 2018).

Истраживања која се односе на проузроковаче трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у Србији су до сада била јако мало заступљена. Овом темом су се у Србији бавили Јевтић и сарадници (2006) и Стошић (2010). О истраживању утицаја климатских фактора на појаву комплекса патогена који проузрокују ово обољење и питањем предоминантности одређених *Fusarium* врста у оквиру овог комплекса до сада нема података, те овај рад представља прво истраживање те врсте у Србији.

## 2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

### 2.1 Значај проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице

Трулеж корена и приземног дела стабла проузрокује више патогена који заједно чине комплекс. Више патогена овог комплекса може истовремено да проузрокује оштећења на корену и приземном делу стабла исте биљке (Fernandez и Conner, 2011; Matusinsky и сар., 2008). Појава овог комплекса забележена је у различитим географским подручјима, и у различитим агроеколошким условима (Fernandez и Conner, 2011). Приликом интензивније појаве ових патогена губици у приносу и квалитету пшенице могу бити значајни. Ако су повољни еколошки услови или се биљка налази у стресним условима губици приноса су јако велики (Draper и сар., 2000). Ова обољења се могу јавити у било којој фази развоја биљке. Ипак, најтеже последице настају током фазе клијања и бокорења (Cook и Veseth, 1991).

Уколико је семе заражено патогеном долази до пропадање клијанаца. Симптоми на надземним деловима биљке често нису јасно уочљиви (Fernandez и Conner, 2011). Појава трулежи корена и приземног дела стабла пшенице и потенцијални ефекат на пољопривредну праксу често су непредвидиви јер зависе од самих проузроковача али и од услова спољашње средине (Fernandez и Conner, 2011). Овај комплекс патогена може да проузрокује смањење приноса и до 50% (Agrios, 1997; Smiley и сар., 2005). Tunali и сарадници (2008) наводе да штета коју наноси овај комплекс патогена може и прећи 50%, поред штете услед смањења квалитета зрна. Smiley и сарадници (2005) наводе да трулеж приземног дела стабла озиме пшенице смањује принос до 35% на комерцијалним пољима. Просек смањења приноса на 13 парцела износио је 9,5%.

Трулеж приземног дела стабла се сматра другом економски најразорнијом болешћу пшенице у Аустралији. Учестало се јавља у већини области у којима се гаји пшеница, и проузрокује годишње губитке од 56 милиона долара. Скорашње студије у различитим областима Аустралије откриле су да појава трулежи приземног дела стабла проузрокује смањење приноса пшенице за производњу хлеба од 25%, а у дурум пшеници и 58% (Brennan и Murray, 1998). Процењено је да је годишњи губитак приноса пшенице у Аустралији 23 милиона долара у јечму, и у комбинацији јечма и пшенице (Murray и Brennan, 2009). Постоје подаци да ово обољење може проузроковати губитке приноса и

до 89%, на индивидуалним производним површинама (Klein и сар., 1985). У последњој деценији је у САД због појаве ових патогена настао губитак приноса вредан 2 милијарде долара (Dubin и сар., 1997). Manning и сарадници су 2000. године пријавили у области Нови Јужни Велс у Аустралији губитак приноса у производњи пшенице од 20-100% у току 1999. и 2000. године.

Фузариозе су једна од најчешћих и најзначајнијих болести које се јављају на пшеници. Трулеж приземног дела стабла проузрокована врстама из рода *Fusarium* (најчешће *Fusarium culmorum* и *F. pseudograminearum*) је болест пшенице глобалног значаја. Последњих година постаје епидемична у Европи, САД, Канади, Кини и Јужној Америци. Услед велике варијабилности, врсте овог рода су се одлично прилагодиле различитим агроеколошким условима гајења због чега су већином космополити (Станковић и сар., 2007). Проузрокују велике губитке приноса и нарушавају квалитет зрна (McMullen и сар., 1997; Goswami и Kistler, 2004). У климатским условима Србије фузариозе су појединих година врло штетна обољења на пшеници. Ови патогени су одговорни за милијарде долара губитака широм света сваке године. Током протекле две деценије, врсте у оквиру *Fusarium graminearum* комплекса су се истакле као један од најдеструктивнијих узрочника обољења на житарицама (Clear и Patrick, 2000; Windels, 2000). У САД је као последица овог обољења забележен губитак од три милијарде долара између 1998. и 2000. године (Nganje и сар., 2002). Paultiz и сарадници су у истраживању спроведеном 2002. године у Северозападној Пацифичкој регији у Канади установили да чак 76% биљака озиме пшенице може бити заражено фузариозом приземног дела стабла. Процењени губици приноса су 18% на јако зараженим парцелама. У Канадским преријама забележени су губици приноса од 5,7% годишње (Ledingham и сар., 1973). У Аустралији су забележени губици у распону од 13,9-23,9% на осетљивим сортама пшенице и 6,8-13,6% на делимично отпорним сортама пшенице (Wildermuth и сар., 1992).

Штетно деловање *Fusarium* врста се поред смањења приноса огледа и у способности да стварају метаболите токсичне за људе и животиње. Принос са јако заражених парцела није употребљив ни за сточну ни за људску исхрану. Из тог разлога у земљама Европске Уније, један од параметара квалитета је и проценат заражености зрна овим патогеном. Проузроковачи трулежи корена и приземног дела стабла из рода *Fusarium* могу продуковати велику количину микотоксина деоксиниваленол-ДОН (до 35 ppm у коленцету листа заставичара и класу пшенице) (Mudge и сар. 2006). Ово истраживање је такође показало да производња ДОН-а не подразумева и појаву симптома

трулежи приземног дела стабла, али указује да ДОН има утицаја на насељавање стабла овим гљивама. Walter и Doohan (2011) утврдили су да овај микотоксин олакшава појаву фузариозе класа и трулежи приземног дела стабла. *Fusarium* врсте које су најчешће повезане са фузариозом класа пшенице и других стрних жита у Европи су *F. graminearum*, *F. avenaceum* и *F. culmorum* (Bottalico и Giancarlo, 2002). Cook (2001) наводи да скоро све врсте рода *Fusarium* могу проузроковати фузариозу класа пшенице. *Fusarium graminearum* је најчешћи проузроковач фузариозе класа и палежи клијанаца пшенице у САД, док је *F. culmorum* карактеристичнији за Европу (Wagacha и Muthomi, 2007).

На интензитет напада патогена на подземне делове биљака, и клијанце, утиче количина инокулума у земљишту. Непоштовање плодореда, лоша обрада земљишта и плитко заоравање жетвених остатака су неки од најважнијих узрочника повећане количине инокулума у земљишту. Према резултатима Wildermuth и сарадници (1997) на парцелама на којима су задржавани жетвени остаци напади *Fusarium* sp. били су много јачи (32,2%), него где су жетвени остаци уклањани или паљени (4,7%). Међутим, треба избегавати уклањање жетвених остатака паљењем како би се хранљиве материје потребне биљци сачувале у земљишту. У годинама које нису погодне за развој фузариозе класа, појава фузариозе корена и приземног дела стабла може допринети одржању инокулума у земљишту, а тако и развоју и ширењу фузариозе класа у наредним годинама (Fernandez и Conner, 2011).

*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* се у јачем интензитету може јавити нарочито ако се не поштује плодоред, и ако погодују агроколошки услови. Ређе се јавља у сушним годинама и у аридним подручјима. Agrios (1997) наводи да смањење приноса услед појаве овог патогена може износити и до 50%. Процењени губици у Великој Британији износе 60 милиона фунти годишње. На нашим просторима ово обољење је констатовано у јачем интензитету 1965. у Шапцу и 1966. године у Крагујевцу (Костић и Смиљковић, 1966).

На подручјима на којима се на приземном делу стабла и биљним остацима константно одржава инокулум *Oculimacula* sp. штете у приносу су 5-10%, али има случајева када је род смањен и за 60%. Burnett и Oxley су 1996. године установили значајну везу између појаве сочивасте пегавости стабла пшенице и губитка приноса, као и полагања биљака. Губитак приноса зрна може бити и 10-15% због смањене адсорпције корена, а угинула или јако оштећена стабла могу проћи непримећено на пољу (Huber и McCay-Buis, 1993). У том периоду, последице од штурости зрна могу достићи и 50% или

више (Mathre, 1982). Паразит изазива полегање пшенице док су јечам, раж, овас и траве мање осетљиви. Према истраживању Ray и сар. (2006) губитак приноса услед напада *O. aciformis* износио је 11%, а услед напада *O. yallundae* 6% (Burnett и сар., 2012). Сочиваста пегавост нема већег значаја у сушним годинама и аридним подручјима (Марић и Јевтић, 2005).

С обзиром на велики значај стрних жита у производњи хране, доста се ради на стварању сорти и хибрида високог генетичког потенцијала родности, као и на побољшању технологије производње и агротехнике у циљу боље заштите од болести. Задњих неколико деценија болести стрних жита наносе велике штете које се огледају у смањењу приноса и смањењу квалитета зрна, како у меркантилној тако и у семенској производњи.

## 2.2 Доминантни патогени комплекса трулежи корена и приземног дела стабла пшенице

Иако проузроковачи трулежи корена и приземног дела стабла чине комплекс патогена, интеракција и антагонизам између различитих патогена су мало познати. Због тога су неопходне додатне студије у различитим географским подручјима и условима производње како би се разјаснили фактори који доводе до појаве појединих проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице.

Географска дистрибуција проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице је највећим делом повазана са климатским условима, сортама пшенице, пољопривредном праксом (начином производње-конвенционална или органска), обрадом земљишта и плодоредом (Matusinsky и сар., 2008; Xu и сар., 2018). Постоје различити извештаји о доминацији или комбинацији врста (*Fusarium* spp., *B. sorokiniana*, *R. cerealis*, и *G. graminis* var. *tritici*) утврђених на корену или стаблу пшенице на истој биљци или на истом пољу (Xu и сар., 2018). *Fusarium pseudograminearum* се наводи као доминантна врста у аридним областима северозападног Пацифика и Аустралије (Poole и сар., 2013). Са друге стране, у хладнијим областима, на вишим надморским висинама и у областима са великим количинама падавина доминантна врста је *F. culmorum* (Smiley и сар., 2005). *F. graminearum* је забележен као доминантан у источној Аустралији и јужној Европи. *Bipolaris sorokiniana* је превалентан у аридним и полуаридним областима (Smiley и Patterson 1996; Li и сар., 2011). *Gaeumannomyces* sp. и *Rhizoctonia* sp.



најзаступљенији у влажним областима, или током влажних година, или на пољима која се заливају (Paulitz, 2010). Cook (1981) наводи да је *F. culmorum* карактеристичан патоген за хладније, полуаридне области, а *F. pseudograminearum* и *F. graminearum* су доминантни у благо топлијим областима. Више аутора наводи да су преобладајући проузроковачи трулежи приземног дела стабла пшенице *F. pseudograminearum* и *F. culmorum* (Burgess и сар., 2001; Backhouse и сар., 2004; Chakraborty и сар., 2006).

На корену се може пронаћи и утврдити већи број гљива него на приземном делу стабла. *Fusarium* врсте доминирају на корену пшенице, нарочито *F. oxysporum*. Ипак, често је прихваћено мишљење да је *F. oxysporum* мање значајан патоген стрних жита (Chambers, 1972; Burgess и сар., 1975; Sturz и Bernier, 1991). Према истраживању Cook и Veseth (1991) *Fusarium* врсте представљају највећу компоненту заједнице гљива које се налазе на корену биљака. Од укупног броја изолата 33,1% били су припадници рода *Fusarium*. Од тих изолата 41,2% био је *F. oxysporum* а 27,7% *F. nygamai*. Сматра се да су *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. oxysporum* и *F. equiseti* међу најзаступљенијим гљивама изолованим са подземних делова пшенице у Канади, али са малим бројем заражених биљака (Fernandez и Jefferson, 2004). Други аутори сматрају да су ови патогени, као и *Microdochium nivale* од мањег значаја у комплексу проузроковача трулежи приземног дела стабла пшенице (Cook, 2010; Paulitz и сар., 2002; Smiley и Patterson, 1996), зато што су првенствено секундарни патогени, а не примарни патогени у полу аридним областима (Burgess и сар., 2001).

Иако врсте рода *Fusarium* проузрокују и фузариозу класа пшенице и фузариозну трулеж корена и приземног дела стабла, далеко је већи акценат на испитивању фузариоза класа (Wang и сар., 2015, Smiley и сар., 2005). У Србији је вршено само неколико испитивања на тему проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице (Јевтић и сар., 2006, Стошић, 2010). Јевтић и сарадници су у вегетационој сезони 2004/05. спровели истраживање о појави проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице на осам локалитета у Србији. Оштећење биљака је детектовано у различитим фазама развоја биљке (Јевтић и сар., 2006). Резултати овог истраживања су показали да су гљиве рода *Fusarium* биле главни узрочник инфекције корена и приземног дела стабла пшенице (55,2%). Друга два установљена патогена јавила су се у јако малом интензитету, (*Gaeumannomyces graminis* 1,1% и *Pseudocercospora herpotrichoides* 0,7%). У истраживању Стошића (2010) на локалитету Римски Шанчеви, испитивана је зараженост биљака пшенице проузроковачима трулежи корена и приземног дела стабла у условима

спонтане инфекције. Испитивање је обухватало 135 генотипова, из 4 различите колекције пшенице. Резултати истраживања указали су на присуство патогена *Fusarium* sp., *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* и *Pseudocercospora herpotrichoides*. У све четири колекције *Fusarium* sp. био је доминантан по уделу заражених биљака (16,32%) док су *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* и *Pseudocercospora herpotrichoides* били присутни у много мањем проценту (3,28% и 2,33%). До сада нису постојали подаци која *Fusarium* врста је доминантна као проузроковач трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у Србији. Постоје подаци да је *Fusarium graminearum* доминантан као проузроковач фузариозе класа пшенице (Левић и сар., 2012).

Моја Elizondo и сарадници (2015) утврђивали су биодиверзитет проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у Чилеу. Утврдили су ниво инфекције овим патогенима од 11,3% до 80% на индивидуалним парцелама. Чак 72,2% стабала било је заражено неким патогеном. *Fusarium avenaceum*, *F. graminearum* и *F. culmorum*, као проузроковачи трулежи приземног дела стабла изоловани су са 13,5% бокора пшенице. *Gaeumannomyces graminis* је изолован са 11,1% стабала. Остале гљиве, *Rhizoctonia* spp., *Microdochium nivale*, други сапрофити и неколико неидентификованих неспорулишућих гљива изоловано је из мање од 3% од укупног узорка. Фузариозна трулеж и црна трулеж приземног дела стабла пшенице биле су доминантне врсте на територији јужног Чилеа.

Временски услови током вегетације увек погодују неком од патогена и док се једни јављају у максимуму, други су присутни у минимуму. Између појединих патогена може се јавити и антагонизам, што такође доприноси великој разлици у појави одређених патогена. Образац по којем се фузариозна трулеж корена и приземног дела стабла јавља у топлим, сувим областима, а црна трулеж корена жита у хладним, влажним областима, добро је познат широм света. Компетиција између врста рода *Fusarium* јако је значајна и током сапрофитне фазе. Врсте као што је *F. graminearum* које имају слабији сапрофитни капацитет брзо бивају замењене другим компетиторима укључујући *F. equiseti* и *F. oxysporum* (Pereyra и сар., 2004). Врсте *F. graminearum* и *F. culmorum* могу имати синергистичко деловање у земљишту и са осталим врстама овог рода и тако изазвати интензивнији напад корена биљака (Cook, 2010).

Србија се суочава са колебањем климатских фактора, са тенденцијом смањења годишње количине падавина, и са узлазним трендом средњих годишњих температура (Михаиловић и сар., 2015). Савремена интезивна производња пшенице врши велики притисак на одржање квалитета и приноса зрна. Диверзитет унутар гајених сорти је често

ограничен због генетског „уског грла“ које се јавља приликом селекције (Reif и сар., 2005). Смањена генетска разноврсност је посебно ослабљена у контексту отпорности према болестима. Програми оплемењивања покушавају да превазиђу ограничење генетичке разноврсности пшенице идентификујући нове изворе отпорности (Feuillet и сар., 2008).

### 2.3. Утицај климатских промена на појаву комплекса проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице

Патогени који проузрокују трулеж корена и приземног дела стабла могу се јавити појединачно, али углавном коегзистирају на истом пољу, па и на истим биљкама. Доминантне врсте комплекса у одређеној области могу да варирају из године у годину, указујући на висок ниво адаптације. Патогени који чине овај комплекс реагују на промене температуре, расподелу падавина током године, количину падавина, и едафске факторе (Smiley и сар., 2005; Мoya-Elizondo и сар., 2011).

Са пољопривредног аспекта, глобалне климатске промене представљају потенцијалну претњу по снабдевеност храном. Ова претња потиче од промене образаца падавина, повећаног броја екстремних временских прилика, и промене дистрибуције и појаве обољења и њихових вектора (Tubiello и сар., 2007; Soussana и сар., 2010). Генерално, научници се слажу да ће глобалне климатске промене негативно утицати на приносе и квалитет пољопривредних производа у многим регионима света (Soussana и сар., 2010). Очекује се да ће екстремни режим падавина повећати последице стреса услед суше у умереним областима јер ће се интервали суше између падавина повећавати (Кнарр и сар., 2008; Soussana и сар., 2010). Само једна студија указује на повећање приноса усева у области умерене климе, као последицу пораста средњих температура за 1-3 °C уз повећање концентрације CO<sub>2</sub> и промене у количини падавина (Soussana и сар., 2010). Неке *Fusarium* врсте могу се јавити у условима велике количине падавина, као што је *F. pseudograminearum* (Burgess и сар., 1981). У том контексту, климатске промене могу довести до већих губитака приноса, и предоминантности патогена из рода *Fusarium*. Ово сазнање пружа основу за даља истраживања на овом пољу, у циљу контроле ових патогена, а на основу познавања њихове биологије и интеракције.

Утврђено је да је појава патогена *F. pseudograminearum* у позитивној корелацији са температурама током летњих месеци (Мoya-Elizondo и сар., 2011). Повећање нивоа CO<sub>2</sub>,

који је такође повезан са климатским променама, утиче на повећање садржаја патогених гљива (Melloy и сар., 2010).

## 2.4 Најзначајнији проузроковачи трулежи корена и приземног дела стабла пшенице

На корену и приземном делу стабла пшенице могу се наћи патогене гљиве из рода *Fusarium*, а најчешће *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* и *F. graminearum* (Fernandez и Conner 2011; Xu и сар., 2018). Међутим, и многе друге врсте се наводе као патогени корена и приземног дела стабла пшенице: *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. crookwellense*, *F. roae*, *Microdochium nivale*, *M. majus* (проузроковачи мрке трулежи корена пшенице).

Поред рода *Fusarium* који је уједно и најбројнији према броју врста, јављају се и други патогени: *Oculimacula yallundae*, *O. aciformis* (проузроковачи сочивасте пегавости пшенице), *Bipolaris sorokiniana*, *Gaeumannomyces graminis* и *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (проузроковачи црне трулежи корена и приземног дела стабла пшенице), *Rhizoctonia* spp. (Fernandez и Conner, 2011; Matusinsky и сар., 2008; Xu и сар., 2018).

Патогени који припадају роду *Fusarium* су најзначајнији проузроковачи овог обољења у свету. Као други по значају најчешће се наводе *Gaeumannomyces graminis* и *Oculimacula* spp. Овде ће бити представљени најзначајнији проузроковачи трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у Србији.

### 2.4.1 Фузариозна трулеж корена и приземног дела стабла (проуз. *Fusarium* spp.)

Проузроковачи фузариозне трулежи корена и приземног дела стабла су гљиве из рода *Fusarium*. Једне од најчешћих врста су *F. graminearum* и *F. culmorum*, које могу имати синергистичко деловање у земљишту са осталим врстама овог рода и тако изазвати интензивнији напад корена биљака. Поред наведених у оквиру *Fusarium* комплекса јављају се и врсте *F. pseudograminearum*, *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *Microdochium nivale* и друге, али у далеко мањем интензитету од прве две наведене врсте (Cook, 2010). Осим на пшеници обољење је врло често и значајно на кукурузу, али може да се јави и на другим стрним житима (јечам, овас, раж, пиринач), као и на другим биљним врстама (соја, парадајз, грашак, луцерка). Болест је распрострањена у свим деловима света где се пшеница гаји, а посебно у хумидним и семихумидним подручјима

гајења. Болест напредује и наноси значајне губитке код биљака које су под стресом због недостатка воде. У повољним условима влаге може се остварити инфекција, али се болест не мора манифестовати. У већој мери се среће у стресним условима (суша, високе температуре, прегусти усеви, сувишак азота, итд.).

*Fusarium oxysporum* може бити веома штетан и агресиван земљишни патоген, поред свог сапрофитног потенцијала. Неки сојеви овог патогена имају специфичне патогене способности. Јављају се и у умереној и у топлој клими. Изоловани су у земљиштима неких пустиња, затим тропских и умерених шума, травњака и тундри. Ово је свакако један од најзначајнијих патогена из рода *Fusarium*. Овај патоген је веома варијабилан тако да су неки његови изолати патогени само према одређеним биљним врстама, а неки према одређеним сортама. До данас је описано око 80 форми ове гљиве.

Гљиве рода *Fusarium* сматрају се „неспецифичним“ патогенима јер могу да инфицирају било које биљно ткиво ако су услови на површини тог ткива оптимални за инфекцију (Paulitz и сар., 2002). Захваљујући свом сапрофитном потенцијалу, могу да опстану у периоду између две гајене културе, на зараженим биљним остацима (Agrios, 2005). И патогене и непатогене врсте рода *Fusarium* имају могућност колонизације и продирања у корен примарних домаћина и других биљака (Olivain и сар., 2006). Појава трулежи приземног дела стабла фаворизована је стресом услед суше у каснијим фазама производње пшенице (Paulitz и сар., 2002).

**Животни циклус *F. graminearum*:** Семе пшенице као и заражени жетвени остаци представљају најзначајнији начин одржавања гљиве *F. graminearum* (Cook, 1981). У земљишту на зараженим биљним остацима може презимети у облику перитеција, као и у виду мицелије са макроконидијама и хламидоспорама (Paulitz, 2006; Cook, 1981). Када инокулум потиче из земљишта последица може бити инфекција старијих биљака, палеж клијанаца, трулеж корена и приземног дела стабла (Sutton, 1982; Fernandez и сар., 2008). Утврђено је да је оптимална температура за развој *F. graminearum* на сејанцима пшенице 24°C (Ivanović и Ivanović, 2001).

Остварењу инфекције и развоју болести погодују високе температуре, честе падавине и висока влажност ваздуха. Због кратког периода осетљивости, *F. graminearum* ограничен је на само један инфекциони циклус током вегетације. Споре могу клијати у року од шест сати након контакта са површином биљке. Патоген је моноцикличан, након једног циклуса инфекције са аскоспорама, производи макроконидије асексуалном

репродукцијом. Ове структуре патогена презимљавају у земљишту или на зараженим биљним остацима и из њих настају примарне заразе у наредној сезони.

**Морфологија *F. graminearum*:** Паразит на хранљивој подлози формира бујну беличасту мицелију, ружичасте, љубичастожућкасте, сивкасте или мрке боје. На мицелији се бочно формирају кратке фијалиде. Макрокониције су безбојне, бледоружичасте, српасто повијене са вршном ћелијом која је мало дужа од осталих и равномерно се сужава, имају 3-4 септе. На хифама су присутне хламидоспоре. Хламидоспоре су лоптастог облика, безбојне до бледо смеђе, и могу се образовати појединачно или у низовима (Leslie и Summerell, 2006). *F. graminearum* не формира микрокониције. Телеморф овог патогена формира перитеције на површини биљног ткива. Перитеције се формирају на великом броју трава. Оне се формирају површински на танким стромама и налазе се у групама око доњих нодуса или око основе инфицираног стабла, овалне су имају храпав омотач, тамно плаве или црне боје. Оне су лоптасте, 125-265  $\mu\text{m}$  у пречнику, заобљених ивица. У дозрелим перитецијама формирају се аскуси у којима се формира обично 8 аскоспора у низу. Аскуси су ширине 4-10  $\mu\text{m}$  а 50-80  $\mu\text{m}$  дужине, са 6-8 аскоспора. Аскоспоре су прозирне или светломрке, повијене или праве, сужене и заобљене на крајевима, ширине 3,3-6,5  $\mu\text{m}$  и дужине 13-17  $\mu\text{m}$ , са 1-3 септе (Cook, 2010).

**Животни циклус *F. oxysporum*:** Класичан земљишни паразит, а главни извор инокулума су заражени биљни остаци. Паразит се одржава путем хламидоспора које се у земљишту могу одржати и по неколико година, захваљујући добро развијеним конкурентским способностима према другим микроорганизмима. Клијање хламидоспора започиње чим се нађу у близини одређених хранљивих супстанци које лучи корење биљака. Хламидоспоре клијају и дају хифе, конидије или нове хламидоспоре које паразиту служе као инокулум. Дубље у ткиво биљке домаћина могу продрети само сојеви који су специфични за ту биљну врсту, док у покорично ткиво могу продрети и други сојеви. Паразит у ткиво корена продире у зони његовог издуживања или на местима где постоје оштећења. Када мицелија продре у коренов систем долази до њеног ширења у надземне делове биљке. У завршним фазама заразе паразит се шири и у бочне делове биљке и на њима настају видљиви симптоми.

**Морфологија *F. oxysporum*:** Полни стадијум овог патогена није познат. Изглед колонија овог паразита на хранљивим подлогама је веома различит што зависи од соја. Боја мицелије је прво бела, а затим варира од ружичасте до тамнопурпурне.

Микроконидије се увек формирају, овалног или елиптичног облика. Могу бити једноћелијске или двоћелијске а формирају се на неразгранатим, кратким фијалидама и груписане су у лажним главицама. Макроконидије су сужене према крајевима, мало повијене, обично са 3 до 5 септи и углавном имају “стопало” на базалној ћелији. Хламидоспоре могу бити у виду краћих низова или појединачне.

**Симптоми *Fusarium sp.*:** Карактеристични симптоми обољења које проузрокује *F. graminearum* на стрним житима могу се уочити на свим деловима биљака. Заражено семе има смањену клијавост и енергију клијања што утиче неповољно на ницање семена. У усевима заснованим са јаче зараженим семеном, семе пропада пре ницања испољавајући симптоме трулежи са нијансама црвенкасте боје. На сејанцима код којих је захваћен већи део ткива долази до изумирања и такви усеви су са ређим биљним склопом. Код јачих инфекција коренов систем захвата некроза и ткиво је разорено, због чега се биљке лако чупају из земље. Мицелија гљиве се развија на корену и приземном делу стабла због чега долази до прекида транспорта воде од корена ка надземним деловима биљке, а услед уништавања проводног ткива (Drapar и сар., 2000). На чвору бокорења и приземном делу стабла биљака јављају се издужене мрке пеге, са мање или више некротираним коленцима. Унутрашњи симптоми су видљиви голим оком на пресеку инфицираног стабла или корена. Некроза се јавља прво на спроводним снопићима а касније се преноси на покорично ткиво. У усеву који је захваћен овим паразитом јављају се појединачно захваћене биљке а патоген се брзо шири на околне биљке које изумиру па се тако добијају цилиндрична места на којима је дошло до пропадања биљака. Последице обољења се огледају у смањењу приноса и квалитету зрна, а осим директних штета отежана је и жетва услед полегања биљка. У пољу се ови симптоми уочавају у време класања у виду превременог угињавања биљака, и појавом белих класова, који у условима повишене влаге постају црни (Marić и Jevtić, 2005).

#### 2.4.2 Црна трулеж корена (проуз. *Gaeumannomyces graminis var. tritici*)

*Gaeumannomyces graminis var. tritici* је веома значајан патоген у условима умерене климе где су пшеница и друга стрна жита често гајене културе, земљишта неутрална или алкална, а падавине честе. Патоген је изолован у многим земљама света а и код нас. Углавном напада озиму пшеницу.

**Животни циклус *Gaeumannomyces graminis var. tritici*:** Главни извор заразе представља мицелија која се одржава на корену заражених биљака или жетвеним остацима. Nilsson (1969) је утврдио да су чак 402 врсте из породице трава домаћини патогену *G. graminis*. Зараза младих биљака се врши преко корена. Хифе паразита продиру у корен и на тај начин се повезују заражене и здраве биљке. Заразе на пшеници се најчешће остварују током априла и маја месеца, али су остварљиве и током зиме. Инокулум је веома инвазиван тако да до епидемије може доћи и ако је у предходном усеву било само 1% заражених биљака. Главни фактор који поспешује ширење овог патогена је земљишна влага. У земљиштима где је влажност ниска, симптоми се уочавају на појединачном корењу и не долази до образовања оаза у пољу. Зараза се шири преласком мицелије патогена са корена на корена суседних биљака. Лака земљишта, сиромашна хумусом и велика влажност су услови у којима паразит брзо напредује. Утврђено је и да се паразит јавља ређе на киселим земљиштима а чешће када се врши калцификација. Паразит формира и аскоспоре које се преносе кишним капима али само неколико метара од места настанка. Оне се не сматрају значајним за ширење заразе јер брзо пропадају под утицајем земљишне микрофлоре.

**Морфологија *Gaeumannomyces graminis var. tritici*:** Хифе паразита су јасно диференциране, поседују септе и мрке су боје, гранају се и формирају бочне хифе са хифоподијама. Перитеције су црне боје са дугим вратом и појављују се кроз пукотине у рукавцима доњег листа. Аскуси имају заобљене ивице, издужени су и једнослојни и када сазре сваки од њих има свој вршни прстен. У аскусу се формира 8 аскоспора које су светложуте боје и мало повијене. Паразит често формира и фијалоспоре. Оне су прозирне, мање или више повијене, једноћелијске. Фијалиде могу бити уроњене у подлогу или ваздушне.

Према више аутора (Vanterpool, 1938; Bateman и Kwasna, 1999; Lemaczyk и Sadowski, 2002) опште је познато да је овог патогена јако тешко изоловати из органа биљке који показују типичне симптоме овог обољења.

**Симптоми *Gaeumannomyces graminis var. tritici*:** Патоген започиње инфекцију у средишњој зони кореновог система, ширећи се са корена на корен, и са биљке на биљку (Cook и Veseth, 1991). Црне лезије и некротични врхови корена су карактеристични симптоми (Huber и McCay-Buis, 1993). Први симптоми појаве болести су појединачни угинули клијанци. Ако долази до угињавања клијанаца у оазама на пољу на тим местима долази до бржег пораста корова, што може бити још један показатељ појаве болести.



Мање заражени сејанци преживљавају, али остају закржљали и мање се бокоре. У време класања долази до појаве неуједначености у погледу висине а заражене биљке изумиру. На изумрлим биљкама долази до појаве белих класова и они остају стерилни а и уколико се формира зрно, остаје штуро. Такви класови бивају насељени сапрофитима усед чега долази до појаве црних класова. На зараженим биљкама коренов систем је неразвијен, у процесу распадања и такве биљке нису чврсто везане за земљиште. У условима појачане влаге паразит прелази са корена на приземни део стабла. На површини приземног дела стабла, испод лисних рукаваца, долази до појаве тамне мицелије (Wiese, 1987).

Ако влажно време потраје, крајем вегетације кроз пукотине на лисним рукавцима доњег листа појављују се вратови перитеција. Када нема довољно влаге перитеције се не формирају, а и црnilо на стаблу је слабије изражено. Да би се извршила дијагностика мора се извршити микроскопски преглед кореновог система. На слабо развијеном корену се лако уочава ендогена и егзогена мицелија са кончастим творевинама од неколико милиметара.

#### **2.4.3 Сочиваста пегавост приземног дела стабла (проуз. *Oculimacula* spp.)**

Патоген је код нас мање значајан од претходна два јер се јавља спорадично и не проузрокује велике штете, за разлику од западноевропских земаља и Скандинавије. Ово обољење се јавља местимично на земљиштима средњег и тежег механичког састава, у прохладним и влажним условима. У сушним годинама и аридним подручјима нема већег значаја. Развоју болести погодују вишегодишња монокултура, рана и густа сетва, као и већи садржај азота у земљишту. Чешће се јавља на озимој пшеници, и веће штете проузрокује управо због периода хладног и влажног времена током зиме. (Wiese, 1987). Такође, ово обољење је опасније када се пшеница гаји у монокултури, или без плодореда са јарим културама (Mathre, 1982; Wiese, 1987).

**Животни циклус *Oculimacula* spp.:** Основни извор заразе су заражени биљни остаци на којима се формирају конидије паразита, а извор заразе могу бити и разни корови из фамилије Роасаеае. Паразит формира апотеције које су ситне и црне, садрже аскусе са аскоспорама. Конидије се формирају на температурама од 4 до 20 °C уз високу релативну влажност ваздуха. За њихово клијање потребна је влажност ваздуха од најмање 85% у трајању од 15 сати. Оптимална температура за раст мицелије је 20-23 °C а формирање спора је најинтензивније на 3-15 °C. Конидије се могу ширити путем ветра

и кишом, с тим да се кишом могу пренети само на мале удаљености. Конидије у контакту са биљним ткивом клијају у инфективну хифу која заражава биљно ткиво или кроз природне отворе. У пегам на стаблу биљака се могу формирати склероције које имају улогу у презимљавању паразита а могу да преживе до 3 године. Алкална реакција и недостатак фосфора повећавају осетљивост биљака према сочивастој пегавости (Марковић, 2003).

**Морфологија *Oculimacula* spp.:** Конидиофоре паразита су цилиндричне, дуге и безбојне, благо су згуснуте према врху и из стоме излазе у сноповима. Конидије су појединачне или у мањим групама, безбојне, са 4-8 септи. Неретко се јављају спорангије које излазе из базалних или средњих делова конидије, једноћелијске или са 2-3 септе.

**Симптоми *Oculimacula* spp.:** Први симптоми се уочавају на стабљици, на висини од око 5 cm од тла. У почетним фазама развоја пшенице, у јесен, на лисним рукавцима могу се уочити жућкасте пеге. У пролеће зараза напредује и тада се уочавају елипсасте пеге које су изнутра жуте оивичене тамнијом бојом која није јасно одвојена од здравог ткива. У влажним условима унутрашњи део пега потамни због стварања велике количине конидија у оквиру ње. У средишњем делу пеге долази до стварања склероције црне боје. Испод пега долази до разарања ткива и појаве трулежи, долази до слабљења механичких ткива стабла и такве биљке полежу у свим правцима (паразитско полагање). Код зараза слабијег интензитета биљке не полежу, али ће прерано сазрети и дати шура и ситна зрна. Burnett и Oxley су 1996. године установили значајну везу између појаве сочивасте пегавости стабла пшенице и губитка приноса, као и полагања биљака. Појава лезија у облику сочива на лисним рукавцима и приземном делу стабла је карактеристика сочивасте пегавости (Mathre, 1982; Wiese, 1987).

У оквиру рода *Oculimacula* издвајају се две врсте гљиве: *O. yalundae* и *O. aciformis*, које је немогуће разликовати по типу симптома-сочивасте пеге на стаблу. Разлика између ове две врсте огледа се у типу оштећења које проузрокују. *O. yalundae* проузрокује слабљење механичког ткива стабла пшенице на месту образовања сочивасте пеге због чега долази до полагања биљака у свим правцима (паразитско полагање). *O. aciformis* проузрокује прекид протока воде и минералних материја од корена ка класу због чега долази до појаве шурих, слабо наливених класова. Такође се могу јавити бели класови, који приликом услова високе влаге постају црни услед насељавања сапрофита. Често се обе врсте јављају на истом стаблу (Dumalasova и сар., 2015).

### **3. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА**

Познавање особина патогена, климатских и других фактора који доприносе њиховој појави и развијању је од великог значаја за сузбијање истих. Истраживања на тему трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у Србији до сада нису често вршена. У литератури не постоје подаци о утицају климатских фактора на интензитет појаве комплекса проузроковача трулежи приземног дела стабла пшенице у Србији. Такође, не постоје подаци које врсте овог комплекса доминирају на територији Србије.

На основу наведеног, основни циљеви овог истраживања су следећи:

- Утврђивање интензитета појаве комплекса проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у годинама које су по климатским факторима значајно различите.

- Утврђивање биодиверзитета патогених гљива које су заступљене у комплексу проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице на испитиваном подручју.

## 4. РАДНА ХИПОТЕЗА

Проузроковачи трулежи корена и приземног дела стабла јављају се у усевима пшенице сваке године, у већој или мањој мери, у зависности од климатских и едафских фактора, плодореда и других агротехничких мера, а нарочито у условима стресним по развој биљке. Хемијске мере сузбијања проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у каснијим фазама вегетације су мање ефикасне.

Испитивање интензитета појаве комплекса патогена у годинама са различитим климатским параметрима указује на климатске факторе и њихове вредности које погодују појави и развоју проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице.

Одређивање биодиверзитета патогена показује које су то врсте гљива заступљене у комплексу проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице на испитиваном подручју.

Према броју изолата одређених врста, може се закључити које врсте су доминантне, указати на њихов међусобни однос у комплексу, и интензитет појаве при датим климатским факторима.

Познавање потенцијала за остваривање заразе ових патогена на одређеном подручју, при одређеним климатским условима, и познавање количине инокулума патогена су основни чиниоци планирања и спровођења мера контроле. У великој мери могу довести до значајног смањења штета и губитака квалитета и приноса.

## 5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Мачва је велика алувијална равница, и представља значајну пољопривредну регију Србије. Ово подручје је од изузетног значаја за производњу пшенице у нашој земљи. Производња житарица у Мачви простире се на 111.680 ha. Део Мачванског округа који је узет за подручје овог истраживања је нижи, равничарски део, где је производња пшенице најинтензивнија. Одликује је умерено-континентална клима, дубока и плодна земљишта, а са три стране окружена је рекама Сава и Дрина. Типови земљишта који су овде најзаступљенији су гајњача (гајњача нормална и гајњача лесивирана), чернозем (излужени или бескарбонатни и чернозем у огајњачавању), и алувијум уз реке (група аутора, 2015).

Производња пшенице у Мачви се одвија на изузетно великим површинама. Често је то производња у монокултури или ротацији са само једном или две друге ратарске културе. Мачва је са три стране окружена рекама, а едафски и климатски фактори су погодни за учесталу појаву проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице, чини ово подручје изузетно погодним за спровођење овог истраживања.

### 5.1 Прикупљање и обрада узорака

Прикупљање узорака приземног дела стабла пшенице вршено је на територији Мачве, а сва лабораторијска испитивања била су реализована у лабораторији за фитопатологију Одељења за стрна жита на Институту за ратарство и повртарство у Новом Саду (Римски Шанчеви).

Прикупљање узорака извршено је 2014. и 2017. године, у периоду одмах након жетве пшенице (ВВСН 99) с обзиром да различити проузроковачи трулежи корена и приземног дела стабла пшенице могу да испоље патогеност у различитим фенофазама пшенице (Matusinsky и сар., 2008).

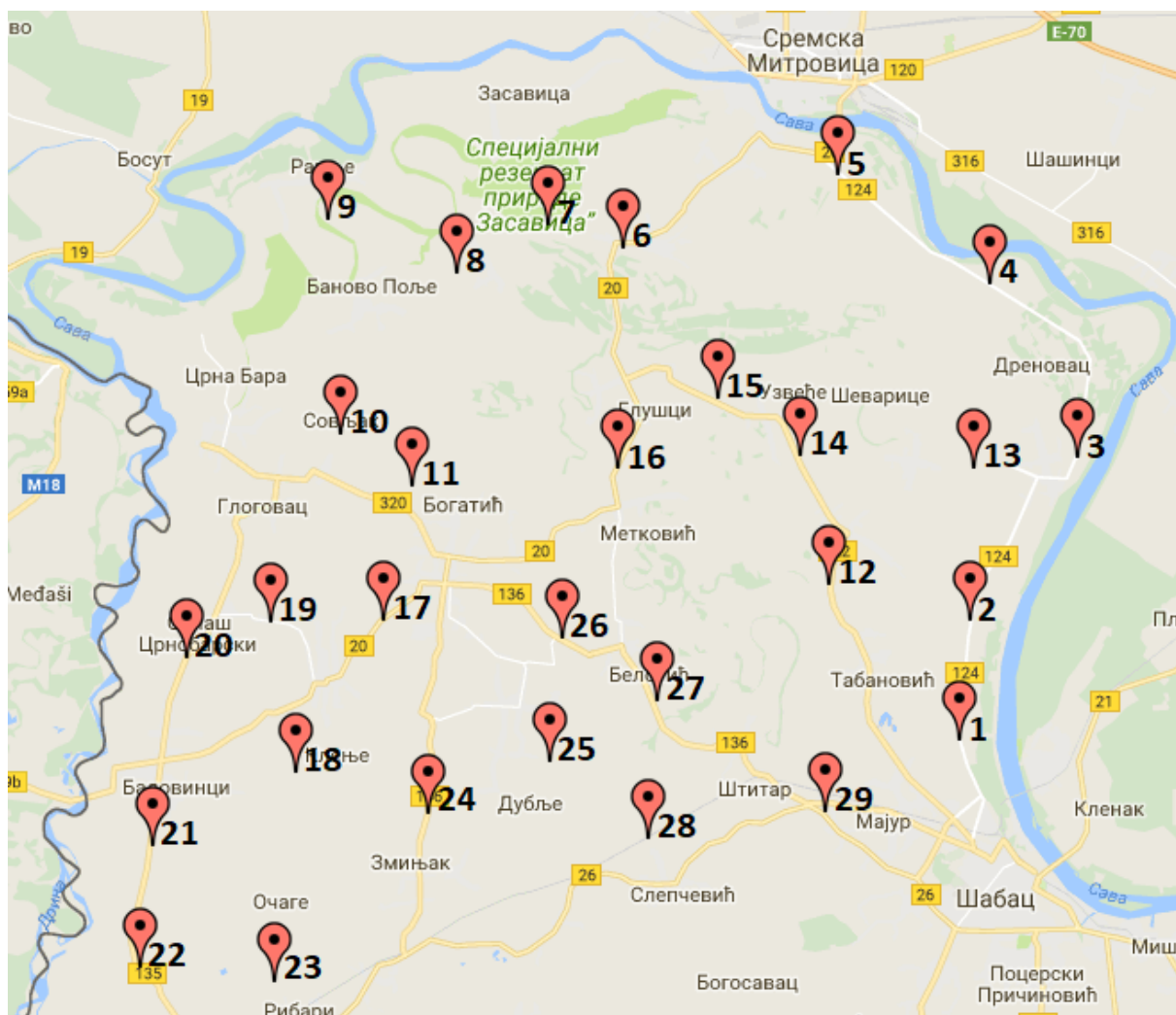
У Табели 1. приказана су обележја свих узорака са територије Мачве, са наведеним ГПС координатама сваке парцеле, за обе године узорковања.

Табела 1: Локалитети узорковања 2014. и 2017. године

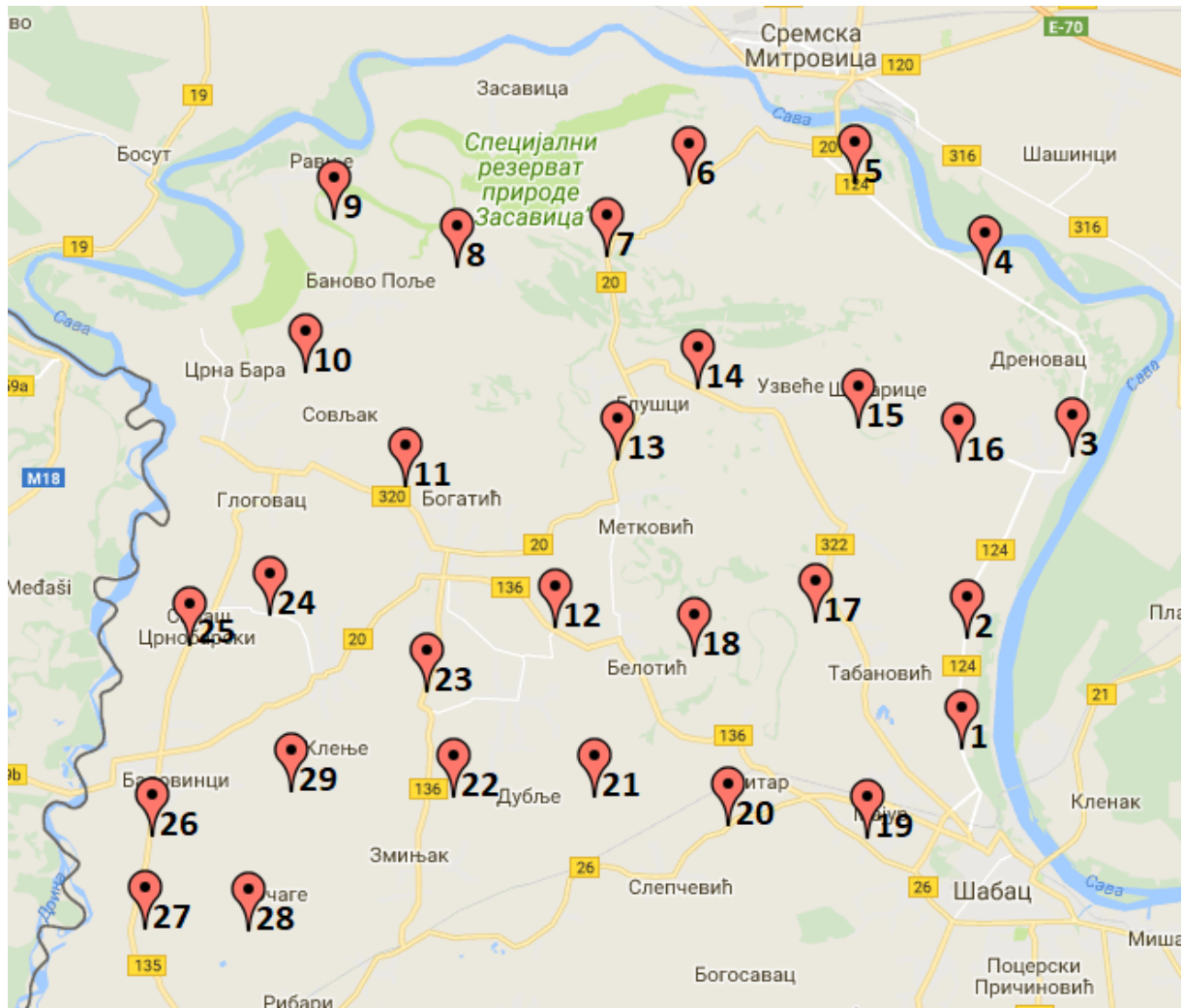
| 2014. година |                      |                          | 2017. година |                    |                          |
|--------------|----------------------|--------------------------|--------------|--------------------|--------------------------|
| Број узорка  | Локалитет            | ГПС координате           | Број узорка  | Локалитет          | ГПС координате           |
| 1            | Шабач                | N 44,79176<br>E 19,67682 | 1            | Шабач              | N 44,78703<br>E 19,67851 |
| 2            | Табановић            | N 44,82445<br>E 19,68089 | 2            | Табановић          | N 44,81735<br>E 19,68057 |
| 3            | Дреновац             | N 44,86860<br>E 19,72169 | 3            | Дреновац           | N 44,86707<br>E 19,72082 |
| 4            | Дреновац             | N 44,91558<br>E 19,68832 | 4            | Дреновац           | N 44,91655<br>E 19,68781 |
| 5            | Салаш Ноћајски       | N 44,94524<br>E 19,62979 | 5            | Салаш Ноћајски     | N 44,94159<br>E 19,63724 |
| 6            | Ноћај                | N 44,92530<br>E 19,54721 | 6            | Салаш Ноћајски     | N 44,94103<br>E 19,57342 |
| 7            | Раденковић           | N 44,93165<br>E 19,51848 | 7            | Ноћај              | N 44,92138<br>E 19,54220 |
| 8            | Баново Поље          | N 44,91853<br>E 19,48362 | 8            | Банови Поље        | N 44,91877<br>E 19,48401 |
| 9            | Равње                | N 44,93327<br>E 19,43419 | 9            | Равње              | N 44,93177<br>E 19,43664 |
| 10           | Совљак               | N 44,87502<br>E 19,43881 | 10           | Црна Бара          | N 44,89002<br>E 19,42599 |
| 11           | Богатић              | N 44,86081<br>E 19,46662 | 11           | Богатић            | N 44,85857<br>E 19,46454 |
| 12           | Мачвански Причиновић | N 44,83404<br>E 19,62615 | 12           | Богатић            | N 44,82023<br>E 19,52201 |
| 13           | Шеварице             | N 44,86540<br>E 19,68182 | 13           | Мачвански Метковић | N 44,86599<br>E 19,54593 |
| 14           | Узвеће               | N 44,86889<br>E 19,61538 | 14           | Глушци             | N 44,88573<br>E 19,57690 |
| 15           | Глушћи               | N 44,88454<br>E 19,58349 | 15           | Шеварице           | N 44,87476<br>E 19,63885 |
| 16           | Мачвански Метковић   | N 44,86540<br>E 19,54551 | 16           | Шеварице           | N 44,86540<br>E 19,67733 |
| 17           | Богатић              | N 44,82417<br>E 19,45562 | 17           | Табановић          | N 44,82201<br>E 19,62251 |
| 18           | Клење                | N 44,78303<br>E 19,42183 | 18           | Белотић            | N 44,81262<br>E 19,57553 |
| 19           | Салаш Црнобарски     | N 44,82372<br>E 19,41184 | 19           | Мајур              | N 44,76277<br>E 19,64226 |
| 20           | Салаш Црнобарски     | N 44,81397<br>E 19,37999 | 20           | Штитар             | N 44,76609<br>E 19,58849 |
| 21           | Бадовинци            | N 44,76263<br>E 19,36673 | 21           | Дубље              | N 44,77395<br>E 19,53706 |
| 22           | Бадовинци            | N 44,72959<br>E 19,36210 | 22           | Дубље              | N 44,77422<br>E 19,48313 |
| 23           | Рибари               | N 44,72552<br>E 19,41359 | 23           | Клење              | N 44,80209<br>E 19,47250 |
| 24           | Змињак               | N 44,77150<br>E 19,47270 | 24           | Салаш Црнобарски   | N 44,82391<br>E 19,41233 |

|    |           |                          |    |                  |                          |
|----|-----------|--------------------------|----|------------------|--------------------------|
| 25 | Дубље     | N 44,78570<br>E 19,51931 | 25 | Салаш Црнобарски | N 44,81522<br>E 19,38125 |
| 26 | Богатић   | N 44,81917<br>E 19,52380 | 26 | Бадовинци        | N 44,76308<br>E 19,36699 |
| 27 | Белотић   | N 44,80245<br>E 19,56054 | 27 | Бадовинци        | N 44,73814<br>E 19,36428 |
| 28 | Слепчевић | N 44,76493<br>E 19,55718 | 28 | Очаге            | N 44,73740<br>E 19,40370 |
| 29 | Мајур     | N 44,77209<br>E 19,62506 | 29 | Клење            | N 44,77558<br>E 19,42068 |

Подручје равнице Мачве је на УТМ мапи подељено меридијанима и упоредницима на области величине 4 x 5,5 km. Укупно је 29 таквих области, што представља равномерну дистрибуцију. У оквиру сваке области изабрана је по једна парцела под стрништем на којој је вршено узорковање. Парцеле су одабране насумично, без претходног сазнања о историји парцеле, плодореду, или појави испитиваних патогена. Удаљеност између узоркованих парцела била је најмање 3 km (Слика 1 и 2).



Слика 1: Просторна дистрибуција узорака у 2014. години



Слика 2: Просторна дистрибуција узорака у 2017. години

Сваки узорак се састоји од четири понављања који потичу са четири различита места на одабраној парцели. Најмање растојање између понављања на једној парцели било је 20 m, а свако понављање било је најмање 10 m удаљено од ивица парцеле. За прикупљање стабала пшенице коришћен је квадрат димензија 50x50 cm (0,25 m<sup>2</sup>) у оквиру којег су сакупљена сва стабла, тј. приземни делови стабала пшенице (Слика 3). Локација сваке парцеле, тачније сваког понављања на свакој парцели забележена је ГПС координатама у WGS84 lat/lon формату (latitude-longitude dd.ddddd) (Слика 4).





Слика 3: Узорковање стабала пшенице методом квадрата 0,5x0,5 m (фото: Н. Стошић)



Слика 4: Шема понављања на једној парцели (Салаш Ноћајски, 2017.)

## 5.2 Оцена заражености стабала пшенице

За потребе истраживања интезитета заражености стабала пшенице комплексом проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла, одабрано је 16 локалитета на којима је вршено узорковање у обе вегетацине сезоне, 2013/2014. и 2016/2017. То су локалитети: Бадовинци, Баново Поље, Белотић, Богатић, Дреновац, Дубље, Глушци, Мачвански Метковић, Мајур, Ноћај, Равње, Салаш Црнобарски, Салаш Ноћајски, Шабац, Шеварице, Табановић. Оцена присуства проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице, вршена је визуелном методом (Goulds и Polley, 1990; Schoeny и Lucas, 1999). Приликом оцењивања посматрани су карактеристични симптоми, односно промена боје ткива кореновог врата и прве интернодије приземног дела стабла, која је проузрокована заразом и развојем патогена испитиваног комплекса, без обзира на то који је конкретно патоген проузроковао симптоме.

Оцењивање је вршено помоћу скале 0-9, која представља модификацију скале коју су представили Wildermuth и McNamara (1994) (Табела 2).

**Табела 2:** Скала оцене заражености приземног дела стабла пшенице

| <i>Оцена</i> | <i>Степен заражености интернодије</i> |
|--------------|---------------------------------------|
| <b>0</b>     | без заразе                            |
| <b>1</b>     | 1-10 %                                |
| <b>2</b>     | 11-20 %                               |
| <b>3</b>     | 21-30 %                               |
| <b>4</b>     | 31-40 %                               |
| <b>5</b>     | 41-50 %                               |
| <b>6</b>     | 51-60 %                               |
| <b>7</b>     | 61-70 %                               |
| <b>8</b>     | 71-80 %                               |
| <b>9</b>     | ≥ 81 %                                |

На основу броја стабала са различитим оценама заражености добијени су индекси обољења, помоћу формуле Townsend-Heuberger (Townsend и Heuberger, 1943):

$$\text{Индекс обољења (\%)} = ( \sum (v \times n) / (i \times N) ) \times 100$$

*v* - оцена заразе (0,1,2...9)

*n* - број биљака оцењених датом оценом

*i* - највиша оцена на скали

*N* - укупан број оцењених биљака у подзорку

На Слици 5 дати су примери различитог степена промене боје и оштећења приземног дела стабла пшенице који су сврстани у различите категорије, односно оцене (0-9).

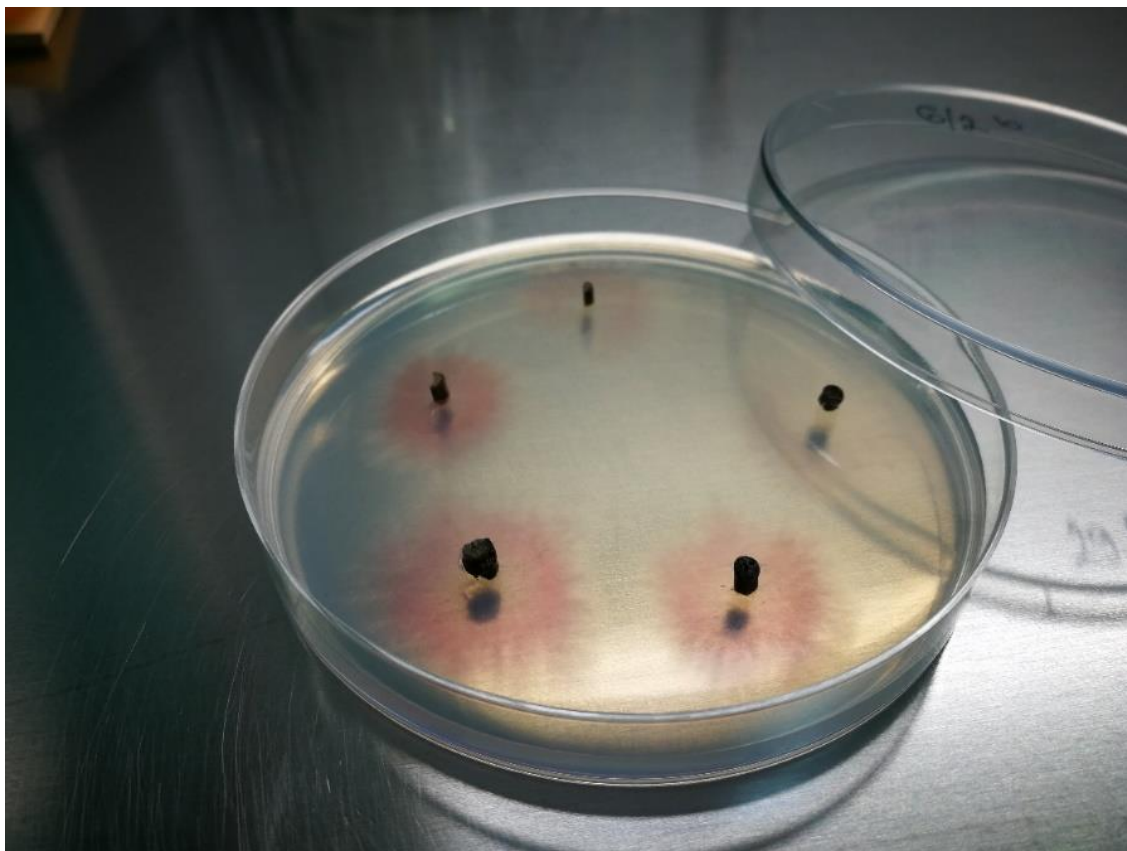


Слика 5: Скала оцене заражености стабла пшенице (оригинал)

### 5.3 Изолација патогена

Из сваког понављања одабрана су стабла са карактеристичним симптомима које проузрокују испитивани патогени комплекса. Из њих је вршена изолација проузроковача обољења, у циљу идентификације диверзитета *Fusarium* врста и других проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице. Изолација патогена вршена је са стабала са свих 29 локалитета, у циљу добијања што прецизнијег биодиверзитета и равномерније просторне дистрибуције испитиваних патогена.

Са приземног дела стабла су издвајани фрагменти величине 5x5 mm. Дезинфекција фрагмената вршена је 1% натријум-хипохлоридом (NaOCl) у трајању од 2 минута, а затим испирање стерилном дестилованом водом 3 пута у трајању од 2 минута. Пет дезинфикованих фрагмената је постављено на водени агар са стрептомицин-сулфатом (WA). Инкубација се одвијала у условима природне светлости. Након 7 дана и развоја мицелије око фрагмената вршено је пресејавање мицелије на WA подлогу и кромпир декстрозни агар са млечном киселином (aPDA) (Слика 6).



Слика 6: Издвајање мицелије патогена са фрагмената стабла пшенице на WA подлогу (фото: Н. Стошић)

Петри кутије су постављене у термостат где је температура одржавана на  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ . За стимулацију спорулације коришћене су неонске сијалице са плаво-црним спектром светлости (Philips TLD 30w/08-BLB). Након 7-10 дана вршена је морфолошка идентификација и моноспорна изолација (заснивање изолата од само једне споре) како би се тај изолат користио за ДНК екстракцију за даљу молекуларну идентификацију. Идентификација заснована на морфолошким карактеристикама изведена је према кључу Barnett и Hunter (1972) и Leslie и Summerell (2006). Сви идентификовани изолати су сачувани у трајној колекцији у ампулицама (Слика 7).



Слика 7: Део трајне колекције моноспорних изолата (фото: Н. Стошић)

#### 5.4 Добијање моноспорних изолата

За молекуларна и морфолошка истраживања изолати су додатно пречишћавани добијањем моноспорних култура по методи Leslie и Summerell (2006). Фрагменти мицелије су стерилисаном лабораторијском иглом пренети у 10 ml стерилне дестиловане воде у епрувети. Потом је садржај епрувете са мицелијом измешан на вортекс апарату у трајању од 10 секунди, при брзини од 1000 o/min. Из добијене суспензије узет је садржај од 1 ml (разређење 1:10) који је разливен по површини 2% WA подлоге у петри кутији. Из

преостале суспензије у епрувети поново је узет 1 ml, који је додат у епрувету са стерилном дестилованом водом садржаја 9 ml, како би се добило разређење 1:100. Након мешања на вортекс апарату из епрувете је узета суспензија од 1 ml која је нанета на површину 2% WA друге петри кутије. Потом су петри кутије инкубирани у термостату под углом од 30° на температури од 20±1°C у мраку. Након 24 сата петри кутије су пренете у ламинарну комору где је под стереомикроскопом исечен комадић подлоге са једном клијалом спором и пренет у центар петри кутије са PDA подлогом. Засејане петри кутије су инкубирани 10 до 12 дана при температури од 20±1°C и фотопериодом од 16/8h светло/тама, са црно-плавим спектром светлости.

### 5.5 Молекуларна идентификација

Молекуларна идентификација врста проузроковача трулежи приземног дела стабла извршена је на изолатима који су узорковани 2017. године. ДНК је изолована применом процедуре коју су описали Möller и сар. (1992) (прилог 3) Идентификација врста извршена је прајмерима специфичним за врсте *Fusarium graminearum* Fg16F/Fg16R (Nicholson и сар., 1998) и *F. oxysporum* FOF1/FOR1 (Mishra и сар., 2003) (Табела 3).

Табела 3: Прајмери специфични за врсте *Fusarium graminearum*

| Назив прајмера | Секвенца нуклеотида ( 5' - 3' ) | Величина PCR продукта (bp) | Литературни извор      |
|----------------|---------------------------------|----------------------------|------------------------|
| <b>Fg16F</b>   | CTCCGGATATGTTGCGTCAA            | 420                        | Nicholson и сар., 1998 |
| <b>Fg16R</b>   | GGTAGGTATCCGACATGGCAA           | 420                        |                        |
| <b>FOF1</b>    | ACATACCACTTGTTGCCTCG            | 340                        | Mishra и сар., 2003    |
| <b>FOR1</b>    | CGCCAATCAATTTGAGGAACG           | 340                        |                        |

#### 5.5.1 Идентификација изолата прајмерима специфичним за врсту *F. graminearum*

Применом Fg16F/Fg16R пара прајмера, специфичног за врсту *F. graminearum* (Nicholson и сар., 1998), извршена је идентификација изолата за које је на основу морфолошких карактеристика утврђено да припадају врсти *F. graminearum*. Запремина PCR реакционе смеше износила је 25 µl. PCR смеша укључила је: 1 × PCR пуфер (50 mM KCl, 10 mM Tris–HCl, pH8,3), 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP, по 0,4 µM сваког прајмера и

0,75U *Taq* DNA полимеразе (Thermo Fisher Scientific). PCR реакције изведене су у машини Veriti 96 well Thermal Cycler (AB Applied Biosystems). Услови за извођење PCR реакције приказани су у Табели 4. Визуелизација PCR продуката извршена је након електрофоретског раздвојења на 1,5% агарозном гелу у 1xTBE пуферу, бојењем етидијум бромидом и посматрањем под UV светлом трансилуминатора.

**Табела 4:** Услови за извођење PCR реакције за идентификацију *F. graminearum*

| <b>Fg16F/Fg16R</b>      |               |       |       |
|-------------------------|---------------|-------|-------|
| иницијална денатурација |               | 95 °C | 3 min |
| 38 циклуса              | денатурација  | 95 °C | 30 s  |
|                         | хибридизација | 62 °C | 20 s  |
|                         | елонгација    | 72 °C | 45 s  |
| финална елонгација      |               | 72 °C | 5 min |
| пауза                   |               | 4 °C  | -     |

### 5.5.2 Идентификација изолата прајмерима специфичним за врсту *F. oxysporum*

Применом FOF1/FOR1 пара прајмера, специфичног за врсту *F. oxysporum* (Mishra и сар., 2003), извршена је идентификација изолата за које је утврђено на основу морфолошких карактеристика да припадају врсти *F. oxysporum*. Запремина PCR реакционе смеше износила је 25 µl. PCR смеша укључила је: 1 × PCR пуфер (50 mM KCl, 10 mM Tris–HCl, pH 8,3), 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP, по 0,5 µM сваког прајмера и 1,25U *Taq* DNA полимеразе (Thermo Fisher Scientific). PCR реакције изведене су у машини Veriti 96 well Thermal Cycler (AB Applied Biosystems). Услови за извођење PCR реакције приказани су у Табели 5. Визуелизација PCR продуката извршена је након електрофоретског раздвојења на 1,5% агарозном гелу у 1xTBE пуферу, бојењем етидијум бромидом и посматрањем под UV светлом трансилуминатора.



**Табела 5:** Услови за извођење PCR реакције за идентификацију *F. oxysporum*

| <b>FOF1/FOR1</b>        |               |       |        |
|-------------------------|---------------|-------|--------|
| иницијална денатурација |               | 94 °C | 5 min  |
| 38 циклуса              | денатурација  | 94 °C | 1 min  |
|                         | хибридизација | 65 °C | 1 min  |
|                         | елонгација    | 72 °C | 1 min  |
| финална елонгација      |               | 72 °C | 10 min |
| пауза                   |               | 4 °C  | -      |

### 5.6. Метеоролошки подаци

У истраживању је испитиван утицај три климатска фактора на индекс обољења корена и приземног дела стабла: средња дневна температура, укупне месечне падавине, и релативна влажност ваздуха, за вегетационе сезоне 2013/2014. и 2016/2017 (Табела 6 и 7). Вредности климатских фактора преузете су из Метеоролошког годишњака Републичког хидрометеоролошког завода за локалитет Сремске Митровице ([www.hidmet.gov.rs/latin/meteorologija/klimatologija\\_godisnjaci.php](http://www.hidmet.gov.rs/latin/meteorologija/klimatologija_godisnjaci.php)). Просечни датум жетве пшенице је 30. јун у агроколошким условима Србије, стога је период у трајању од једне године између две жетве сматран вегетационом сезоном.

**Табела 6:** Вредности климатских фактора за вегетациону сезону 2013/2014.

| <i>Месец</i>           | <i>Климатски фактор</i>               |                                     |                                       |
|------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
|                        | <i>Средња дневна температура (°C)</i> | <i>Укупне месечне падавине (mm)</i> | <i>Релативна влажност ваздуха (%)</i> |
| <b>јул 2013.</b>       | 22,1                                  | 44,7                                | 68                                    |
| <b>август 2013.</b>    | 22,9                                  | 18,3                                | 64                                    |
| <b>септембар 2013.</b> | 15,9                                  | 60,9                                | 71                                    |
| <b>октобар 2013.</b>   | 13,7                                  | 71,6                                | 76                                    |
| <b>новембар 2013.</b>  | 8,4                                   | 34,1                                | 83                                    |
| <b>децембар 2013.</b>  | 1,3                                   | 5,8                                 | 89                                    |
| <b>јануар 2014.</b>    | 3,8                                   | 21,4                                | 86                                    |
| <b>фебруар 2014.</b>   | 5,8                                   | 16,3                                | 84                                    |
| <b>март 2014.</b>      | 9,1                                   | 46,7                                | 75                                    |
| <b>април 2014.</b>     | 12,8                                  | 74,2                                | 75                                    |
| <b>мај 2014.</b>       | 16,1                                  | 187,0                               | 74                                    |
| <b>јун 2014.</b>       | 20,3                                  | 37,2                                | 70                                    |

**Табела 7:** Вредности климатских фактора за вегетациону сезону 2016/2017.

| <i>Месец</i>           | <i>Климатски фактор</i>               |                                     |                                       |
|------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
|                        | <i>Средња дневна температура (°C)</i> | <i>Укупне месечне падавине (mm)</i> | <i>Релативна влажност ваздуха (%)</i> |
| <b>јул 2016.</b>       | 22,5                                  | 68,8                                | 73                                    |
| <b>август 2016.</b>    | 20,5                                  | 30,0                                | 76                                    |
| <b>септембар 2016.</b> | 17,7                                  | 67,5                                | 75                                    |
| <b>октобар 2016.</b>   | 10,3                                  | 62,3                                | 83                                    |
| <b>новембар 2016.</b>  | 6,4                                   | 57,1                                | 83                                    |
| <b>децембар 2016.</b>  | -0,2                                  | 1,5                                 | 84                                    |
| <b>јануар 2017.</b>    | -5,5                                  | 12,8                                | 87                                    |
| <b>фебруар 2017.</b>   | 3,9                                   | 22,2                                | 81                                    |
| <b>март 2017.</b>      | 9,7                                   | 30,3                                | 71                                    |
| <b>април 2017.</b>     | 11,6                                  | 55,2                                | 66                                    |
| <b>мај 2017.</b>       | 17,7                                  | 90,2                                | 74                                    |
| <b>јун 2017.</b>       | 22,8                                  | 14,8                                | 65                                    |

### 5.7 Статистичка обрада података

Статистичка обрада података као и графички приказ добијених резултата је урађен у програмском пакету MiniTab 17 (пробна верзија). Варијације индекса обољења обрађене су помоћу генералног линеарног модела, укључивањем/искључивањем утицајних величина ("stepwise" метода). Као независне променљиве узете су: вегетационе сезоне, локалитети, понављања и климатски фактори (средња дневна температура ваздуха, релативна влажност ваздуха и укупна месечна количина падавина). Коришћен је Tukey тест за поређење средњих вредности индекса обољења између локалитета, у обе испитиване вегетационе сезоне, са коефицијентом поверења 95%.

С обзиром да је утврђено да су температуре у зимском периоду, локалитети, број понављања по локалитету и њихова интеракција са вегетационом сезоном статистички значајно утицали на индекс обољења приземног дела стабла пшенице, сви ови фактори су посебно анализирани детаљније. За одређивање корелације између стандардне девијације и средње вредности индекса обољења коришћена је линеарна регресија, и Spearman-ов коефицијент корелације. Индекс дисперзије је коришћен као величина за изражавање степена груписања мерених величина (биљке оцењене различитим категоријама заражености приземног дела стабла) по сваком локалитету.

Индекс дисперзије добијен је формулом према Southwood и Henderson (2000):

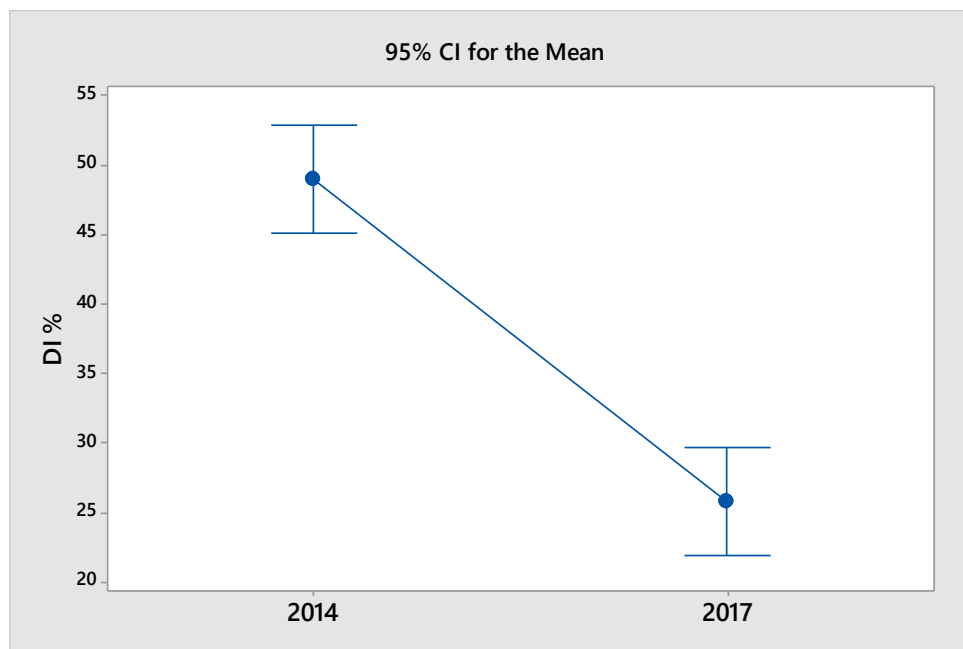
$$\text{Индекс дисперзије} = s^2 / \text{средња вредност индекса обољења}$$

$s^2$  - варијанса

Индекс дисперзије већи од 1 указује да је дошло до груписања биљака оцењених различитим категоријама заражености приземног дела стабла на посматраном локалитету. Дескриптивна статистика је употребљена за сагледавање средњих вредности, стандарних девијација и коефицијената варијације индекса обољења, за испитиване локалитете у обе вегетационе сезоне.

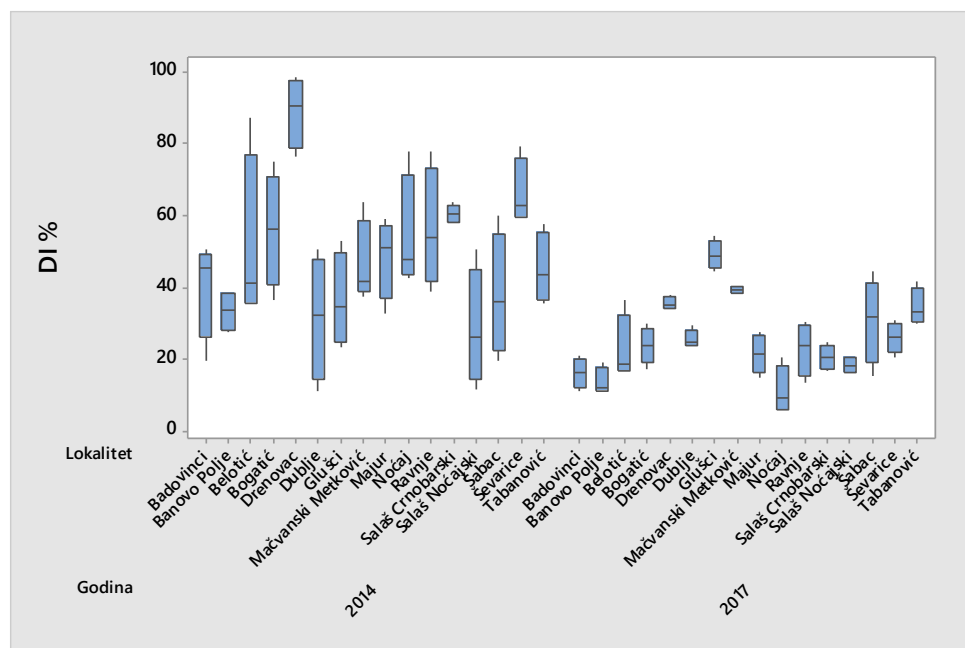
## 6. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Степен заражености приземног дела стабла пшенице значајно се разликовао у две вегетационе сезоне ( $p < 0,01$ ). Просечна вредност индекса обољења (DI=disease index) била је 48,9% у вегетационој сезони 2013/2014, а 25,8% у вегетационој сезони 2016/2017 (Графикон 1).



**Графикон 1:** Индекс обољења стабла пшенице у две вегетационе сезоне-просечна вредност индекса обољења

Ако се посматра свако понављање по локалитету појединачно, индекс обољења имао је опсег између 11,1 (Дубље) и 98,6% (Дреновац) у вегетационој сезони 2013/2014, а између 5,6% (Ноћај) и 54,4% (Глушци) у вегетационој сезони 2016/2017. Најнижа просечна вредност индекса обољења у 2013/2014. сезони била је на локалитету Дубље (31,6%), док је на локалитету Дреновац била највиша просечна вредност индекса обољења (89%). У сезони 2016/2017. најмања средња вредност индекса обољења била је на локалитету Ноћај (11,2%), док је највиша била на локалитету Глушци (49,1%) (Графикон 2).



**Графикон 2:** Опсег варирања индекса обољења у две испитиване вегетационе сезоне

У циљу утврђивања фактора који утичу на индекс обољења, анализирани су вегетационе сезоне, локалитети, број понављања по локалитету и климатски фактори: просечна месечна температура ваздуха, просечна месечна релативна влажност ваздуха, и укупна месечна количина падавина, методом генералног линеарног модела.

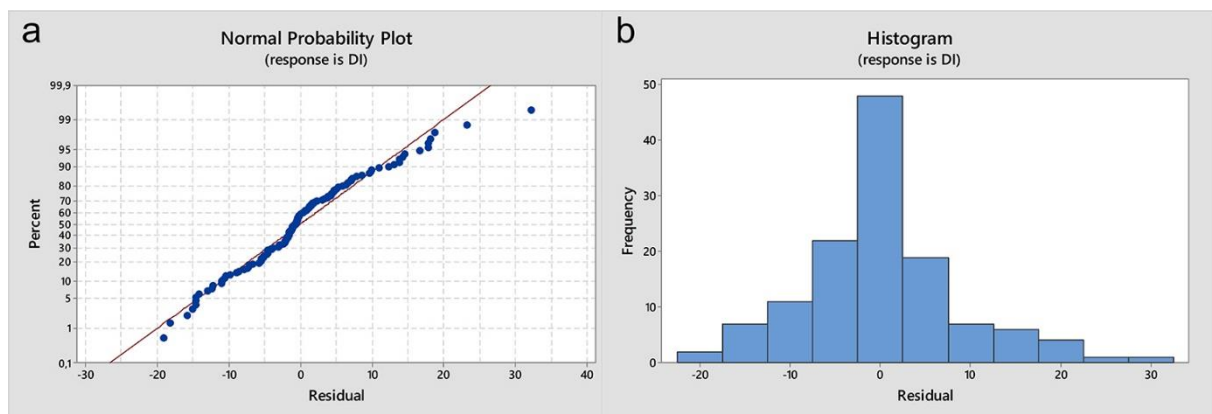
Резултати истраживања показали су да локалитет, температура ваздуха у јануару, број понављања по локалитету и интракција вегетационе сезоне и локалитета имају значајан утицај на индекс обољења са интервалом поверења 95%. Интракција броја понављања по локалитету и вегетационе сезоне такође се показала као значајна ( $P=0,131$ ) (Табела 8).

**Табела 8:** Анализа варијансе

| <i>Извор варијација</i>      | <i>Број степени слободе</i> | <i>Сума квадрата одступања</i> | <i>Оцена варијансе</i> | <i>F-статистика</i> | <i>P-вредност</i> |
|------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|------------------------|---------------------|-------------------|
| <b>Т°С јануар</b>            | 1                           | 17025,7                        | 17025,7                | 163,32              | 0,000             |
| <b>Локалитет</b>             | 15                          | 10886,3                        | 725,8                  | 6,96                | 0,000             |
| <b>Понављања</b>             | 3                           | 1030,2                         | 343,4                  | 3,29                | 0,024             |
| <b>Локалитет*Вег. сезона</b> | 15                          | 9058,3                         | 603,9                  | 5,79                | 0,000             |
| <b>Понављања*Вег. сезона</b> | 3                           | 603,1                          | 201,0                  | 1,93                | 0,131             |
| <b>Унутар група</b>          | 90                          | 9382,2                         | 104,2                  |                     |                   |
| <b>Укупно</b>                | 127                         | 47985,7                        |                        |                     |                   |

Утицајне величина: температура ваздуха у јануару, локалитети и интеракција локалитета и вегетационе сезоне биле су статистички значајне ( $P < 0,001$ ). Утврђено је да су понављања ( $P = 0,024$ ) као и интеракција понављања и вегетационе сезоне ( $P = 0,131$ ) статистички значајно утицала на индексе обољења.

Степен варијације индекса обољења од 80% ( $R^2 = 80,45\%$ ), указује да испитивани фактори у великој мери утичу на варијацију индекса обољења. На основу Графикана 3 може се видети да су резидуали приближно нормално распоређени, што упућује на адекватност изабраног модела.



**Графикон 3:** Тест резидуала (а-нормална дистрибуција резидуала; б-хистограм резидуала)

Посматрајући удео биљака у различитим категоријама заражености, примећује се да у вегетационој сезони 2016/2017. највећи број стабала, скоро половина (42,7%) није био заражен. Са друге стране, у вегетационој сезони 2013/2014. је груписаност заражених биљака била равномернија по категоријама. Уз то, број најзараженијих стабала (категиорија 9) био је већи од броја здравих стабала (Табела 9).

**Табела 9:** Груписаност заражених биљака према категоријама (удео биљака изражен у %)

| <i>Категорија заражености</i> | <i>Вегетациона сезона</i> |                  |
|-------------------------------|---------------------------|------------------|
|                               | <i>2013/2014</i>          | <i>2016/2017</i> |
| <b>0</b>                      | 12,9                      | 42,7             |
| <b>1</b>                      | 15,4                      | 11,7             |
| <b>2</b>                      | 12,0                      | 10,8             |
| <b>3</b>                      | 8,5                       | 8,1              |
| <b>4</b>                      | 4,5                       | 5,1              |
| <b>5</b>                      | 9,8                       | 5,5              |
| <b>6</b>                      | 6,4                       | 2,9              |
| <b>7</b>                      | 7,4                       | 3,8              |
| <b>8</b>                      | 9,6                       | 3,1              |
| <b>9</b>                      | 13,4                      | 6,3              |

Из овога се може закључити да је вегетациона сезона 2013/2014. била погоднија за појаву комплекса проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла од вегетационе сезоне 2016/2017.

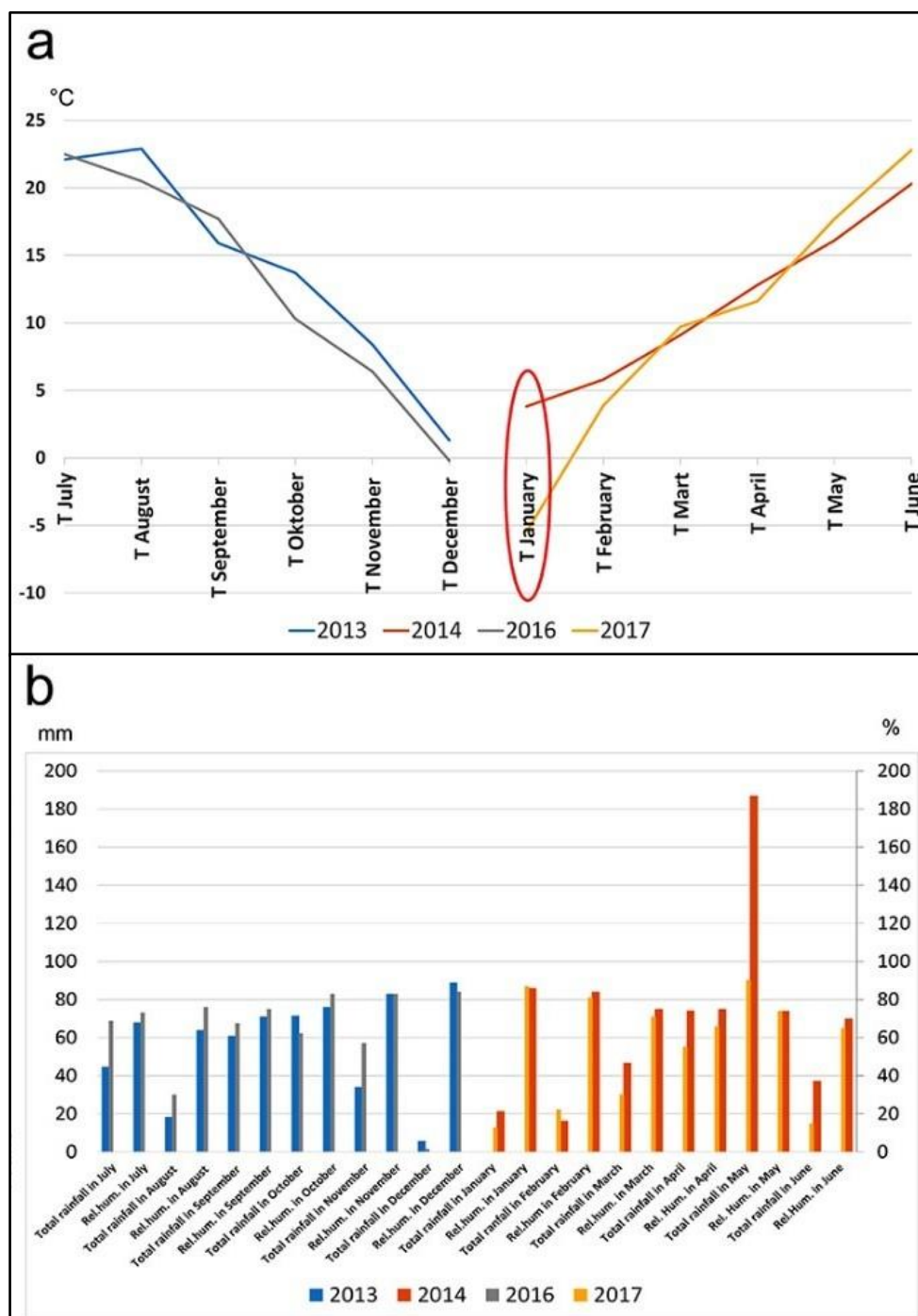
С обзиром да су температуре у зимском периоду, локалитети, број понављања узорака по локалитету и њихова интеракција са вегетационом сезоном истакнути као фактори који значајно утичу на индекс обољења приземног дела стабла пшенице, сви ови фактори су посебно анализирани детаљније.

### **6.1 Утицај климатских фактора на индекс обољења**

Испитивано је који климатски фактор је значајно утицао на појаву обољења приземног дела стабла пшенице. Испитиван је утицај средње дневне температуре, укупне количине падавина и релативне влажности ваздуха у две вегетационе сезоне, 2013/2014. и 2016/2017.

Фактор који се издвојио као високо значајан била је просечна дневна температура у јануару ( $P < 0,001$ ). Просечна температура у јануару 2017. године ( $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) била је нижа од десетогодишњег просека у Србији ( $1,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), док је просечна температура у јануару 2014. године ( $4,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) била виша од десетогодишњег просека температура (Графикон 4а). Други климатски елементи се нису значајно разликовали у две вегетационе сезоне. Једини

изузетак је укупна количина падавина у мају 2014. године (187 mm) која је виша од просечне вредности за протеклих десет година (102,2 mm) (Графикон 4б).



**Графикон 4:** Климатски услови на територији Мачве у две вегетационе сезоне (а-просечне месечне температуре; б-релативна влажност и укупна количина падавина)

Разлика у количина падавина у мају није значајно утицала на индекс обољења у две вегетационе сезоне. Ипак, разлика у средњој дневној температури од скоро 10°C у току јануара у две вегетационе сезоне имала је значајан утицај на ниво индекса обољења



чији је просек у 2014. години износио 49%, док је у 2017. години износио 26%. Резултати овог истраживања указују да климатски елементи у зимском периоду треба да буду предмет истраживања која се односе на контролу трулежи корена и приземног дела стабла пшенице.

## **6.2 Утицај локалитета и броја понављања на индекс обољења пшенице**

Локалитети и број понављања по локалитету истакли су се као статистички значајни фактори. Поред испитивања утицаја појединачних фактора, у овом раду је испитиван и утицај интеракције различитих фактора. Анализа варијансе је показала да се интеракција локалитета и вегетационе сезоне издваја као статистички високо значајна ( $P=0,000$ ), и интеракција понављања и вегетационе сезоне као статистички значајна на индексе обољења ( $P=0,131$ ).

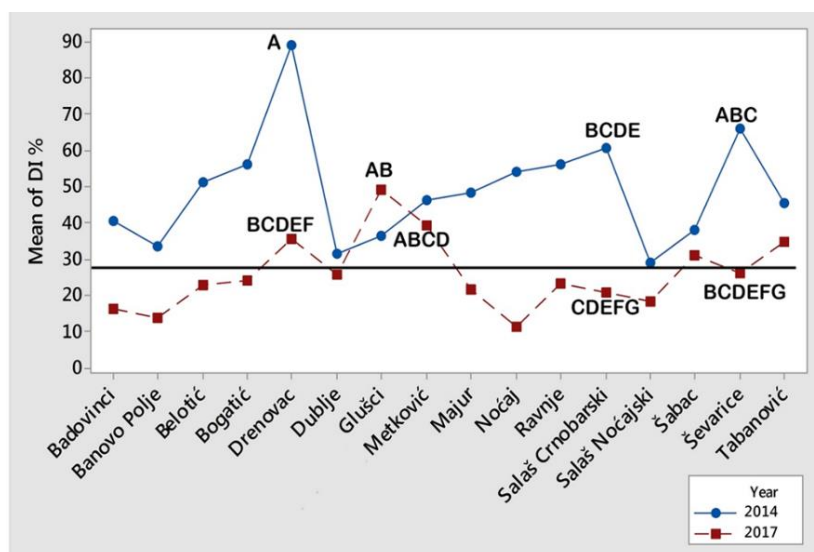
### **6.2.1 Утицај локалитета и интеракције локалитета и вегетационе сезоне на индекс обољења**

Разлика између индекса обољења током две вегетационе сезоне била је значајна, и била је условљена екстремним варирањем температуре у јануару. Међутим, треба истаћи да су и локалитети имали значајан утицај на индекс обољења ( $P<0,001$ ), као и интеракција локалитета са вегетационом сезоном ( $P=0,000$ ). Локалитети су груписани на основу разлика у средњим вредностима индекса обољења користећи Tukey тест при интервалу поверења од 95% (Табела 10).

**Табела 10:** Tukey тест поређења средњих вредности индекса обољења при интервалу поверења 95%

| Локалитет*Вег. сезона   | Н | Ср. вредност | Груписање   |
|-------------------------|---|--------------|-------------|
| 2014 Дреновац           | 4 | 77.4759      | A           |
| 2017 Глушци             | 4 | 60.6486      | A B         |
| 2014 Шеварице           | 4 | 54.5523      | A B C       |
| 2017 Мачвански Метковић | 4 | 50.9057      | A B C D     |
| 2014 Салаш Црнобарски   | 4 | 49.0928      | B C D E     |
| 2017 Дреновац           | 4 | 47.2154      | B C D E F   |
| 2017 Табановић          | 4 | 46.1515      | B C D E F   |
| 2014 Равње              | 4 | 44.7233      | B C D E F G |
| 2014 Богатић            | 4 | 44.5375      | B C D E F G |
| 2014 Ноћај              | 4 | 42.6773      | B C D E F G |
| 2017 Шабац              | 4 | 42.5107      | B C D E F G |
| 2014 Белотић            | 4 | 39.6641      | B C D E F G |
| 2017 Шеварице           | 4 | 37.6335      | B C D E F G |
| 2017 Дубље              | 4 | 37.2612      | B C D E F G |
| 2014 Мајур              | 4 | 36.9698      | B C D E F G |
| 2017 Богатић            | 4 | 35.4793      | B C D E F G |
| 2014 Мачвански Метковић | 4 | 34.8637      | B C D E F G |
| 2017 Равње              | 4 | 34.6254      | B C D E F G |
| 2017 Белотић            | 4 | 34.1117      | B C D E F G |
| 2014 Табановић          | 4 | 33.7348      | B C D E F G |
| 2017 Мајур              | 4 | 33.0832      | B C D E F G |
| 2017 Салаш Црнобарски   | 4 | 32.3389      | C D E F G   |
| 2017 Салаш Ноћајски     | 4 | 29.9663      | C D E F G   |
| 2014 Бадовинци          | 4 | 28.7763      | C D E F G   |
| 2017 Бадовинци          | 4 | 27.7862      | C D E F G   |
| 2014 Шабац              | 4 | 26.4965      | C D E F G   |
| 2017 Баново Поље        | 4 | 25.3216      | D E F G     |
| 2014 Глушци             | 4 | 24.8586      | D E F G     |
| 2017 Ноћај              | 4 | 22.7110      | D E F G     |
| 2014 Баново Поље        | 4 | 21.9983      | E F G       |
| 2014 Дубље              | 4 | 20.0754      | F G         |
| 2014 Салаш Ноћајски     | 4 | 17.2535      | G           |

У вегетационој сезони 2013/2014, највиша средња вредност индекса обољења утврђена је на локалитету Дреновац (89,01%), затим Шеварице (66,09%) и Салаш Црнобарски (60,63%), а најнижа на локалитетима Салаш Ноћајски (28,79%), Дубље (31,61) и Баново Поље (33,53). Сви испитани локалитети су се међусобно значајно разликовали. У вегетационој сезони 2016/2017, највиша средња вредност индекса обољења утврђена је на локалитету Глушци (49,12%), затим Мачвански Метковић (39,37%) и Дреновац (35,68%), а најнижа на локалитетима Ноћај (11,18%), Баново Поље (13,79%), и Бадовинци (16,25%). И ови локалитети су се такође значајно разликовали при интервалу поверења од 95% (Графикон 5).



Графикон 5: Утицај интеракције локалитета и вегетационе сезоне на индекс обољења

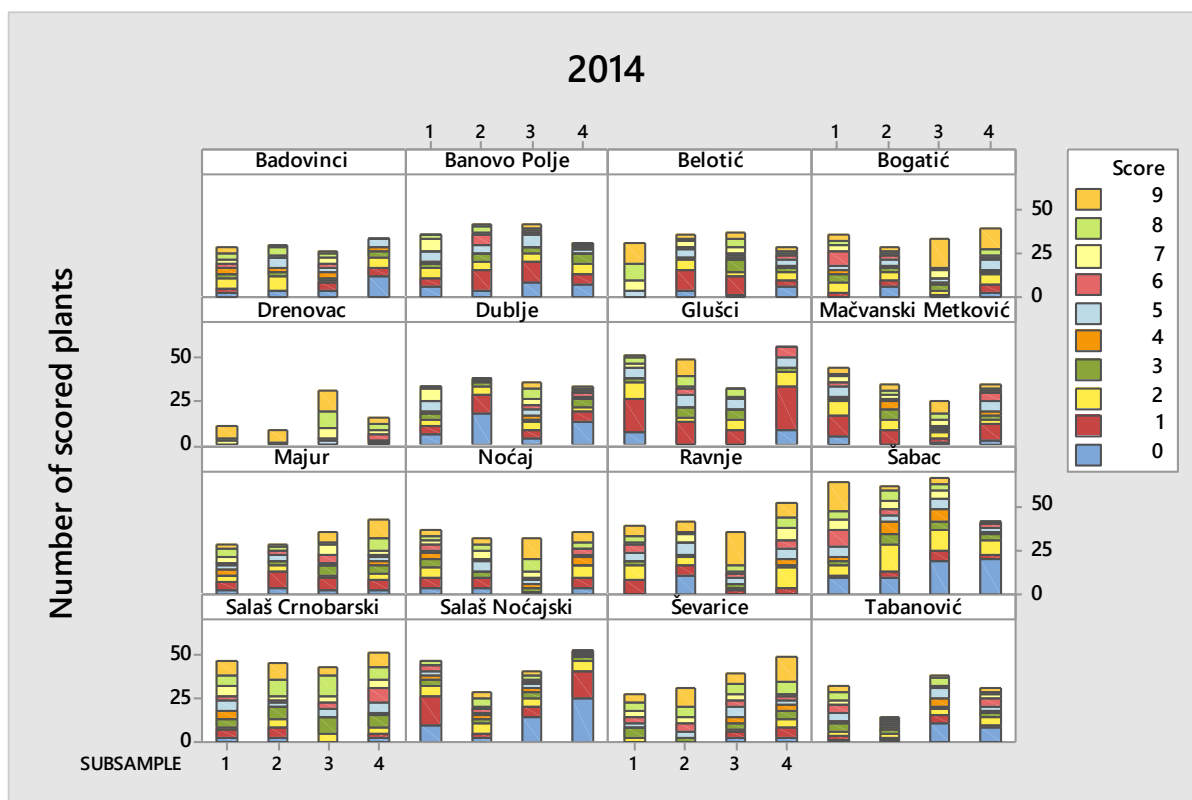
У вегетационој сезони 2013/2014 сви индекси обољења су били виши од 29%. У вегетационој сезони 2016/2017, која је била мање погодна за развој проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла индекси обољења су били виши од 29% само на 5 локалитета (Дреновац-35,7%, Глушци-49,12%, Мачвански Метковић-39,37%, Шабац-30,98% и Табановић-34,62%).

### 6.2.2 Утицај броја понављања и интеракције броја понављања и вегетационе сезоне на индекс обољења

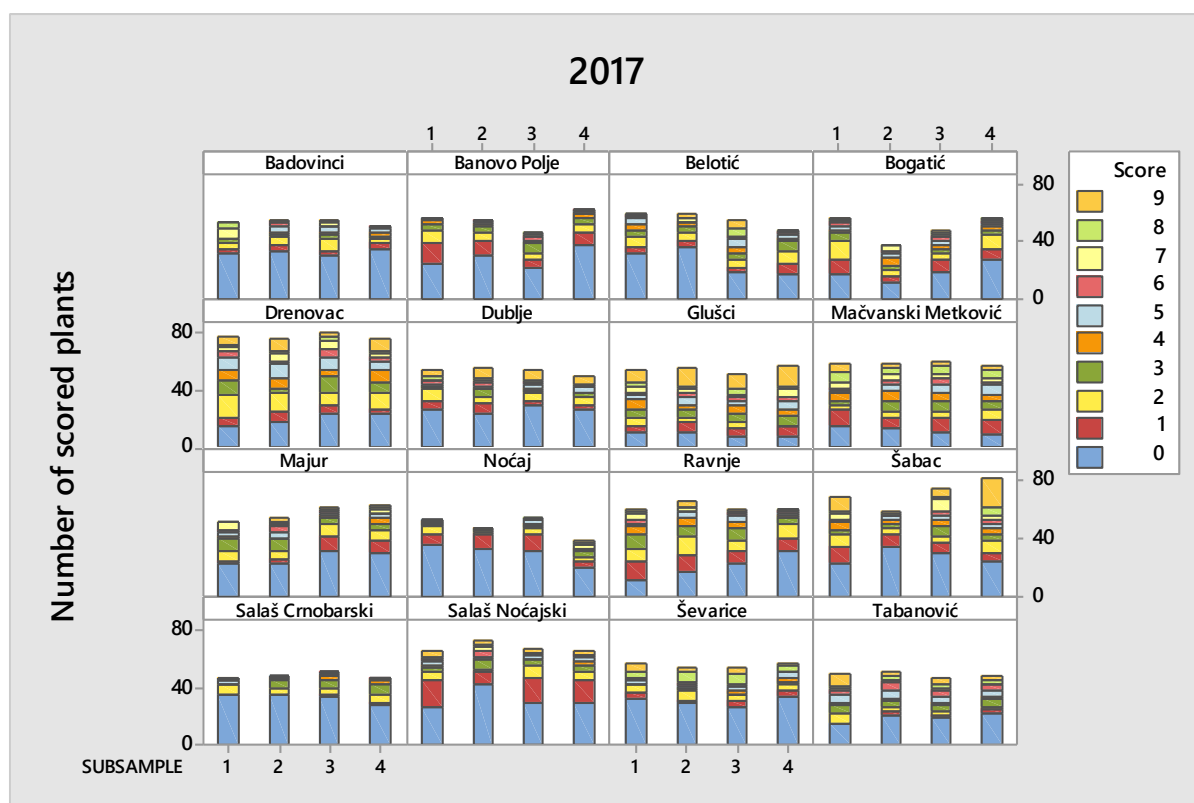
Утицај броја понављања по локалитету је анализиран методом регресионе и корелационе анализе да би се утврдило да ли дистрибуција заражених биљака утиче на варијабилност индекса обољења. Поред значајног утицаја броја понављања на индекс

обољења ( $P=0,024$ ), утврђено је и да интеракција броја понављања са вегетационом сезоном значајно утиче на индекс обољења ( $P=0,131$ ).

Графикони 6 и 7 приказују број биљака унутар сваке категорије заражености приземног дела стабла, за сва четири понављања, и за све испитиване локалитете. Одатле се види варијабилност између понављања, и груписање биљака унутар појединих категорија заражености.

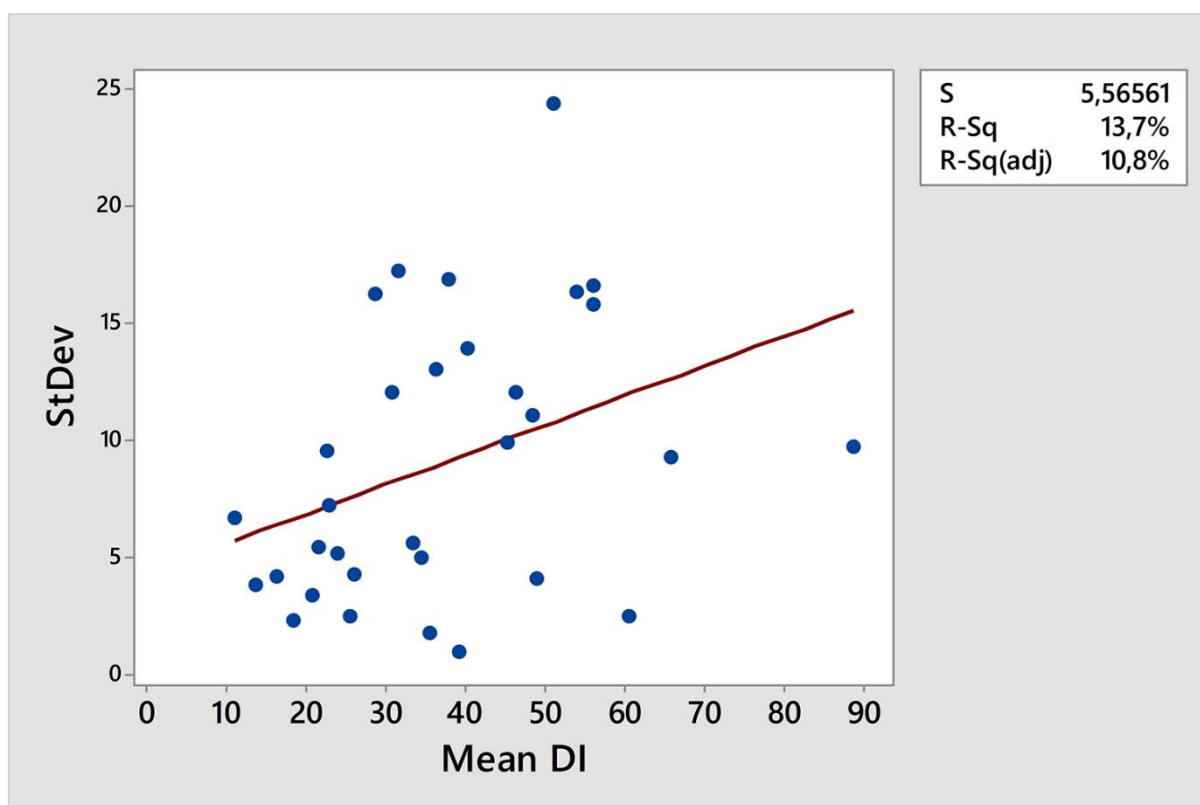


Графикон 6: Варијабилност између понављања у вегетационој сезони 2013/2014



**Графикон 7:** Варијабилност између понављања у вегетационој сезони 2013/2014

Стандардна девијација, као мера варијабилности индекса обољења, анализирана је у односу на средње вредности индекса обољења у оквиру сваког локалитета и вегетационе сезоне употребом линеарне регресије. На тај начин утврђен је позитиван тренд између средње вредности индекса обољења и стандардне девијације (Графикон 8). Резултат је потврђен Spearman-овим коефицијентом корелације указујући на статистички значајну средње позитивну корелацију између стандардне девијације и средње вредности индекса обољења ( $r=0,4$ ;  $P=0,024$ ). Међутим, треба истаћи да је коефицијент детерминације линеарне регресије био 13,7% што значи да се само 13,7% варијабилности стандардне девијације може објаснити варијацијом средње вредности индекса обољења.



**Графикон 8:** Регресија стандардне девијације и средње вредности индекса обољења

Посматрајући стандардне девијације утврђених индекса обољења за 16 локалитета у две вегетационе сезоне примећује се да исти метод узорковања може довести до широког интервала стандардних девијација, од 2,45 до 24,4 у 2014. години (Табела 11) и од 1 до 12 у 2017. години (Табела 12). Ово указује да специфичност локалитета и вегетационих сезона утиче на стандардну девијацију индекса обољења. Како би утврдили на који начин су специфичност локалитета и вегетациона сезона утицали на стандардну девијацију индекса обољења испитано је да ли је дошло до агрегације биљака оцењених различитим нивоима заразе у оквиру испитаних локалитета у обе године применом индекса дисперзије. Код локалитета на којима је индекс дисперзије имао вредност већу од 1 утврђено је да је дошло до агрегације биљака са различитим нивоима заразе. То је случај за све локалитете где је варијанса била већа од средње вредности индекса обољења. Агрегација заражених биљака појавила се на 14 од 16 локалитета у вегетационој сезони 2013/2014 која је била погодна за инфекцију приземног дела стабла пшенице. У вегетационој сезони 2016/2017 агрегација заражених биљака појавила се на 8 од 16 локалитета.

**Табела 11:** Средње вредности индекса обољења и стандардне девијације за дате локалитете, у 2013/2014.

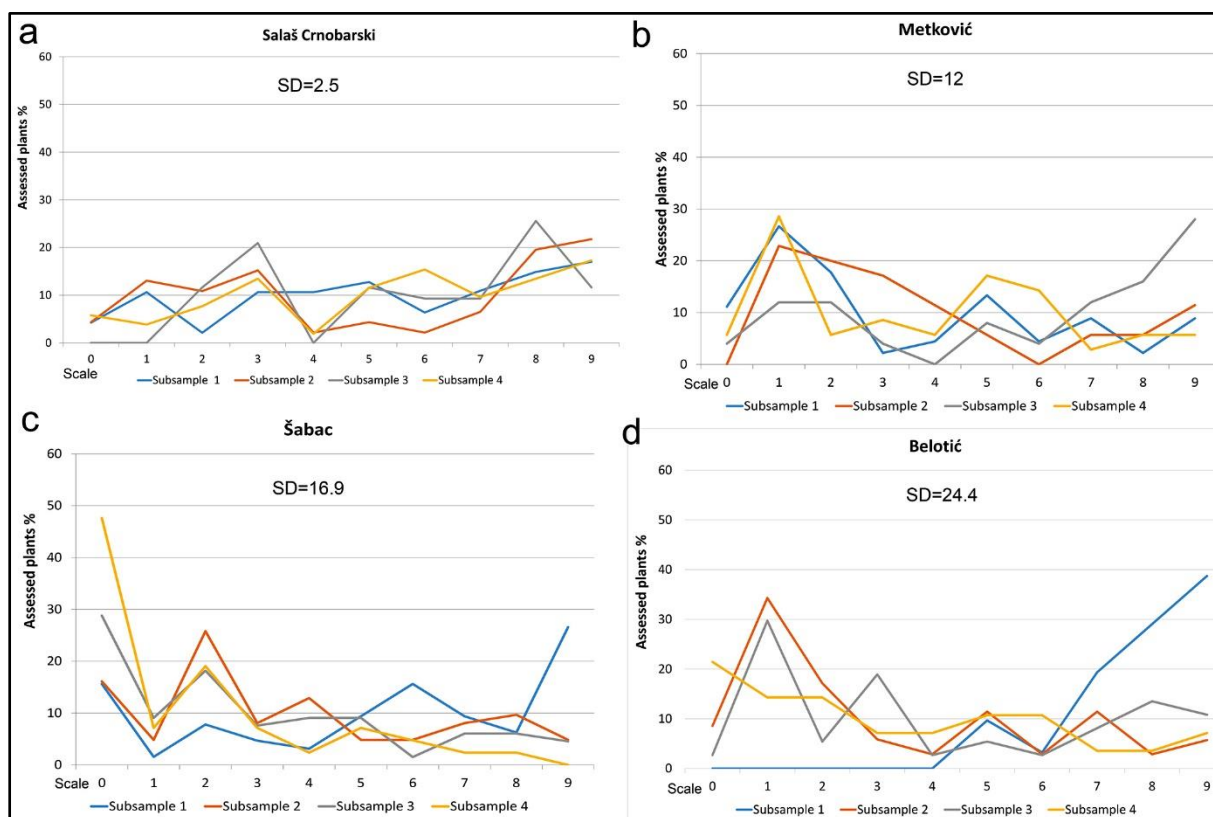
| варијабла      | локалитет          | средња вредност | стандардна девијација | коэффициент варијације | минимум | максимум |
|----------------|--------------------|-----------------|-----------------------|------------------------|---------|----------|
| индекс обољења | Бадовинци          | 40,31           | 13,85                 | 34,37                  | 19,87   | 50,57    |
|                | Баново Поље        | 33,53           | 5,55                  | 16,56                  | 27,6    | 39,05    |
|                | Белотић            | 51,2            | 24,4                  | 47,67                  | 35,2    | 87,1     |
|                | Богатић            | 56,07           | 15,84                 | 28,25                  | 36,51   | 75,08    |
|                | Дреновац           | 89,01           | 9,65                  | 10,84                  | 76,39   | 98,61    |
|                | Дубље              | 31,61           | 17,18                 | 54,37                  | 11,11   | 50,62    |
|                | Глушци             | 36,39           | 12,96                 | 35,6                   | 23,39   | 52,83    |
|                | Мачвански Метковић | 46,4            | 11,9                  | 25,64                  | 37,78   | 64       |
|                | Мајур              | 48,5            | 11,05                 | 22,78                  | 32,94   | 58,91    |
|                | Ноћај              | 54,21           | 16,27                 | 30,02                  | 42,94   | 78,13    |
|                | Равње              | 56,26           | 16,56                 | 29,44                  | 39,02   | 78,1     |
|                | Салаш Црнобарски   | 60,63           | 2,45                  | 4,04                   | 57,97   | 63,82    |
|                | Салаш Ноћајски     | 28,79           | 16,23                 | 56,38                  | 11,53   | 50,57    |
|                | Шабац              | 38,03           | 16,9                  | 44,43                  | 19,58   | 59,9     |
|                | Шеварице           | 66,09           | 9,24                  | 13,98                  | 59,17   | 79,21    |
| Табановић      | 45,27              | 9,92            | 21,92                 | 35,9                   | 57,58   |          |

**Табела 12:** Средње вредности индекса обољења и стандардне девијације за дате локалитете, у 2016/2017.

| варијабла      | локалитет          | средња вредност | стандардна девијација | коэффициент варијације | минимум | максимум |
|----------------|--------------------|-----------------|-----------------------|------------------------|---------|----------|
| индекс обољења | Бадовинци          | 16,25           | 4,23                  | 26,01                  | 11,11   | 21,17    |
|                | Баново Поље        | 13,79           | 3,81                  | 27,61                  | 11,11   | 19,32    |
|                | Белотић            | 22,58           | 9,46                  | 41,89                  | 16,57   | 36,57    |
|                | Богатић            | 23,95           | 5,15                  | 21,5                   | 17,54   | 30,12    |
|                | Дреновац           | 35,682          | 1,787                 | 5,01                   | 33,882  | 38,012   |
|                | Дубље              | 25,73           | 2,47                  | 9,59                   | 24      | 29,37    |
|                | Глушци             | 49,12           | 4,11                  | 8,36                   | 44,65   | 54,41    |
|                | Мачвански Метковић | 39,373          | 0,991                 | 2,52                   | 38,041  | 40,437   |
|                | Мајур              | 21,55           | 5,36                  | 24,86                  | 15,05   | 27,68    |
|                | Ноћај              | 11,18           | 6,71                  | 60,07                  | 5,56    | 20,51    |
|                | Равње              | 23,09           | 7,19                  | 31,16                  | 13,66   | 30,42    |
|                | Салаш Црнобарски   | 20,81           | 3,44                  | 16,55                  | 16,87   | 24,9     |
|                | Салаш Ноћајски     | 18,43           | 2,3                   | 12,49                  | 16,5    | 21,06    |
|                | Шабац              | 30,98           | 11,99                 | 38,69                  | 15,37   | 44,58    |
|                | Шеварице           | 26,1            | 4,28                  | 16,4                   | 20,5    | 30,91    |
| Табановић      | 34,62              | 4,96            | 14,31                 | 30,16                  | 41,56   |          |

Имајући у виду да је просторна расподела биљака са различитим нивоима заразе могла да утиче на варијабилност процењених индекса обољења у оквиру понављања на једном локалитету применом ординалне логистичке регресије утврђено је да ли су се индекси обољења статистички значајно разликовали између понављања.

Показало се да на локалитету Салаш Црнобарски (индекс обољења=60,6%, стандардна девијација=2,5) не постоји статистички значајна разлика између четири понављања у оквиру датог локалитета.  $P$  вредност свих подузорака прешла је 0,686 што значи да понављања нису значајно везана за дистрибуцију биљака оцењених оценама од 0 до 9. На локалитету Мачвански Метковић (индекс обољења=46,4, стандардна девијација=11,9) понављање 3 значајно се разликовало ( $P=0,001$ ) од осталих понављања у смислу дистрибуције биљака оцењених од 0 до 9. На локалитету Шабац (индекс обољења=38,03%, стандардна девијација=16,9) и Белотић (индекс обољења=51,2%, стандардна девијација=24,4) сва понављања била су значајно различита ( $P<0,001$ ) (Графикон 9). Ови резултати указују да је груписање биљака оцењених различитим оценама утицало је на индекс обољења. Осим тога, утврђено је да су највећа варирања стандардне девијације индекса обољења била заступљена на локалитетима на којима се индекс обољења кретао у распону од 30% до 60%.



Графикон 9: Фреквенција оцена (0-9) у 4 понављања по локалитету показује различите стандардне варијације

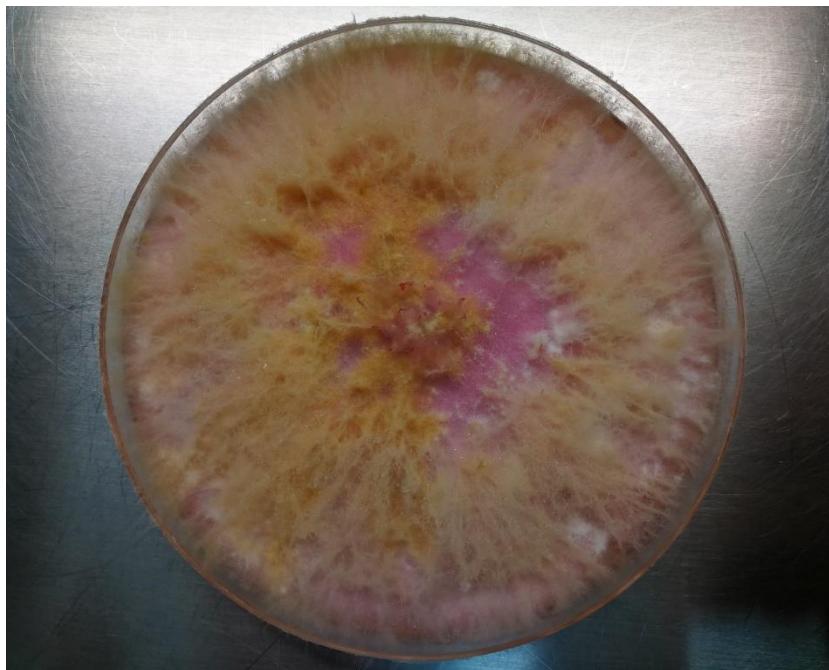


Утврђени резултати истичу да би већи број истраживања на тему широког распона индекса обољења требао бити спроведен у циљу утврђивања адекватне методе узорковања која ће дати униформне узорке и прецизне податке.

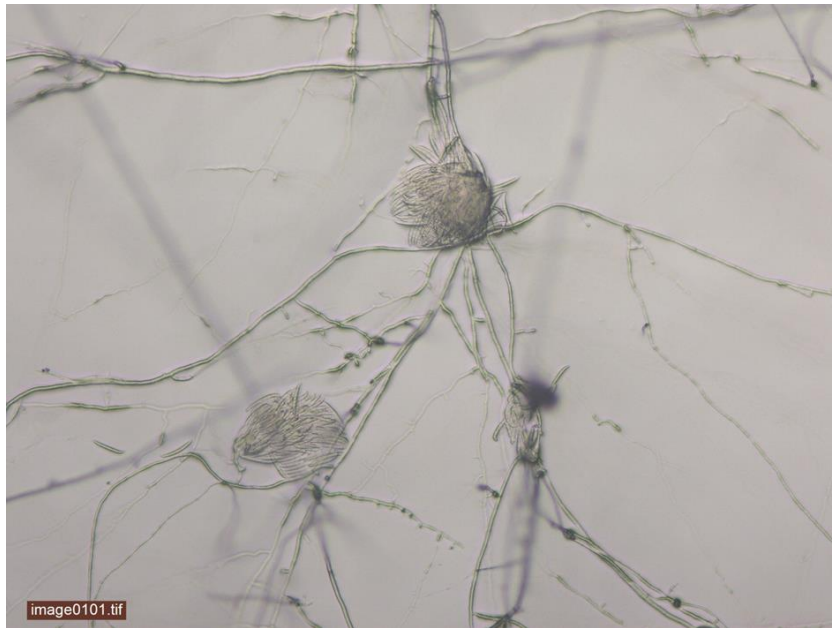
Однос између стандардне девијације и дистрибуције биљака са различитим оценама анализирана је употребом података са локалитета на којима се уочио широк распон стандардне девијације (2,5-24,4) а у вегетационој сезони 2013/2014 с обзиром да је та вегетациона сезона била погодна за инфекцију приземног дела стабла пшенице.

### 6.3 Диверзитет *Fusarium* врста

У циљу испитивања појаве проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у екстремним климатским условима 62 изолата *Fusarium* врста изоловано је у вегетационој сезони 2016/2017. Идентификација заснована на морфолошким карактеристикама изведена је према кључу Barnett и Hunter (1972) и Leslie и Summerell (2006) (Слика 8 и 9).

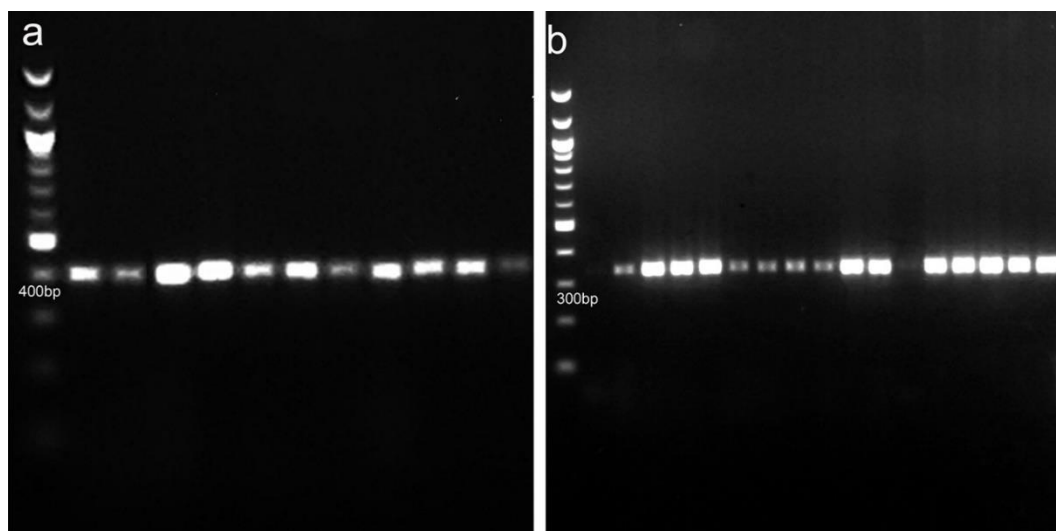


Слика 8: Колонија *F. graminearum* на PDA подлози (фото: Н. Стошић)



Слика 9: Формирање макроконидија *F.graminearum* (фото: Н. Стошић)

Затим су ови изолати идентификовани употребом специфичне PCR (SCAR анализе). Молекуларна анализа је показала да је *Fusarium graminearum* била доминантна врста рода *Fusarium* на територији Мачве у вегетационој сезони 2016/2017. са фреквенцијом од 72,6% (45 изолата од укупно 62). Утврђено је присуство и *F. oxysporum* са учесталошћу од 27,4% (17/62). Применом прајмера специфичних за *F. graminearum* настао је PCR производ величине 420 bp чиме је потврђено да сви изолати *F. graminearum* припадају SCAR групи 1. Применом прајмера специфичних за *F. oxysporum* настао је PCR производ величине 340 bp (Слика 10).



Слика 10: PCR производи *Fusarium* врста у 2017. години  
(а- *F. graminearum*; б-*F. oxysporum*)

Визуелна оцена симптома проузроковача трулежа приземног дела стабла и изоловани патогени нису у потпуности у сагласности. *F. graminearum* идентификован SCAR анализом изолован је не само из приземног дела стабла са карактеристичним симптомима за дату врсту већ и из приземног дела стабла са симптомима карактеристичним за сочивасту пегавост (*Oculimacula* sp.) и црну трулеж приземног дела стабла (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*). Исти случај био је и са изолатима патогена *F. oxysporum*.

Од укупног броја стабала са којих је изолован и потврђен *F. graminearum* на 75,6% (34 од 45) стабала били су карактеристични симптоми за датог патогена (Слика 11). Друга стабла имала су симптоме сочивасте пегавости (8 стабала) и црне трулежи корена (3 стабла).



Слика 11: Симптоми *Fusarium* sp. стаблу пшенице (фото: Н. Стошић)

У случају изолата *F. oxysporum* на само 9 стабала од 17 (52,9%) били су присутни карактеристични симптоми овог патогена. На 2 стабла били су присутни симптоми сочивасте пегавости, а на 6 стабала симптоми црне трулежи корена. *Fusarium graminearum* изолован је са 18 локалитета, а *F. oxysporum* са 10 локалитета. На 9 локалитета изолована су оба патогена.

## 7. ДИСКУСИЈА

Обезбеђивање квалитета зрна и постизање високих приноса су главни предуслови за ефикасну биљну производњу. До сада су начињени велики напори да се развије ефикасна стратегија контроле проузроковача фузариозе класа пшенице али истраживања везана за *Fusarium* врсте које проузрокују трулеж корена и приземног дела стабла су занемарена (Wang и сар., 2015), иако су штете које проузрокују велике. Однос између врста које проузрокују трулеж корена и приземног дела стабла пшенице и њихова коезистенција у условима поља су такође мало познати. Појава трулежи корена и приземног дела стабла пшенице и потенцијални ефекат на пољопривредну праксу зависе како од самих патогена, тако и од услова спољашње средине, и стога су често непредвидиви (Fernandez и Conner, 2011). Поред тога, тешко је утврдити и спровести ефикасну методу сузбијања трулежи корена и приземног дела стабла с обзиром да одређена агрономска пракса може да фаворизује једног патогена док утиче на смањење појаве другог патогена (Fernandez и Conner, 2011). Због тога, у овом истраживању је анализиран утицај фактора животне средине на варијабилност инфекције пшенице комплексом проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла.

Приликом интензивније појаве ових патогена губици у приносу и квалитету пшенице могу бити значајни, нарочито ако су повољни еколошки услови за развој ових патогена, или се биљка налази у стресним условима (Draper и сар., 2000). Због тога су неопходне додатне студије у различитим географским подручјима и условима производње како би се разјаснили фактори који доводе до појаве трулежи корена и приземног дела стабла пшенице.

Постоји велики број радова о доминантности проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у различитим географским областима. Међутим, ефекат климатских промена на диверзитет и патогеност проузроковача овог обољења тек треба да се испита. Долазило до промене у доминантности *Fusarium* врста које проузрокују фузариозу класа пшенице у северној Европи и северозападној Русији (Yil-Mattila и сар., 2010; Waalwijk и сар., 2003), као резултат климатских промена, али ове студије нису анализирале ефекат климатских промена на могуће флукуације популације *Fusarium spp.* проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла.

Fernandez и Conner (2011) наводе да су проузроковачи трулежи приземног дела стабла пшенице мање условљени факторима животне средине од оних који проузрокују инфекцију класа. Са друге стране, постоје подаци да патогени који чине овај комплекс реагују на промене температуре, расподелу падавина током године, количину падавина, и едафске факторе, па доминантне врсте комплекса у одређеној области могу да варирају из године у годину, указујући на висок ниво адаптације (Smiley и сар., 2005; Моуа-Elizondo и сар., 2011). У овом истраживању је приказано да промене климатских елемената заједно са њиховом интеракцијом са локалитетима утичу на ниво заразе проузроковачима трулежи приземног дела стабла и последично доводе до угрожавања производње пшенице.

Промене температура у току јануара, значајно су утицале на индекс обољења трулежи приземног дела стабла пшенице у агро-еколошким условима Мачве. Генерално, истраживања везана за утицај климатских елемената у зимском периоду на појаву фузариозе класа су ретка и постоји само неколико публикација на ту тему (Aldred и Magan, 2004; Landschoot и сар., 2012; Manstretta и Rossi, 2016). Због повезаности фузариозе приземног дела стабла и фузариозе класа пшенице, овај податак додатно подиже ниво интересовања, нарочито способност презимљавања примарног инокулума *Fusarium* spp. У овом истраживању доказан је потенцијал комплекса патогена да проузрокује трулеж приземног дела стабла у годинама са климатским условима који фаворизују појаву ових патогена. Резултати овог истраживања истичу да климатски елементи у зимском периоду треба да буду узете у обзир као фактор у истраживањима која се односе на мере контроле овог комплекса.

Чињеница је да на територији Србије долази до промена и осцилација климатских фактора. Потврђен је и узлазни тренд средњих годишњих температура (Михаиловић и сар., 2015). С обзиром да је ово истраживање показало да је до велике заразе овим комплексом патогена дошло управо услед високе средње вредности температуре у јануару месецу, може се очекивати да ово постане учесталији проблем. Ово је у сагласности са широко распрострањеним мишљењем научника да ће глобалне климатске промене негативно утицати на многе регионе широм света.

Трулеж приземног дела стабла се у већој мери среће у стресним условима (суша, високе температуре, прегусти усеви, сувишак азота, итд.). Појава је нарочито изражеа условима стреса услед суше у каснијим фазама производње (Paulitz и сар., 2002). У вегетационој сезони 2013/2014, када је зараза комплексом проузроковача трулежи корена

и приземног дела стабла била изузетно висока, укупна количина падавина у мају била је изнад десетогодишњег просека. Статистичка анализа није указала на значајан утицај овог параметра на индекса обољења. Ипак, с обзиром да масовној појави патогена из рода *Fusarium* више погодује сушни период у каснијим фазама развића, ово истраживање је указало да велика количина падавина управо у касној фази развоја није довела до редукције појаве ових патогена.

Paulitz и сарадници су у истраживању спроведеном 2002. године у Северозападној Пацифичкој регији у Канади установили да чак 76% биљака озиме пшенице може бити заражено фузариозом приземног дела стабла. Мoya Elizondo и сарадници (2015) утврдили су ниво заразе проузроковачима трулежи корена и приземног дела стабла од 11,3% до 80% на индивидуалним парцелама. Чак 72,2% стабала испољило је симптоме заразе овим патогенима. Слични резултати добијени су и у овом раду где је број заражених стабала још и већи (87,1%) у 2014. години која је била погоднија за развој ових патогена. У 2017. години удео оболелих стабала износио је 57,25% а здравих 42,75%, што је ипак више него просечни ниво заразе овог типа. Иако је 2017. година била мање погодна за појаву патогена овог комплекса ниво заразе је ипак био висок. Ова чињеница указује на дуготрајни проблем на територији Мачве Могући узрок је конкурентска способност ових патогена према другим микроорганизмима, адаптабилност и начин презимљавања којим патогени могу опстати дужи низ година на зараженом подручју. Сваке године долази до поновних зараза пшенице, где изостају превентивне мере борбе против трулежи корена и приземног дела пшенице.

Симптоми на надземним деловима биљке проузроковани патогенима комплекса трулежи корена и приземног дела стабла често су неприметни у просечним условима гајења (Fernandez и Conner, 2011). Постоји вероватноћа да из ових разлога овај проблем није до сада био значајнији, а штете су занемарене.

Још један циљ овог истраживања био је да се анализира коегзистенција *Fusarium* врста које проузрокују трулеж приземног дела стабла пшенице у екстремним временским условима. Доминација *Fusarium* врста у односу на друге проузроковаче трулежи корена и приземног дела стабла која је овде установљена у сагласности је са великим бројем других истраживања (McMullen и сар., 1997; Goswami и Kistler, 2004; Cook и Veseth, 1991; Xu и сар., 2018; Poole и сар., 2013; Smiley и сар., 2005; Smiley и Patterson, 1996; Cook, 1981; Burgess и сар., 2001; Backhouse и сар., 2004; Chakraborty и сар., 2006; Jevtić и сар., 2006; Stošić, 2010; Moya Elizondo и сар., 2015) SCAR анализом је

утврђена доминација врсте *F. graminearum* у односу на друге *Fusarium* врсте са фреквенцијом од 72,6%. Нису сва стабла са којих су изоловани *F. graminearum* и *F. oxysporum* испољавали типичне симптоме ових патогена. Само 75,6% стабала са којих је изолован *F. graminearum* испољавало је типичне симптоме. Постоје подаци да су врсте гљива које теже бољој корелацији са симптомима агресивнији патогени (Matusinsky и сар., 2008). *F. graminearum* се може сматрати предоминантним проузроковачем трулежи приземног дела стабла озиме пшенице у агро-еколошким условима Мачванске области.

Трулеж приземног дела стабла проузрокована врстама из рода *Fusarium* је обољење пшенице глобалног значаја, и постаје епидемична последњих година у Европи, САД, Канади, Кини и Јужној Америци, проузрокујући велике губитке приноса и нарушавајући квалитет зрна (McMullen и сар., 1997; Goswami и Kistler, 2004). Штете настале услед фузариоза приземног дела стабла пшенице су значајне. Стога су покренути програми мониторинга и оплемењивања пшенице у циљу резистентности и толерантности према овом обољењу, на различитим локацијама широм света уз подршку СИММУТ-а.

До сада нису постојали подаци која *Fusarium* врста је доминантна као проузроковач трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у Србији, иако постоје подаци да је *Fusarium graminearum* доминантан као проузроковач фузариозе класа пшенице (Lević и сар., 2012). То је у сагласности са чињеницом да су *Fusarium* врсте које су најчешће повезане са фузариозом класа пшенице и других стрних жита у Европи *F. graminearum*, *F. avenaceum* и *F. culmorum* (Bottalico и Giancarlo, 2002). Cook (1981) наводи да је *F. culmorum* карактеристичан патоген за хладније, полуаридне области, а *F. pseudograminearum* и *F. graminearum* су доминантни у благо топлијим областима, што је у корелацији са резултатима овог истраживања с обзиром да се Мачва налази у зони континенталне климе.

Интересантно, проценат изолата патогена *Fusarium oxysporum* који су идентификовани SCAR анализом (27,4%) био је далеко већи од оног који се наводи у литератури. У истраживању Tyburski и сар. (2014) *F. oxysporum* је утврђен на 3,8% изолата приземног дела стабла пшенице прикупљених у фенофази ВВСН 83-87. Други аутори су наводили ниже проценте изолата *F. oxysporum* изолованих из приземног дела стабла у фази воштане зрелости зрна (0,5%) или у каснијим фазама развоја (2,1%) (Moya-Elizondo и сар., 2015; Xu и сар., 2018). У прилог томе *F. oxysporum* се углавном наводи као сапрофит или као врста са ниским потенцијалом патогености (Moya-Elizondo и сар.,

2015). Фреквенција изолата *F. oxysporum* из приземног дела стабла пшенице у овом истраживању указује да у годинама које нису погодне за развој *F. graminearum*, *F. oxysporum* може имати значајан утицај на производњу пшенице путем и патогеног и сапрофитног потенцијала. *Fusarium* врсте доминирају и на корену пшенице, нарочито *F. oxysporum* (Chambers, 1972; Burgess и сар., 1975; Sturz и Bernier, 1991). Сматра се да је *F. oxysporum* међу најзаступљенијим гљивама изолованих са подземних делова пшенице у Канади, али са малим бројем заражених биљака (Fernandez и Jefferson, 2004). Ово откриће је у корелацији са резултатима објављеним од стране Leplat и сар. (2013) који наводе да *F. oxysporum* има бољи сапрофитни капацитет него *F. graminearum* и да се очекује да количина *F. graminearum* на остацима пшенице драстично опада док количина *F. oxysporum* расте. Иначе, врсте као што је *F. graminearum* које имају слабији сапрофитни капацитет брзо бивају замењене другим компетиторима укључујући *F. oxysporum* (Pereyra и сар., 2004). Још једно истраживање које истиче значајан удео *F. oxysporum* у заједници гљива која се налази на корену биљака спровели су Cook и Veseth (1991). Резултати су показали да *Fusarium* врсте представљају највећу компоненту заједнице гљива (33,1%), а од укупног броја *Fusarium* изолата 41,2% био је *F. oxysporum* а 27,7% *F. nygamai*.

Многи аутори сматрају да је *F. oxysporum*, као и *Microdochium nivale* од мањег значаја у комплексу проузроковача трулежи приземног дела стабла пшенице (Cook, 2010; Paulitz и сар., 2002; Smiley и Patterson, 1996), зато што су првенствено секундарни патогени, а не примарни патогени у полу аридним областима (Burgess и сар., 2001). Ипак, чињеница је да је овај патоген веома штетан. Захваљујући добро развијеним конкурентским способностима може се дуго одржати у земљишту. Услед велике варијабилности, врсте овог рода су се одлично прилагодиле различитим агроеколошким условима гајења, јавља се у умереној и тропској клими, па чак и пустињама, тропским шумама, травњацима и тундрама. Овај рад је доказао да је значај *F. oxysporum* далеко већи од очекиваног у датим условима истраживања, и да у климатским условима Србије може бити економски и здравствено врло штетно обољење. Свакако је потребно овог патогена и његову појаву детаљније испитивати, јер може указати на промене у преминацији патогена у оквиру *Fusarium* комплекса, али и комплекса проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла генерално, са глобалним климатским променама.



Индекси обољења су значајно условљени и бројем понављања по локалитету и њиховом интеракцијом са вегетационом сезоном. Стандардна девијација је мера варијабилности индекса обољења и има широк распон у оквиру 16 локалитета а употребом истог метода узорковања у две вегетационе сезоне. Поред тога, истраживачи који су се бавили темом трулежи корена и приземног дела стабла користили су различите методе узорковања стабала и корена пшенице, што значи да за сада не постоји потпуно адекватан, прецизан или опште прихваћен метод узорковања. Резултати овог истраживања истичу значај даљих истраживања прецизности узорковања, а донели су јаснију слику фактора који утичу на појаву трулежи приземног дела стабла и прецизност индекса обољења што је било занемарено у претходним истраживањима.

Scherm (2004) указује да постоји стални проблем у примени модела за прогнозу ефекта климатских промена на болести. Разлози за то су недостатак података о географској дистрибуцији болести, нелинеарна корелација између климатских фактора и епидемиологије патогена, потенцијал за прилагођавање и биљака и патогена, што је често игнорисано у моделима. Тек недавна истраживања на тему комплекса проузроковача трулежи корена повезала су дистрибуцију патогена са географском дистрибуцијом и подацима о климатским факторима (Tunalı и сар., 2008; Мoya-Elizondo и сар., 2011), и указано је да неке еколошке адаптације и адаптације животне средине неких *Fusarium* spp. могу бити употребљене у будућности како би се процениле промене везане за глобално отопљавање. Ове студије су указале на значај агроколошких зона за дистрибуцију, појаву и превалентност различитих *Fusarium* врста. Такође су истакле и значај спровођења константних истраживања на тему појаве патогена са њиховом просторном дистрибуцијом и климатским факторима. Поред осталог, таква истраживања могу бити користан алат у праћењу ефекта глобалних климатских промена.

## 8. ЗАКЉУЧАК

Истраживања заступљености комплекса патогена проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице у две вегетационе сезоне довела су до следећих закључака:

- **Утврђен је статистички значајан утицај вегетационе сезоне на појаву проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла пшенице ( $P < 0,01$ ).**
- Средња вредност индекса обољења у 2013/2014 вегетационој сезони износила је 48,9%, док је та вредност у 2016/2017 вегетационој сезони износила 25,8 %.
- **Појава трулежи корена и приземног дела стабла у оквиру сваке вегетационе сезоне била је условљена специфичностима локалитета ( $P = 0,000$ ) као и интеракцијом локалитета и вегетационе сезоне ( $P = 0,000$ ).**
- У вегетационој сезони 2013/2014 индекси обољења на свим локалитетима су били виши од 29%. У вегетационој сезони 2016/2017, која је била мање погодна за развој проузроковача трулежи корена и приземног дела стабла, индекси обољења су били виши од 29% само на 5 локалитета.
- **Разлике у климатским факторима две вегетационе сезоне нису значајно утицале на разлику у оствареним индексима обољења, са изузетком разлике у средњим месечним температурама у јануару месецу.**
- Средња месечна температура у јануару 2014. године (4,2 °C) била је виша од десетогодишњег просека температура за тај месец (1,8 °C), док је 2017 (-5 °C) била нижа од десетогодишњег просека што је допринело значајном утицају јануарских температура на појаву трулежи корена и приземног дела стабла пшенице ( $P = 0,000$ ) у две вегетационе сезоне.
- **Процењене вредности индекса обољења по локалитетима у две вегетационе сезоне биле су условљене разликом у просторној расподели биљака оцењених**

различитим категоријама заражености приземног дела стабла То је довело до статистички значајног утицаја броја понављања ( $P=0,024$ ), као и интеракције броја понављања и вегетационе сезоне ( $P=0,131$ ) на процену индекса обољења.

- Интервал стандардне девијације индекса обољења био је већи у 2014 (2,45 - 24,4) него у 2017 (1 – 12) години која није била погодна за остварење инфекције. Највећа варирања стандардне девијације индекса обољења утврђена су на локалитетима на којима се индекс обољења кретао у распону од 30% до 60%.
- Доминантан проузроковач трулежи корена и приземног дела стабла у области Мачве био је *Fusarium graminearum* са заступљеношћу од 72,6% у вегетационој сезони 2016/2017. У вегетационој сезони 2016/2017, неповољној за развој трулежи корена и приземног дела стабла *Fusarium oxysporum* био је заступљен у далеко већем проценту (27,4%) него што се то наводи у литературним подацима.

Резултати овог истраживања доприносе генералном сазнању о факторима који утичу на појаву *Fusarium* spp. проузроковача трулежи приземног дела стабла пшенице. Такође истичу потребу за истраживањима у овом правцу, у циљу бољег разумевања и прогнозе ризика од трулежи корена и приземног дела стабла пшенице. Ово би обезбедило одрживу производњу пшенице и контролу болести у будућности.

Проучавање утицаја климатских фактора на појаву и развој патогена, биологије патогена, интеракције патоген-домаћин, али и међусобне интеракције различитих патогена је од великог значаја са становишта ефикасне контроле патогена.

## 9. ЛИТЕРАТУРА

1. Adame-Garcia, J., Rodriguez-Guerra, R., Iglesias-Andreu, L. G., Ramos-Prado, J. M., Luna-Rodriguez, M. (2015): *Molecular identifikation and pathogenic variation of Fusarium species isolated from Vanilla planifolia in Papantla Mexico*. Botanical Sciences, 93 (3) (version on-line, ISSN 2007-4476)
2. Agrios, G. N. (1997): *Plant Pathology. Fourth edition*. Academic Press, London.
3. Agrios G. N. (2005): Chapter 11-*Plant diseases caused by fungi*. In: Agrios G. N. (ed) *Plant pathology, 5th edn*. Academic, San Diego, CA: 385–614.
4. Agrios G. (1988): *Plant pathology*. Academia Press, New York.
5. Akhtar, S., Anjum, F. M., Anjum, M. A. (2011): *Micronutrient fortification of wheat flour: Recent development and strategies*. Food Research International, 44: 652–659.
6. Aldred, D., Magan, N. (2004): *Prevention strategies for trichothecenes*. Toxicol. Lett. 153: 165-171.
7. Andrade, O. (2005): *Identification of Tapesia yallundae Wallwork & Spooner, telemorph of Pseudocercospora herpotrichoides (Fron.) Deighton var. herpotrichoides, the causal agent of eyespot of wheat in Southern Chile*. Agricultura Tecnica (Chile), 65 (3): 306-311.
8. Asher, M. J. C., Shipton, P. J. (1981): *Biology and Control of Take-all*. Academic Press Inc., London.
9. Babović M. (2003): *Osnovi patologije biljaka*. Poljoprivredni fakultet univerziteta u Beogradu, Beograd.
10. Backhouse, D., Abubakar, A. A., Burgess, L. W., Dennis, J. I., Hollaway, G. J., Wildermuth, G. B., Wallwork, H., Henry, F. J. (2004): *Survey of Fusarium species associated with crown rot of wheat and barley in eastern Australia*. Australasian Plant Pathology, 33: 255–261
11. Bai, G., Shaner, G. (2004): *Management and resistance in wheat and barley to Fusarium head blight*. Annual Review of Phytopathology, 42: 135-161.
12. Balaž F., Balaž J., Tošić M., Stojšin V., Bagi F. (2010): *Fitopatologija. Bolesti ratarskih i povrtarskih biljaka*. Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Novi Sad.
13. Balaž F., Tošić M., Balaž J. (1995): *Zaštita biljaka. Bolesti ratarskih i povrtarskih biljaka*. Agencija „Krstin”, Novi Sad.
14. Barnett, H. L., Hunter, B. B. (1972): *Illustrated genera of imperfect fungi. Third Edition*. Minneapolis, MN, Burgess Publishing Co.

15. Bateman, G. L., Kwasna, H. (1999): *Effects of number of winter wheat crops grown successively on fungal communities on wheat roots*. Applied Soil Ecology 13: 271-282.
16. Bockus, W.W., Tisserat, N. A. (2000): *Take-all root rot*. The Plant Health Instructor. DOI:10.1094/PHI-I-2000-1020-01. Updated 2005.
17. Borojević, S. (1981): *Principi i metodi oplemenjivanja bilja*. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
18. Bottalico, A., Giancarlo, P. (2002): *Toxigenic fusarium species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe*. European Journal of Plant Pathology, 108 (7): 611-624.
19. Brennan, J. P., Murray, G. M. (1998): *Economic Importance of wheat diseases in Australia*. Wagga Wagga, Australia: NSW Agriculture.
20. Burgess, L.W. (1981): *General ecology of the Fusaria*. In: Nelson, P. E., Toussoun, J. A., Cook, R. J. (eds.): *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. Pennsylvania State University, University Park, USA: 225-235.
21. Burgess, L. W., Backhouse, D., Summerell, B. A., Swan, L. J. (2001): *Crown rot of wheat*. In: Summerell, B. A., Leslie, J. F., Backhouse, D., Bryden, W. L., Burgess, L. W. (Eds.), *Fusarium – Paul E. Nelson Memorial Symposium*. American Phytopathological Society, St. Paul MN, USA: 271-295.
22. Burgess, W. L., Summerell, A. B., Bullock, S., Gott, P. K., Backhouse, D. (1994): *Laboratory Manual for Fusarium Research*. Fusarium Research Laboratory, Department of Crop Sciences, University of Sidney and Royal Botanic Gardens.
23. Burgess, L. W., Wearing, A. H., Toussoun, T. A. (1975): *Surveys of fusaria associated with crown rot of wheat in Eastern Australia*. Australian Journal of Agricultural Research, 26: 791-799.
24. Burnett, F., Butler-Ellis, C., Hughes, G., Knight, S., Ray, R. (2012): *Forecasting eyespot development and yield losses in winter wheat*. Agriculture & Horticulture Development Board, Project Report No. 491.
25. Burnett, F., Oxley, S. J. P. (1996): *The importance and control of common eyespot in wheat*. Proceedings Crop Protection in Northern Britain, 1: 121 - 126.
26. Barnett, H. L., Hunter, B. B. (1972): *Illustrated genera of imperfect fungi. 3rd ed.* Burgess Publishing Co, Minneapolis, MN, USA. 218 pp.
27. Burt, C., Griffe, L. L., Ridolfini, A. P., Orford, S., Griffiths, S., Nicholson, P. (2014): *Mining the Watkins collection of wheat landraces for novel sources of eyespot resistance*. Plant Pathology Journal, 63 (6): 1241-1250.
28. Chakraborty, S., Liu, C. J., Mitter, V., Scott, J. B., Akinsanmi, O. A., Ali, S., Dill-Macky, R., Nicol, J. M., Backhouse, D., Simpfendorfer, S. (2006): *Pathogen population structure and epidemiology are keys to wheat crown rot and fusarium head blight management*. Australas Plant Pathology, 35: 643–655.

29. Chambers, S. C. (1972): *Fusarium species associated with wheat in Victoria*. Australian journal of experimental agriculture and animal husbandry, 12: 433-436.
30. Chen, C., Collins, D. J., Morgan-Jones, G. (1996): *Fungi associated with root rot of winter wheat in Alabama*. Journal of phytopathology, 144, 193-196.
31. Cook, R. J. (1972): *Influence of low plant and soil water potentials on diseases caused by soilborne fungi*. Phytopathology, 63: 451-547.
32. Cook, R. J. (2010): *Fusarium root, crown, and foot rots and associated seedling diseases*. In: Bockus, W. W., Bowden, R. L., Hunger, R. M., Morrill, W. L., Murray, T. D., Smiley, R. W., eds. *Compendium of wheat diseases and pests. 3rd edition*. The Pennsylvania State University Press, University Park. pp. 37-39.
33. Cook, R. J., Christen, A. A. (1975): *Growth of cereal root-rot fungi as affected by temperature-water potential interactions*. Phytopathology, 66, 193-197.
34. Cook, R. J., Veseth, R. J. (1991): *Wheat health management*. APS Press, St. Paul, Minnesota.
35. Coventry, D. R., Gupta, R. K., Yadav, A., Poswal, R. S., Chhokar, R. S., Sharma, R. K., Yadav, V. K., Gill, S. C., Kumar, A., Mehta, A., Kleemann, S. G. L., Bonamano, A., Cummins, J. A. (2011): *Wheat quality and productivity as affected by varieties and sowing time in Haryana, India*. Field Crops Research, 123 (3): 214–225.
36. Denčić, S., Kobiljski, B., Mladenov, N., Pržulj, N. (2009): *Proizvodnja, prinosi i potrebe za pšenicom u svetu i kod nas*. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 46 (2): 367-377.
37. Denčić S, Mladenov N, Rončević P, Panković L, Djurić V (1997): *Genetic and productivity potential of Wheat cultivars developed in Novi Sad*. Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad 29: 195-204.
38. De Wolf, E. (2010): *Take-all root rot*. Plant pathology, EP-168.
39. Dhingra, O. D., Sinclair, J. B. (1995): *Basic plant pathology methods – Second edition*. Lewis Publishers.
40. Draper, M., Stymiest, C., Jin, Y. (2000): *Common root and crown rot diseases of wheat in South Dakota*. College of agriculture & biological sciences; South Dakota state university; USDA.
41. Dubin, H. J., Gilchrist, L., Reeves, A. F., McNab, A (Eds). (1997): *Fusarium head scab: global status and prospects*. Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo (CIMMYT), Mexico.
42. Dumalasova, V., Palicova, J., Hanzalova, A., Bižova, I., Leišova-Svobodova, L. (2015): *Eyespot resistance gene Pch1 and methods of study of its effectiveness in wheat cultivars*. Czech J. Genet, Plant Breed, 51 (4): 166-173.
43. Đurić V, Mladenov N (2006): *Analiza variranja parametara kvaliteta pšenice u različitim spoljašnjim uslovima*. Žito-hleb 33: 105-109.

44. Faulkner, M., Wallwork, H., Hollaway, G. (2013): *Eyespot in medium and high rainfall zones*. Grains Research & Development Corporation.
45. Fernandez, M. R., Conner, R. L. (2011): *Root and crown rot of wheat*. *Prairie Soils & Crops Journal* 4: 151-157.
46. Fernandez, M. R., Jefferson, P. G. (2004): *Fungal populations in roots and crowns of common and durum wheat in Saskatchewan*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 26: 325-334.
47. Fernandez, M. R., Huber, D., Basnyat, P., Zentner, R. P. (2008): *Impact of agronomic practices on populations of Fusarium and other fungi in cereal and noncereal crop residues on the Canadian Prairies*. *Soil Tillage Res.* 100: 60-71.
48. Feuillet C., Langridge P., Waugh R. (2008): *Cereal breeding takes a walk on the wild side*. *Trends Genet.* 24: 24–32.
49. Fouly, H. M., Pedersen, W. L., Wilkinson, H. T., Abo El-Kader, M. M. (1996): *Wheat root rotting fungi in the "old" and "new" agricultural lands of Egypt*. *Plant Disease* 80: 1298-1300.
50. Freeman, J., Ward, E. (2004): *Gaeumannomyces graminis, the Take-all fungus and its Relatives*. *Molecular Plant Pathology*, 5 (4): 235-252.
51. Gac, M. L., Montfort, F., Cavelier, N., Sailland, A. (1996): *Comparative study of morphological, cultural and molecular markers for the characterization of Pseudocercospora herpotrichoides isolates*. *European Journal of Plant Pathology*, 102: 325-337.
52. Gilchrist-Saavedra, L., Fuentes-Davila, G., Martinez-Cano, C., Lopez-Atilano, R, M., Duveiller, E., Singh, R. P., Henry, M., Garcia, A. I. (2006): *Practical Guide to the Identification of Selected Diseases of Wheat and Barley*. Second Edition. Mexico, D. F. CIMMYT.
53. Goswami, R. S., Kistler, H. C. (2004): *Heading for disaster: Fusarium graminearum on cereal crops*. *Molecular Plant Pathology* 55: 15-25.
54. Goulds, A., Polley, R. W. (1990): *Assessment of eyespot and other stem base diseases of winter wheat and winter barley*. *Mycol. Res.*, 94 (6): 819-822.
55. Grupa autora (2015): *Zdrava zemlja za zdrav život Mačve*. Unija ekologa UNEKO, Beograd.
56. Hernandez-Restrepo, M., Groenewald, J. Z., Elliot, M. I., Canning, G., McMillan, V. E., Crous, P. W. (2016): *Take-all or nothing*. *Studies in mycology*, 83: 19-48.
57. Huber, D. M., McCay-Buis, T. S. (1993): *A multiple component analysis of the take-all disease of cereals*. *Plant Disease* 77: 437-447.
58. Ivanović, M. (1992): *Mikoze biljaka*. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet. IP „Nauka“, Beograd.

59. Ivanović, M., Ivanović, D. (2001): *Mikoze i pseudomikoze biljaka*. Drugo izdanje. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
60. Jevtić, S. (1992): *Posebno ratarstvo*. IP „Nauka“, Beograd.
61. Jevtić, R., Panković, L., Jerković, Z. (2006): *Prouzrokovaci truleži korena i prizemnog dela stabla pšenice*. „Zbornik radova“, sveska 42, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo Novi Sad, 415-419.
62. Jevtić R, Panković L, Pržulj N, Mladenović G (2003): *Niske temperature - osnovni uzrok propadanja ozimih strnih žita*. Biljni lekar 31: 410-415.
63. Jevtić, R., Telečki, M., Malešević, M., Mladenov, N., Hristov, N. (2010): *Uzroci smanjenja prinosa strnih žita u 2010. godini*. Biljni lekar, 3: 187-191.
64. Juhnke, M. E., Mathre, D. E., Sands, D. C. (1984): *A Selective Medium for Gaeumannomyces graminis var. tritici*. Plant Disease, 68: 233-236.
65. Kiecana, I., Rachon, L., Mielniczuk, E., Szumilo, G. (2001): *The occurrence of fungi on roots and stem bases of common wheat (Triticum aestivum ssp. vulgare L.) and durum wheat (Triticum durum Desf.) grown under two levels of chemical protection*. Acta Agrobotanica, 64 (3): 93-102.
66. Klein, T. A., Liddell, C. M., Burgess, L. W., Ellison, F.W. (1985): *Glasshouse testing for tolerance of wheat to crown rot caused by Fusarium graminearum Group 1*. In: Parker C. A., Rovira A. D., Moore K. J., Wong P. T. W. eds. *Ecology and Management of Soilborne Plant Pathogens*. St Paul, MN, USA: APS Press: 167–168.
67. Knapp, A. K., Beier, C., Briske, D. D., Classen, A. T., Luo, Y., Reichstein, M., Smith, M. D., Smith, S. D., Bell, J. E., Fay, P. A., Heisler, J. L., Leavitt, S. W., Sherry, R., Smith, B., Weng, E. (2008): *Consequences of more extreme precipitation regimes for terrestrial ecosystems*. BioScience 58: 811–821.
68. Kostić, B., Smiljaković, H. (1966): *Bolesti pšenice u uslovima intenzivne proizvodnje i mere za njihovo suzbijanje*. Agrohemija, 7-8: 331-342.
69. Kraska, P., Mielniczuk, E. (2012): *The occurrence of fungi on the stem base and roots of spring wheat (Triticum aestivum L.) grown in monoculture depending on tillage systems and catch crops*. Acta Agrobotanica, 65 (1): 79-90.
70. Kwak, Y. S., Weller, D. M. (2013): *Take-All of Wheat and Natural Disease Suppression: A Review*. Plant Pathology Journal, 29 (2): 125-135.
71. Landschoot, S., Waegeman, W., Audenaert, K., Vandepitte, J., Baetens, J. M., De Baets, B., Haesaert, G. (2012): *An empirical analysis of explanatory variables affecting Fusarium head blight infection and deoxynivalenol content in wheat*. J. Plant Pathol. 94 (1): 135-147.
72. Ledingham, R. J., Atkinson, T. G., Horricks, J. S., Mills, J. T., Piening, L. J., Tinline, R. D. (1973): *Wheat losses due to common root rot in the prairie provinces of Canada, 1969-71*. Canadian Plant Disease Survey, 53: 113-122.



73. Lemanczyk, G., Sadowski, C. K. (2002): *Fungal communities and health status of roots of winter wheat cultivated after oats and oats mixed with other crops*. Biocontrol 47: 349-361.
74. Leplat, J., Friberg, H., Abid, M., Steinberg, C. (2013): *Survival of Fusarium graminearum, the causal agent of Fusarium head blight. A review*. Agron. Sustain. Dev. 33: 97–111.
75. Leslie, F. J., Summerell, A. B. (2006): *Fusarium laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa.
76. Lević, J., Stanković, S., Krnjaja, V., Tančić, S., Ivanović, D., Bočarov-Stančić, A. (2012): *Relationships of mycobiota on rachides and kernels of wheat*. European Journal of Plant Pathology 134: 249-256.
77. Lukanowski, A. (2009): *Winter wheat stem base infestation and fungal communities occurring on stems in dependence on cropping system*. Phytopathologia 53: 43-55.
78. Malešević M, Starčević Lj, Jaćimović G, Đurić V, Šeremešić S, Milošev D (2008): *Prinos ozime pšenice u zavisnosti od uslova godine i nivoa đubrenja azotom*. XIII Savetovanje o biotehnologiji, Čačak, 28-29. mart, 2008, Zbornik radova 13: 135-141.
79. Manning, B., Southwell, R., Hayman, P., Moore, K. (2000): *Fusarium head blight in north NSW*. NSW Agriculture Research Update, New South Wales.
80. Manstretta, V., Rossi, V. (2016): *Effects of temperature and moisture on development of Fusarium graminearum perithecia in maize stalk residues*. Appl. Environ. Microb. 82: 184 –191.
81. Marburger, D. A., Venkateshwaran, M., Conley, S. P., Esker, P. D., Lauer J. G., Ane J-M. (2014): *Crop rotation and management effect on Fusarium spp. populations*. Crop Sci. 55: 1-12.
82. Marić, A. (1981): *Fusarium diseases of wheat and corn in Eastern Europe and the Soviet Union*. Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy. P.E. Nelson, T.A Toussoun & R. J. Cook, The Pennsylvania State University Press, University Park.:77-93.
83. Marić, A., Jevtić, R. (2005): *Atlas bolesti ratarskih biljaka. Drugo izdanje*. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad; Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad; Školska knjiga, Novi Sad.
84. Marković M. (2003): *Zaštita ratarskih kultura. Prvo izdanje*. Agroteka, Beograd.
85. Martinović, M., Milivojević, M. (2014): *Hidro i geotermalni model Mačve*. Presentacija opštine Bogatić „Život u Bogatiću“. (<http://www.bogatic.rs>, datum upita: 22.10.2018.)
86. Mathre, D. E. (1982): *Compendium of barley diseases*. APS Press, St. Paul, Minnesota.
87. Mathre, D. E. (2000): *Take-All disease on wheat, barley and oats*. (on-line) Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2000-0623-01-DG.

88. Matusinsky, P., Mikolasova, R., Klem, K., Spitzer, T., Urban, T. (2008): *The role of organic vs. conventional farming practice, soil management and preceding crop on the incidence of stem-base pathogens on wheat*. Journal of Plant Diseases and Protection, 115 (1): 17–22.
89. McKnight, T., Hart, J. (1966): *Some field observations on crown rot disease of wheat caused by Fusarium graminearum*. Queensland journal of agricultural and animal sciences, 23, 373-378.
90. McMullen, M., Jones, R., Gallenberg, D. (1997). *Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact*. Plant Disease 81: 1340–448.
91. Melloy, P., Hollaway, G., Luck, J., Norton, R., Aitken, E., Chakraborty, S. (2010): *Production and fitness of Fusarium pseudograminearum inoculum at elevated carbon dioxide in FACE*. Global Change Biology, 16: 3363-3373.
92. Mihailović, D. T., Lalić, B., Drešković, N., Mimić, G., Djurdjević, V., Jančić, M. (2015): *Climate change effects on crop yields in Serbia and related shifts of Köppen climate zones under the SRES-A1B and SRES-A2*. International Journal of Climatology 35: 3320–3334.
93. Mishra, P. K., Fox, R. T. V., Culham, A. (2003): *Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic Fusaria*. FEMS Microbiol. Lett. 218: 329–332.
94. Möller, E. M., Bahnweg, G., Sandermann, H., Geiger, H. H. (1992): *A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected tissues*. Nucleic Acids Res. 20: 6115-6116.
95. Moya, E. (2010): *Distribution and interaction of Fusarium crown rot and common root rot pathogens of wheat in Montana and development of an integrated management program for Fusarium crown rot*. Montana state University, Bozeman, Montana.
96. Moya-Elizondo, E. (2013): *Fusarium crown rot disease: biology, interactions, management and function as a possible sensor of global climate change*. Cien. Inv. Agr. 40 (2): 235-252.
97. Moya-Elizondo, E., Arismendi, N., Castro, M. P., Doussoulin, H. (2015): *Distribution and prevalence of crown rot pathogens affecting wheat crops in southern Chile*. Chil. J. Agr. Res. 75 (1): 78-84.
98. Moya-Elizondo, E., Rew, R. L., Jacobsen, B., Hogg, A. C., Dyer, A. T. (2011): *Distribution and prevalence of Fusarium crown rot and common root rot pathogens of wheat in Montana*. Plant Disease 95: 1099-1108.
99. Mudge, A. M., Dill-Macky, R., Dong, Y., Gardiner, D. M., White R. G., Manners, J. M. (2006): *A role for the mycotoxin deoxynivalenol in stem colonisation during crown rot disease of wheat caused by Fusarium graminearum and Fusarium pseudograminearum*. Physiol. Molec. Plant Pathol. 69: 73-85.
100. Murray, G., Brennan, J. (2009): *Estimating disease losses to the Australian wheat industry*. Australas Plant Pathol 38 (6): 558-570.

101. Nganje, I. B., Bangsund, D. A., Leistritz, F. L., Wilson, W. W., Tiapo, N. M. (2002): *Estimating the economic impact of crop disease: the case of Fusarium head blight in U.S. wheat and barley*. In: 2002, National Fusarium Head Blight Forum. Michigan State University, East Lansing: 275–281
102. Nelson, E. P., Toussaoun, T. A., Marasas, W. F. O. (1983): *Fusarium species*. Pennsylvania State University.
103. Nicholson, P., Simpson, D. R., Weston, G., Rezanoor, H. N., Lees, A. I., Parry, D. W., Joyce, D. (1998): *Detection and quantification of Fusarium culmorum and Fusarium graminearum in cereals using PCR assays*. *Physiol. Mol. Plant P.* 53: 17-37.
104. Nicol, M. J. (2000): *Wheat trainee lectures soil borne pathogens*. CIMMYT.
105. Nicol, J. M., Bagci, A., Hekimhan, H., Bolat, N., Braun, H. J., Trethowan, R. (2004): *Strategy for the identification and breeding of resistance to dryland root rot complex for international spring and winter wheat breeding programs*. Procedure 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia: 283.
106. Nilsson, H. E. (1969): *Studies of root and foot rot diseases of cereals and grasses: I. On resistance to Ophiobolus gaminis Sacc.* *Landbrukshögskolans Annaler*, 35: 275-807.
107. Nrobarova, A., Kollerova, E., Bacigalova, K. (1997): *The variability of Fusarium graminearum Schwabe*. *Cereal Research Communications*, 25: 619-620.
108. Olivain, C., Humbert, C., Nahalkova, J., Fatehi, J., L'Haridon, F., Alabouvette, C. (2006): *Colonization of tomato root by pathogenic and nonpathogenic Fusarium oxysporum strains inoculated together and separately into the soil*. *App Environ Microbiol* 72: 1523–1531.
109. Paulitz, T. C., Smiley, R. W., Cook, R. J. (2002): *Insight into the prevalence and management of soilborne cereal pathogens under direct seeding in the Pacific Northwest, U.S.A.* *Canadian Journal of Plant Pathology* 24, 416-428.
110. Pena R. J. (2002): *Wheat for bread and other foods*. In: Curtis B. C., Rajaram S., Gomez Macpherson H. (eds) *Bread wheat improvement and production*. FAO plant production and protection series, Rome 2002, 340.
111. Pena, R.J. (2007): *Current and future trends of wheat quality needs*. In: Buck, H.T., Nisi, J.E., Salomon, N. (Eds.). *Wheat production in stressed environments*. Springer, 411-424.
112. Pereyra, S. A., Dill-Macky, R., Sims A. L. (2004): *Survival and inoculum production of Gibberella zeae in wheat residue*. *Plant Dis* 88: 724–730.
113. Poole, G. L., Smiley, R. W., Walker, C., Huggins, D., Rupp, R., Abatzoglou, J., Garland-Campbell, K., Paulitz, T. C. (2013): *Effect of climatic distribution of Fusarium spp. causing crown rot of wheat in the Pacific Northwest of the United States*. *Phytopathology*, 103: 1130–1140.

114. Reif J. C., Zhang P., Dreisigacker S., Warburton M. L., van Ginkel M., Hoisington D. (2005): *Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding*. Theor. Appl. Genet. 110: 859–864.
115. Rossi, V., Chiusa, G. and Languasco, L. (1994): *Effect of the browning of basal culm on yield components of winter wheat*. Phytopathologia Mediterranea, 33, 200-206.
116. Sadeghi, L., Alizadeh, A., Safaie, N., Jamali, S. H. (2012): *Genetic Diversity of Gaeumannomyces graminis var. tritici Populations Using RAPD and ERIC Markers*. Journal of Plant Pathology & Microbiology, 3 (7).
117. Scherm, H. (2004): *Climate change: can we predict the impacts on plant pathology and pest management?* Canadian Journal Plant Pathology 26: 267–273.
118. Schoeny, A., Lucas, P. (1999): *Modeling of Take-All Epidemics to Evaluate the Efficacy of a New Seed-Treatment Fungicide on Wheat*. Phytopathology, 89 (10): 954-961.
119. Smiley, R. W., Gourlie, J. A., Easley, S. A., Patterson, L. M., Whittaker, R. G. (2005): *Crop damage estimates for crown rot of wheat and barley in the Pacific Northwest*. Plant Disease, 89: 595–604.
120. Smiley, R. W., Patterson, L. M. (1996): *Pathogenic fungi associated with Fusarium foot rot of winter wheat in the semiarid Pacific Northwest*. Plant Disease 80, 944-949.
121. Soussana, J. F., Graux, A. I., Tubiello, F. N. (2010): *Improving the use of modelling for projections of climate change impacts on crops and pastures*. Journal of Experimental Botany, 61: 2217-2228.
122. Southwood, T. R. E., Henderson, P. A. (2000): *Ecological methods*. 3rd Edition. Blackwell Science.
123. Stanković, S., Lević, J., Krnjaja, V., Bočarov-Stančić, A., Tančić, S., Kovačević, T. (2007): *Frequency of toxigenic fusarium species and fusariotoxins in wheat grain in Serbia*. Matica Srpska Proceedings for Natural Sciences, Novi Sad, 113: 93-102.
124. Starčević, Lj., Malešević, M., Marinković B, Crnobarac, J., Panković, L., Latković, D., Jaćimović, G. (2006): *Agrotehnika ratarskih biljaka*. U: Maširević, S., Lazić, B., Malešević, M. (ured.) XL Seminara agronoma, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad 306-320
125. Stojanović, S. (2004): *Poljoprivredna fitopatologija*. Srpsko biološko društvo „Stevan Jakovljević“, Kragujevac.
126. Stošić, N. (2010): *Otpopnost genotipova pšenice prema prouzrokovачima truleži korena i prizemnog dela stabla*. Diplomski rad, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
127. Stošić, N., Jevtić, R., Lalošević, M., Župunski, V., Maširević, M. (2016): *Truleži korena i prizemnog dela stabla pšenice – vrste i mere zaštite*. Biljni lekar, 5-6: 408-416.
128. Strausbaugh, C. A., Bradley, C. A., Koehn, A. C., Forster, R. L. (2004): *Survey of root diseases of wheat and barley in southeastern Idaho*. Canadian Journal of Plant Pathology, 26: 167–176.

129. Sturz, A. V., Bernier, C. C. (1991): *Fungal communities in winter wheat roots following crop rotations suppressive and nonsuppressive to take-all*. Canadian Journal of Botany, 69: 39-43.
130. Sutton, J. C. (1982): *Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by Fusarium graminearum*. Can. J. Plant Pathol. 4: 195 -209.
131. Tančić, S., Stanković, S., Lević, J. (2009): *Varijabilnost patogenih svojstava Fusarium spp. poreklom iz zrna kukuruza i pšenice*. Pesticidi i fitomedicina, 24: 259–269.
132. Thomas, S. L., Rhodes, L. H., Boehm M. J. (2004): *Following the disease progression of an ectotrophic root-infecting fungus*. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2004-1215-01
133. Todorović, J., Lazić, B., Komljenović, I. (2003): *Ratarsko-povrtarski priručnik*. Laktaši.
134. Townsend, G. R., Heuberger, J. V. (1943): *Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments*. Plant Disease Reporter, 27, 340-343.
135. Tredway, L.P., Burpee L. L. (2001): *Rhizoctonia diseases of turfgrass*. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2001-1109-01. Updated 2006.
136. Tubiello, F. N., Soussana, J. F., Howden, M. S. (2007): *Crop and pasture response to climate change*. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 104: 19686-19690.
137. Tunali, B., Nicol, J. M., Hodson, D., Uçkun, Z., Büyük, O., Erdurmuş, D., Hekimhan, H., Aktaş, H., Akbudak, M. A., Bağcı, S. A. (2008) *Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey*. Plant Disease 92: 1299-1306.
138. Turner, A. S., O'Hara, R. B., Rezanoor, H. N., Nuttall, M., Smith, J. N., Nicholson, P. (1999): *Visual disease and PCR assessment of stem base diseases in winter wheat*. Plant Pathology 48: 742-748.
139. Tyburski, J., Kurowski, T., Adamiak, E. (2014): *Root and foot rot diseases of winter wheat grown in conventional and organic systems*. J. Agr. Chem. Environ. 3: 1-8.
140. Ulrich, K., Augustin, C., Werner, A. (2000): *Identification and characterization of a new group of root-colonizing fungi within the Gaeumannomyces-Phialophora complex*. New Phytol., 145: 127-135.
141. Van Dyk, K. (2003): *Fungi associated with root and crown rot of wheat and barley in Tanzania*. Department of microbiology and plant pathology, Faculty of natural and agricultural sciences, University of Pretoria, Pretoria.
142. Vanterpool, T. C. (1938): *Some species of Pythium parasitic on wheat in Canada and England*. Annals of Applied Biology, 25: 528-543.
143. Waalwijk, C., Kastelein, P., deVries, I., Kerényi, Z., van der Lee, T., Hesselink, T. (2003): *Major changes in Fusarium spp. in wheat in the Netherlands*. Eur. J. Plant Pathol. 109: 743–754.

144. Wagacha, J. M., Muthomi, J. W. (2007): *Fusarium culmorum: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat*. Crop Protection, 26: 877-885.
145. Wallwork, H.: *Cereal Root and Crown Diseases*. Konding Group.
146. Walter, S., Doohan, F. (2011): *Transcript profiling of the phytotoxic response of wheat to the Fusarium mycotoxin deoxynivalenol*. Mycotox Res. 27: 221–230.
147. Wan, A. M., Bock, C. H., Fitt, B. D. L., Harvey, J. L., Jenkyn, J. F. (2005): *Development of Oculimacula Yallundae and O. aciformis (eyespot) on Leaf Sheaths of Winter Wheat in the UK in Relation to Thermal Time*. Plant Pathology, 54: 144-155.
148. Wang, Q., Vera Buxa, S., Furch, A., Friedt, W., Gottwald, S. (2015): *Insights Into Triticum aestivum Seedling Root Rot Caused by Fusarium graminearum*. Molecular Plant-Microbe Interaction, 28 (12): 1288-303.
149. Watanabe, T. (1993): *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi and Key to Species*. Soft Science Publications, Tokyo.
150. Wildermuth, G. B., McNamara, R. B. (1994): *Testing wheat seedlings for resistance to crown rot caused by Fusarium graminearum Group 1*. Plant Dis. 78: 949-953.
151. Wildermuth, G. B., Tinline, R. D., McNamara, R. B. (1992): *Assessment of yield loss caused by common root rot in wheat cultivars in Queensland*. Australian Journal of Agricultural Research, 43: 43-58.
152. Wildermuth, G. B., Thomas, G. A., Radford, B. J., McNamara, R. B. and Kelly, A. (1997): *Crown rot and root rot in wheat grown under different tillage and stubble treatments in southern Queensland, Australia*. Soil and tillage research, 44: 211-224.
153. Willocquet, L., Lebreton, L., Sarniguet, A., Lucas, P. (2008): *Quantification of within-season focal spread of wheat take-all in relation to pathogen genotype and host spatial distribution*. Plant Pathology, 1-10.
154. Wiese, M. V. (1987): *Compendium of wheat diseases. 2nd ed.* APS Press, St. Paul, Minnesota.
155. Wiik, L. (2009): *Control of Fungal Diseases in Winter Wheat. Evaluation of long-term field research in southern Sweden*. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp.
156. Wulff, B. B. H., Moscou, M. J. (2014): *Strategies for transferring resistance into wheat: from wide crosses to GM cassettes*. Front Plant. Sci: 5, 692.
157. Xu, F., Yang, G., Wang, J., Song, Y., Liu, L., Zhao, K., Li, Y., Han, Z. (2018): *Spatial distribution of root and crown rot fungi associated with winter wheat in the North China plain and its relationship with climate variables*. Frontiers in Microbiology, 9: 1054.
158. Yli-Mattila, T. (2010): *Ecology and evolution of toxigenic Fusarium species in cereals in Northern Europe and Asia*. J. Plant Pathol. 92 (1): 7-18.

159. Yosefvand, M., Abbasi, S., Changa-Mirza, K., Bahram-Nezhad, S. (2016): *Genetic Diversity Analysis of Gaeumannomyces graminis var. tritici in Kermanshah Province of Iran using RAPD Markers*. Plant Pathology & Quarantine, 6 (2): 207-218.
160. Župunski, V., Jevtić R., Spasić Jokić, V., Župunski, Lj., Lalošević M., Ćirić M., Ćurčić Ž. (2017): *Sampling Error in Relation to Cyst Nematode Population Density Estimation in Small Field Plots*. J. Nematol. 49 (2):150–155.
161. Republički hidrometeorološki zavod ([www.hidmet.gov.rs](http://www.hidmet.gov.rs))
162. FAOSTAT: FAO statistical database. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. ([www.fao.org/faostat](http://www.fao.org/faostat))
163. GPS Geoplaner ([www.geoplaner.com](http://www.geoplaner.com))
164. Pravilnik o zdravstvenom pregledu useva i objekata za proizvodnju semena, rasada i sadnog materijala i zdravstvenom pregledu semena, rasada i sadnog materijala („Sl. list RS“ br. 39/2006, 59/2006, 115/2006, 119/2007 i 107/2008)

## 10. ПРИЛОЗИ

## ПРИЛОГ 1

## Оцене стабала пшенице за 16 локалитета у вегетационој сезони 2013/2014

| локалитет             | оцена       | 0     | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6    | 7     | 8     | 9     | укупно: |
|-----------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|---------|
| Бадовинци             | бр. стабала | 20    | 14    | 21    | 9     | 12    | 13    | 4    | 7     | 11    | 7     | 118     |
|                       | процент:    | 16,95 | 11,86 | 17,8  | 7,63  | 10,17 | 11,02 | 3,39 | 5,93  | 9,32  | 5,93  | 100     |
| Баново Поље           | бр. стабала | 25    | 34    | 21    | 17    | 1     | 20    | 7    | 12    | 7     | 4     | 148     |
|                       | процент:    | 16,89 | 22,97 | 14,19 | 11,49 | 0,68  | 13,51 | 4,73 | 8,11  | 4,73  | 2,7   | 100     |
| Белотић               | бр. стабала | 10    | 27    | 12    | 10    | 4     | 12    | 6    | 14    | 16    | 20    | 131     |
|                       | процент:    | 7,63  | 20,61 | 9,16  | 7,63  | 3,05  | 9,16  | 4,58 | 10,69 | 12,21 | 15,27 | 100     |
| Богатић               | бр. стабала | 9     | 11    | 19    | 11    | 6     | 15    | 13   | 10    | 7     | 34    | 135     |
|                       | процент:    | 6,67  | 8,15  | 14,07 | 8,15  | 4,44  | 11,11 | 9,63 | 7,41  | 5,19  | 25,19 | 100     |
| Дреновац              | бр. стабала | 0     | 0     | 1     | 0     | 1     | 4     | 4    | 11    | 15    | 30    | 66      |
|                       | процент:    | 0     | 0     | 1,52  | 0     | 1,52  | 6,06  | 6,06 | 16,67 | 22,73 | 45,45 | 100     |
| Дубље                 | бр. стабала | 41    | 27    | 16    | 11    | 5     | 11    | 4    | 12    | 10    | 5     | 142     |
|                       | процент:    | 28,87 | 19,01 | 11,27 | 7,75  | 3,52  | 7,75  | 2,82 | 8,45  | 7,04  | 3,52  | 100     |
| Глушци                | бр. стабала | 16    | 66    | 27    | 15    | 1     | 26    | 9    | 5     | 13    | 13    | 191     |
|                       | процент:    | 8,38  | 34,55 | 14,14 | 7,85  | 0,52  | 13,61 | 4,71 | 2,62  | 6,81  | 6,81  | 100     |
| Мачвански<br>Метковић | бр. стабала | 8     | 33    | 20    | 11    | 8     | 16    | 8    | 10    | 9     | 17    | 140     |
|                       | процент:    | 5,71  | 23,57 | 14,29 | 7,86  | 5,71  | 11,43 | 5,71 | 7,14  | 6,43  | 12,14 | 100     |
| Мајур                 | бр. стабала | 9     | 28    | 13    | 13    | 6     | 8     | 12   | 11    | 15    | 20    | 135     |
|                       | процент:    | 6,67  | 20,74 | 9,63  | 9,63  | 4,44  | 5,93  | 8,89 | 8,15  | 11,11 | 14,81 | 100     |
| Ноћај                 | бр. стабала | 13    | 17    | 12    | 11    | 11    | 11    | 9    | 11    | 17    | 24    | 136     |
|                       | процент:    | 9,56  | 12,5  | 8,82  | 8,09  | 8,09  | 8,09  | 6,62 | 8,09  | 12,5  | 17,65 | 100     |
| Равње                 | бр. стабала | 11    | 20    | 24    | 10    | 3     | 22    | 11   | 14    | 15    | 37    | 167     |
|                       | процент:    | 6,59  | 11,98 | 14,37 | 5,99  | 1,8   | 13,17 | 6,59 | 8,38  | 8,98  | 22,16 | 100     |
| Салаш<br>Црнобарски   | бр. стабала | 7     | 13    | 15    | 28    | 7     | 19    | 16   | 17    | 34    | 32    | 188     |
|                       | процент:    | 3,72  | 6,91  | 7,98  | 14,89 | 3,72  | 10,11 | 8,51 | 9,04  | 18,09 | 17,02 | 100     |
| Салаш<br>Ноћајски     | бр. стабала | 51    | 42    | 22    | 12    | 9     | 7     | 7    | 5     | 9     | 6     | 170     |
|                       | процент:    | 30    | 24,71 | 12,94 | 7,06  | 5,29  | 4,12  | 4,12 | 2,94  | 5,29  | 3,53  | 100     |
| Шабац                 | бр. стабала | 59    | 13    | 41    | 16    | 17    | 18    | 16   | 16    | 15    | 23    | 234     |
|                       | процент:    | 25,21 | 5,56  | 17,52 | 6,84  | 7,26  | 7,69  | 6,84 | 6,84  | 6,41  | 9,83  | 100     |
| Шеварице              | бр. стабала | 4     | 10    | 9     | 16    | 8     | 15    | 14   | 13    | 24    | 35    | 148     |
|                       | процент:    | 2,7   | 6,76  | 6,08  | 10,81 | 5,41  | 10,14 | 9,46 | 8,78  | 16,22 | 23,65 | 100     |
| Табановић             | бр. стабала | 22    | 10    | 12    | 12    | 7     | 16    | 11   | 7     | 11    | 10    | 118     |
|                       | процент:    | 18,64 | 8,47  | 10,17 | 10,17 | 5,93  | 13,56 | 9,32 | 5,93  | 9,32  | 8,47  | 100     |
| Укупно                | бр. стабала | 305   | 365   | 285   | 202   | 106   | 233   | 151  | 175   | 228   | 317   | 2367    |
|                       | процент:    | 12,89 | 15,42 | 12,04 | 8,53  | 4,48  | 9,84  | 6,38 | 7,39  | 9,63  | 13,39 | 100     |



## ПРИЛОГ 2

## Оцене стабала пшенице за 16 локалитета у вегетационој сезони 2016/2017

| локалитет          | оцена       | 0     | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6    | 7    | 8     | 9     | укупно: |
|--------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|-------|-------|---------|
| Бадовинци          | бр. стабала | 132   | 14    | 21    | 9     | 6     | 10    | 5    | 11   | 4     | 2     | 214     |
|                    | процент:    | 61,68 | 6,54  | 9,81  | 4,21  | 2,80  | 4,67  | 2,34 | 5,14 | 1,87  | 0,94  | 100     |
| Баново Поље        | бр. стабала | 115   | 38    | 26    | 19    | 8     | 6     | 5    | 3    | 1     | 0     | 221     |
|                    | процент:    | 52,04 | 17,19 | 11,77 | 8,60  | 3,62  | 2,72  | 2,26 | 1,36 | 0,45  | 0     | 100     |
| Белотић            | бр. стабала | 105   | 18    | 26    | 22    | 13    | 13    | 4    | 6    | 6     | 9     | 222     |
|                    | процент:    | 47,29 | 8,11  | 11,71 | 9,91  | 5,86  | 5,86  | 1,80 | 2,70 | 2,70  | 4,05  | 100     |
| Богатић            | бр. стабала | 75    | 32    | 30    | 15    | 13    | 10    | 8    | 8    | 4     | 5     | 200     |
|                    | процент:    | 37,5  | 16    | 15    | 7,5   | 6,5   | 5     | 4    | 4    | 2     | 2,5   | 100     |
| Дреновац           | бр. стабала | 78    | 25    | 49    | 32    | 28    | 35    | 13   | 19   | 7     | 25    | 311     |
|                    | процент:    | 25,08 | 8,04  | 15,76 | 10,29 | 9,00  | 11,25 | 4,18 | 6,11 | 2,25  | 8,04  | 100     |
| Дубље              | бр. стабала | 106   | 21    | 25    | 9     | 3     | 9     | 7    | 4    | 5     | 26    | 215     |
|                    | процент:    | 49,30 | 9,77  | 11,63 | 4,19  | 1,40  | 4,19  | 3,26 | 1,86 | 2,33  | 12,09 | 100     |
| Глушци             | бр. стабала | 36    | 24    | 13    | 26    | 20    | 19    | 10   | 13   | 11    | 48    | 220     |
|                    | процент:    | 16,36 | 10,91 | 5,91  | 11,82 | 9,09  | 8,64  | 4,55 | 5,91 | 5     | 21,89 | 100     |
| Мачвански Метковић | бр. стабала | 47    | 40    | 18    | 25    | 24    | 18    | 9    | 16   | 23    | 17    | 237     |
|                    | процент:    | 19,83 | 16,88 | 7,59  | 10,55 | 10,13 | 7,59  | 3,79 | 6,75 | 9,70  | 7,17  | 100     |
| Мајур              | бр. стабала | 109   | 23    | 29    | 24    | 8     | 13    | 7    | 12   | 2     | 6     | 233     |
|                    | процент:    | 46,78 | 9,87  | 12,45 | 10,30 | 3,43  | 5,58  | 3,00 | 5,15 | 0,89  | 2,58  | 100     |
| Ноћај              | бр. стабала | 122   | 33    | 15    | 9     | 4     | 4     | 1    | 3    | 2     | 2     | 195     |
|                    | процент:    | 62,56 | 16,92 | 7,69  | 4,62  | 2,05  | 2,05  | 0,51 | 1,54 | 1,03  | 1,03  | 100     |
| Равње              | бр. стабала | 83    | 42    | 41    | 29    | 18    | 13    | 4    | 11   | 2     | 6     | 249     |
|                    | процент:    | 33,33 | 16,87 | 16,47 | 11,65 | 7,23  | 5,22  | 1,60 | 4,42 | 0,80  | 2,41  | 100     |
| Салаш Црнобарски   | бр. стабала | 132   | 5     | 21    | 18    | 8     | 5     | 3    | 1    | 0     | 1     | 194     |
|                    | процент:    | 68,04 | 2,58  | 10,83 | 9,28  | 4,12  | 2,58  | 1,55 | 0,52 | 0     | 0,52  | 100     |
| Салаш Ноћајски     | бр. стабала | 130   | 59    | 23    | 20    | 5     | 9     | 6    | 7    | 2     | 14    | 275     |
|                    | процент:    | 47,27 | 21,46 | 8,36  | 7,27  | 1,82  | 3,27  | 2,18 | 2,55 | 0,73  | 5,09  | 100     |
| Шабац              | бр. стабала | 113   | 33    | 27    | 17    | 18    | 9     | 6    | 17   | 10    | 38    | 288     |
|                    | процент:    | 39,24 | 11,46 | 9,38  | 5,90  | 6,25  | 3,13  | 2,08 | 5,90 | 3,47  | 13,19 | 100     |
| Шеварице           | бр. стабала | 122   | 15    | 20    | 5     | 6     | 10    | 1    | 7    | 23    | 16    | 225     |
|                    | процент:    | 54,22 | 6,67  | 8,89  | 2,22  | 2,67  | 4,44  | 0,44 | 3,11 | 10,22 | 7,11  | 100     |
| Табановић          | бр. стабала | 75    | 9     | 16    | 20    | 5     | 21    | 18   | 3    | 11    | 19    | 197     |
|                    | процент:    | 38,07 | 4,57  | 8,12  | 10,15 | 2,54  | 10,66 | 9,14 | 1,52 | 5,58  | 9,65  | 100     |
| Укупно             | бр. стабала | 1580  | 431   | 400   | 299   | 187   | 204   | 107  | 141  | 113   | 234   | 3696    |
|                    | процент:    | 42,75 | 11,66 | 10,82 | 8,09  | 5,06  | 5,52  | 2,89 | 3,82 | 3,06  | 6,33  | 100     |

**ПРИЛОГ 3****Поступак изолације ДНК (Möller et al., 1992)**

- У микроепрувете са измацерираном мицелијом, додати 500  $\mu\text{l}$  TES-а. Ако се на зиду микроепрувете задрже остаци мицелије, састругати их у раствор. Користити нови наставак приликом додавања TES-а у сваку микроепрувету. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- У сваку микроепрувету додати 100  $\mu\text{g}$  Proteinase K, из већ направљеног stock раствора. Хомогенизовати раствор микропипетом, пажљивим увлачењем и извлачењем раствора. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- Микроепрувете инкубирати 30 - 60 минута у воденом купатилу на 55 – 60  $^{\circ}\text{C}$ , уз повремено благо мешање окретањем микроепрувета;
- Након инкубације, микроепрувете поставити на лед, а водено купатило подести да се загреје на 65  $^{\circ}\text{C}$ ;
- Додавањем 140  $\mu\text{l}$  5M NaCl, подести концентрацију соли на 1.4 M. Користити нови наставак приликом додавања 5 M NaCl у сваку микроепрувету. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- Непосредно пред употребу, извадити 10 % СТАВ из воденог купатила. У сваку микроепрувету додати 65  $\mu\text{l}$ , што је 1/10 vol већ постојеће запремине, и при томе мењати наставак. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- Микроепрувете инкубирати 10 минута у воденом купатилу, које је претходно загрејано на 65  $^{\circ}\text{C}$ ;
- Хлороформ је јако токсичан. У сваку микроепрувету додати 700  $\mu\text{l}$  SEVAG-а (хлороформ: изоамилалкохол =24:1), што је 1 vol постојеће запремине, и при томе мењати наставак. Пажљиво хомогенизовати раствор у микроепруветама. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- Инкубирати микроепрувете 30 минута на 0  $^{\circ}\text{C}$  или у фрижидеру на 4  $^{\circ}\text{C}$ ;

- Након инкубације, извршити центрифугирање 10 минута, на 4 °, на 12 000 rpm-а. Након центрифугирања појавиће се две фазе. Хлороформ је на дну, потом се види талог, изнад ког је супернатант. ДНК је у супернатанту;

- Припремити стерилне микропрувете капацитета 1,5 ml, са коничним дном, и означити их ознакама узорака;

- Одвојити супернатант у припремљене стерилне микропрувете од 1,5 ml. При томе, користити микропипету запремине 20 - 200  $\mu$ l. Ако је могуће, издвојити приближно једнаку количину супернатанта из сваке микропрувете, како се не би морало радити тарирање приликом центрифугирања које следи.

- Употребљене наставке и микропрувете са талогом одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал. Микропрувете у које је пребачен супернатант поставити на лед;

- У микропрувете са супернатантом додати 225  $\mu$ l 5M NH<sub>4</sub>Ac и пажљиво хомогенизовати раствор. Променити наставак након додавања 5M NH<sub>4</sub>Ac у сваку микропрувету. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микропрувете поставити на лед;

- Микропрувете држати на леду најмање 30 минута;

- Припремити стерилне микропрувете капацитета 1,5 ml, са коничним дном, и означити их ознакама узорака;

- Извршити центрифугирање микропрувета, 1 минут на 4 °C, на 12 000 rpm-а. Након центрифугирања појављује се једва видљив талог и супернатант. ДНК је у супернатанту;

- Одвојити супернатант у припремљене стерилне микропрувете. При томе, користити микропипету запремине од 200  $\mu$ l. Употребљене наставке и микропрувете са талогом одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микропрувете са супернатантом поставити на лед;

- У микропрувете са супернатантом додати изопропанол, и то 0,55 vol укупне запремине, како би се извршила преципитација ДНК. Користити нови наставак приликом додавања изопропанола у сваку микропрувету. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микропрувете поставити на лед;

- Одмах извршити центрифугирање 5 минута, на 4 °C, на 12 000 rpm-а. Након центрифугирања појављује се талог и супернатант. ДНК је у талогу;

- Ако је неопходно, након центрифугирања држати микроепрувете на леду од 15 до 30 минута, и потом поновити центрифугирање;
- Одстранити супернатант у боцу предвиђену за биолошки ризичан материјал. При томе користити микропипету запремине од 200  $\mu$ l. Употребљене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- У микроепрувете са талогом додати 1 ml 70 % етанола. Променити наставак након додавања 70 % етанола у сваку микроепрувету. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- Микроепрувете центрифугирати 5 минута, на 4 °C, на 12 000 rpm-а;
- Одстранити супернатант из сваке микроепрувете у боцу за биолошки ризичан материјал. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- У микроепрувете са талогом додати 1 ml 70 % етанола. Променити наставак након додавања 70 % етанола у сваку микроепрувету. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- Микроепрувете центрифугирати 5 минута, на 4 °C, на 12 000 rpm-а.
- Одстранити супернатант из сваке микроепрувете у боцу за биолошки ризичан материјал. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на лед;
- Папирном ватом обрисати микроепрувете, и оставити их под нагибом да се осуше;
- У сваку микроепрувету додати 0,1xTE. Запремина додатог 0,1xTE-а, зависи од обимности талога. Код слабо обиних талога, додати 15  $\mu$ l TE-а, а код обимнијих талога 25  $\mu$ l. Искоришћене наставке одстранити у кесу за биолошки ризичан материјал, а микроепрувете поставити на носач;
- Изоловану ДНК чувати на -20 °C.

## БИОГРАФИЈА

Немања Стошић је рођен 10.02.1987. године у Шапцу. Живи у Орашцу. Завршио је Шабачку гимназију 2006. године са одличним успехом. Пољопривредни факултет, смер фитомедицина уписао је 2006. године, а дипломирао 08.10.2010. године са просеком оцена 9,00. Дипломски рад на тему „Отпорност генотипова пшенице према проузроковачима трулежи корена и приземног дела стабла“ одбранио је са оценом 10. Добитник је признања „др Павле Вукасовић“ за постигнут изузетан успех на основним студијама фитомедицине.

Мастер академске студије уписао је 2012. године, а завршио 14.04.2014. године са просеком оцена 9,86. Мастер рад на тему „Заступљеност семена корова у усевима пшенице у кукуруза“ одбранио је са оценом 10. Докторске студије Пољопривредног факултета у Новом Саду, смер агрономија, ужа научна област фитопатологија, уписао је 2014. године.

Од 2012-2014. године био је сарадник у настави у Високој пољопривредној школи струковних студија Шабац, на више предмета из области фитопатологије, ентомологије и фитофармације. Радио је у Пољопривредној саветодавној и стручној служби Шабац, 2015. године, као стручни сарадник на прогнозно-извештајним пословима. Од завршетка студија константно је присутан на терену, код индивидуалних пољопривредних произвођача на праћењу појаве и сузбијању патогена и штеточина у ратарској, повртарској и воћарској производњи. Радио је у две пољопривредне апотеке као саветник за заштиту биља. Од 2018. године је запослен у хладњачама „Бела 9“ д.о.о. и „Сара 2009“ д.о.о. као саветник, стручни сарадник за заштиту биља и контролор Глобал ГАП стандарда и органске производње.

До сада је, као први аутор или коаутор, објавио 10 научних радова. Учествовао је на више стручних семинара из области фитопатологије, хербологије, воћарства, ратарства и органске производње.