

JELENA BLAŽENČIĆ

## NEKE KARAKTERISTIKE U ANATOMSKOJ GRAĐI LISTA I STABLA KUKURUZA (*ZEA MAYS* L.) OBOLELOG OD CRVENILA\*

Institut za botaniku i botanička bašta, Prirodno-matematički fakultet,  
Beograd

### UVOD

Bolest kukuruza poznata pod imenom „crvenilo kukuruza” otkrivena je u našoj zemlji 1957. godine (Marić, A., Savić, R., 1965) i od tada, s obzirom da predstavlja ekonomski značajnu fitopatološku pojavu, problem je na kome rade mnogi naučnici. Rezultati dosadašnjih proučavanja ovoga oboljenja dali su brojne podatke o rasprostranjenosti, mogućim prouzrokovateljima, štetnosti, histološkim i fiziološkim promenama u obolelim tkivima kukuruza (Marić, A. i saradnici 1959, 1964, 1967, 1968, 1969; Kosovac, Z., 1965; Kastori, R., Marić, A., 1969; Dimitrijević, B., 1969; Čupina T. *et al.*, 1969). Svi istraživači su jednodušni u pogledu ocene štetnosti, rasprostranjenosti i simptoma bolesti, ali iz literature jasno proizilazi da se u pogledu prouzrokovatelja mišljenja razilaze. Marić i saradnici smatraju da je prouzrokovatelj „crvenila kukuruza” gljiva *Fusarium graminearum* i *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. Međutim, Dimitrijević, B. (1969) smatra da etiologija ovoga oboljenja još nije razjašnjena i da dosadašnji rezultati istraživanja nisu pružili dokaze u prilog hipoteze da su prouzrokovatelji oboljenja pomenute gljive, niti virusi na koje ukazuje Atanasoff (1966) ili pak abiotički faktori (Muresan, T. *et al.*, 1967). Očigledno da na ključno pitanje ko je prouzrokovatelj oboljenja definitivni odgovor još nije dat, a to istovremeno znači da nam nisu poznati ni sigurni putevi borbe protiv, kako Marić kaže, najdestruktivnije bolesti kukuruza koja je do sada poznata. S obzirom na ogromne ekonomske štete koje „crvenilo kukuruza” prouzrokuje (prinos se u proseku smanjuje za 20 do 30%, pa i više), istraživanja na otkrivanju uzročnika ovog oboljenja su veoma aktuelna i zahtevaju kompleksan pristup. Upravo na ovaj način, svestrano i već duže vremena, vrše se istraživanja u Institutu za

---

\* Rad je pripremljen za štampu 1974. god.

zaštitu bilja u Beogradu. U okviru ovih istraživanja bila sam angažovana da uradim histološku analizu listova i stabla kukuruza na kojima su bili izraženi simptomi „crvenila”. U ovom radu biće izloženi neki od rezultata do kojih sam došla radeći na ovom problemu, posebno promene koje se ispoljavaju na ćelijskom nivou, i to u prvim fazama pojave bolesti, a na koje u radovima o „crvenilu kukuruza” do sada nije ukazivano.

Ovom prilikom želim da izrazim zahvalnost profesoru dr Mladenu Josifoviću koji mi je ukazao na ovaj problem i u toku rada pomogao korisnim savetima i sugestijama.

### MATERIJAL I METODIKA

Prvi simptomi „crvenila kukuruza” ispoljavaju se u vreme cvetanja biljke, a manifestuju se pojavom crvenkasto plavičaste boje na vegetativnim organima. Bolest kasnije zahvata klipove, tako da je pojava klipova sa nenalivenim, smežuranim zrnima, skoro bez ikakve hranljive vrednosti, jedna od osnovnih karakteristika bolesti „crvenila kukuruza”. Promene na klipu tumače se gubljenjem vitalnih sposobnosti vegetativnih organa kukuruza u vreme mlečne zrelosti i nalivanja zrna. Prema M a r i ć u i S a v i ć u (1965) do pojave crvenkasto-plavičaste boje na listovima i stablima, kao i do uvenuća biljke dolazi usled zatvaranja provodnih elemenata ksilema i floema micelijumom gljive i gumastim materijama.

S obzirom na karakter pojave prvih simptoma i dalje razviće bolesti odlučili smo da anatomske ispitamo listove i stabla kukuruza na kojima su simptomi „crvenila” izraženi, a kao kontrola služile su nam zdrave biljke kukuruza.

Anatomska analiza vršena je na listovima i stablima hibridnog kukuruza SK<sub>1</sub> i Kansas 1859. Materijal za analizu sakupljen je 1969. god. kod Kumana (okolina Zrenjanina, SAP Vojvodina) i Dučina (na Kosmaju, SR Srbija). Prvi izlazak na teren obavljen je kada su se pojavili prvi simptomi „crvenila kukuruza” (kraj avgusta); sledeći izlazak i sakupljanje uzoraka za analizu bio je posle 10 dana, a treći put smo materijal sakupili po završenoj voštanoj zrelosti kukuruza.

Uzorci za anatomske analize na terenu fiksirani su u alkohol-formalinu. Anatomska analiza vršena je na privremenim i trajnim preparatima. U cilju dokazivanja celuloze u ćelijskim zidovima preparati su bojeni hematoksilinom, svetlo-zelenim i hlor-cink-jodom. Safranin ili floroglucin i sona kiselina korišćeni su za dokazivanje lignina. Identifikacija micelijuma gljiva u tkivima kukuruza vršena je metodom Stoutsona (P r o z i n a, M. N., 1960).

Anatomska građa listova ispitivana je na poprečnim i uzdužnim presecima i to kako kod biljaka sa simptomima „crvenila” tako i kod onih koje te simptome nemaju (zdrave biljke). Osim ovakvih preparata posebno su pravljene i preparati epidermisa koji je bio odvojen od ostalih tkiva i posmatran odozgo.

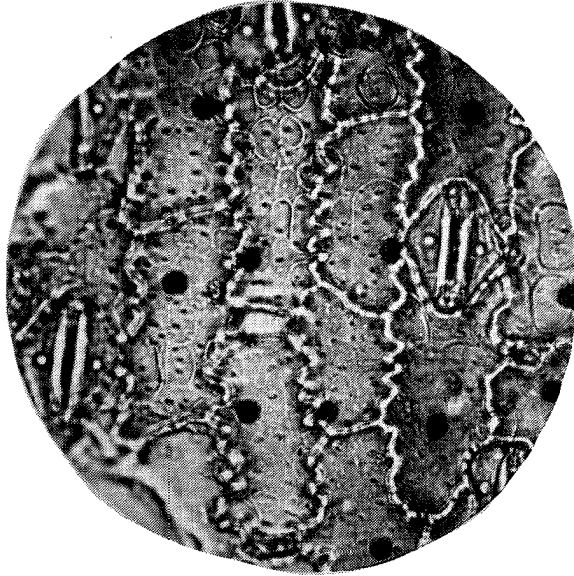
Anatomskom analizom stabla obuhvaćeno je ispitivanje nodusa na kome se nalazi klip, internodija i nodusa ispod i iznad ovoga klipa; nodusa na kome se nalazi list, internodija i nodusa ispod i iznad toga lista. Poseban interes pri ovim ispitivanjima bio je posvećen onim nodusima na kojima se razvija klip tipičan za biljke sa simptomima „crvenila”. Pri uzimanju materijala vodilo se računa da se prikupe takvi uzorci koji morfološki ispoljavaju različite varijante ovog oboljenja (normalan klip, klip sa šturim i malobrojnim zrnima, struk bez klipa, crvenilo izraženo u jačoj meri, crvenilo izraženo u slabijoj meri). Materijal sakupljen u tri različita perioda, počev od oplodjenja do voštane



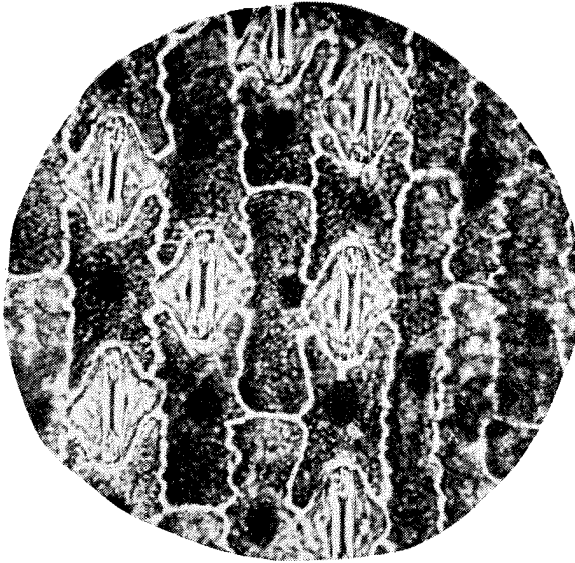
Sl. 1. — Epidermis lista zdravog kukuruza (560x).  
Epidermis of the normal *Zea mays* leaf (560x).



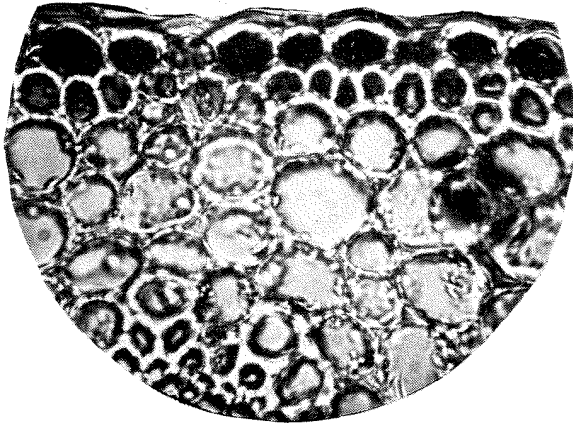
Sl. 2. — Epidermis lista kukuruza obolelog od  
„crvenila” (560x).  
Epidermis of *Zea mays* leaf with redness symptoms (560x).



Sl. 3. — Epidermis lista kukuruza obolelog od „crvenila” (560x)  
Epidermis of *Zea mays* leaf with redness symptoms (560x).

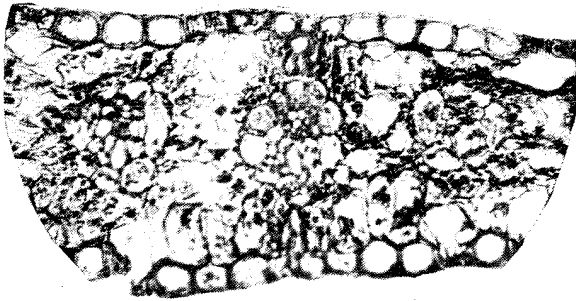


Sl. 4. — Epidermis lista kukuruza obolelog od „crvenila” (560x).  
Epidermis of *Zea mays* leaf with redness symptoms (560x).



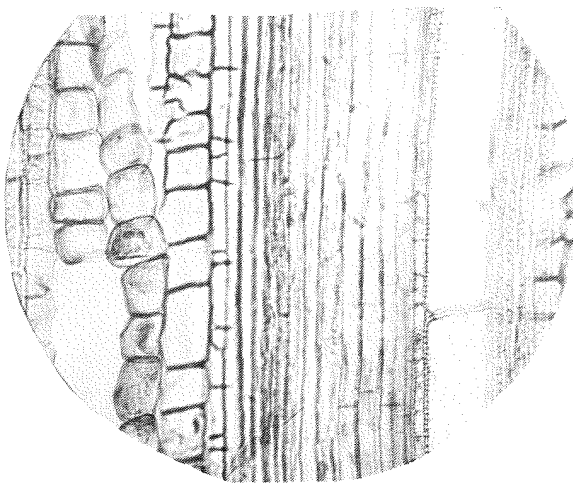
Sl. 5. — Poprečni presek kroz periferni deo stabla kukuruza obolelog od „crvenila” (560x).

Cross-section at *Zea mays* stem with redness symptoms. Peripheral stem part (560x).



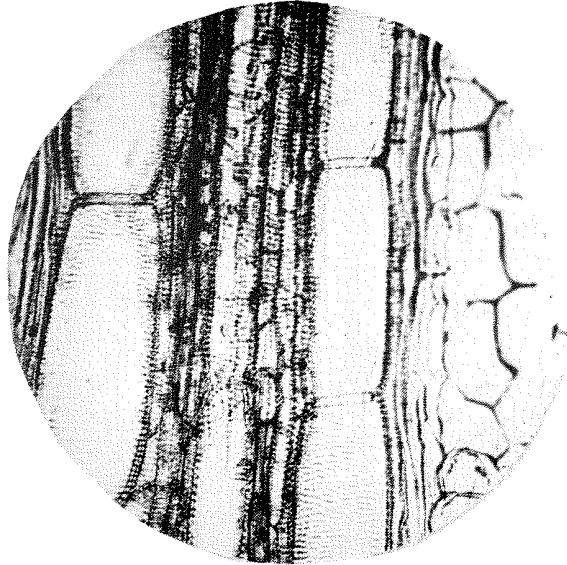
Sl. 6. — Poprečni presek kroz list kukuruza obolelog od „crvenila” (224x).

Cross-section at *Zea mays* leaf with redness symptoms (224x).

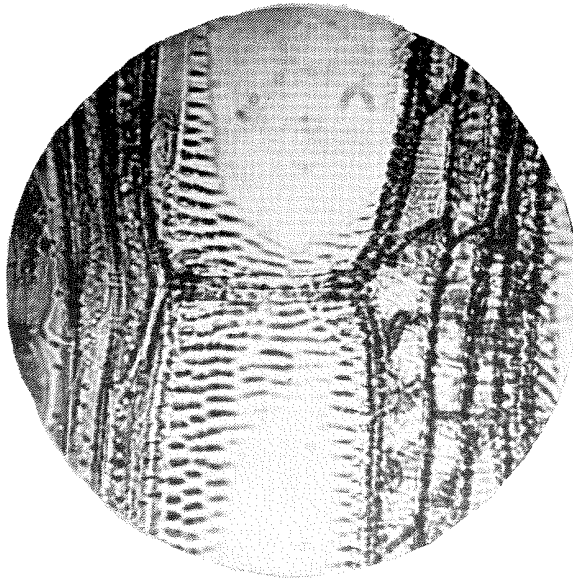


Sl. 7. — Uzdužni presek kroz list kukuruza obolelog od „crvenila” (224x).

Longitudinal section at *Zea mays* leaf with redness symptoms (224x).



Sl. 8. – Uzdužni presek stabla kukuruza obolelog od „crvenila” (224x).  
Longitudinal section at *Zea mays* stem with redness symptoms. Tracheas (224x).



Sl. 9. – Uzdužni presek stabla kukuruza obolelog od „crvenila” (560x).  
Longitudinal section at *Zea mays* stem with redness symptoms. Trachea (560x).

zrelosti, na kome su simptomi „crvenila” bili izraženi u različitom stepenu, omogućio je da se u potpunosti sagleda anatomska struktura vegetativnih organa.

### REZULTATI I DISKUSIJA

U poređnom analizom građe stabla i listova kukuruza obolelog od „crvenila” i istih organa zdravih biljaka uočene su znatne razlike koje se, pre svega, ispoljavaju u promenama na ćelijskom nivou. Razlike u građi naročito su izražene u ćelijama epidermisa listova i stabla, zatim u mezofilu listova i subepidermalnim tkivima stabla, dok u provodnim tkivima razlika ili nema ili se javljaju sporadično.

S obzirom da se na bolesnim biljkama crvenilo, bar u početku, javlja mozaično naše analize počinjale su na onom delu lista ili stabla koji nije bio crven, a zatim smo se, praveći serijske preparate, približavali crvenom delu i na kraju analizirali i taj deo organa. Ovakvim postupkom ustanovljeno je da se na istom organu bolesne biljke ćelije epidermisa, u pogledu građe, međusobno razlikuju. Primenjujući ovaj metod na biljke kod kojih su simptomi „crvenila kukuruza” izraženi u različitom stepenu došli smo do istih rezultata. Ustanovljeno je da se prve promene kod obolelih biljaka javljaju na jedrima epidermskih ćelija i to kako na listovima tako i na stablu. Boja i veličina jedara epidermskih ćelija zaraženih biljaka drugačije su u odnosu na boju i veličinu jedara zdravih biljaka. Jedra u epidermskim ćelijama zdravih biljaka teško su vidljiva bez primene posebnih bojenih metoda (Sl. 1). Međutim, kod zaraženih biljaka ona, u zavisnosti od stepena izraženosti oboljenja, menjaju boju od blede ružičaste preko crvene do ljubičaste. Drugim rečima, zapažena je intenzifikacija crveno-ljubičaste boje jedara u zavisnosti do stepena izraženosti oboljenja. Jedra sa ovakvim karakteristikama imaju promer od 9 do 13  $\mu\text{m}$ , dok kod zdravog kukuruza promer jedara iznosi 4,6 do 9,3  $\mu\text{m}$ . Promene na jedrima zapažene su kako u onim delovima ispitivanog organa na kome je crvenilo jasno izraženo, tako i na onim delovima, koji makroskopski osmatrano, još imaju zelenu boju. Međutim, treba reći da promene jedara nisu konstatovane u svim epidermskim ćelijama listova i stabla zaraženih biljaka, već da postoje mesta na kojima su jedra neizmenjena.

Pri pojavi prvih simptoma „crvenila kukuruza” u epidermskim ćelijama crvenu boju imaju samo jedra i od njih potiče prvi ružičasti izgled listova (Sl. 2). Ukoliko bolest više odmiče utoliko se više menja i boja jedara (od crvene do ljubičaste). Međutim, osim promena na jedrima zapažaju se i promene u ostalim delovima ćelija. Promene se ispoljavaju u pojavi granula (Sl. 3). U citoplazmi se pojavljuju granule iste, intenzivne boje karakteristične za jedra obolelih biljaka. U epidermskim ćelijama biljaka kod kojih je „crvenilo” u još jačoj meri izraženo dolazi do pojave antocijana u ćelijskom soku, a ljubičaste granule u citoplazmi su krupnije (Sl. 4). Promene koje smo opisali u ćelijama epidermisa listova i stabla obolelog kukuruza javljaju se i u hipodermalnim ćelijama stabla inficiranih biljaka (Sl. 5).

U mezofilu listova zaraženih biljaka takođe se zapažaju znatne promene. Zidovi ćelija mezofila zaraženih biljaka su zadebljali, mestimično deformisani, a ćelije su ispunjene masom granula; hloroplasti u njima kao da su razoreni (Sl. 6). Hloroplasti koji bi bojom, izgledom i rasporedom odgovarali onima u zdravim biljkama nisu konstatovani.

U nekim od ispitivanih listova i u perifernim delovima stabla obolelih biljaka nalaze se hife gljiva. Na većini pregledanih preparata, u provodnim tkivima, nisu zapažene promene koje bi na bilo koji način ometale ili onemogućavale tok organskih materija i

vode sa rastvorenim mineralnim solima (Sl. 7, 8, 9). Samo u nekoliko slučajeva zapažene su na zidovima traheja izvesne materije koje u manjoj ili većoj meri zatvaraju lumen provodnog suda, ali ni tada do potpunog zatvaranja nije dolazilo.

Na osnovu detaljne anatomske analize vegetativnih organa većeg broja biljaka obolelih od „crvenila kukuruza” konstatovane su promene u ćelijama različitih tkiva zaraženih biljaka. Posebno su značajne promene koje zahvataju ćelije tkiva listova, tj. organa u kojima je najintenzivnija produkcija organskih materija. S obzirom da se već u prvim fazama pojave bolesti konstatuje promene na ćelijskom nivou, a da micelijum gljiva u to vreme nije nađen u tkivima obolelih biljaka (ukoliko ga ima javlja se kasnije), ozbiljno se dovodi u sumnju tvrdnja Marića i saradnika da su prouzrokovatori „crvenila kukuruza” gljivice roda *Fusarium*. Ove gljive se nesumnjivo razvijaju na obolelim biljkama kukuruza, ali ne kao prouzrokovatori već kao paraziti koji naseljavaju već oslabljen i oboleo organizam. Određeni abiotički faktori na koje ukazuje Murešan predstavljaju samo povoljne ekološke uslove za razviće pravog prouzrokovaca, koga još uvek nismo u stanju precizno da odredimo, ali možemo pretpostaviti, na osnovu izvesnih karakteristika oboljenja, da ga treba tražiti među mikroplazmama. Neke od značajnijih karakteristika koje bi upućivale na mogućnost infekcije mikoplazmama bile bi: smenjivanje perioda intenzivne pojave bolesti sa periodima kada se gotovo ne javlja; primenjenim metodama do sada nije uspelo izolovanje prouzrokovaca koji bi bio u stanju da opet izazove infekciju i pojavu bolesti sa istim simptomima; u ćelijama obolelih biljaka javlja se masa granula, a pri tome dolazi do destrukcije ćelijskog sadržaja što je veoma jasno ispoljeno na hloroplastima; gubitak turgora i drugo.

S obzirom na nova saznanja u vezi sa mikroplazmama kao prouzrokovacima nekih biljnih bolesti za koje se smatralo da ih izazivaju virusi, Dimitrijević (1969) ukazuje na mikoplazme kao moguće prouzrokovace i „crvenila kukuruza”. Konstatovanje mikoplazmi u biljnim ćelijama, kao i uspešna terapija tetraciklinima su činjenice koje doprinose rasvetljavanju etiologije velikog broja biljnih bolesti i otvaraju put novom pristupu u rešavanju problema koje te bolesti same sobom nose (Šarić, A., 1969). U tom pravcu treba da krenu i istraživanja na otkrivanju prouzrokovaca oboljenja poznatog pod imenom „crvenilo kukuruza”.

## ZAKLJUČCI

Uporednom anatomskom analizom stabla i listova hibridnog kukuruza SK<sub>1</sub> i Kansas 1859 obolelog od „crvenila” i odgovarajućih organa zdravih biljaka uočene su znatne citološke i histološke razlike koje su naročito izražene u ćelijama epidermisa, mezofilu listova i subepidermalnim tkivima stabla. U provodnim tkivima razlika nema ili se javljaju sporadično.

Kod obolelih biljaka prve promene javljaju se na jedrima u epidermskim ćelijama. Jedra u epidermskim, a kasnije i u subepidermalnim ćelijama kod zaraženih biljaka, krupnija su u odnosu na jedra u odgovarajućim tkivima zdravih biljaka. Istovremeno sa promenom njihove veličine menja se i boja. Od bezbojnih postaju ružičasta, zatim crvena do ljubičasta. Upravo od ovako obojenih jedara i potiče prva ružičasta boja obolelih biljaka.

Osim promena na jedrima, nešto kasnije zapažaju se promene i u ostalim delovima ćelija. One se ispoljavaju u pojavi granula u citoplazmi. Granule su istih boja kao i jedra. U trećoj fazi promena u ćelijama dolazi do pojave antocijana u ćelijskom soku.



U odnosu na zdrave biljke mezofil u listovima bolesnih je u velikoj meri izmenjen. Zidovi ćelija mezofila bolesnih biljaka su zadebljani, mestimično deformisani, ćelije su ispunjene masom granula, a hloroplasti kao da su razoreni.

U perifernim delovima nekih od ispitivanih listova i delova stabla obolelih biljaka konstatovane su hife gljiva.

S obzirom da su prve promene kod bolesti „crvenila kukuruza” konstatovane u vitalnim organelama ćelija obolelih biljaka, da kasnije zahvataju i čitav protoplast, a da se micelijum gljiva u to vreme ne nalazi u tkivima ozbiljno se dovodi u sumnju tvrdnja Marića i saradnika da su prouzrokovali oboljenja gljive roda *Fusarium*. Ove gljive se nesumnjivo razvijaju, ali na već oslabljenim i obolelim biljkama. Određeni abiotički faktori, na koje ukazuje Muresan *et al.*, predstavljaju samo povoljne ekološke uslove, a ne prouzrokovala, za razviće pravog uzročnika koga nismo u stanju još da imenujemo, ali na osnovu izvesnih karakteristika u pojavi i razvoju oboljenja možemo pretpostaviti da ga treba tražiti među mikoplazmama.

## LITERATURA

- Atanasoff, D. (1966): Maize leaf fleck disease. – *Phytopathologische Zeitschrift*, 56 (1).
- Čupina, T., Čurić, R., Gerić, I., Sarić, M. (1969): Proučavanje sadržaja hlorofila, šećera, slobodnih aminokiselina i NPK mineralnih elemenata kod biljaka kukuruza obolelih od „crvenila”. – *Savr. poljop.*, XVII (5–6), Novi Sad.
- Dimitrijević, B. (1969): Neka zapažanja u vezi sa pojavom „crvenila kukuruza”. – *Savr. poljop.*, XVII (5–6), Novi Sad.
- Dimitrijević, B. (1969): Da li je „crvenilo kukuruza” virozno oboljenje. – *Zaštita bilja*, XX (105), Beograd.
- Kastori, R., Marić, A. (1969): Ascendentni transport 32P u obolelim biljkama od „crvenila kukuruza”. – *Savr. poljop.*, XVII (5–6), Novi Sad.
- Kosovac, V. (1965): Crvenilo kukuruza – ozbiljan problem u reonu Zrenjanina. – *Biljni lekar*, 10 (2): 1–4, Beograd.
- Marić, A. (1969): Značajne bolesti kukuruza u AP Vojvodini sa posebnim osvrtom na epifitotičnu pojavu mehuraste gari i plesnivosti klipa tokom 1968. godine. – *Zbornik radova o novim dostignućima u zaštiti bilja*, Zagreb.
- Marić, A., Kosovac, Z. (1959): Proučavanje uzroka i štetnosti crvenila kukuruza u Vojvodini. – *Savr. poljop.*, 12.
- Marić, A., Kosovac, Z., Jovanov, S. (1962): Dalja proučavanja crvenila i truleži korena i stabla kukuruza u Vojvodini. – *Letopis naučnih radova Poljop. fakulteta u Novom Sadu*, 6.
- Marić, A., Mojsović, B. (1964): Crvenilo kukuruza. Histološke promene u stablu obolelih biljaka. – *Letopis naučnih radova Poljop. fak. u Novom Sadu*, 8.
- Marić, A., Savić, R. (1965): Dosadašnji rezultati istraživanja crvenila kukuruza. – *Dokumentacija za tehnologiju i tehniku u poljoprivredi*, 8.
- Marić, A., Kastori, R. (1968): Propustljivost sudovnih snopića i vodni režim kod obolelih biljaka od crvenila kukuruza. – *Savr. poljop.*, 3.
- Muresan, T., Hurduc, N., Milica, C., Junca, A. (1967): Rolul oscilatiilor mari de temperatura in aparitia fenomenului de sistavire la porumb. – *Probleme agricole*, XIX (8), Bucuresti.
- Prozina, M. N. (1960): *Botaničeskaja mikrotehnika*. – Moskva.
- Šarić, A. (1969): Mikoplazme kao uzročnici biljnih bolesti. – *Zaštita bilja* XX (105), Beograd.

## Summary

JELENA BLAŽENČIĆ

**SOME ANATOMICAL CHARACTERISTICS OF LEAF AND STEM OF MAIZE WITH SYMPTOMS OF REDNESS**

The redness of maize is one of the most destructive disease which attacks this, for economy very important cereal. As it is very damaged for economy and because of its spreading tendency, the redness of maize is being studied from various aspects at many researching centres. The results of recent research works gave many data about symptoms, spreading, state and appearance of the sick plants, about the consequences and the causers. From the literary data, one can see that there are different points of view in connection with the causers of the infection, and as far as this question isn't definitely answered, the ways of struggle against this disease of maize are uncertain.

As the general knowledge of the sick plants characteristics, on purpose of using prevention and cure, has both practical and theoretical meaning, we undertake to examine the anatomical structure of the vegetative organs of the infected plants, in detail. The anatomical investigations of th hybrids of maize SK<sub>1</sub> and Kansas 1859 have been done.

By comparing analyse of the stem and leaf structure of infected maize plants with the corresponding organs of the healthy plants, some remarkable differences have been noticed. They are visible, before all, in the cell structure of the epidermis, in the mesophyll of the leaves and the subepidermal tissues of the stem. At the conducting tissue the differences between the healthy and the sick plants are present, or not, or they can appear only from time to time, and they are visible in partly closing the lumen of the xylem elements of the rubbery materials. This appearance was really very rare and occupied only some of the xylem elements, but not the whole xylem.

According to the investigations it has bene established that the first changes of the sick plants are visible in the nuclei of the epidermal cells, but later the nuclei of the cells of the subepidermal tissues are comprised too. The cell nuclei of the sick plants change their colour and shape. In the cells of the healthy plants the nuclei are hardly visible without using the special colouring. Ont he contrary, the nuclei of the sick plants are pink and with the change for the worse of the sickness they get dark red and lilac. At the same time the nuclei become larger. Their diameter is longer for four microns approximately. The described changes occur in leaves and stems mosaically. Some changes of the nuclei are seen even those parts of the leaves that macroscopically have still a green colour. The first pink appearance of the sick plants is just because of the changable colour of the nucleus. With the spreading of the sickness the changes are noticed in the nucleus as well as in the cytoplasm. It becomes granular and these granules have the same or similar colour as the nuclei. During the next phase anthocyanin appears in the cells of the sick plants. All the mentioned changes lead, step by step, to the clearly distinguished redness of the sick plants of maize.

The important changes, in comparison with the healthy plants, are taking place in the mesophyll of the leaves of the sick plants. The walls of the mesophyll cells get thick,

somewhere deformed, the cells are filled with a mass of small granules, and the chloroplasts seem to be destroyed.

According to the obtained data, it is clear that the first changes of the sick plants take place in the protoplast of the cells, before all in the nuclei. The changes in the leaf tissues are specially important, as the leaves are the organs where the most intensive production of the organic materials is taking place. As one can see, even during the first phase of the appearance of the illness, the changes of the cells are noticed but the mycelium of the fungi isn't found out in the tissues of the sick plants during that period (if it is there, it appears later), M a r i ć ' s and his assistants' statement that the causers of the redness of maize could be the fungus from the genus *Fusarium*, might be very suspicious. These fungi can certainly be seen on the sick plants, but only as the secondary parasites, while some abiotic factors, mentioned by M u r e s a n, represent only convenient ecological conditions for development of the real causer of the redness of maize. Obviously and according to the achieved results, we are not able to name the causer of this illness. But having in mind the basic characteristics of this disease, and the facts that, using microbiological and virusological methods, the causer of the sickness hasn't been isolated, as well as the cytological and histological changes of the sick plants tissues, it is very possible that the causer of this disease should be expected among micoplasmas.