

## Literatura

- Arsenijević, M. (1975): Bakterioze biljaka. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Arsenijević, M. (1997): Bakterioze biljaka. S print, Novi Sad.
- Elliott, Ch. (1951): Manual of Bacterial Plant Pathogens. Chron. Bot. Comp. Waltham, Massachusetts.
- Gorlenko, V.M. (1966): Bakterialjne boljezni rastenij. Moskva.
- Moffett, M.L., Fahy, P.C., Cartwright, D. (1983): *Corynebacterium* (In: Plant Bacterial Diseases. A Diagnostic Guide, Ed. by Fahy and Persley). Academic Press, Australia.
- OEPP/EPPO (2003): Quarantine Pests for Europe, Second Edition, CAB International.
- Rhodes, L.H. (2001): Common Names of Plant Diseases, Diseases of Alfalfa (*Medicago sativa* L), available an: <http://www.apsnet.org/online/common/names/alfalfa.asp>

## Abstract

### BACTERIAL DISEASES OF ALFALFA AND clover

Jelica Balaž and Tatjana Popović

Faculty of Agriculture, Novi Sad

Alfalfa and clover are hosts of numerous pathogens. The most important are micoses, but some significant phitopathogenic bacteria, also cause significant economical damages.

*Clavibacter michiganensis* subsp. *insidiosus* belong to most harmful parasite of alfalfa. This pathogen cause dwarfing and plantdieing. Alfalfa and clover are also hosts of some bacteria from genus *Pseudomonas* and *Xanthomonas* which cause wilting or spotting.

Control of these phytopathogenic bacteria is possible by preventive measures of protection. Among them the most important are good agrotechnical measures and more resistant varieties.

**Key words:** alfalfa, clover, bacterial diseases.

Vesna Krnjaja<sup>1</sup>, Jelena Lević<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut za stočarstvo, Beograd-Zemun

<sup>2</sup>Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd-Zemun

### PATOGENI SEMENA I KLIJANACA LUCERKE I DETELINE I MERE SUZBIJANJA

**Izvod.** Mnoge vrste gljiva su izolovane iz obolelog semena i klijanaca lucerke, znatno manje deteline, ali je samo za neke potvrđeno da su patogeni za ove krmne leguminoze. Pojedinačno ili u kompleksu, najčešći patogeni semena i klijanaca lucerke i deteline su vrste rodova *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Aphanomyces* i *Fusarium*, a rede bakterije (*Corynebacterium insidiosum*) ili virusi (Virus mozaika lucerke). Simptomi bolesti ispoljavaju se u vidu truleži semena, smanjene klijavosti semena, vlažne truleži pre i posle klijanja semena, patuljavost i propadanje klijanaca, trulež korena i hipokotila. Patogeni se prenose semenom ili biljnim ostacima. U Srbiji je iz semena lucerke i deteline izolovano preko deset različitih vrsta gljiva, od kojih su najčešće vrste rodova *Alternaria* i *Fusarium*.

Primena zakonskih merila za utvrđivanje zdravstvenog stanja useva i semena, setva zdravog i tretiranog semena odgovarajućim fungicidom, odgovarajuća agrotehnika i razvoj programa u cilju oplemenjivanja sitnozrnih krmnih leguminoza prema ekonomski značajnim patogenima, kompleks su mera koji se primenjuju u suzbijanju prouzrokovaca bolesti lucerke i crvene deteline.

**Ključne reči:** lucerka, detelina, seme, klijanci, patogeni, simptomi bolesti, mere suzbijanja.

**Uvod.** Mnogi patogeni koji prouzrokuju bolesti korena i nadzemnih delova lucerke i deteline najčešće se prenose inficiranim semenom. Iz ovih razloga, a posebno kada se radi o višegodišnjim biljkama, kao što su krmne, značajno je za setvu koristiti kvalitetno i zdravo seme.

Najčešći patogeni mikroorganizmi semena lucerke su gljive, a ređe bakterije i virusi. Pojedine patogene gljive i bakterije održavaju vitalnost i u zemljištu na biljnim ostacima i predstavljaju izvor infekcije za posejano seme i klijance lucerke.

U Srbiji je iz semena lucerke i deteline izolovano preko deset različitih vrsta gljiva, od kojih su najčešće vrste rodoa *Alternaria* i *Fusarium* (Lukić, Purar, B., 1996; Krnjaja, V. i sar., 2003, 2004). U testu patogenosti potvrđeno je da su izolovane vrsta roda *Fusarium* iz korena lucerke patogene i prema klijancima ove biljne vrste (Krnjaja, V., 2005).

Zbog izuzetnog značaja primene zdravog semena pri zasivanju useva višegodišnjih krmnih leguminoza, u radu je opisana pojava različitih tipova simptoma bolesti i patogenih vrsta i preventivne mere suzbijanja prouzrokovaca bolesti semena i klijanaca lucerke i deteline.

**Simptomi bolesti semena i klijanaca.** Nastanak pojave bolesti semena i klijanaca lucerke i deteline najčešće prouzrokuje kompleks vrsta različitih rodoa gljiva (*Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Aphanomyces* i *Fusarium*), koje se održavaju u zemljištu, a neke se prenose semenom.

Simptomi bolesti semena lucerke i drugih leguminoza, koje prouzrokuju patogeni organizmi, ispoljavaju se u vidu truleži semena, smanjene klijavosti semena, vlažne truleži pre i posle klijanja semena, patuljavost i propadanje klijanaca, trulež korena i hipokotila (Tyler et al., 1956; Schmitthenner, 1964; Hancock, 1983).

Inficirano seme ne klija ili, ukoliko klija, klijanci izumiru ili daju slabo razvijene odrasle biljke. Koreni ili stablo je u početku vodenastog izgleda, a kasnije klijanci propadaju i izumiru. *Fusarium* spp. i *Rhizoctonia* spp., koje su izolovane iz korenovog vrata i centralnog dela korena lucerke, mogu da prouzrokuju i vlažnu trulež klijanaca (Weimer, 1927, loc. cit. Schmitthenner, 1964).

*Aphanomyces* spp. može prouzrokovati promenu boje kotiledona u ružičastu, pre njihovog izumiranja, ili klijanci ne izumiru, ali su zakržljali. Hladnoća i vlaga u zemljištu potpomažu širenju ovog patogena iz semena u klijance, ili od inficiranih tkiva na druga tkiva klijanaca i odraslih biljaka.

Temperaturni uslovi zemljišta značajno utiču na infekciju biljaka sa vrstama iz roda *Pythium*, tako da infekcije nastaju višekratno i biljke oboljevaju, ali dolazi i do njihovog oporavka (Šrbac i sar., 1996).

**Patogeni semena i klijanaca.** Patogeni semena i klijanaca lucerke su bolje proučeni, u poređenju s patogenima drugih višegodišnjih krmnih leguminoza. Međutim, nedovoljno je podataka o patogenoj prirodi većine izolovanih i identifikovanih vrsta, koje parazitiraju lucerku.

Najčešći patogeni mikroorganizmi semena lucerke su gljive, i to *Cercospora medicaginis*, *Colletotrichum trifolii*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *F. oxysporum* f. sp. *cassia*, *Peronospora trifoliorum*, *Phoma medicaginis* i *Stemphylium botryosum*. Od bakterija, najznačajniji patogen semena lucerke je *Corynebacterium michiganense* subsp. *insidiosum*, a od virusa - virus mozaika lucerke. Veći broj patogenih gljiva (*Botritis cinerea*, *C. medicaginis*, *C. trifolii*, *Leptosphaerulina trifolii*, *Ph. medicaginis*, *Sclerotinia trifoliorum*, *S. rolfsii*, *S. botryosum*, *Verticillium* spp.) i

samo neke bakterije (*C. michiganense* subsp. *insidiosum* i *Xanthomonas campestris* pv. *alfafae*) održavaju vitalnost na biljnim ostacima biljke domaćina ili drugih srodnih biljnih vrsta u zemljištu i predstavljaju izvor infekcije za lucerku.

U Srbiji su Lukić i Purar, B. (1996), ispitujući zdravstveno stanje semena deset domaćih sorti lucerke, ustanovili prisustvo gljiva iz rođova *Alternaria* (3-48%), *Botrytis* (0-10%) i *Fusarium* (0-8%). Krnjaja, V. i sar. (2003, 2004) su, ispitujući zdravstveno stanje semena šest domaćih sorti lucerke i tri domaće sorte crvene deteline, ustanovili prisustvo gljiva iz rođova *Alternaria* (0-26%), *Acremonium* (0-5%), *Aspergillus* (0-2%), *Chaetomium* (0-1%), *Cladosporium* (0-14%), *Gliocladium* (0-1%), *Fusarium* (0-20%), *Penicillium* (0-1%) i *S. botryosum* (0-2%) (Tablo VI, sl. 1-2). Od vrsta roda *Fusarium* izolovane su: *F. oxysporum* (4%) (T. VI, sl. 3-4), *F. solani* (2%) (T. VI, sl. 5-6), *F. verticillioides* (2-20%) (T. VI, sl. 7), *F. proliferatum* (1-7%) (T. VI, sl. 8), *F. subglutinans* (1-2%) i *F. sporotrichioides* (1%) (Krnjaja, V. i sar., 2003, 2004). Kao prouzrokovaci truleži korena klijanaca lucerke i crvene deteline utvrđene su *Rhizoctonia* spp. i *Fusarium* spp. (Vico, I., 1997; Krnjaja, V., Ivanović, 2001; Krnjaja, V., 2005).

Vrste roda *Fusarium* svrstavaju se u najznačajnije patogene lucerke i crvene deteline. Omotač semena, kotiledoni, mlađi izdanci i lisne primordije lucerke i crvene deteline mogu biti naseljeni hifama patogenih gljiva iz roda *Fusarium* (Chi et al., 1964). *Fusarium* vrste naseljavaju tkivo korena od ranog stadijuma klijanaca i dalje u stadijumu starijih biljaka, kroz čitav životni razvoj biljke (O'Rourke and Millar, 1966).

Od patogena semena najznačajnija je *F. oxysporum*, koja prouzrokuje bolest lucerke tipa uvelosti. Prenosi se semenom, a od epidemiološkog je značaja jer ima više vrsta domaćina. Većina patogenih izolata *F. oxysporum* prouzrokuje jaku nekrozu gornjeg dela primarnog korena i donjeg dela hipokotila. Dokazana je i učestala infekcija finih korenčića lucerke sa *F. oxysporum* i *F. roseum*, ali ređe nego sa *Pythium* (Kilpatrick et al., 1954; Štrbac i sar., 1996).

Nekoliko *Fusarium* vrsta su patogeni lucerke tek nakon klijanja semena (Schmitthenner, 1964). Vrsta *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* je, takođe, patogena prema klijancima lucerke (Weimer, 1927, loc. cit. Schmitthenner, 1964).

*F. culmorum* prouzrokuje izumiranje klice, a *F. equiseti* se pojavljuje u oslabljenoj biljci i nepotvrđene je patogenosti. *F. equiseti* i drugi patogeni stvaraju toksine koji oštećuju klpliance (Štrbac i sar., 1996). *F. solani* prouzrokuje jaku, tamno-smeđu do crnu trulež unutrašnjeg dela korenovog sistema. Patogeni izolati *F. roseum* prouzrokuju smeđu trulež korena i nižeg dela hipokotila (Kilpatrick i sar., 1954).

Najčešća je infekcija semena i klijanaca lucerke i crvene deteline s više patogenih vrsta gljiva. *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* i *F. roseum* (= *F. acuminatum* i *F. culmorum*) najčešće su gljive izolovane iz klijanaca sa simptomima vlažne truleži. U testovima provere patogenosti, sve navedene gljive su prouzrokovale trulež pre i posle klijanja semena, dok je samo *P. ultimum*

prouzrokovala značajan intenzitet truleži korena kod starijih biljaka (Hancock, 1983).

Smatara se da su *P. debaryanum*, *P. irregulare*, *P. splendes* i *P. ultimum* najpatogenije za klijance lucerke, crvene i bele deteline. Najintenzivniji tip uginuća, pre klijanja semena, prouzrokuje *P. debaryanum* (Kilpatrick i sar., 1954). Vrste *P. debarianum* i *R. solani* patogeni su lucerke pre klijanja semena, prouzrokujući bolest semena tipa truleži (Schmitthenner, 1964). *P. debaryanum* i *P. ultimum* ponekad prouzrokuju trulež semena, ali ove vrste gljiva najčešće prouzrokuju izumiranje klijanaca (Halpin et al., 1954).

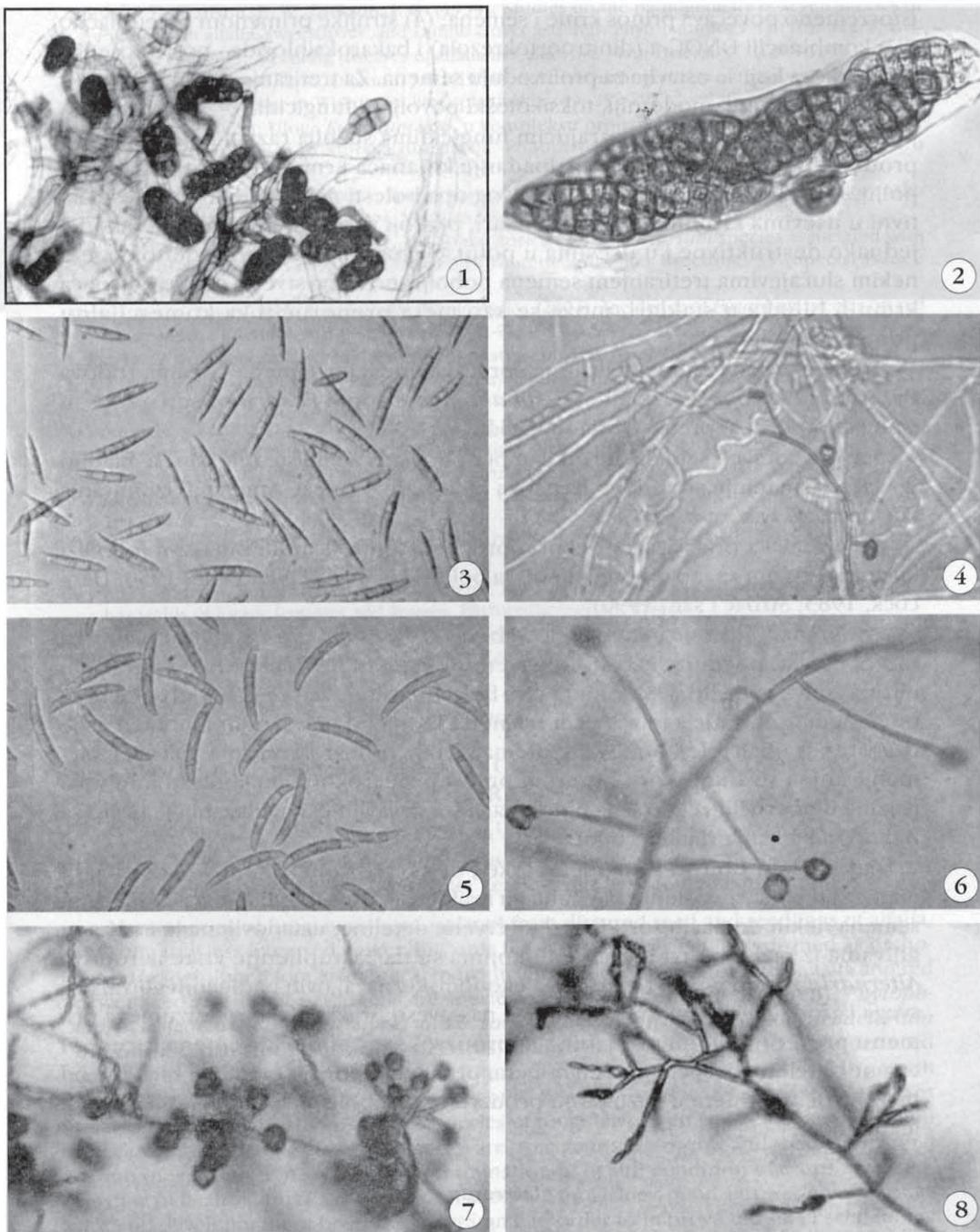
Lucerka i crvena detelina ispoljavaju visok stepen osetljivosti prema vrstama roda *Pythium*, kada se seme ovih biljnih vrsta inokuliše u vreme setve (Halpin and Hanson, 1958). Patogene gljive *F. oxysporum* i *Phoma* spp. prouzrokuju vlažnu trulež posle klijanja semena crvene deteline. Takođe, u ovim delovima korena, tamno-smeđu do crnu nekrozu prouzrokuju patogeni izolati iz rodova *Phoma* i *Rhizoctonia*. Kada je trulež jaka, klijanci padaju na zemljište i izumiru. *Gliocladium roseum* prouzrokuje tamno smeđu trulež korena i često donjem dela hipokotila (Kilpatrick i sar., 1954).

Bakterija *Corynebacterium insidiosum* naseljava parenhim i sprovodne sudove svih biljnih organa lucerke. Biljke mogu izumreti već po nicanju, posle druge godine starosti, ali i starije.

Virus mozaika lucerke se održava u mnogim prirodnim domaćinima (*Medicago* spp., *Trifolium* spp., *Stellaria media* i dr.). Virus mozaika lucerke prenosi se semenom lucerke, paprike i biljaka iz spontane flore. U semenu lucerke preživljava 10 godina. Prvi simptomi na sejancima lucerke vide se 10-14 dana posle klijanja, u fazi primarnih listova. (Šrbac i sar., 1996).

**Mere suzbijanja.** Upotrebotom zdravog semena lucerke za setvu, kao najznačajnije mere, sprečava se nastajanje i širenje žarišta, iz kojih bi se pojedina oboljenja širila na velike površine, što je naročito opasno kada je reč o višegodišnjoj kulturi. Prema Pravilniku o zdravstvenom pregledu useva i objekata za proizvodnju semena, rasada i sadnog materijala i zdravstvenog pregleda semena, rasada i sadnog materijala (Sl. list SRJ, br. 66/99), u usevu ili na semenu lucerke, deteline, utog zvezdana i drugih višegodišnjih krmnih leguminoza nije dozvoljeno prisustvo *Erysiphe communis*, *Sclerotinia* sp., alfalfa mosaic virus i *Cuscuta* spp. Dozvoljena infekcija semena ovih leguminoza je: 1% *Colletotrichum* spp., 2% *Fusarium* spp., 2% *Kabatiella caulivora*, 1% *Stemphylium* spp. i 1% *Verticillium albo atrum* (Šrbac i sar., 1996).

U svetu se sprovodi hemijsko suzbijanje parazita u lucerki, dok je u nas vrlo retko. Ovim merama smanjuje se infekcioni potencijal patogena u semenu i na biljnim ostacima. Četiri su moguća nivoa primene fungicida, i to tretiranje: (1) semena fungicidima na bazi tirama i kaptana, manebe, benomila, kombinacije karboksina i tirama i tiabendazola. Seme se tretira preparatima na bazi metatlaksila u cilju suzbijanja *Pythium* spp. i *Peronospora trifoliorum*; (2) klijanaca fungicidima na bazi hloroneba, kombinacije tirama s metiltiofanatom i fenaminosulfa - primenjuje se u eksperimentalne svrhe; (3) zelene mase fungicidima na bazi benomila, cinka, manebe i hlortalonila - uspešno suzbija *P. medicaginis* i



TABLO VI. sl. 1-2. *Stemphylium botryosum* (anamorf) - *Pleospora herbarum* (teleomorf), konidije (1) i askus sa askosporama (2); sl. 3-4. *Fusarium oxysporum*, makrokonidije (3) i mikrokonidije u lažnim glavama (4); sl. 5-6. *F. solani*, makrokonidije (5) i mikrokonidije u lažnim glavama (6); sl. 7. *F. verticillioides*, mikrokonidije u lažnim glavama i u dugim lancima; sl. 8. *F. proliferatum*, mikrokonidije u lažnim glavama i u kratkim lancima (Orig., J. Lević, 1-2, 7-8; V. Krnjaja, 3-6).

istovremeno povećava prinos krme i semena; (4) strnjike primenom pojedinačno ili u kombinaciji DNOČ-a (dinitroortokrezola) i bakaroksihlorida - posle košenja, a pre otkosa koji se ostavlja za proizvodnju semena. Za tretiranje strnjike danas se primenjuju brojni, moderniji, toksikološki povoljniji fungicidi.

Tretiranje semena odgovarajućim fungicidima suzbija razvoj patogena, koji prouzrokuju trulež semena i propadanje klijanaca krmnih biljaka u staklari i polju. Zbog toga što prouzrokovači ovog tipa bolesti mogu biti veoma destruktivni u usevima krmnih biljaka u staklari, postoji verovanje da su one, takođe, jednakо destruktivne i u usevima u polju. S obzirom da je potvrđeno da je u nekim slučajevima tretiranjem semena poboljšano zdravstveno stanje klijanaca krmnih biljaka u staklari, može se kao mera preporučiti za komercijalnu primenu u polju.

Tretiranje semena metalaksilom sprečava infekciju semena vrstama rodova *Pythium* i *Phytophthora*, ali ne i *Aphanomyces* spp. i *Fusarium* spp., koje su ispoljile otpornost prema ovom fungicidu.

Setvom zdravog semena lucerke, u periodu kada zemljишte nije isuviše hladno ili vlažno, smanjuje se rizik od nastanka bolesti tipa truleži semena ili izumiranja klijanaca.

Agronomski praksa, takođe, preporučuje zaštitu krmnih biljaka u fenofazi klijanaca, kojom se može spričiti pojava bolesti klijanaca (Tyler et al., 1956; Hancock, 1983; Štrbac i sar., 1996).

Prilikom zasnivanja lucerišta potrebno je izbegavati terene gde su uslovi za razvoj bolesti povoljni, kao što su tereni sa visokim nivoom podzemnih voda, blizina šuma, voda itd. U slučaju pojave bolesti savetuje se ranija kosidba, da bi se onemogućilo širenje zaraze većih razmara. Jedna od najvažnijih mera danas je uzgoj otpornih ili tolerantnih sorti prema važnim prouzrokovačima bolesti. Oplemenjivanje i stvaranje sorti otpornih prema prouzrokovačima bolesti i njihovo gajenje u područjima gde se ta bolest najčešće pojavljuje, najefikasniji je način za njihovo suzbijanje (Lukić, 2000).

**Zaključak.** Bolesti semena lucerke i deteline prouzrokuju štete većeg ili manjeg stepena, a posledica su gubici u kvalitetu i prinosu biljne mase. Analizom semena nekih domaćih sorti lucerke i crvene deteline, ustanovljena je zaraza sa gljivama iz različitih rodova, među kojima su najzastupljenije vrste iz rodova *Alternaria* i *Fusarium*. S obzirom na ekonomski značaj ovih patogenih gljiva, pre svega iz roda *Fusarium*, trebalo bi kod nas uvesti praksu koja podrazumeva primenu preventivnih mera suzbijanja prouzrokovača bolesti semena lucerke i crvene deteline. Od preporučenih mera, primena otpornih sorti bila bi jedna od najpouzdanih mera u suzbijanju prouzrokovača bolesti višegodišnjih krmnih leguminoza.

#### Literatura

- Chi, C. C., Childers, W. R., Hanson, E. W. (1964): Penetration and subsequent development of three *Fusarium species* in alfalfa and red clover. *Phytopathology* 54: 434-437.  
Halpin, J. E., Hanson, E. W. (1958): Effect of age of seedlings of alfalfa, red clover, Ladino white clover, and sweetclover on susceptibility to *Pythium*. *Phytopathology* 48 (9): 481-485.

- Halpin, J. E., Hanson, E. W., Dickson, J. G. (1954): Studies on the pathogenicity of seven species of *Pythium* on alfalfa, sweetclover, and Ladino clover seedlings. *Phytopathology* 44 (10): 572-574.
- Hancock, J. G. (1983): Seedling diseases of alfalfa in California. *Plant Disease* 67: 1203-1208.
- Kilpatrick, R.A., Hanson, E.W., Dickson, J.G. (1954): Relative pathogenicity of fungi associated with root rots of red clover in Wisconsin. *Phytopathology* 44: 292-297.
- Krnjaja, Vesna (2005): Uloga *Fusarium* spp. u kompleksu prouzročavača truleži korena lucerke (*Medicago sativa* L.). Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Zemun, Univerzitet u Beogradu, str. 124.
- Krnjaja, Vesna, Ivanović, M. (2001): Trulež korena i korenovog vrata lucerke. Peto jugoslovensko savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, 3-8. decembar, 2001. godine. Zbornik rezimea, 58.
- Krnjaja, Vesna, Lević Jelena, Ivanović, M., Tomić Zorica (2003): *Fusarium* species associated with seeds of alfalfa cultivars. *Czech Journal of Genetic and Plant Breeding*, 39 (Special Issue): 275-278.
- Krnjaja, Vesna, Lević Jelena, Ivanović, M., Tomić Zorica (2004): Incidence of *Fusarium* species on red clover seed. *Biotehnologija u stočarstvu* 20 (1-2), 101-107.
- Lukić, D. (2000): Lucerka. Naučni Institut za ratarstvo i povrтарstvo, Novi Sad. pp. 458.
- Lukić, D., Purar, Božana (1996): Ekonomski značajne bolesti raznih tipova lucerke. *Biljni lekar* XXIV (4): 334-337.
- O'Rourke, C. J., Millar, R., L. (1966): Root rot and root microflora of alfalfa as affected by potassium nutrition, frequency of cutting, and leaf infection. *Phytopathology* 56, 1040-1046.
- Schmittner, A. F. (1964): Prevalence and virulence of *Phytophtora*, *Aphanomyces*, *Pythium*, *Rhizoctonia* and *Fusarium* isolated from diseased alfalfa seedlings. *Phytopathology* 54: 1012-1018.
- Štrbac, P., Konstantinović, B., Klokočar-Šmit Zlata, Dražić Danica (1996): Zaštita lucerke od štetočina, bolesti i korova. Forum, Novi Sad.
- Tyler, L. J., Murphy, R. P., MacDonald, H. A. (1956): Effect of seed treatment on seedling stands and on hay yields of forage legumes and grasses. *Phytopathology* 46: 37-44.
- Vico, Ivana (1997): Prilog taksonomiji fitopatogenih gljiva roda *Rhizoctonia* DC. ex Fr. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun, str. 1-133.

## Abstract

### PATHOGENS OF ALFALFA AND CLOVER SEED AND SEEDLINGS AND THEIR CONTROL

**Vesna Krnjaja<sup>1</sup>, Jelena Lević<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Institute for Animal Husbandry, Belgrade-Zemun

<sup>2</sup>Maize Research Institute "Zemun Polje", Belgrade-Zemun

Many species of fungi have been isolated from diseased seed and seedlings of alfalfa, considerably less from red clover, but only few of them have been confirmed as pathogenic for mentioned forage legumes. Individually or in complex most often alfalfa and red clover seed and shoot pathogens are species of genus *Pythium* (most often), *Phytophtora*, *Rhizoctonia*, *Aphanomyces* and *Fusarium*, and rarely bacteria (*Corynebacterium insidiosum*) or viruses (Alfalfa mosaic virus). Symptoms of disease are seed rot, reduced germination ability of seed, moist rot before and after seed germination, dwarfish growth and decay of shoots, root rot and hypocotyl. Pathogens are carried by seed or plant debries. In Serbia, over ten different species of fungi have been isolated from alfalfa and red clover seed the most frequent species are from genus *Alternaria* and *Fusarium*. Application of legislation measures for determination of health condition of crops and seed, seeding of healthy and treated seed with adequate fungicides, good agro economical practice and development of breeding programme in order to improve the small seed forage legumes towards economically significant pathogens represent complex of measures aiming to eradicate the causes of alfalfa and red clover diseases.

**Key words:** alfalfa, clover, seeds, seedlings, pathogens, disease symptoms, control.