

# Seme kao izvor primarnog inokuluma za nastanak bakterioza povrća i integrisane mere zaštite

---

**Jelica Balaz**

*Poljoprivredni fakultet, Departman za zaštitu bilja „Dr Pavle Vukasović“, Novi Sad*

## REZIME

Bakterioze, u uslovima savremene povrtarske proizvodnje, imaju veliki ekonomski značaj. Najveće gubitke u prinosu, prouzrokuju *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* na paradajzu i paprici, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* na paradajzu, *X. c.* pv. *phaseoli* i *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* na pasulju i boraniji, *P. s.* pv. *lachrimans* na biljkama iz familije *Cucurbitaceae*, *X. c.* pv. *campestris* na biljkama iz familije *Brassicaceae* i *Erwinia*, grupa „carotovora“, izazito polifagna bakterija.

Osnovni izvor primarnog inokuluma za nastanak bakterioza na povrću je seme. Vrlo nizak procenat zaraze semena, 0.1-0.01% pri povoljnim vremenskim uslovima, može prouzrokovati epidemiju. Za detekciju bakterija na semenu, koriste se direktne i indirektne metode. Jedna od najjednostavnijih direktnih metoda je uzgajanje biljčica i praćenje pojave simptoma. Indirektne metode se zasnivaju na utvrđivanju bakterija u ekstraktu semena. Postupak detekcije bakterija izvodi se inokulacijom biljaka ekstraktom semena, zasejavanjem ekstrakta na hranjive (selektivne) podloge i direktno iz ekstrakta semena, primenom savremenih metoda identifikacije (ELISA, IF, PCR i sl.).

Fitopatogene bakterije se teško suzbijaju. Osnovnu strategiju čine preventivne mere zaštite; zdravo seme, odgovarajući plodored i preventivno tretiranje biljaka preparatima sa baktericidnim delovanjem. Za dezinfekciju semena najčešće se koristi topla voda (endogene zaraze) i natrijumhipohlorit ili streptomycin (egzogene zaraze), a za zaštitu biljaka u polju, bakarni preparati, sami ili u kombinaciji sa nekim od ditiokarbamata (maneb, mankozeb ili dr.). Prema novijim literaturnim podacima, biološke i neke alternativne metode (aktivatori otpornosti), ukazuju na potencijalnu strategiju za efikasno suzbijanje *X. c.* pv. *vesicatoria*.

**Ključne reči:** Seme; fitopatogene bakterije; metode detekcije; epidemiologija; integrisana zaštita

## EKONOMSKI ZNAČAJ FITOPATOGENIH BAKTERIJA NA POVRĆU

U intenzivnoj povrtarskoj proizvodnji, bakterioze spadaju među ekonomski najštetnije bolesti. Širenju bakterioza u savremenim uslovima proizvodnje doprinelo je više faktora: uvođenje u proizvodnju kvalitetnih i visokoprinosnih sorti, ali osetljivih prema fitopatogenim bakterijama; gajenje osetljivih sorti na velikim proizvodnim površinama; navodnjavanje koje je uvedeno kao redovna agrotehnička mera; gusta sadnja; mineralna ishrana bogata azotom; nedostatak na tržištu adekvatnih baktericida i intenzivna razmena semenskog i sadnog materijala, poreklom iz celog sveta.

Bakterioze povrća su, pre svega, poznate kao prouzrokovani raznih tipova pegavosti (ili plamenjače) na paradajzu, paprici, pasulju i grašku, zatim na raznim predstavnicima familija *Cucurbitacea* i *Brassicaceae*, kao i vlažna trulež, koju prouzrokuje *Erwinia carotovora*.

Ekonomske štete prouzrokovane fitopatogenim bakterijama na povrću značajne su u svetu i kod nas. Tako, u pokrajini Ontario (Kanada) u periodu 1974-1976. godine gubici nastali usled obične bakteriozne plamenjače (*Xanthomonas phaseoli*), kod sorti Sanilac (33.1%), Kentwood (32.2%) i Seafarer (32%), u proseku su bili iznad 30%. Jak intenzitet pojave ove bolesti u navedenom području, vezuje se za uvođenje u proizvodnju vrlo osetljive sorte Sanilac (1957) (Wallen i Galway, 1977). U periodu 1962-1969. godine (Severin, 1971), *X. phaseoli* je u Rumuniji utvrđen u proseku na oko 45% pregledanog pasulja (*Xanthomonas fuscans* na oko 20%). U Mađarskoj se intenzitet zaraze pasulja bakterijom *X. c. pv. phaseoli* u periodu 1983-1985. godine kretao u rasponu 46-62.6%. Godine 1983, kada je ova bakterija konstatovana u intenzitetu 62.6%, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* je utvrđen samo u 37.3% slučajeva (Nemeth, 1990).

Neke sorte boranije posebno su osetljive prema *P. s. pv. phaseolicola* (prouzrokovatelj oreolne pegavosti lista), što je dovelo do pojave epidemije u nekim državama SAD, u periodu od 1963. do 1970. godine. U našoj zemlji ova bakterija je, takođe, pojedinih godina (sa prohladnim i vlažnim prolećem) imala karakter epidemije (1970-1980). U ovom periodu, zabeleženi su slučajevi potpunog propadanja i preoravanja useva (Arsenijević i Panić, 1969, neobjavljeni podaci). Na veliki ekonomski značaj

ove bakterije ukazivali su Arsenijević i Balaž (1974). Interesantno je istaći da je i kod nas jaka pojava ove bolesti bila u vezi sa uvođenjem u proizvodnju novih, vrlo osetljivih, sorti boranije, holandsko-američkog porekla (Harvester, Gallatin, Amboy, Picker, Tenderlong, Top crop i dr.), namenjenih za industrijsku preradu (Balaž, 1985. i 1990).

*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (prouzrokovatelj pegavosti) je najznačajnija bolest paradajza i paprike u SAD (gubici su samo u 1976. godini procenjeni na 1.5 milion dolara), Indiji, Argentini, Sudanu, Nigeriji, Egiptu i Australiji (Lelliott, 1988). Jones i saradnici (1986), takođe, navode da je ova bakterija ekonomski najštetnija na paradajzu i paprici na Floridi. Godišnja proizvodnja paradajza za svežu upotrebu realizuje se na oko 19.000 ha, pri čemu gubici u uslovima jake zaraze iznose i do 52%.

U našoj zemlji ova bakterija se redovno zapaža u manjem ili većem intenzitetu. Od sredine osamdesetih, Balaž (1988) navodi jaku pojavu ove bakterije u pojedinim regionima Vojvodine, poznatim po proizvodnji paprike. U Sremu (okolina Rume), gde je višegodišnji prinos paprike na PP „Srem“ iznosio oko 20.7 t/ha, u 1987. godini, kada je konstatovana jaka pojava bakteriozne pegavosti na nekim sortama paprike, prinos je bio svega oko 8 t/ha.

Gubici koje prouzrokuje *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (prouzrokovatelj tačkaste pegavosti) na paradajzu u velikoj su zavisnosti od stadijuma u razvoju biljaka u vreme ostvarenja infekcije, kao i vremenskih uslova. S obzirom na veliku osetljivost mladih biljaka, Schneider i saradnici (1975) navode da su kod biljaka u toplim lejama, inficiranih u fazi razvoja trećeg lista, gubici iznosili oko 13%, a u slučaju infekcija ostvarenih u ranijim fazama i znatno veći.

*Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* (prouzrokovatelj bakterioznog raka i uvelosti), takođe ima veliki ekonomski značaj. Ova bolest je bila posebno veliki problem pre uvođenja redovnih, profilaktično-higijenskih mera (sertifikovano seme, dezinfekcija alata, zemljišta i sl.), pri proizvodnji paradajza. U takvim slučajevima, beleženi su gubici i do 70% (Lelliott, 1988).

Na biljkama iz familije *Cucurbitaceae* čest parazit, naročito u kišovitim godinama, je *Pseudomonas syringae* pv. *lachrimans* (prouzrokovatelj uglaste pegavosti). Arsenijević (1997) navodi da su velike

štete u pojedinim godinama (1968. godine na semenskom usevu krastavca i 1977. godine na kornišonima) zabeležene u nekim regionima u Vojvodini. Prema novijim literaturnim podacima, ozbiljnu opasnost na lubenicama predstavlja bakterija *Acidovorax avenae* subsp. *citruli* (prouzrokovac pegavosti lišća i plodova lubenice). Parazit je američkog porekla, može se očekivati da sa uvezenim semenom dospe i u našu zemlju.

Najznačajnija i široko rasprostranjena fitopatogena bakterija na raznim vrstama kupusnjača (*Brassicaceae*) je *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (prouzrokovac crne truleži ili sudovne bakterioze). Najveće štete prouzrokuje u tropskim, subtropskim i u predelima sa vlažnom klimom u kontinentalnom području, ali i u hladnijim priobalnim zemljama severne Evrope i Severne Amerike. U 1976. godini gubici u SAD su procenjeni na milion dolara (Kennedy i Alcron, 1980). Prema Perišiću i Paniću (1964) u rejonu centralne Srbije, ova bakterija je na stočnom kelju zapažena kod 80% biljaka.

*Pseudomonas syringae* pv. *pisii* (prouzrokovac bakteriozne pegavosti) je ekonomski štetno oboljenje graška. U Severnoj Americi se smatra široko rasprostranjenim parazitom. U evropskim zemljama njegova pojava je, uglavnom, lokalnog karaktera (Bugarska, Grčka, Mađarska, Italija, Rumunija, delovi bivšeg Sovjetskog Saveza i Jugoslavije). Sporadično se javlja i u zemljama severozapadne Evrope.

*Erwinia carotovora*, (prouzrokovac vlažne truleži) je izrazito polifagni parazit i sa srodnom vrstom *E. chrysanthemi*, širom sveta prouzrokuje godišnje gubitke oko 50-100 x 10<sup>6</sup> dolara (Lelliott, 1988). Ova bakterija je kod nas proučavana kao ekonomski značajan parazit mnogih biljaka, pre svega povrća (Arsenijević, 1971; Arsenijević i Stojić, 1972; Arsenijević, 1978; Arsenijević i Obradović, 1996; Arsenijević i sar., 1997).

## SEME KAO IZVOR PRIMARNOG INOKULUMA

Fitopatogene bakterije, s obzirom da nemaju sposobnost stvaranja posebnih tvorevina (spora) za preživljavanje u nepovoljnim uslovima, iz godine u godinu se najčešće prenose semenom. Prema Neergaard-u (1977), preko 45 vrsta fitopatogenih bakterija se prenosi semenom. Isti autor navodi četiri tipa simptoma koji se ispoljavaju na semenu;

sprečavanje formiranja semena (ili „šturo“ seme), trulež semena, obojenost semena, i žutoslužasta bakterioza (gumozna).

Do infekcije semena može doći tokom vegetacije ili kasnije u vreme žetve. Infekcije se mogu ostvariti preko površinskih tkiva (egzogena zaraza), ali mogu nastati i sudovnim putem (preko majke biljke), pri čemu dolazi do zaraze bilo kog unutrašnjeg dela semena (endogena zaraza).

Taylor i saradnici (1979) su proučavali epidemilogiju *P. phaseolicola* i oni smatraju da se prenošenje patogena odvija kroz dva procesa. Prvi podrazumeva dospevanje patogena iz biljke-majke u seme, a drugi iz semena u klijance. Prema ovom autoru, bakterija može prodreti u seme preko zida mahune iz spoljašnje sredine, ali i preko šava mahune, kada putem sudovnog tkiva i funikulusa iz biljke-majke dospeva u seme. *Corynebacterium flaccumfaciens* (prouzrokovac bakteriozne uvelosti), takode prodire do semena kroz sudovna tkiva mahune, formirajući žučkastu tvorevinu ispod semenjače, koja je lako uočljiva na semenu sa belom semenjačom (Neergaard, 1997).

Prema Arsenijeviću (1997), *P.s. pv. lachrimans* šireći se u plodu krastavca dopire i do semena, odnosno njegovog unutrašnjeg dela; placentu i funikulusa. Isti autor navodi da *C. m.* subsp. *michiganensis*, kao prouzrokovac bolesti tipa traheobakterioza, šireći se sudovnim tkivima dospeva i do plodova. Ovakvi plodovi u prvo vreme ne moraju ispoljavati simptome, ali im se unutrašnje tkivo razmekšava i tako seme postaje zaraženo. Prema raspoloživim literaturnim podacima, za bakteriju *Erwinia carotovora* (prouzrokovac vlažne truleži), nema podataka da se prenosi semenom (održava se u biljnim ostacima u zemljištu), ali treba istaći da su Arsenijević i Obradović (1996) ovu bakteriju utvrdili na dvogodišnjim biljkama semenskog useva kupusa.

Na osnovu literaturnih podataka, i veoma nizak procenat zaraze semena nekom od fitopatogenih bakterija dovoljan je da, pri povoljnim vremenskim uslovima prouzrokuje bolest tipa epidemije. Velike svetske kompanije koje se bave proizvodnjom semena, kontrolu zdravstvenog stanja vrše inspekcijskim pregledom semenskog useva, koji podrazumeva testiranje oko 10-30.000 semenki u „lotu“ (eng. „lot“, razdeliti na parcele, partije). Prema Wharton-u (1967), samo jedna semenka zaražena bakterijom *P. phaseolicola*, od 10.000 ispitivanih,

može dovesti do jake pojave bolesti, a prema Dillard i Legard-u (1991), jaku zarazu može prouzrokovati jedna zaražena semenka u 16.000 semenki. Wallen i Suton (1965), navode da 0.5% inficiranog semena pasulja bakterijom *X. phaseoli*, može rezultirati ozbiljnom epifitocijom. Wukasch (1970) navodi da su dovoljne tri zaražene semenke bakterijom *X. campestris* u 10.000, pa da pri povoljnim uslovima bolest na kupusnjačama dobije karakter epidemije.

## ODRŽAVANJE I ŠIRENJE FITOPATOGENIH BAKTERIJA (EPIDEMIOLOGIJA)

Poznato je da se bakterije na povrtarskim biljkama održavaju, u nepovoljnim uslovima, na razne načine. Najveći značaj svakako ima seme (ili sadni materijal), ali postoje i drugi izvori zaraze, kao što su biljni ostaci u zemljištu, samonikle biljke, rizosfera biljke domaćina ili nedomaćina, kao epifiti na nadzemnim delovima raznih biljaka, pa i u telu pojedinih insekata.

Na površinskim tkivima semena bakterije se obično održavaju tokom jedne do dve godine, ali u unutrašnjosti semena i znatno duže. *X. c. pv. vesicatoria* se na semenu može održati najmanje 16.5 meseci. Prema Dillard i Legard-u (1991), *P. s. pv. phaseolicola* se može održati više od četiri godine. Najduže održavanje vitalnosti bakterija u semenu utvrđeno je kod *X. phaseoli* (15 godina) i kod *Corynebacterium flaccumfaciens* (24 godine) (Neergaard, 1977).

*X. c. pv. vesicatoria* se u biljnim ostacima u zemljištu može održati 1-2 godine, a *P. s. pv. lachrimans* i do 2.5 godine.

Leben (1981) navodi postojanje epifitne faze („resident phase“), u ciklusu preživljavanja i održavanja fitopatogenih bakterija. Epifitna populacija može biti prisutna u naizgled zdravim biljnim organima (lišće, pupoljci, mahune i sl.), što može, ali ne mora, dovesti i do pojave bolesti. Kao epifiti, fitopatogene bakterije se mogu održavati i na biljkama nedomaćinima. Vлага je esencijalni faktor za porast epifitne populacije, što nastupanjem povoljnih uslova, omogućava nastanak infekcije. Širenju bakterioza pogoduje kišovito vreme, praćeno olujnim vetrom. Infekcije najčešće nastaju preko mehaničkih ozleda, nastalih od čestica peska nošenog jakim vetrom, insekata, prskanja ili zalivanja biljaka pod jakim pritiskom. Fitopatogene bakterije prodiru u biljke i kroz prirodne otvore (stome i hidatode).

Optimalna temperatura za ostvarenje infekcije (*X. c. pv. vesicatoria*) je 24-30°C. Razvoju bakterijske pegavosti na parici, pogoduju temperature od 23 do 27°C, dok je noćne temperature ispod 16°C zaustavljaju. Relativna vlažnost vazduha od 100%, tokom 24 sata ili duže, favorizuje nastanak infekcije. Prema instrukcijama IPM službe Univerziteta Konektikat, vlažnost vazduha iznad 85% produžava dužinu vlaženja lišća, naročito kada su noćne temperature iznad 70°F. Kada je relativna vlaga ispod 40% u kratkom periodu (tri dana ili više), dolazi do zastoja u razvoju bolesti. Ukoliko se period sa niskom vlagom vazduha produži (tri nedelje), širenje bolesti se zaustavlja, čak i pri nastupanju povoljnih uslova za razvoj parazita (Boucher, 1995).

Među termofilne vrste spada i *X. c. pv. phaseoli* (razvoj bolesti pospešuje oblačno vreme i temperature od 28 do 32°C), dok drugim bakterijama *P. s. pv. phaseolicola* i *P. s. pv. tomato* odgovara pro hladno i vlažno vreme (18-22, odnosno 17-20°C).

## DETEKCIJA FITOPATOGENIH BAKTERIJA NA OBOLELOM SEMENU

Razvojem naučnih disciplina kao što su biologija i fitopatologija, utvrđeno je da seme parazitiraju brojni patogeni. Visina šteta i smanjenje prinosa zavise od vrste semena i parazita, kao i uslova sredine (Jovičević i Milošević, 1990). Zbog značaja koje biljni patogeni imaju na semenu, u okviru fitopatologije kao naučne discipline, posebno se razvijala i patologija semena (Neergaard, 1977).

Prva zapažanja o parazitima na semenu, datiraju još s kraja XIX veka, kada je pri ispitivanju klijavosti semena (kao osnovnom pokazatelju biološke vrednosti), na njemu utvrđeno prisustvo nekih fitopatogenih gljiva. Detekcija fitopatogenih gljiva bila je najjednostavnija, s obzirom na dimenzije talusa i reproduktivnih organa koje je bilo lako uočiti običnim svetlosnim mikroskopom.

Razvojem poljoprivrede, sve je više dolazila do izražaja potreba ispitivanja kvalitativnih svojstava semena. Prva laboratorija za ispitivanje kvaliteta semena osnovana je u Nemačkoj 1869. godine. Sedam godina kasnije, takva laboratorija je osnovana i u SAD. Tokom 50-ih ustanovljene su brojne eksperimentalne stanice u Evropi i SAD, sa zadatkom ispitivanja čistoće, klijavosti, količine vlage i zdravstvenog stanja semena.

Kod nas se kontrola zdravstvenog stanja semena,

uglavnom, još uvek svodi na rutinsko utvrđivanje prisustva fitopatogenih gljiva u nespecijalizovanim laboratorijama. Za utvrđivanje prisustva fitopatogenih bakterija na semenu procedura je uglavnom složena, zbog čega se njihovo utvrđivanje može vršiti samo u specijalizovanim laboratorijama.

U cilju standardizacije, problematika ispitivanja semena se proučava u okviru brojnih međunarodnih udruženja za ispitivanje semena, kao što su ISTA (International Seed Testing Association), CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center) i dr. U okviru ISTA postoje i druge organizacije koje se bave problematikom zdravstvenog stanja semena, uključujući i fitopatogene bakterije – PDC (Plant Diseases Comitee – Komitet za bolesti semena), ISHI (The International Seed Health Initiative, ISHI-Veg se odnosi na zdravstveno stanje semena povrća). Sa ISTA su usaglašene i standardizovane i metode The National Seed Health System – NSHS (USA). Metode za detekciju karantinskih parazita su date od strane FAO Global Plant Quarantine Information System (1994). Regularne organizacije za zaštitu bilja u okviru ovog sistema (Regulatory Plant Protection Organizations – RPPO) su EPPO (Evropa) i slične organizacije za područja Bliskog istoka, Azije, Pacifika, Afrike i Južne Amerike.

## METODE ZA DETEKCIJU FITOPATOGENIH BAKTERIJA NA SEMENU

Metode za detekciju fitopatogenih bakterija na semenu mogu biti direktne i indirektne (Schaad, 1989; Balaž i sar., 2003).

### Direktne metode

Direktne metode su najranije korišćene za utvrđivanje prisustva parazita na semenu i zahtevaju najmanje stručnog znanja. Jedna od najčešće korišćenih metoda za ova ispitivanja je uzgajanje biljčica u stakleniku, ili polju, i praćenje pojave simptoma. Ovaj metod je pogodan za ispitivanje patogena koji su na semenu obično prisutni u visokoj populaciji 1-10%, što je čest slučaj kada su u pitanju fitopatogene gljive. Međutim, populacija fitopatogenih bakterija na semenu je obično niska (oko 0.1% ili manje). Osim toga, na uspeh detekcije patogena prema ispoljenim simptomima na klijancima, mogu uticati određeni faktori (vremenski uslovi, prisustvo drugih parazita i sl.). Direktna metoda podrazumeva i postavljanje

semena na vlažan filter papir u Petri kutije uz praćenje simptoma na kotiledonim listovima. Druga, takođe široko korišćena metoda je direktno zasejavanje semena (posle dezinfekcije) na selektivne i poluselektivne podloge. Ovaj metod je češće pominjan pri dokazivanju bakterije *X. c. pv. campestris*, na semenu kupusnjača.

### Indirektne metode

Indirektne metode se zasnivaju na korišćenju ekstrakta semena. Cilj ekstrakcije je dobijanje najvećeg mogućeg broja ciljanih bakterija iz ispitivano semena. Optimizacija procesa ekstrakcije nije jednostavna, jer postupci koji se sprovode u cilju što uspešnijeg izdvajanja patogenih bakterija iz semena, uglavnom pogoduju umnožavanju i prateće flore saprofitnih bakterija. Zbog toga, za dobijanje ekstrakta, zavisno od biljke domaćina i vrste bakterije, koriste se različiti ekstrakcioni supstrati (fosfatni pufer – PBS; peptonski pufer, fiziloški rastvor i dr.). Osim izbora odgovarajućeg supstrata, na uspeh ekstrakcije bakterija iz semena ima i dužina vremena inkubacije, temperatura pri kojoj se ovaj proces odigrava i dr. U cilju povećanja koncentracije bakterija, postupak ekstrakcije se obično završava filtriranjem ili centrifugiranjem.

#### • Inokulacija biljaka ekstraktom semena

Inokulacija se izvodi injektiranjem (medicinskom iglom) ili prskanjem (ručna prskalica ili atomizer) dobijenim ekstraktom semena. Ovaj test se pokazao uspešnim pri inokulaciji mladih biljčica plavog paradajza za dokazivanje *Clavibacter michiganense* subsp. *sepedonicum* iz zaraženih krtola krompira.

#### • Izolacija bakterija iz ekstrakta semena na hranljive podloge

Ekstrakt semena se najčešće koristi kao biljni materijal za izolaciju bakterija na razne selektivne i poluselektivne podloge. O korišćenju raznih podloga i pufera za izolaciju fitopatogenih bakterija sa semena raznih biljaka, detaljan opis metoda dali su Saettler i saradnici (1989). Detaljan opis metoda za identifikaciju bakterija sa semena se navodi i u The National Seed Health System (NSHS) USA. Nakon izolacije patogena na odgovarajuće hranljive podloge, dalja identifikacija se vrši proverom patogenosti izolata i korišćenjem specifičnih bakterioloških testova (Lelliott i Stead, 1987; Saettler i sar., 1989; Schaad i sar., 2001).

### • **Identifikacija bakterija direktno iz ekstrakta semena**

Identifikacija patogenih bakterija može se vršiti i direktno iz ekstrakta semena. Ove metode su brže od već navedenih. Organizmi koji se identifikuju ne moraju biti vitalni jer se identifikacija zasniva na hemijskim reakcijama. Imaju veliki potencijal pri rutinskim analizama. Tu spadaju: razne serološke metode (test imunofluorescencije – IF, ELISA, Enrichment ELISA), PCR (i modifikacije ove metode), (Saettler i sar., 1989; Schaad i sar., 2001). Treba imati u vidu da neke serološke reakcije (npr. ELISA) nisu za sve slučajeve dovoljno osetljive, pa je rezultat potrebno potvrditi izolacijom patogena ili dokazivanjem patogenosti.

U cilju pravilne identifikacije bakterije izolovane sa ili iz semena, preporučuje se kombinovanje više dostupnih testova. Najpouzdaniji rezultat dobija se izolacijom patogena na selektivne podloge s tim da se za potvrdu koristi neki od seroloških testova ili metoda zasnovanih na DNK.

## **INTEGRISANE MERE SUZBIJANJA BAKTERIOZA POVRĆA**

Suzbijanje bakterioza je teško izvodljivo, što je uslovljeno većim brojem faktora; fitopatogene bakterije se pri povoljnim vremenskim uslovima vrlo brzo razmnožavaju i njihova populacija se u kratkom vremenu naglo povećava; po ostvarenju infekcije, bakterije naseljavaju unutrašnja tkiva; na tržištu postoji vrlo mali broj preparata sa baktericidnim efektom i njihovo delovanje je samo kontaktno.

Iz navedenih razloga i dezinfekcija semena, u smislu oslobađanja od patogenih bakterija, nije jednostavna. Endogene zaraze semena se hemijskim sredstvima ne mogu rešavati, jer ni jedan od preparata na tržištu nema kurativan ni sistemski efekat. Kontaktni fungicidi koji se koriste za suzbijanje egzogenih zaraza semena, uglavnom nisu dovoljno efikasni (tiram i sl.). Za folijarna tretiranja izbor preparata je vrlo mali i u ovom slučaju se, takođe, ne može govoriti o visokoj efikasnosti. Zbog svega toga, kada se simptomi bakterioza već ispolje, ukoliko njihovu pojavu prati toplo i kišovito vreme, suzbijanje fitopatogenih bakterija je gotovo nemoguće i bolest tada dobija karakter epidemije.

Suzbijanje bakterioza na povrtarskim biljkama može se uspešno sprovesti samo integrisanim merama zaštite (IPM). Smanjenje rizika od infekcije obuhvata nekoliko postupaka:

- nabavka zdravog, sertifikovanog semena,
- izbor parcele i sprovođenje odgovarajućih agrotehničkih mera,
- proizvodnja zdravog rasada i
- zaštita biljaka u polju.

### **Seme**

Suzbijanje bakterioza treba započeti još pre nego što seme dospe u zemljište, a to podrazumeva, pre svega, nabavku zdravog, sertifikovanog semena, koje potiče sa zdravog semenskog useva, ili korišćenje tretiranog semena u cilju smanjenja bakterijske populacije.

Najčešće korišćeno sredstvo za dezinfekciju semena (egzogene zaraze) paradajza i paprike u cilju suzbijanja *X. c. pv. vesicatoria* je natrijumhipohlorit (NaOCl). Za suzbijanje egzogenih infekcija na pasulju, prouzrokovanih bakterijama *X. c. pv. phaseoli* i *P. s. pv. phaseolicola*, Dillard i Legard (1991), navode antibiotik streptomycin, koji značajno redukuje populaciju bakterija, ali se ne može očekivati efikasnost 100%. Tretman streptomycinom i natrijumhipohloritom se preporučuje i za dezinfekciju semena nekih kupusnjača (kupus, karfiol, brokoli), u cilju suzbijanja *X. c. pv. campestris* (Wukasch, 1997). Za suzbijanje bakterioza na semenu, odavno se vrši zaprašivanje semena, preparatima na bazi Thiram (ditiokarbamat).

Unutrašnje (endogene) infekcije semena se mogu sprečiti samo tretmanima toplom vodom. Tretiranjem semena toplom vodom (endogene zaraze) ili natrijumhipohloritom (egzogene zaraze), može se postići visoka efikasnost, ali se tretmani moraju izvoditi vrlo pažljivo i precizno, jer oba tretmana, pri nepravilnoj primeni, u manjoj ili većoj meri, smanjuju klijavost semena.

Prema preporukama IPM Univerziteta u Konektikatu (Boucher i Nixon, 2004-2005), tretman semena toplom vodom, se izvode pri sledećim parametrima:

- seme paradajza 122°F (25 min) ili 125°F (20 min),
- seme paprike ili kupusa 122°F (25 min),
- seme karfiola i brokole 122°F (20 min).

## Izbor parcele i sprovođenje odgovarajućih agrotehničkih mera

Osnovni kriterijum pri izboru parcele za setvu je primena odgovarajućeg plodoreda. U slučaju bakterije *X. c. pv. vesicatoria*, posle useva paprike ili paradajza, ni jedan usev iz porodice *Solanaceae* na istoj parceli ne treba gajiti 2-3 godine. Ukoliko je u usevu bilo zaraze biljaka bakterijom *C. m. subsp. michiganensis*, plodored treba da je i duži, jer ima podataka da se ova bakterija održava u polju pet, pa i više godina. Usev treba održavati bez korova, eliminisati samonikle biljke osetljive prema određenom patogenu, primenjivati izbalansiranu ishranu, navodnjavanje izvoditi u jutarnjim časovima (i ne koristiti sistem „veštačke kiše“), u blizini parcele ne postavljati plastenike i tople leje, a preporučuje se i gajenje otpornih sorti prema prevalentnim rasama ekološki značajnog patogena za dato područje.

## Proizvodnja zdravog rasada

Korišćenje zdravog rasada ima ključnu ulogu za uspešnu proizvodnju useva u polju, jer zaražen rasad predstavlja izvor primarnog inokuluma. Usev dobijen iz zaraženog rasada je nekvalitetan i, u slučaju nastupanja povoljnih uslova, bolest može dobiti karakter epidemije. Za proizvodnju zdravog rasada neophodno je korišćenje zdravog semena, dezinfikovano zemljište i sva prateća oprema. Takođe, treba izbegavati prekomerno zalivanje i bilo kakve poslove oko mladih biljaka, dok su vlažne. Zalivanje je najbolje izvesti u jutarnjim časovima (da bi se biljke što pre osušile), pri čemu treba paziti da voda ne bude suviše hladna (15-20°C). Izbegavati svaki stresogeni uticaj na biljke, bilo da je prouzrokovao vodom, ishranom ili temperaturom. Zdravstveno stanje biljaka održavati pod kontrolom; čim se pojave prvi znaci bolesti, obolele biljke treba odstraniti, kao i one iz neposrednog okruženja.

Za zaštitu rasada od bakterioza, treba sprovesti preventivnu zaštitu nekim od preparata sa baktericidnim delovanjem (Kocide 101 ili slični preparati na bazi bakra; ukoliko je dozvoljena primena antibiotika za tretiranje rasada paradajza i paprike u suzbijanju *X. c. pv. vesicatoria*, koriste se i preparati na bazi streptomicina; Agri-Mycin 17 i Agri-Strep). Streptomicin se ne preporučuje nakon rasađivanja biljaka. Pri proizvodnji rasada obavlja se, najčešće, 3-4 tretmana u intervalu 5-

-7 dana, u periodu kada je rasad izložen najvećem riziku (povoljni vremenski uslovi ili pojava prvih simptoma). Za preporuku je izvođenje jednog tretmana i pred iznošenje biljaka u polje.

## Zaštita biljaka u polju

Sa hemijskom zaštitom u polju treba početi nakon rasađivanja biljaka. Izbor preparata za folijarnu zaštitu je vrlo uzak i uglavnom se svodi na preparate na bazi bakra. Bakarne preparate treba preventivno primenjivati. Prema literaturnim podacima (Ansermino i sar., 2001), pri suzbijanju bakterioza na paprici i paradajzu, bolji efekti se postižu ukoliko se tretiranje biljaka vrši pre, nego posle kiše. Jer, ukoliko se bakarni preparati primene pre kiše, epifitna populacija koja je prisutna na lišću opada i infektivni potencijal se značajno smanjuje, znatno više nego ako se tretiranje vrši nakon kiše. Bakar utiče na smanjenje epifitne populacije i na taj način sprečava širenje bolesti. Ukoliko je infektivni pritisak vrlo jak, tretiranje bakrom često ne daje vidljiv rezultat, jer populacija uglavnom ostaje visoka.

Primena bakarnih preparata u kombinaciji sa mankozebom po presađivanju paradajza, zaustavlja širenje bolesti. Ova mera je efikasna u suzbijanju *P. s. pv. tomato* i *X. c. pv. vesicatoria*, ali ne i *C. m. subsp. michiganensis*. Preparat Actigard iz nove klase hemijskih supstanci, tzv. „biljni aktivatori“, na paradajzu znatno smanjuju intenzitet pojave *P. s. pv. tomato* i *X. c. pv. vesicatoria*, ali nije efikasan u slučaju *C. m. subsp. michiganensis*.

Prema Schwartz i Gent-u (2005) prisutna je rezistentnost *X. c. pv. vesicatoria*, prema bakarnim preparatima i streptomycinu, ali kombinacija bakra sa ditiokarbamatima (kao što je maneb), obezbeđuje zadovoljavajući efekat i protiv sojeva bakterije *X. axonopodis* *pv. vesicatoria*, tolerantnim prema bakru. Isti autori navode listu preparata efikasnih u suzbijanju bakterijske pegavosti: acibenzolar, preparati na bazi bakra, kombinacija bakra sa ditiokarbamatima, kombinacija famoksadon/cimoksanil (preporučuje se naizmenična primena sa preparatima različitog mehanizma delovanja, kao što su hlortalonil ili mankozeb); streptomicin (registrovan samo za paradajz i to samo za prvo tretiranje po rasađivanju. Drugi autori primenu streptomcina, pominju, uglavnom, samo pri proizvodnji rasada).

Schwartz (2002) navodi i intervale primene

pojedinih preparata: bakar-oksulfat 7-10 dana; bakar-hidroksid 7-10 dana; bakar-sulfat 5-10 dana; bakar-oksud 7-10 dana; bakar-amonijum karbamat 4-10 dana; streptomycin 4-5 dana.

Prema novijim literaturnim podacima, u suzbijanju *X. c. pv. vesicatoria*, sve češće se ukazuje na mogućnost primene bioloških (bakteriofagi, saprofitni *Xanthomonas*) i drugih, alternativnih, mera u zaštiti paprike i paradajza. Obradović i saradnici (2004) su ispitivali efikasnost specifičnih bakteriofaga i nekih od perspektivnih aktivatora otpornosti (acibenzolar-S-metil, harpin protein), kao i standardni baktericidni tretman (bakar-hidroksid + mankozeb) u suzbijanju bakteriozne pegavosti paradajza. Ispitivanja su izvođena na Floridi u uslovima suptropske klime, tokom 2001-2002. godine. Acibenzolar-S-metil u kombinaciji sa bakteriofagama, ili bakteriofagi i harpin, značajno su redukovali bakterioznu pegavost u odnosu na druge tretmane. Međutim, u pogledu prinosa nije postojala značajna razlika, u odnosu na standard ili netretiranu kontrolu. Značajno veći prinos je utvrđen, grupisanjem svih varijanti gde su primenjivani bakteriofagi, u odnosu na varijante bez bakteriofaga.

Eksperimentalnih podataka o hemijskom suzbijanju fitopatogenih bakterija, parazita povrtarskih biljaka, u domaćoj literaturi ima vrlo malo, jer je bakterioze teško suzbijati i postići vidljive rezultate. Najčešće je oglede potrebno izvoditi tokom nekoliko godina da bi se postigao jasan rezultat. Balaž (1988) navodi uspešnu zaštitu pasulja (lista i mahuna), preventivnom primenom preparata Champion (bakar-hidroksid). Pri suzbijanju *X. c. pv. vesicatoria* na paprici (Balaž i sar., 2002) postignuti su dobri rezultati primenom preparata na bazi bakra i u kombinaciji sa drugim preparatima (Blauvit; Blauvit + Polyram DF; Bakarni kreč-50 + Dithane M-70; Bakarni kreč-50 + Kasumin 21 i Kupragrin). Ovi rezultati su u saglasnosti, sa konstatacijom i drugih autora, koji preporučuju bakar u kombinaciji sa nekim od ditiokarbamata (najčešće se pominje maneb).

## ZAKLJUČNE KONSTATACIJE

Kao što je poznato, seme predstavlja osnovni izvor zaraze za mnoge gajene biljke, a naročito povrtarske. Fitopatogene bakterije, održavajući se na semenu, dospevaju na mlade biljčice, odakle se šire na gornje

delove biljaka prouzrokujući simptome bolesti koji se ispoljavaju u manjem ili većem stepenu, u zavisnosti od vremenskih uslova, osetljivosti biljne vrste, virulentnosti bakterije i drugih činilaca.

Iz navedenih razloga, zdravstvenom stanju semena se mora posvetiti posebna pažnja, kako bi se nepoželjne posledice po vitalnost biljaka na vreme sprečile i obezbedio njihov bolji razvoj i normalno plodonošenje.

Semenom se bakterije prenose, ne samo iz jednog reiona na drugi, nego i iz jedne zemlje u drugu, što je od posebnog značaja ukoliko je u pitanju karantinski parazit.

Zbog svega navedenog, neophodno je sprovođenje integrisanih mera zaštite, koje počinju pravilnim izborom semena i parcele, uz primenu odgovarajućih i blagovremenih mera zaštite pri proizvodnji rasada i biljaka u polju.

## LITERATURA

- Ansermino, S., Schreuder, W. and Grobler, P.*: Bacterial Leaf Spot Control Strategies. Agriculture Articles & Experiments, AgriSupportOnline, 2001.
- Arsenijević, M.*: Bakteriozna trulež nekih povrtarskih kultura. Savremena poljoprivreda, Novi Sad, XIX (7-8): 85-96, 1971.
- Arsenijević, M. i Balaž, J.*: *Pseudomonas phaseolicola* Burkholder (Dowson) (*Ps. Syringae* pv. *phaseolicola* / Burkholder / Young, Dye et Wilkie) kao parazit boranije i pasulja. Zaštita bilja, **35**: 283-291, 1974.
- Arsenijević, M.*: *Erwinia* soft rot bacteria originating from pepper and tomato fruits. Proc. IVth International Conference of Plant Pathology – Bacteriology Angers, France, 1978.
- Arsenijević, M. i Stojić, J.*: Prilog proučavanju patogenosti nekih izolata bakterije zbirne vrste *Erwinia carotovora* Johnes (Holland), Zaštita bilja, 119-120, 1972.
- Arsenijević, M. i Obradović, A.*: Occurrence of Bacterial Wilt and Soft Rot of Seed Cabbage Plants (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) in Yugoslavia. J. Phytopathology, (Berlin), **144**: 315-319, 1996.
- Arsenijević, M.*: Bakterioze biljaka. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1997.
- Arsenijević, M., Trkulja, V. i Obradović, A.*: Pathogenic and bacteriological characteristics of Yugoslav *Erwinia* soft rot strains originating from pepper and eggplant fruits. J. Plant Dis. Protect., (Stuttgart), **104** (4): 394-402, 1997.
- Balaž, J.*: Otpornost i priroda otpornosti boranije i pasulja prema *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkholder) Dowson. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet,

Novi Sad, 1985, str. 1-126.

**Balaž, J.:** Pojava novih i nekih manje poznatih bakterioza u Jugoslaviji tokom 1987. godine (prethodno saopštenje): XII seminar iz zaštite bilja Vojvodine Arandelovac, 1988, (Rezimei referata, str. 58-60).

**Balaž, J.:** Prilog proučavanju osetljivosti boranije i pasulja prema *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkholder) Young, Dye et Wilkie. *Zaštita bilja*, **41**: 431-453, 1990.

**Balaž, J.:** Ispitivanje mogućnosti hemijskog suzbijanja *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye parazita pasulja. *Pesticidi*, **6**: 171-173, 1991.

**Balaž, J., Knežević, T. i Rašić, Đ.:** Ispitivanje mogućnosti hemijskog suzbijanja ekonomski najštetnijih fitopatogenih bakterija u našim uslovima. XII simpozijum o zaštiti bilja i primeni pesticida, Zlatibor, 2002, (Zbornik rezimea, str. 131).

**Balaž, J., Obradović, A. i Knežević, T.:** Bakterioze na semenu i sadnom materijalu povrtnarskih, ratarskih i ukrasnih biljaka. *Biljni lekar*, **6**: 629-638, 2003.

**Boucher, J.:** Bacterial Leaf Spot of Peppers. [http://oisat.org/pests/diseases/bacterial/bacterial\\_leaf-blight.html](http://oisat.org/pests/diseases/bacterial/bacterial_leaf-blight.html), 1995.

**Boucher, J. and Nixon, G.:** Preventing Bacterial Diseases of Vegetables with Hot-Water Seed Treatment. New England Vegetable Management Guide, 2004-2005.

**Boucher, J. and Nixon, G.:** Preventing Bacterial Diseases of Vegetables with Hot-Water Seed Treatment. New England Vegetable Management Guide, 2004-2005.

**Dillard, H.R. and Legard, D. E.:** Bacterial Diseases of Beans, Cornell University, Vegetable MD Online, 1991.

**Jones, J. B., Phoronezny, K. L., Stall, R. E. and Jones, J. P.:** Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on Tomato Crop Residue, Weeds, Seeds, and Volunteer Tomato Plants. *Phytopathology*, **76**: 430-434, 1986.

**Jovičević, B. i Milošević, M.:** Bolesti semena. „Dnevnik“, Novi Sad, 1990, str. 1-291.

**Kennedy B. W. and Alcron S. M.:** Estimates of US crop losses to procaryote plant pathogens. *Plant Disease*, **64**: 674-676, 1980.

**Leben, C.:** How Plant-Pathogenic Bacteria Survive. *Plant Disease*, **65**: 633-637, 1981.

**Lelliott, R. A.:** *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) dye. In: European Handbook of Plant Diseases (Smith, I. M., Dunez, J., Phillips, D. H., Lelliott, R. A. and Archer, S. A., eds.). Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford, UK, 1988, pp. 168-169.

**Lelliott, R. A.:** *Corynebacterium michiganense* (Smith) Jensen pv. *michiganense* Dye & Kemp. In: European Handbook of Plant Diseases (Smith, I. M., Dunez, J., Phillips, D. H., Lelliott, R. A. and Archer, S. A., eds.).

Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford, uk, 1988, pp. 182-184.

**Lelliott, R. A.:** *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey et al subsp. *carotovora*. In: European Handbook of Plant Diseases (Smith, I. M., Dunez, J., Phillips, D. H., Lelliott, R. A. and Archer, S. A. eds.). Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford, UK, 1988, pp. 191-192.

**Lelliott, R. A. and Stead, D. E.:** Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants, *Plant Pathol.*, **2**: 1-215, 1987.

**Neergaard, P.:** Seed Pathology (Vol I i II). Printed in Great Britain, 1997.

**Nemeth, J.:** The dominance conditions of bacteria pathogenic to bean in Hungary, with special reference to widely distributed bean varieties. *Novenyvedelem* (Budapest), XXVI, (8): 351-357, 1990.

**Obradović, A., Jones, J. B., Momol, M. T., Balogh, B. and Olson, S. M.:** Management of Tomato Bacterial Spot in the Field by Foliar Applications of Bacteriophages and SAR Inducers. *Plant Disease*, **88**: 736-740, 2004.

**Perišić, M. and Panić, M.:** Prilog proučavanju bakterioza kupusa u našoj zemlji (*Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson). *Mikrobiologija* (Beograd), **1**: 39-47, 1964.

**Saettler, A. W., Schaad, N. W. and Roth, D. A.:** Detection of bacteria in Seed and Other Planting Material. APS Press, St. Paul, Minn., USA, 1989, pp. 1-122.

**Severin, V.:** Investigations on the prevention of the common blight of beans (*Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson), AN I. C. P. P. Alele Institutului de Cercetari Pentru Protectia Plantelor, Bucuresti, and II: 125-139, 1971.

**Schaad, N. W.:** Detection of Seedborne Bacterial Plant Pathogens. *Plant Disease*, **66**: 885-889, 1982.

**Schaad, N. W., Jones, J. B., Chun, W.:** Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (Third Edition). APS Press, St. Paul, Minn., USA; 2001.

**Schwartz, H. F., Gent, D. H.:** Bacterial Spot. Eggplant, Pepper and Tomato XXIV, <http://highplainsipm.org/HpIPMSearch/Docs/BacterialSpot-EggplantPepperTomato.htm>, 2005.

**Schwartz, H. F.:** Bacterial spot. Eggplant, Pepper and Tomato XXIV-15, <http://highplainsipm.org/HpIPMSearch/Docs/bacterialspeck-tomatoes.htm>, 2002.

**Schneider R. W., Hall D. H. and Grogan R. G.:** Effect of bacterial speck on tomato yield and maturity. *Proceedings of the American Phytopathological Society (Abs.)*, **2**: 1118, 1975.

**Taylor, J. D., Dudley, C. L. and Presly, L.:** Studies of halo-blight seed infection and disease transmission in dwarf beans. *Ann. Appl. Biol.*, **93**: 267-277, 1979.

**Wallen, V. R. and Galway, D. A.:** Bacterial blight of

field bean: disease progress, yield loss, and crop canopy development in principal cultivars in Ontario. *Canad. Plant Dis. Surv.*, **57**: 61-64, 1977.

**Wallen, V. R. and Sutton, M. D.:** *Xanthomonas phaseoli* vat. *Fuscans* (Burkh.) Starr et Burkh. on field bean in Ontario. *Canad. J. Botany*, **43**: 437-446, 1965.

**Wharton, A. C.:** Detection of infection by

*Pseudomonas phaseolicola* (Burkh.) Dowson in white seeded dwarf bean seed stocks. *Ann. Appl. Biol.*, **60(2)**: 305-312, 1967.

**Wukasch, R. T.:** Bacterial Diseases of Cruciferous Crops. Factsheet, Ministry of Agriculture, Food and Fisheries, London, England, <http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/crops/facts/86-046-hm>, 1997.

# Seed as Source of Primary Inoculum for Originate Bacterial Diseases of Vegetable and Integrated Pest Management

## SUMMARY

Bacterial diseases are economic important in contemporary conditions of *vegetables* production. The most losses cause *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on tomato and pepper, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* on tomato, *X. c.* pv. *phaseoli* and *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* on bean and snap bean, *P. s.* pv. *lachrimans* on plants from family *Cucurbitaceae*, *X. c.* pv. *campestris* on plants from family *Brassicaceae* and *Erwinia*, group „carotovora“ especially polyphage bacterium.

The most important source of primary inoculum for bacterial diseases is seed. Very low percent infection of seed as 0.1-0.01% are able to cause epidemic in convenient conditions. For detection bacteria on seed are used direct and indirect methods. One of the most simple direct methods is „growing-on“ plants and notice of symptoms. The indirect methods are based on investigations bacteria in seed extract. Procedures of detection were carried out by inoculation of plants with seed extract, seeded of extract on selective medium and directly from seed extract, by rapid, contemporary methods for identification (ELISA, IF, PCR, etc.).

Control of plant pathogenic bacteria is not easy. General strategy are preventive measure: healthy seed, two or three rotation crops and preventive spraying of plants with bactericide preparations. For disinfection of seed the most frequent method is hot-water (endogenous infection) and natrium-hipohlorit or streptomycin (exogenous infection) and for spraying of plants in field, copper preparations in combination with of some dithiocarbamate (maneb or mancozeb). According to new literature data, biological and other alternative methods (Systemic Acquired Resistace – SAR Inducers), direct attention to potential strategy for effective control of *X. c.* pv. *vesicatoria*.

**Keywords:** Seed; Plant pathogenic bacteria; Methods for detection; Epidemiology; IPM (Integrated Pest Management)