



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД
ДЕПАРТМАН ЗА ФИТОМЕДИЦИНУ И ЖИВОТНЕ
СРЕДИНЕ

Студент:

Мирослава Мирков

Ментор:

Проф. др Стеван Маширевић

**Тема: Интензитет појаве *Xantomonas axonopodis* pv.
phaseoli на генотиповима пасуља**

Мастер рад

Нови Сад, 2015.

Комисија за оцену и одбрану мастер рада:

Проф. Др Стеван Маширевић редовни професор за ужу научну област фитопатологија,
Пољопривредни факултет, Нови Сад.
Ментор.

Проф. Др Јован Црнобарац редовни професор за ужу научну област ратарство,
Пољопривредни факултет, Нови Сад.
Председник комисије.

Др Мила Гараховац доцент за ужу научну област фитопатологија, Пољопривредни
факултет, Нови Сад.
Члан комисије.

Велико ми је задовољство што ми је Проф. др Стеван Маширевић по други пут ментор и овим путем хтела бих да му се захвалим на исказаној помоћи приликом одабира теме за рад и исказаној помоћи око израде истог.

Научном институту за ратарство и повртарство у Новом Саду се захваљујем што су омогућили да се замишљено истраживање спроведе. Запосленима на институту се захваљујем на издвојеном времену које су ми посветили и на стеченом практичном искуству, а нарочито бих се захвалила др Мирјани Васић која је својим саветима, предлозима и идејама пратила и усмеравала истраживање, као и на помоћи око прикупљања стручне литературе.

Колегама и колегиницама са фитопатологије хвала на указаној помоћи и дружењу у току лабораторијског дела рада.

Захваљујем се и члановима комисије Проф. др Јовану Црнобарцу и др Мили Граховац на издвојеном времену за преглед рада као и на сугестијама које су допринеле да рад буде квалитетнији.

САДРЖАЈ:

РЕЗИМЕ	6
ABSTRACT	7
1. УВОД	8
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	11
2. 1. РАСПРОСТРАЊЕНОСТ ПАТОГЕНА И ЕКОНОМСКИ ЗНАЧАЈ	11
2. 2. ЕПИДЕМИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ	12
<i>X. a. pv. phaseoli</i>	12
2. 3. СИМПТОМИ НА БИЉКАМА ПАСУЉА ИЗАЗВАНИ	14
<i>X. a. pv. phaseoli</i>	14
2. 4. ИДЕНТИФИКАЦИЈА БАКТЕРИЈЕ	15
<i>X. a. pv. phaseoli</i>	15
2. 5. ОСЕТЉИВОСТ ГЕНОТИПОВА ПАСУЉА ПРЕМА	16
<i>X. a. pv. phaseoli</i>	16
2. 6. ХЕМИЈСКО СУЗБИЈАЊЕ	19
<i>X. a. pv. phaseoli</i>	19
3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА	21
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА	22
4. 1. УЗИМАЊЕ УЗОРАКА	22
4. 2. ИЗОЛАЦИЈА ПАТОГЕНА	23
4. 2. 2. ИДЕНТИФИКАЦИЈА ИЗОЛАТА КЛАСИЧНИМ МЕТОДАМА	24
4. 2. 3. 1. Морфолошке одлике	24
4. 2. 3. 2. Одгајивачке одлике	25
4. 2. 3. 3. Провера патогености изолованих бактерија	25
4. 2. 3. БИОХЕМИЈСКО-ФИЗИОЛОШКЕ ОДЛИКЕ	27
4. 3. ОСЕТЉИВОСТ ГЕНОТИПОВА ПАСУЉА НА	29
<i>X. a. pv. phaseoli</i>	29
5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА СА ДИСКУСИЈОМ	32
5. 1. СИМПТОМИ БОЛЕСТИ	32

5. 2. ИЗОЛАЦИЈА ПАТОГЕНА.....	33
5. 2. 1. ИДЕНТИФИКАЦИЈА ИЗОЛАТА КЛАСИЧНИМ МЕТОДАМА	34
5. 2. 1. 1. Морфолошке одлике.....	34
5. 2. 1. 2. Одгајивачке одлике.....	35
5. 2. 1. 3. Провера патогености изолованих бактерија	35
5. 2. 1. 2. Биохемијско-физиолошке одлике	40
5. 3. ОСЕТЉИВОСТ ГЕНОТИПОВА ПАСУЉА ПРЕМА.....	44
<i>X. a. pv. phaseoli</i>	44
6. ЗАКЉУЧАК	48
7. ПРИЛОЗИ	50
8. ЛИТЕРАТУРА.....	52

Интензитет појаве *Xantomonas axonopodis* pv. *phaseoli* на генотиповима пасуља

Мирослава Мирков

РЕЗИМЕ

Проузроковач обичне пламењаче, *Xantomonas axonopodis* pv. *phaseoli* је економски најзначајнија бактериоза пасуља у свим реонима гајења ове биљке. Прикупљањем узорака са 50 различитих генотипова пасуља на огледном пољу Института за ратарство и повртарство у Новом Саду и њиховим проучавањем, утврђено је да су наведене промене бактеријске природе.

У циљу идентификације изолованих бактеријских изолата проучене су њихове патогене, морфолошке, одгајивачке и биохемијско-физиолошке карактеристике на основу чега је утврђено да свих 12 испитиваних изолата припадају *X. a.* pv. *phaseoli*.

Проучавање осетљивости 50 различитих генотипова пасуља домаћих и страних сорти утврђено је да су испољили различит степен осетљивости према испитиваној бактерији у природним условима заразе.

Кључне речи: Обична бактериозна пламењача, пасуљ, *Xantomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, бактериолошке карактеристике, осетљивост генотипова

The intensity of the *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* on bean genotypes

Miroslava Mirkov

ABSTRACT

Xanthomonas axonopodis pv. *phaseoli*, causal agent of common blight is economically the most important bacterial disease of bean in all growing regions of this crop. After collecting diseased plant samples of 50 bean genotypes from experimental field Institute of field and vegetable crops in Novi Sad, it was determined that these disease symptoms were caused by phytopathogenic bacteria.

In order to identify isolated bacteria, their pathogenic, morphological, cultural, biochemical and physiological characteristics were studied. Based on the results of these investigations, it was determined that 12 investigated bacterial isolates belonged to *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*.

The study of the sensitivity of 50 different bean genotypes of domestic and foreign varieties was found that showed different degrees of sensitivity to the investigated bacteria in natural conditions of infection.

Keywords: Common blight, bean, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. serological characteristics, sensitivity genotypes

1. УВОД

Пасуљ (*Phaseolus vulgaris* L.) води порекло из Америке. Као родоначелник гајених врста пасуља сматра се *Phaseolus aboriginus* (Васић и сар., 2008). У Европу пасуљ доспева у 16. веку заједно с кромпиром и кукурузом. Пореклом, пасуљ је био само пузавица. Култивар у облику „жбуна” је селекционисан тек недавно. Данас је пасуљ један од најважнијих усева широм света. Највећи произвођачи пасуља су Индија, Кина, Индонезија, Бразил и САД (Миладиновић и сар., 1982).

Пасуљ је једногодишња зељаста биљка из породице *Fabaceae* и рода *Phaseolus*. Род *Phaseolus* је изузетно полиморфан. Описано је око 230 врста и сматра се да данас има 17 гајених врста из овог рода. Највеће богатство форми и највећу прилагођеност спољним условима показује врста *Phaseolus vulgaris*, а сматра се да данас у свету постоји више хиљада различитих форми обичног пасуља (Васић и сар., 2008).

Као и остале зрнене махуњаче, пасуљ има и велики агротехнички значај. У пољопривредној производњи је економски исплатива биљна врста и добар предусев. Пре Другог светског рата пасуљ се најчешће гајио као међуусев у кукурузу (Росић, 1957; Видовић, 1964). Изменом начина гајења кукуруза смањено је гајење пасуља као међуусева, а повећане су површине под чистим усевом.

Због своје адаптабилности и широког сортимента, пасуљ се данас може успешно гајити у различитим агроеколошким условима (Такач и сар., 2013). Основни спољашни услови за раст и развој су земљиште, вода, светлост и температура. Вегетациони период, зависно од сорте траје 65-140 дана (Спасојевић и сар., 1984).

Као предусев обогаћује земљиште азотом, одличан је за скоро све њивске биљке, а нарочито за озима стрна жита. Пасуљ даје добре приносе, а осушено зрно се лако чува и при том не губи хранљиве састојакe. Услов за успешну производњу пасуља јесте избор сорте, употреба квалитетног семена и правилна примена агротехничких мера (Билић, 2014).

За исхрану стоке користи се надземни део као зелена сточна храна или семе и то од врста намењених за ову сврху. Веома је важна култура и у људској исхрани (Спасојевић и сар., 1984).

Хемијски састав биљке разликује се у зависности од сорте, старости, а нарочито у зависности од дела биљке који се употребљава у исхрани. Најомиљеније у исхрани је ипак суво зрно пасуља (Васић и сар., 2008).

Извор је најважнијих биљних беланчевина, угљених хидрата, растворљивих и нерастворљивих влакана, минерала и витамина (Спасојевић и сар., 1984). Масти има мало, али је квалитетна, корисна у исхрани као одбрана од “лошег” холестерола. Пасуљи обојене семењаче богати су антиоксидантима који су важни у превенцији канцерогених обољења (Васић и сар., 2008). У робном промету наше земље има велики значај. Са потрошњом од око 10 kg по становнику, Србија се налази у самом врху по потрошњи пасуља (Такач и сар., 2013).

У Србији се пасуљ гаји на преко 20 000 хектара, а просечан принос пасуља на нашем агроколошком подручју и поред савремене технологије је низак, око 1 t/ha и подложен великом колебањима. Приноси који би били задовољавајући, не би требало да се спуштају испод 1,5 t/ha, а просечни би се требало кретати око 2 t/ha. Правилно одгајан усев пасуља, засновани квалитетним семеном добрих домаћих сорти у условима наводњавања даје принос и преко 4 t/ha (Васић и сар., 2008).

Последњих година, повећање површина и приноса под овом културом као и погодни климатски услови, довели су до појаве бројних проузроковача болести на пасуљу (Васић, 2004).

Последњих година, услед повећане употребе хербицида, и често због њиховог неправилног коришћења јављају се оштећења која спадају у непаразитне болести. Осим оштећења од хербицида неправилно примењиваних у пасуљу може доћи до оштећења усева пасуља услед остатака хербицида у земљишту од претходног усева (Васић и сар., 2008).

Најчешћи узрочници смањена приноса пасуља су фитопатогене гљиве, бактерије и вируси (Марић и сар., 2001). Од гљива најзначајније штете проузрокује проузроковач антракнозе пасуља *Colletotrichum lindemuthianum*, а велике штете могу да изазову фузариозе и ризоктониозе које доводе до трулежи корена пасуља (Алексић и сар., 1980).

Од вируса, већи значај за производњу пасуља има вирус обичног мозаика пасуља (*Bean common mosaic virus*), вирус обичног некротичног мозаика пасуља (*Bean common mosaic necrosis virus*), вирус жутог мозаика пасуља (*Bean yellow mosaic virus*), вирус мозаика краставца (*Cucumber mosaic virus*), вирус мозаика луцерке (*Alfalfa mosaic virus*) и др. (Васић и сар., 2008).

Фитопатогене бактерије, осим што редукују и смањују квалитет укупног приноса пасуља представљају и патогене семена (seedborne), тако да присуство оболелих биљака у семенском усеву утиче на подобност за добијање сертификата семена, дефинисаног према правилницима и регулативи (Franc, 1998).

На пасуљу је описано неколико фитопатогених бактерија које проузрокују промене типа пегавости на листовима и махунама. Највећи значај у нашим условима имају *Pseudomonas* pv. *phaseolicola*, *P. s.* pv. *syringae*, *Xanthomonas* c. pv. *phaseoli*, *X. campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans* и *Clavibacter flaccumfaciens*. Економска штетност ових бактериоза огледа се у редукцији лисне масе, смањеном порасту биљака пасуља и смањењу приноса преко 50% (Lahman и Schaad, 1985).

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2. 1. РАСПРОСТРАЊЕНОСТ ПАТОГЕНА И ЕКОНОМСКИ ЗНАЧАЈ

Биљке пасуља у пољу током вегетације, паразитира неколико фитопатогених бактерија. Међу њима најзначајнији је проузроковач обичне бактериозне пламењаче пасуља *X. campestris* pv. *phaseoli*, описана од стране Smith-a (1897). Новијом класификацијом фитопатогених бактерија заснованом на савременим методама карактеризације врста је преименована у *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Балаж и сар., 2010).

Распрострањена је на скоро свим просторима на којима се пасуљ гаји: у Европи, Африци, Азији, Америкци и Аустралији (Weller и Saettler, 1980). Бактерија *X. a.* pv. *phaseoli* је најчешће и економски најзначајније обољење пасуља. Епифитотична појава ове болести у Канади (покрајна Онтарио) забележена је шездесетих година, после увођења у производњу (1957) једне изузетно осетљиве сорте пасуља (Sanilac). У повољним условима за развој паразита принос осетљивих сорти може бити умањен за преко 50-60 % (Wallen и Galway, 1977; Wimalajeewa i Nancarrow, 1980).

У нашој земљи, проучавањем ове бактерије бавили су се: Тешић (1946, лоц. цит. Балаж, 1989), Арсенијевић и Балаж (1980), Арсенијевић (1982), Арсенијевић и сар. (1985). Према наведеним ауторима, код нас, ова бактериоза је веома распрострањена и економски врло штетна.

Од средине 1980-тих, својом учесталом појавом у Војводини и централној Србији, поново је скренула пажњу стручне јавности. На учесталост и присуство ове бактерије у нашим условима, указује и податак, да је од 23 узорка меркатилног семена пасуља гајеног на територији Војводине, присуство ове бактерије доказано код 20 (Балаж и сар., 2010). Балаж (1996) истиче јак интензитет појаве ове бактерије на пасуљу који се гаји на мањим парцелама и окућницама, где се за сетву користи несертификовано семе, без декларације о здравственом стању и квалитету. Обзиром да бактерија може бити присутна на семену са видљивим симптомима и без симптома (латентне инфекције), детекција ове врсте захтева екстракцију бактерија из семена и њихову идентификацију, коришћењем разних дијагностичких метода (Балаж и сар., 2008).

Узроци све чешће појаве проузроковача обичне бактериозне пламењаче пасуља, последњих година су осетљивост сортимената и појава нових сојева патогена различите вирулентности (Coyne и Schuster, 1974; Saettler, 1977; Kiryakov и сар., 1996).

2. 2. ЕПИДЕМИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ

X. a. pv. phaseoli

Xanthomonas a. pv. phaseoli, проузроковач обичне бактериозне пламењаче пасуља се изузетно брзо развија у условима високе температуре и влаге. Бактерија продире у биљку кроз стоме, хидатоду и разне повреде, а заражено семе и земљиште представљају основни извор заразе (Арсенијевић, 1997).

Бактерија *X. a. pv. phaseoli* се преноси семеном, инсектима и одржава се у земљишту, стаблу, и биљним остацима. Такође, у епидемиологији ове бактерије значај има и епифитна популација на коровским биљкама које нису домаћини бактерије (Wallen и Sutton, 1965; Cafati и Saettler, 1980; Gent и сар., 2005).

Од инсекатских врста, ову бактерију преносе *Bremisia tabaci*, *Diaprepes abbreviatus*, *Cerotoma ruficornis* и *Epilachna varivestris*. Инфекција биљака се може оствари и преко земљишта, контактом између влажних листова као и воде за наводњавање (Форгић и Мрдак, 2013).

Основни извор инокулума је заражено семе, па се при увозу и производњи семена пасуља мора посветити велика пажња. Заражено семе пасуља може бити са и без видљивих симптома (латентне инфекције) или симптоми могу бити прикривени симптомима других обољења. Из спроводних ткива бактерија доспева у махуне, а одатле допире у семе остварујући унутрашњу заразу (Aggouri и сар., 1989).

Инфекција семењаче може настати и преко зида махуна. До заразе семена долази и током бербе, када семе доспева у контакт са зараженим биљним остацима (спољна зараза).

Биљке су најосетљивије у време интензивног транспорта хранљивих материја. Ипак, највећу осетљивост испољавају у периоду од клијања па до појаве 1-2 листа и у периоду од наливања до зрења (Арсенијевић, 1997).

Wallen i Galway (1979) наводе да се вирулентност бактерије у семену пасуља задржава и после шест година. Истраживања Wallen-а и Sutton-а (1965) су показале да и низак проценат заразе семена ($< 0,5 \%$) може да изазове значајне инфекције у пољским условима. Weller и Saettler (1980) су запазили да инфекција у пољу настаје када је присутна минимална популација бактерије на семену (10^3 – 10^4 бактерија/семе). Ови аутори такође наводе да присуство популације бактерије на наизглед здравом семену представља примарни извор инокулума. Из оболелог семена развијају се биљке у чије судове продиру бактерије, а потом допиру и до паренхимских ткива. Бактерија у виду ексудата избија на површину оболелог ткива. Секундарне заразе на биљкама се остварују преношењем инокулума ударима кишних капи, ветром или инсектима. Јаком интензитету болести нарочито доприноси кишовито време у фази ницања биљака. Масовно ширење паразита у нашим условима се запажа после цветања. Болест се појављује у јаком интензитету при кишовитом и влажном времену и температури око 28°C (Балаж и сар., 2010).

2. 3. СИМПТОМИ НА БИЉКАМА ПАСУЉА ИЗАЗВАНИ

X. a. pv. phaseoli

Спољне симптоме на биљкама је доста тешко разликовати од других бактериоза пасуља. Као и код осталих бактериоза ове биљке, тако и код ове болести, симптоми се срећу на свим надземним деловима биљака. Међутим, најчешће су промене на лишћу и на махунама (Арсенијевић, 1997).

На листовима у почетним фазама се уочавају влажне, светлозелене пеге разног облика и величине. Услед ширења патогена, пеге се међусобно спајају захватајући већи део лиске. Касније се суше и добијају мрку боју, а око њих се образује бледожута ивична зона. У оквиру пега се обично уочава бактеријски ексудат. Суви делови листа су крти, због чега се лако цепају и опадају (Балаж и сар., 2010).

На махунама се образују округле пеге, влажне и тамнозелене боје. Касније се ткиво у оквиру пега издиже и испуњено је обиљем бактеријског ексудата, а око пега се образује црвени прстен. Са махуна патоген продире у семе. Заражено семе пламењачом има сјајножућкасте пеге разне величине, а у случаји јаче заразе је и смежурано. Код ореолне пегавости мрље на семену су светлије боје али на зараженом семену не мора бити симптома (латентна инфекција). Због тога, детекција бактерија на семену захтева екстракцију бактерија из семена и њихову идентификацију, коришћењем разних дијагностичких метода (Васић и сар., 2008).

Из јаче зараженог семена, биљке обично не клијају, или и сама клица изумире. Слабије заражено семе клија дајући клијанце код којих често изумиру котиледони или страда тачка пораста (Арсенијевић, 1997).

У случају да су махуне инфициране путем судовних ткива, дуж шава махуне се образују тамнозелене, а касније црвенкасто-мрке, некротичне зоне (Балаж и сар.2010).

На стаблу млађих биљака формирају се ситне, влажне пеге, сличне онима на махунама. За разлику од антракнозе ове су пеге мање удубљене. На стаблу старијих биљака образују се дуге црвенкастомрке пруге, у оквиру којих често долази до пуцања ткива. Понекад и нодуси стабла бивају захваћени, услед чега се размекшавају и постају тамнозелени. Такве биљке се лако ломе и пропадају (Арсенијевић, 1997).

У случају системичне заразе, као последица напада спроводних судова, појављује се увелост и закржљавање биљке, што може бити изражено у већој или мањој мери. Код системично заражених биљака младо лишће често има мозаичан изглед. Последице су најштетније за сејанце, који могу бити потпуно уништени (Балаж и сар., 2010).

Сличне симптоме на листовима и махунама пасуља могу проузроковати и друге врсте бактерија као што су *P. s. pv. syringae*, *P. s. pv. phaseolicola* и *C. flaccumfaciens* (Schuster и сар., 1978).

2. 4. ИДЕНТИФИКАЦИЈА БАКТЕРИЈЕ

X. a. pv. phaseoli

Идентификација бактерије *X. a. pv. phaseoli* обухвата испитивање морфолошких, одгајивачких, биохемијско–физиолошких, патогених, серолошких и у новије време савремених молекуларних метода идентификације (Балаж и сар., 2010).

Бактерија је штапићастог облика (0.3-0.8 x 0.5-3.0 μm), грамнегативна, аспорогена, са монотрихим распоредом цилија. Припада роду *Xanthomonas* (Балаж и сар., 2010).

Род *Xanthomonas* на месопептонској подлози (МРА) образује жуте, округле и глатке колоније. На подлози од квашчевог екстракта и CaCO_3 са декстрозом (YDC), колоније имају слузав раст, жуте су, испупчене и сјајне (Балаж и сар., 2010).

X. a. pv phaseoli метаболише глюкозу само у аеробним условима, ствара каталазу, липазу, али не уреазу, а разлаже скроб, желатин и ескулин (Hayward и Waterson, 1965).

Оксидаза је негативна. Ствара H_2S , не редукује нитрате и не ствара индол. Патогеност изолата проверава се на махунама и сејанцима пасуља (Балаж и сар., 2010).

Провера патогености изолата проверава се на махунама и сејанцима пасуља инокулацијом (вештачко заражавање) биљака. Најчешће коришћени методи инокулације су прскање биљака суспензијом бактерија или озлеђивање биљног ткива (иглом, скалпелом, калемарским ножем), а затим наношење суспензије бактерије. У случају позитивних резултата симптоми се на биљкама појављују након пар дана (Балаж и сар., 2010).

У новије време, идентификација *X. a. pv phaseoli* углавном се заснива на изолацији бактерије на полуселективне подлоге (Claffin и сар., 1987; Mabagala и Saettler, 1992), коришћење савремених серолошких метода као што су: имунофлуоресцентна метода (IF) и имуноензимска метода на плочи (ELISA) (Schaad и сар., 2001) као и молекуларних метода међу којима је најпознатија метода ланчане реакције полимеразе (Polymerase chain reaction-PCR) (Audy и сар., 1994; Audy и сар., 1996; Toth и сар., 1998; Trigiano и сар., 2003). Увођењем савремених молекуларних метода PCR откривене су најбрже, најосетљивије и најспецифичније методе за детекцију *X. a. pv phaseoli* (Auds и сар., 1994).

2. 5. ОСЕТЉИВОСТ ГЕНОТИПОВА ПАСУЉА ПРЕМА

X. a. pv phaseoli

Сузбијање бактерије *X. a. pv phaseoli*, врши се употребом здравог семена, коришћењем вишегодишњег плодореда и применом пестицида, али највећу пажњу привлачи селекција отпорних сорти пасуља (Saettler, 1977).

Селекција отпорних сорти зависи од неколико фактора: вирулентности сојева бактерије, генотипа биљке домаћина, концентрације инокулума и старости лишћа у моменту инокулације. Утврђено је да постоје два типа колонија *X. a. pv. phaseoli* који се разликују у продукцији полисахарида. Такође је утврђено да настанак и величина пега зависе од количине произведеног полисахарида (Schuster и Coyne, 1975).

Млађе лишће је знатно осетљивије за инокулацију и концентрација бактерије од $5,4 \times 10^7$ cel/ml је оптимална за развој симптома обољења. Постоје подаци који говоре и о различитој осетљивости лишћа и махуна разних сорти пасуља на ову бактерију и та отпорност зависи од присуства неколико различитих гена у биљци (Saettler, 1997).

Варирање сојева бактерије у патогености уочена су на основу појаве симптома на различитим сортама и врстама пасуља (Coyne и Schuster, 1974).

Сорте *Phaseolus acutifolius*, показале су највећу отпорност, као и неке сорте и линије *Phaseolus coccineus*. Coyne и Schuster (1974) наводе да су све линије *P. vulgaris* које су испољиле висок ниво отпорности на проузроковача пламењаче пасуља, касниле и са цветањем и сазревањем махуна.

Отпорност према патогену повезује се и са хемијским саставом ћелијског сока, при чему недостатак хранљивих материја неопходних паразиту за размножавање доводи до појаве отпорности. Међутим, иако је отпорност биљака наследна и при укрштању прелази на хибридно потомство, под утицајем спољне средине се може променити. Чиниоци спољне средине утичу како на паразита, тако и на домаћина, мењајући при томе отпорност саме биљке. Доспевши у неповољне услове средине (температура, светлост, исхрана и др.) биљке постају неотпорне на паразита (Арсенијевић, 1997).

Бројна истраживања такође су показала да се фитопатогене бактерије умножавају и у ткивима резистентних и толерантних генотипова биљака домаћина (Sharen, 1959).

Sharen (1959) је проучавао динамику популације *X. a. pv. phaseoli* у ткиву листа три врсте пасуља различите осетљивости пасуља: Great Northern (осетљива), Scarlet Runner (високо резистентна), Тегару (толерантна). Исти аутор указује да је реакција резистентног домаћина таква да онемогућава даље умножавање бактерија. Међутим, Sharen (1959) такође наводи да коришћење високе концентрације инокулума за инфилтрацију лишћа, патоген успева да превазиђе гене отпорности толерантног домаћина и наставља да се умножава уништавајући лисно ткиво.

Извори отпорности су утврђени код неких генотипова пасуља као што је *P. vulgaris*, *P. acutifolius* и *P. coccineus*. Висок степен толерантности је испољен код PI 207262 (Колумбија), PI 197687 (Мексико), PI 163117, Great Northern Nebraska 1, sel 27 и др. Хибридизацијом *P. vulgaris* и *P. acutifolius* су створене интерспецијске инбрединг линије (IBL) носиоци отпорности према бактериозној пламењачи, назване XAN 150, HAN 160, XAN 161, VAX 1 и VAX 2 (Балаж и сар., 2010).

На Институту за ратарство и повртарство у данашњем оплемењивању пасуља најобимнији је био рад на стварању високоприносних сорти пасуља детерминантног стабла, а зрна са одликама традиционалних популација овог поднебља (Васић и сар., 2008). Последњих година створене су сорте обојеног пасуља: Златко, Сремац, као и сорте белог зрна: Двдесетица, Макса и Балкан. Наведене сорте имају одлике традиционалних популација овог поднебља, погодне су за гајење у чистом усеву и високог су потенцијала родности (Такач и сар., 2013).

У сортименту Института за ратарство и повртарство налазе се још и сорте Бисер, Панонски градиштанац, Панонски тетовац, Галеб, Крајинац, Креола, Белко, Астер, Левач, Паланачки златно жути, Бутмирски трешњо, Дарго, Игман (Васић и сар., 2008).

На основу резултата испитивања отпорности сорти/генотипова *P. vulgaris* на *X. a. pv. phaseoli* у нашим условима (2005/2006), најмање осетљиви су генотипови XAN 159, XAN 208, XAN 273, Oreol и HR 45, док је већина испитиваних сорти из категорије врло осетљивих (Опленац, Белко, Балкан, Двдесетица, Славонско жуто-зелени и др.) (Балаж и сар., 2010).

2. 6. ХЕМИЈСКО СУЗБИЈАЊЕ

X. a. pv. phaseoli

Поред основних мера заштите, као што је избор здравог семена за сетву пореклом са површина где није било заразе, плодород, отпорне сорте за сузбијање бактериоза на пасуљу обавезна је и употреба хемијских мера заштите. За дезинфекцију семена препоручују се препарати на бази етилмеркурихлорида и фенилмеркуриацетата. У ову сврху би се успешно могли и употребити препарати на бази бакароксината (Quinolate 20), каптана (Orthocide 83), тирама (Radotiram P и Temetid P-50) који се успешно користе против гљивичних паразита (Арсенијевић, 1997).

Сузбијање патогена у семену може се извршити потапањем семена у топлу воду (60С°) током 20 минута, тим поступком се смањује популација патогена, али и клијавост семена, док се дезинфекција етил - меркури хлоридом или фенил-меркури ацетатом у концентрацији 0,4 % показала као погоднија метода (Severin, 1971).

Примена антибиотика у сузбијању патогена у семену је отежана због потешкоћа у њиховом продирању у ова биљни орган. Уношење антибиотика са органским растварачима, веома често оштећује ембрион семена или уопште не допире до ембриона. Међутим, потапање семена у 25% полиетилен гликол или 60% глицерол не умањује клијање семена, а омогућава уношење антибиотика. Како наводе Liang и сар. (1992), за сузбијање егзогенних инфекција на семену пасуља може се користити антибиотик стрептомицин. Употребом овог антибиотика могуће је редуковати популацију бактерија у знатној мери, али се не постиже стопостотна ефикасност. Примена антибиотика за сузбијање фитопатогених бактерија у Р. Србији није дозвољена, стога је њихово сузбијање веома изазовно.

Семенске усеве треба гајити у сушним подручјима. Приликом наводњавања, по могућству избегавати вештачку кишу, јер распрскавање водених капи доприноси ширењу бактерија. Препоручује се заливање у браздама или коришћење система кап по кап (Балаж и сар., 2010).

Сузбијање *X. a. pv. phaseoli* у пољу се изводи превентивном применом препарата на бази бакра. Према резултатима испитивања у току 1988/1999, препарати на бази бакар-хидроксида (Champion и Cuprablau-Z), у условима спонтане заразе су обезбедили успешну заштиту пасуља (Балаж, 1991). Добре резултате у заштити пасуља показали су препарати на бази бакра (Funguran ОН, Cuproxat, Cuprozin 35 WP), као и применом препарата Bion (активатор системичне отпорности), самостално или у комбинацији са Dithane M-70 (Балаж и сар., 2010).

3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА

Задатак овог рада био је прикупљање узорака листова и махуна пасуља са симптомима бактериозне пламењаче, изолација и идентификација проузроковача применом стандардних бактериолошких метода.

Циљеви рада били су да се утврди присуство *X. a. pv. phaseoli* на биљкама пасуља током 2015 године, као и да се у пољским условима утврди ниво осетљивости различитих генотипова пасуља на овог проузроковача.

Најзначајнији циљ рада био је да се дефинише који су то мање осетљиви или отпорни генотипови пасуља у пољским условима.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Огледи оцене осетљивости и прикупљање узорака вршено је на огледном пољу Института за ратарство и повртарство у току 2015. године на 50 генотипова пасуља, који су засејни на међуредном растојању 70 x 50 према случајном блок систему. Током вегетације примењиване су основне агротехничке мере у усеvu пасуља.

4. 1. УЗИМАЊЕ УЗОРАКА

Узимање узорака на анализу вршено је пред крај вегетације. На основу симптома на листовима (мрке пега са бледожутом ивичном зоном и на махунама улегнуте пеге неправилног облика, мрке или црвенкасто-мрке боје) посумњало се да наведене промене проузрокује бактерија *X. a. pv. phaseoli*, након чега су прикупљени узорци доношени у Лабораторију за фитопатологију како би се детаљним испитивањима извршила идентификација патогена.

4. 2. ИЗОЛАЦИЈА ПАТОГЕНА

Прикупљени узорци махуна и листова пасуља, су прво опрани под млазом воде а потом површински дезинфиковани са 96% етанолом и просушени на филтер папиру. Фрагменти величине 1-2 mm узимани су са прелаза између здравог и оболелог биљног ткива, мацерирани у неколико капи стерилне дестиловане воде и после неколико минута мацерат је размазан помоћу петље у Петри кутије пречника 90 mm, стандардном методом размаза по површини месопептонске подлоге (МРА) и подлоге од квашчевог екстрата, декстрозе и калцијум карбоната (YDC).

Након три дана развоја при температури 27°C, вршен је преглед колонија. Колоније карактеристичне за *Xanthomonas* пресејане су на закошену подлогу са квашчевим екстрактом и CaCO₃ -YDC (Klement и сар., 1990; Балаж и сар., 2010).

Овим поступком добијен је већи број изолата од којих је за даљи рад одабрано 12 изолата.

У свим тестовима коришћене су културе бактерија гајене 48 часова при температури 27°C. Изолати бактерија су одржавани периодичним пресејавањем и чувани на подлози с квашчевим CaCO₃ (YDC) у епруветама са уљем, при температури 4°C.

За упоредна испитивања су коришћен је и контролни изолати бактерије *X. a. pv. phaseoli* (X 24 – Колекција трајних микробиолошких култура, Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет).

4. 2. 2. ИДЕНТИФИКАЦИЈА ИЗОЛАТА КЛАСИЧНИМ МЕТОДАМА

4. 2. 3. 1. Морфолошке одлике

- **Тест понашања по Граму**

Реакција по Граму је испитана помоћу КОН теста. Тест се изводи тако што се бактериолошком петљом захвати бактеријска колонија са храниве подлоге, стави на микроскопску плочицу и хомогенизује са неколико капи воденог раствора 3% КОН. Уколико се након хомогенизације бактерије са КОН образује слузаст кончић подизањем бактеријских ћелија помоћу бактериолошке петље, у питању је грам-негативна бактерија. Ћелијски зид Грам-негативних бактерија је осетљив на деловање база, те под утицајем КОН долази до његове дезорганизације и истицање слузавог ћелијског садржаја што се манифестује појавом „кончића“. У случају да се „кончић“ не образује у питању је грам-позитивна бактерија.

- **Облик бактеријских ћелија**

Облик бактеријских ћелија је испитан микроскопским прегледом. На стерилну предметну плочицу нанешена је кап суспензије бактерије сваког од испитиваних изолата. Након начињеног размаза суспензије на плочици, сушења препарата и фламбирања, препарат је обојен фуксином у трајању од 30 секунди. Препарат је потом испран текућом водом, осушен филтер папиром и посматран под уљном имерзијом помоћу микроскопа (под увећањем 100x10).

4. 2. 3. 2. Одгајивачке одлике

- **Одгајивачке одлике**

Одгајивачке одлике и развој колонија су утврђени на основу боје, величине и облика колонија на хранљивим подлогама МРА и подлози од квашчевог екстракта и CaCO_3 (YDC).

4. 2. 3. 3. Провера патогености изолованих бактерија

- **Хиперсензитивна реакција дувана**

Лишће дувана (*Nicotiana tabacum*) инокулисано је инфилтрацијом суспензије бактерија у ткиво мезофила листа. Контролни листови инфилтрирани су на исти начин дестилованом водом. Као позитивна контрола коришћен је сој *P. s. pv. syringae*. Појава хиперсензитивне реакције оцењена је након 24 часа.

Трулеж кришки кромпира

Пектолитичка активност испитивана је наношењем суспензије бактерије старости 24 часа на површину кришки кромпира. Кришке су постављене на навлажен филтер папир у Петри кутијама при собној температури, а резултати су читавани након 24 часа. Појава размекшавања ткива и ексудата знак је активности пектолитичких фермената.

- **Провера патогености инокулацијом махуна пасуља**

Патогеност изолата изведена је инфилтрацијом бактеријске суспензије у махуне пасуља. Негативну контролу су чиниле махуне инокулисане стерилном дестилованом водом. Махуне су након инокулације одржаване у влажној средини, два дана. Оцена инокулисаних махуна вршена је другог и петог дана.

- **Провера патогености инокулацијом биљака пасуља**

Патогеност проучаваних изолата бактерија, проверена је инокулацијом биљака пасуља сорти Златко и Двадесетица. Инокулација биљака рађена је након појаве прве тролиске, методом убода стерилном чачкалицом којом је претходно захваћена култура бактерије стара 24 сата. Контролне биљке третиране су на исти начин, само што је уместо културе бактерија коришћена стерилна, дестилована вода. Инокулисане биљке одржаване су у лабораторији у пластичној кутији у којој је одржавана влага и температура. Појава симптома праћена је током седам до десет дана.

- **Провера патогености инокулацијом семена пасуља**

Провера патогености проучаваних изолата бактерија рађена је и инокулацијом семена пасуља сорти Златко и Двадесетица. Семена су пре инокулације добро опрана и осушена на филтер папиру. У припремљену суспензију бактерија набубрела и озлеђена (убодом помоћу чачкалице) семена су потопљена на 45 минута. Контролна семена третирана су на исти начин, само што је уместо суспензије бактерија коришћена стерилна, дестилована вода. Промене су на инокулисаним биљкама праћене свакодневно, током 10 дана уз уобичајну негу.

- **Реизолација патогена**

По појави симптома са инокулисаних биљака и семена пасуља извршена је реизолација патогена у циљу потврде Кохових постулата.

4. 2. 3. БИОХЕМИЈСКО-ФИЗИОЛОШКЕ ОДЛИКЕ

- **Оксидативно - ферментативни метаболизам глюкозе О/Ф тест**

Способност разлагања глюкозе у аеробним или анаеробним условима, односно оксидативним или ферментивним путем, испитивана је коришћењем Hugh-Leifson - ове подлоге у коју је након стерилизације и хлађења до 50°C, додат филтрацијом стерилисан раствор глюкозе до коначне концентрације 1%. Подлога је засејавана у по две епрувете бактеријском културом старом 24 часа, од којих је једна заливена стерилним течним парафинским уљем, ради стварања анаеробних услова. Резултати су читавани након 7, 14 и 21 дан развоја при температури 27°C. Разлагањем глюкозе долази до стварања киселине и промене рН вредности подлоге, што се уочава променом боје индикатора додатог у подлогу. Промена боје подлоге из зелене у жуту у аеробним условима означава да бактерија разлаже глюкозу оксидативним, а у анаеробним условима ферментативним путем (Klement и сар., 1990).

- **Активност оксидазе**

Коришћен је Kovacs - ев метод за одређивање активности оксидазе. Стакленим штапићем захваћен је део колоније културе бактерије старе 24 часа и наношен на филтер папир навлажен свеже припремљен 1% воденим раствором тетраметил - парафенил - ендиамин - дихлорхидрата. Појава љубичасте боје у време од 10 - 15 секунди означава позитивну реакцију (Sands, 1990).

- **Хидролиза скроба**

За одређивање активности фермента амилазе, коришћена је месопептонска подлога са растворљивим скробом, засејана културом бактерије старом 24 часа. Након недељу дана око културе бактерије додато је неколико капи Луголовог раствора. Појава жуте боје око бактеријске колоније означава позитивну реакцију, док појава плаве боје означава да скроб није хидролизован, те реагује са Луголовим раствором дајући љубичасту боју (Lelliott и Stead, 1987).

- **Хидролиза желатина**

Разлагање желатина је знак протеолитичке активности бактерија. За овај тест коришћена је подлога са одређеним процентом желатина. После седам дана од засејавања очитани су резултати уз додавање Фрејзеровог реагенса (у 100 ml воде дода се 15 gr H_2Cl_2 и 20 ml HCl). Услед дејства живиног хлорида који је у саставу Фрејзеровог реагенса долази до преципитације (таложења) желатина. Уколико је желатин разложен од стране бактерија, односно није присутан око бактеријске колоније, та зона остаје просветљена, док се желатин преостао у периферним деловима подлоге, таложи под утицајем реагенса и тај део остаје млечно-беле боје. Уколико је ова реакција негативна-целокупна површина храниве подлоге постаје млечно-беле боје (Lelliott и Stead, 1987). Као негативна контрола употребљена је незасејана подлога (настаје таложење по целој кутији), а као позитивна контрола коришћен је изолат *P. s. pv. syringae*.

- **Хидролиза ескулина**

Проучавани изолати бактерија се засеју у течну подлогу од пептона, NaCl, гвожђе-цитрата у коју се додаје 1 g ескулина, при чему се рН подлоге подеси на 7.2. Припремљена подлога има плавичаст сјај, који око 48 сати након позитивне реакције изчежава. Промена боје у тамномрку или црну у времену од 7-14 дана од засејавања знак је позитивне реакције (Lelliott и Stead, 1987).

- **Стварање каталазе**

Као тест реагенс за доказивање стварања каталазе коришћен је водоник пероксид (H_2O_2). Бактериолошком петљом узима се пун захват колоније и размаже преко микроскопске плочице, затим се размаз прелије са неколико капи водоник пероксида (Fahy и Nauward, 1983), реакција ја тренутна. Појава мехурића гаса, насталих као резултат ослобађања кисеоника, знак је позитивне реакције, односно присуства каталазе у испитиваној култури.

- **Редукција нитрата**

Редукција нитрата је испитана на подлози хранљивог бујона са одређеним процентом нитрата. Резултати су очитани после десет дана од засејавања, уз додавање реагенаса. Као реагенси користе се следећи раствори: раствор скроба, KI и H₂SO₄. Појава тамно-мрке боје након додавања реагенаса означава позитивну реакцију (редукција нитрата до нитрита). Као тест изолат коришћена је *E. coli* (Арсенијевић, 1997).

4. 3. ОСЕТЉИВОСТ ГЕНОТИПОВА ПАСУЉА НА

X. a. pv. phaseoli

Узимајући у обзир значај генотипова пасуља и чињеницу да од проузроковача бактериозних обољења не постоје адекватне мере заштите, кроз ово испитивање желели смо да испитамо да ли има одређених разлика у осетљивости сорти и генотипова пасуља према *X. a. pv. phaseoli* које се гаје у нашим агроеколошким условима (Таб. 1.). Испитивање осетљивости сортимента вршено је на огледном пољу Института за ратарство и повртарство у фази заметања и формирања плодова. Степен заражености махуна вршен је методом визуелног прегледа према скали следећих вредности: 0—без симптома, 1 (1–5%), 2 (6–25 %), 3 (26–50 %), 4 (51–75 %), 5 (76–100% заражених махуна).

Упоредо је вршено оцењивање степена заражености листова истом методом визуелног прегледа према скали следећих вредности: 1-нема пега, 2-нема пега, али хлороза и некроза захватају 2% лисне површине; 3-до 5% пега на листу а 10% хлорозе или некрозе листа; 4-до 10% пега а 25% хлорозе или некрозе; 5-20% пега а 25% некроза или хлороза; 6-до 30% пега, а до 50% хлороза или некроза; 7-до 40% пега, тј. до 100% хлороза или некроза; 8 - до 50% пега односно хлороза или некроза 100% и 9-преко 50% пега на листу, тј. некроза или хлороза листа 100%.

Табела 1: Испитивани генотипови пасуља

Редни број	Шифра	Порекло	Сорта/Популација
1.	КП-243	Србија	Белко
2.	КП-331	Хрватска	СП - 81
3.	КП-329	БИХ	СП - 78
4.	КП-332	Хрватска	СП - 82
5.	КП-191	Србија	П. градиштанац
6.	КП-402	/	Шарени мирчов
7.	КП-15	Америја	Red kidney dark
8.	КП-146	Страна сорта	Sanilac
9.	КП-284	Србија	КП-284
10.	КП-328	БИХ	СП - 77
11.	КП-154	Србија	Медијана
12.	КП-12	Колумбија	А - 55
13.	КП-278	Србија	Жутозелени
14.	КП-281	Србија	КП-281
15.	КП-515	Словенија	Rdeči Limonček
16.	КП-241	Србија	Златко
17.	КП-466	Србија	НК 71/12
18.	КП- 467	Србија	НК 53/12
19.	КП- 513	Словенија	Maslenec
20.	КП- 293	Србија	КП- 293
21.	КП-330	БИХ	СП - 79
22.	КП- 289	Србија	КП- 289
23.	КП-261	Канада	Harwood
24.	КП-149	Србија	Балкан
25.	КП-340	Србија	СП - 96
26.	КП-507	Словенија	SRGB00030
27.	КП-51	БИХ	Бутмирски трешњо

28.	КП-277	Србија	Студеница, кулаш
29.	КП-290	Србија	КП-290
30.	КП-464	Србија	НК 62/12
31.	КП-81	Србија	КП-81
32.	КП-514	Словенија	Zgodnji rjav
33.	КП-148	Србија	Сремац
34.	КП-374	/	19/11
35.	КП-192	Србија	Панонски тетовац
36.	КП-506	Словенија	SRGB00311
37.	КП-139	Страна сорта	Dobrudžanski 7
38.	КП-287	Србија	КП-287
39.	КП-242	Србија	Двадесетица
40.	КП-338	БИХ	Сарајевски жути
41.	КП-287	Србија	КП-287
42.	КП-264	Србија	Жутозелени
43.	КП- 21	Србија	Розалија
44.	КП-336	Србија	СП - 91
45.	КП-279	Србија	Паланачки златножути
46.	КП-13	Америка	Naya Nayahit
47.	КП-153	Србија	Бисер
48.	КП-244	Србија	Макса
49.	КП-337	Србија	СП -92
50.	КП- 283	Србија	КП- 283

Добијени подаци су обрађени у софтверском пакету Statistica 13 (StatSoft, Inc.) применом Duncan теста

5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА СА ДИСКУСИЈОМ

5. 1. СИМПТОМИ БОЛЕСТИ

Проузроковач обичне пламењаче пасуља *X. a. pv. phaseoli* код нас се веома често јавља, нарочито када су повољни услови спољашње средине (дужи периоди са високом влажношћу ваздуха и високе температуре) и тада су штете и губици у приносу највећи. Симптоми се јављају на свим надземним биљним деловима, најчешће на лишћу и махунама, али може бити заражено и семе. На листовима у почетку пеге су ситне воденасте, неправилног облика, временом се повећавају, некротирају и захватају већу површину листа. Лишће постаје веома крто, некротичне пеге испадају па листови постају шупљикави. Око пега које некротирају и испадају присутан је и жути ореол (Сл. 1). На махунама у почетним фазама развоја болести пеге су ситне, тамнозелене, округласте и имају влажан изглед. Како болест напредује пеге се шире и постају благо испупчене и испуњене већом количином бактеријског ексудата, а око пега се формира црвени прстен (Сл. 2). Семе такође може бити заражено, јер патоген са махуна прелази и на семе.



Слика 1: Мрке пеге оивичене хлоротичним ореолом; природна зараза



Слика 2: Влажне тамнозелене, масне пеге; природна зараза

(Фото: Оригинал)

5. 2. ИЗОЛАЦИЈА ПАТОГЕНА

На подлози (YDC) после 48–72 сата инкубације на температури 25°C дошло је до развоја испипчених, сјајних бактеријских колонија жуте боје (Сл. 3). Пресејавањем појединачних колонија на коси агар добијене су чисте културе. Изолацијом је добијено 12 изолата, од којих су изолати 1/1, 1/2, 2/1, 2/2, 3/1, 3/2, 4/1, 4/2, 5/1 и 5/2 изоловани са оболелих листова пасуља, док су изолати 6/1 и 6/2 изоловани са оболелих махуна пасуља.



Слика 3: Изолација – Развој бактеријских колонија на YDC подлози

(Фото: Оригинал)

5. 2. 1. ИДЕНТИФИКАЦИЈА ИЗОЛАТА КЛАСИЧНИМ МЕТОДАМА

5. 2. 1. 1. Морфолошке одлике

- **Реакција по Граму**

Испитивани изолати бактерија формирају слузаст кончић у контакту са 3% КОН, на основу чега смо утврдили да припадају грамнегативним бактеријама, тј. да је њихов ћелијски зид осетљив на деловање база.

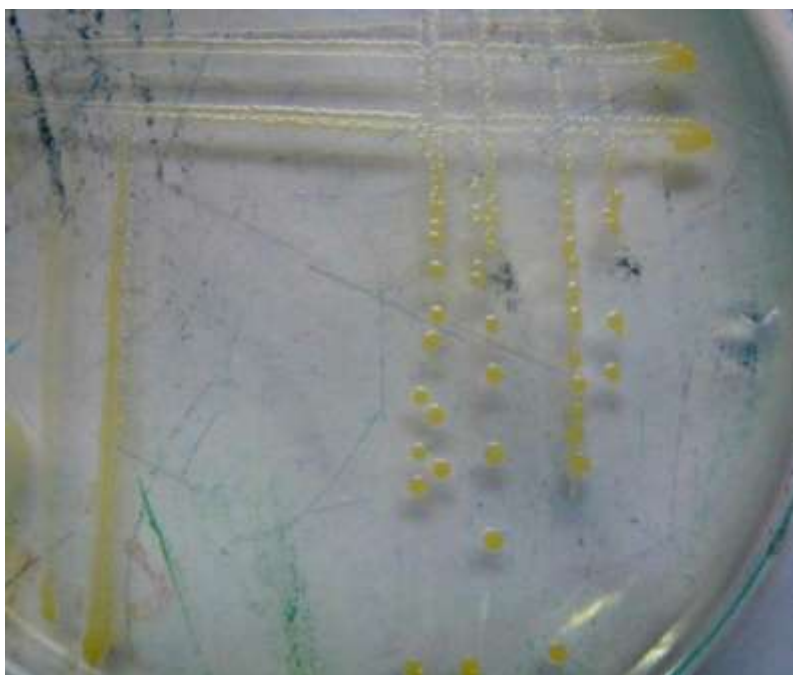
- **Облик бактеријских ћелија**

Испитивани изолати бактерије су у виду кратких штапића са заобљеним крајевима.

5. 2. 1. 2. Одгајивачке одлике

- **Одгајивачке одлике**

На месопептонској подлози (МРА), три дана од засејавања, сви проучавани изолати образују жуте, округласте, глатке колоније, пречника 2-3 mm (Сл. 5). На подлози од квашчевог екстрата и CaCO_3 (YDC) колоније бактерија су знатно крупније, испупчене, жуте и слузастог изгледа, пречника 3-4 mm (Сл. 3).



Слика 5: Изглед колонија на МРА подлози

(Фото: Оригинал)

5. 2. 1. 3. Провера патогености изолованих бактерија

- **Хиперсензитивна реакција дувана**

Након инфилтрације суспензије испитиваних изолата у мезофил листа дувана, није дошло до појаве хиперсензитивне реакције - реакција је била негативна.

- **Трулеж кришки кромпира**

Испитивани изолати не поседују пектолитичке ензими те не проузрокују трулеж кришки кромпира. Трулеж кришки кромпира је проузроковао само контролни изолат (*E. carotovora* subsp. *carotovora*).

- **Провера патогености инокулацијом махуна пасуља**

Другог дана након инокулације махуна бораније код свих испитиваних изолата уочене су промене у зони инфилтрације суспензије. Пеге код свих изолата су биле воденасте, масне, прозрачне, пречника око 7mm.

Петог дана на свим инокулисаним махунама уочене су удубљене пеге у оквиру којих се јавља некроза (Сл. 6.). Код већине пеге у централном делу уочено је присуство бактеријског ексудата (Сл. 7).



Слика 6: Потпуно некротирано ткиво
у оквиру пеге



Слика 7: Бактеријски ексудат
у оквиру пеге

(Фото: Оригинал)

- **Провера патогености инокулацијом биљака пасуља**

Трећи дан након инокулације свим испитиваним изолатима дошло је до појаве симптома на инокулисаним биљкама пасуља. На свим инокулисаним биљкама, код обе сорте пасуља уочен је исти тип симптома. Око места инокулације дошло је до развоја пега масног изгледа (Сл. 8) Наредних дана изглед пега се мењао, односно постале су јаче уочљиве.



Слика 8: Појава симптома на месту убода

(Фото: Оригинал)

Петог дан код свих испитиваних изолата у оквиру места инокулације уочена је појава воденастих пега које се елиптично шире и захватају веће делове стабла. Биљке се криве и повијају услед настале некрозе, ткиво се размекшава и јавља обиље бактеријског ескудата као резултат ширења бактерија судовним елементима (Сл. 9, 10). До краја огледа (десети дан) на контролим биљкама нису уочене никакве промене.



Слика 9: Пучање стабла
услед ширења некрозе



Слика 10: Разводњавање ткива;
појава бактеријског ескудата

(Фото: Оригинал)

- **Провера патогености инокулацијом семена пасуља**

Петог дана након извршене инокулације семена код обе сорте и свих испитиваних изолата дошло је до појаве симптома. (Сл. 11). На местима инокулације (око убода) пеге су влажне и прозрачне (Сл. 12). Наредног дана око убода пеге почињу да тамне а поједина семена се смежуравају.

На крају огледа 7–8 дан ширењем бактерија дошло је до разводњавања и пропадања биљног ткива (Сл. 13). На контролим семенима, инокулисаним стерилном водом до краја огледа није дошло до промена.



Слика 11: Појава влажних пега на месту убода **Слика 12:** Ширење пега око места убода



Слика 13: Потпуно разводњен котиледон са обиљем бактеријског ескудата

(Фото: Оригинал)

- **Реизолација патогена**

Реизолацијом из инокулисаних биљака и семена (котиледоних листова) пасуља, добијен је већи број реизолата, који су својим изгледом одговари изолатима са којима је вршена инокулација.

5. 2. 1. 2. Биохемијско-физиолошке одлике

- **Оксидативно - ферментативни метаболизам глукозе О/Ф тест**

Промена боје подлоге у жуту, услед смањења рН вредности, указује да стварају киселине из глукозе. Појава жуте боје прво се уочава на врху подлоге а касније подлога у целости добија жуту боју. Према резултатима сви испитивани изолати су разложили глукозу оксидативним путем.

Испитивани изолати нису разлагали глукозу ферментативним путем те није дошло до промене боје подлоге, на основу чега се може закључити па проучавани изолати припадају групи аеробних бактерија. Иста реакција је карактеристична за бактерију *P. fluorescens*, док је контролни изолат *E. carotovora* проузроковао промену боје подлоге у жуту како оксидативним путем тако и ферментативним, што значи да је ова бактерија факултативни анаероб.

- **Активност оксидазе**

Након 10-15 секунди од наношења бактеријске колоније на филтер хартију са реагенсом, није дошло до појаве љубичасте боје. Утврђено је да испитивани изолати не стварају фермент оксидазу.

- **Хидролиза скроба**

Сви испитивани изолати хидролизују скроб, око бактеријских колонија дошло је до појаве жуте боје као знака позитивне реакције након додавања Луголовог раствора. (Сл. 14).

- **Хидролиза желатина**

Седмог дана након засејавања изолата бактерија на подлогу са желатином, преко колонија додат је Фрејзеров реагенс. Око бактеријских колонија дошло је до појаве прозрчане зоне као знака позитивне реакције, односно знак да је желатин потрошен од стране испитиваних изолата (Сл. 15).

- **Хидролиза ескулина**

Појава тамно мрке до црне боје подлоге указује да сви проучавани изолати разлажу ескулин. Код незасејане подлоге - контрола, боја подлоге је остала непромењена. (Сл. 16)

- **Стварање каталазе**

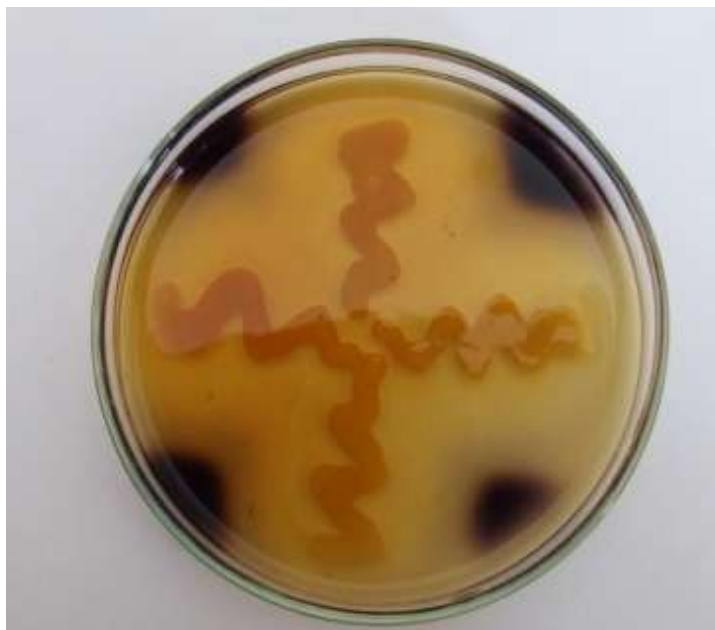
Наношењем култура испитиваних изолата (старих 48 сати) у кап 20% водоникпероксида (H_2O_2) и њиховим мешањем на микроскопској плочици дошло је до појаве мехурића услед ослобађања кисеоника што позитивна реакција на присуство каталазе у култури бактерије (Сл. 17).

- **Редукција нитрата**

У подлози са засејаним културама испитиваних изолата, старих 48 часова, након петог дана додавањем скроба, калијум јодида и сумпорне киселине није дошло је до појаве ћилибарне боје у подлози, односно изолати не редукују нитрате у нитрите. Резултати биохемијско–физиолошких тестова приказани су у табели 2.

Табела 2. Тестови идентификација ензимске активности изолата

Изолат	Оксидаза	Скроб	Желатин	Ескулин	Каталаза	Нитрати
1/1	-	+	+	+	+	+
1/2	-	+	+	+	+	+
2/1	-	+	+	+	+	+
2/2	-	+	+	+	+	+
3/1	-	+	+	+	+	+
3/2	-	+	+	+	+	+
4/1	-	+	+	+	+	+
4/2	-	+	+	+	+	+
5/1	-	+	+	+	+	+
5/2	-	+	+	+	+	+
6/1	-	+	+	+	+	+
6/2	-	+	+	+	+	+
X - 24	-	+	+	+	+	+

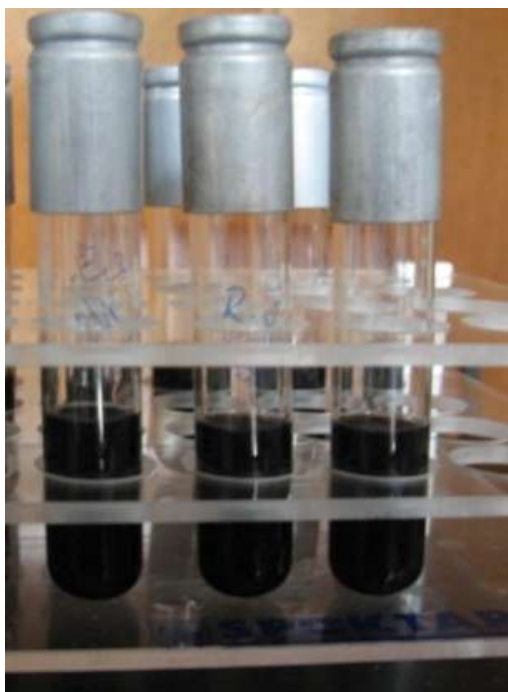


Слика 14: Појава жуте боје након додавања Луголовог раствора–хидролиза скроба



Слика 15: Појава просветљених зона око колонија бактерија
-позитивна реакција; горе ; доле-негативна контрола)

(Фото: Оригинал)



Слика 16: Хидролиза ескулина

Слика 17: Појава мехурића услед
издвајања кисеоника каталаза

(Фото: Оригинал)

5. 3. ОСЕТЉИВОСТ ГЕНОТИПОВА ПАСУЉА ПРЕМА

X. a. pv. phaseoli

Испитивани генотипови пасуља испољили су различит степен осетљивости према бактерији *X. a. pv. phaseoli* у природним условима заразе. На основу добијених резултата сви генотипови сврстани су у четири групе, чија је просечна оцена осетљивости износила 3,46. Као толерантни показали су се генотипови из групе један СП 82, Панонски градиштанац, Прелом, Шарени Мирчов Двдесетица са просечном оценом осетљивости 2, што према скали износи 6–25 % заразе на листу.

Према добијеним вредностима најосетљивијим су се показали генотипови из групе четири КП-284, Бутмирски трешњо, Red kidney dark са просечном оценом 5, што према скали чини 75–100 % заразе на листу.

Незнатну осетљивост су показали генотипови: А-55, Naya Nayahit, Жутозелени, Red kidney dark, Паланачки златножуи, КП 289, КП 283, Harwood, Бисер, КП 287, Добруджанске 7, Сремац, СП 96, СП 78, СП 77, СП-81, Zgodnji rjav, КП-243, КП-81, SRGB 00311, Rdeči Limonček са оценом 3 (26 – 50 %). У трећу групу сврстани су генотипови КП-290, КП-293, Балкан, Студеница, Панонски тетовац, Медијана, Розалија, НК 62/12, НК 71/12, НК53/12, Сарајевски жути, 19/11, КП-281, Златко, Макса, Санилак, СП-91, СП-92, СП-79, SRGB00030, Maslemec са оценом 4 (51–75 %). Према подацима, већина испитиваних генотипова припадали су групама два и три.

Табела 3: Просечне оцене испитиваних генотипова

Група	Генотип	Оцена
1.	КП 82, Панонски градиштанац Прелом, Шарени Мирчов, Двадесетиц	2
2.	А-55; Naya Nayahit, Naya Nayahit; Жутозелени; Red kidney dark, Паланачки златножути; КП- 289; КП-283; Harwood; Бисер; КП-287; Dobrudžanski 7; Сремац; СП - 96 КП -78; КП -77; КП - 81; Zgodnji rjav; Белко; КП-81; SRGB00311; Rdeči Limonček	3
3.	КП-290; КП-293; Балкан; Студеница; Панонски тетовац; Медијана; Розалија; НК 62/12; НК 71/12; НК 53/12; Сарајевски жути; 19/11; КП- 281; Златко; Макса; Sanilac; КП - 91; КП - 92; КП -79; SRGB00030; MESLENEC	4

4.	КП-284; Бутмирски трешњо; Red kidneydark	5
Просек		3,46

Степен заразе мехуна био је различит код испитиваних генотипова. На генотипу КП-243 нису примећени симптоми заразе махуна, док је највећа зараза махуна забележена код генотипа КП-283 (2,33). Код испитивања осетљивости махуна нису забележене статистички значајне разлике (Табела 4).

Табела 4: Просечне оцене интензитета заразе махуна

Редни бр.	Генотип	Просечна оцена махуна*
1.	КП-243	0,0 ^a
2.	КП-331	0,1 ^{ab}
3.	КП-329	0,12 ^{ab}
4.	КП-332	0,22 ^{abc}
5.	КП-191	0,22 ^{abc}
6.	КП-402	0,22 ^{abc}
7.	КП-15	0,33 ^{abcd}
8.	КП-146	0,33 ^{abcd}
9.	КП-284	0,33 ^{abcd}
10.	КП-328	0,55 ^{abcde}
11.	КП-154	0,55 ^{abcde}
12.	КП-12	0,55 ^{abcde}
13.	КП-278	0,55 ^{abcde}
14.	КП-281	0,55 ^{abcde}
15.	КП-515	0,55 ^{abcde}
16.	КП-241	0,55 ^{abcde}
17.	КП-466	0,55 ^{abcde}
18.	КП- 467	0,66 ^{abcdef}
19.	КП- 513	0,66 ^{abcdef}
20.	КП- 293	0,66 ^{abcdef}
21.	КП-330	0,66 ^{abcdef}

22.	КП- 289	0,66 ^{abcdef}
23.	КП-261	0,66 ^{abcdef}
24.	КП-149	0,77 ^{abcdef}
25.	КП-340	0,77 ^{abcdef}
26.	КП-507	0,77 ^{abcdef}
27.	КП-51	0,77 ^{abcdef}
28.	КП-277	0,88 ^{abcdef}
29.	КП-290	0,88 ^{abcdef}
30.	КП-464	0,88 ^{abcdef}
31.	КП-81	1,0 ^{abcdef}
32.	КП-514	1,0 ^{abcdef}
33.	КП-148	1,0 ^{abcdef}
34.	КП-374	1,0 ^{abcdef}
35.	КП-192	1,0 ^{abcdef}
36.	КП-506	1,0 ^{abcdef}
37.	КП-139	1,11 ^{abcdef}
38.	КП-287	1,11 ^{abcdef}
39.	КП-242	1,11 ^{abcdef}
40.	КП-338	1,11 ^{abcdef}
41.	КП-287	1,11 ^{abcdef}
42.	КП-264	1,11 ^{abcdef}
43.	КП- 21	1,22 ^{bcdef}
44.	КП-336	1,33 ^{cdef}
45.	КП-279	1,44 ^{defg}
46.	КП-13	1,55 ^{efg}
47.	КП-153	1,66 ^{efg}
48.	КП-244	1,77 ^{fg}
49.	КП-337	1,77 ^{fg}
50.	КП- 283	2,33 ^g

*вредности праћене истим словом/словима су на истом нивоу значајности при $p < 0,05$

6. ЗАКЉУЧАК

На основу резултата добијених током испитивања у 2015. години, може се закључити следеће:

- Са узорака листова и махуна пасуља пореклом са огледних поља Института за ратарство и повртарство, Нови Сад успешно је извршена изолација бактерија и добијен већи број изолата, од којих је за даља испитивања одабрано 12.
- Испитивани изолати припадају групи грамнегативних бактерија, штапићастог су облика са заобљеним крајевима.
- На месопептонској подлози (МРА) проучавани изолати образују жуте, округласте, глатке колоније, пречника 2-3 mm. На подлози од квашчевог екстрата и CaCO_3 (YDC) колоније бактерија знатно крупније, испупчене, жуте и слузастог изгледа, пречника 3 - 4 mm.
- Испитивани изолати не проузрокују хиперсензитивну реакцију дувана и не поседују пектолитичке ензиме.
- Патогеност изолата је доказана на махунама, младим биљкама и семену пасуља. Са инокулисаних клијанаца и семена пасуља успешно је извршена реизолација.
- Изолати бактерија припадају групи аеробних бактерија, не стварају фермент оксидазу, хидролизују скроб, разлажу желатин и ескулин, каталаза је присутна и не редукују нитрате, на основу чега је закључено да припадају роду *Xanthomonas*, односно врсти *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*.
- Испитивани генотипови пасуља испољили су различит степен осетљивости на испитивану бактерију у природним условима заразе. Као толерантни показали су се генотипови СП 82, Панонски градиштанац, Прелом, Шарени Мирчов, Двдесетица.

Према добијеним вредностима као најосетљивији су се показали генотипови КП-284, Бутмирски трешњо, Red kidney dark. Незнатну осетљивост су показали генотипови: А-55, Naya Nayahit, Жутозелени, Red kidney dark, Паланачки златножуи, КП 289, КП 283, Harwood, Бисер, КП 287, Добруџанскс 7, Сремац, СП 96, СП 78, СП 77, СП-81, Zgodnji rjav, КП-243, КП-81, SRGB 00311, Rdeči Limonček

7. ПРИЛОЗИ

- **Подлога од квашчевог екстракта и CaCO_3 YDC подлоге**

Квашчев екстракт 10 g

Декстроза 5 g

CaCO_3 20 g

Агар 15 g

Дестилована вода 1000 ml

- **Месопептонска подлога (МРА)**

Месни екстракт..... 3 g

Пептон..... 10 g

NaCl 5 g

K_2HPO_4 2 g

Агар..... 12 g

Дестилована вода..... 1000 ml

- **Hugh-Leifson-ova подлога за O/F тест**

Пептон..... 2 g

NaCl 5 g

K_2HPO_4 0.3 g

Глукоза..... 10 g

Агар..... 3 g

Бромтимол плаво..... 0.03 g

Дестилована вода..... 1 l

10% раствор глукозе се посебно стерилише филтрацијом, а затим се додаје основној подлози до коначне концентрације 1%.

- **Подлога за хидролизу скроба**

Храњиви агар..... 28 g

Скроб..... 2 g

Дестилована вода..... 1 l

- **Подлога за хидролизу желатина**

Храњиви агар..... 28 g

Желатин..... 4 g

Дестилована вода..... 1 l

- **Подлога за хидролизу ескулина**

Пептон..... 10 g.

Ескулин..... 1 g.

Фериамонијум цитрат..... 0.5 g.

Агар..... 12 g.

Дестилована вода..... 1 l

- **Подлога за редукцију нитрата**

Пептонска вода..... 1 l

NaNO₃..... 0.01 g.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Миладиновић, Ж., Поповић, М., Ивовић, Ђ. (1982): Пасуљ, грашак, боранија, боб; Нолит, Београд
2. Aggour, A.R., Coyne, D.P., Vidaver, A.K. and Eskridge, K.M. (1989): Transmission of the common blight pathogen in bean seed. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 114(6): 1002-1008
3. Arsenijević, M., Balaž, J., Ozorak, G. (1985): *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye kao parazit boranije i pasuqa u nas. Zaštita bika 173, 273 - 285.
4. Audy, P., C. E. Braat, G. Saindon, H. C. Huang, A. Laroch (1996): Arapid and sensitive PCR - based assay for concurrent detection of bacteria causing common and halo blights in ben seed. Phytopathology 86, 361 - 366.
5. Audy, P., Laroche, A., Saindon, G., Huang, H. C., Gilbertson, R. L. (1994): Phytopathology 84, 1185 - 1192.
6. Cafati, C. R., Saettler, A. W. (1980): Role of nonhost species as alternate inoculum sources of to *Xanthomonas phaseoli*. Plant Disease 64, 194 - 196
7. Claffin, L. E., Vidaver, A. K., Sasser, M. (1987): MXP, a semi-selective medium for *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli*. Phytopatologi 77, 730-734.
8. Coyne, D. P., Schuster, M. L. (1974): Differential reaction of pods and foliage of beans (*Phaseolus vulgaris*) to *Xanthomonas phaseoli*. Plant Dis. Rep., 278-282
9. Fahy, P. C., Persley, G. J. (1983): Plant Bacterial Diseases. A Diagnostic Guide. Academic Press, Toronto
10. Franc, G. D. (1998): Bacterial Diseases of Beans. Cooperative Extension Service, University of Wyoming
11. Gent, D. H., Lang, J. M., Schwartz, H. F. (2005): Epiphytic survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* on leguminous hosts and onion. Plant Dis. 89, 558 - 564.
12. Hayward, A. C., Waterson, J. M. (1965): *Xanthomonas phaseoli*. C. M. I. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria No. 48.

13. Kiryakov, I., V. Kiryakova, Penchev, E. (1996): Difference in the virulence of strains of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye. Ier Taller Internacional Sobre Bacteriosis Comun del Frijol de 1996, Puerto Rico, 45 - 52.
14. Klement, Z., Rudolph, M., Sands, D. C. (1990): Methods in Phytobacteriology, Akademia Kiado, Budapest, Hungary
15. Lahman, L. K., Schaad, N. W. (1985): Evaluation of the "dome test" as a reliable assay for seedborne bacterial blight pathogens of beans. Plant Dis. 69, 680 - 683.
16. Lelliott, R. A. and Stead, D. E. (1987): Pathovars of *Xanthomonas campestris* are distinguishable by restriction fragment - length polymorphism. International Journal of plants. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
17. Liang, L. Z., Halloin J. M., Saettler, A. W. (1992): Use of polyethylene glycol and glycerol as carries of antibiotics for reduction of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in navy bean seeds. Plant Dis. 76, 875 - 979.
18. Mabagala, R. B., Saettler, A. W. (1992): An improved semiselective medium for recovery for *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. Plant Dis. 76, 443 - 446.
19. Марић, А., Обрадовић, А., Мијатовић, М. (2001): Атлас болести повртарских биљака. Центар за повртарство, Смедеревска паланка; Школска књига, Нови Сад; Заједница за воће и поврће, Нови Београд; 180 стр.
20. Saettler, A. W. (1977): Breeding dry edible beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for tolerance to *Xanthomonas* bacterial blights. Fitopatologia Brasileira 2, 179 - 186.
21. Saettler, A. W. (1977): Breeding dry edible beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for tolerance to *Xanthomonas* bacterial blights. Fitopatologia Brasileira 2, 179 - 186.
22. Sands, D. C. (1990): Physiological criteria for determinative tests. In: Methods in phytobacteriology. (Eds.) Klement, Z., Rudolf, K., Sands, D. Akademia Kiado, Budapest, 134 - 143.
23. Schaad, N. W., Jones, J. B., Lacy, G. H. (2001): *Xanthomonas*. In: Laboratory Guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria (Ed. Schaad, N. W., Jones, J. B., Chun, W.), The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 175-199
24. Schuster, M. L., Coyne D. P. (1975): Genetic variation in bean bacterial pathogens. Euphytica 24, 143 - 147.
25. Schuster, M. L., Coyne, D. P., Hulluka, M., Lisa Brezina, Kerr, E. D. (1978): Characterization of bean bacterial diseases and implications in control by breeding for resistance. Fitopatologia Brasileira Vol. 2, 149 - 160.

26. Schuster, M., Cyone, D. P., Hulluka, M., Lisa, Brezina, Kerr, E. D. (1978): Characterization of bean bacterial diseases and implications in control by breeding for resistance. *Fitopatologia Brasileira* Vol. 2, 149 - 160.
27. Severin, V. (1971): Cercetaria asupra prevenirii arsurii comune a fasolei (*X. phaseoli* (E. F. Smith Dowson). *Analele institutului de cercetari protectia plante* VII, 125 - 139.
28. Sharen, A., L. (1959): Comparative population trends of *Xanthomonas phaseoli* in susceptible field tolerant and resistant host. *Phytopathology* 49, 425 - 428.
29. Toth, I. K., Hyman, L. J., Taylor, R., Birch, P. R. J. (1998): PCR - based detection of *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli* var. *fuscans* in plant material and its differentiation from *X. c. pv. phaseoli*. *Journal of Applied Microbiology* 85, 327 - 336.
30. Trigiano, R. N., Windham, M. T., Windham, A. S. (2003): *Plant Pathology: Concepts and Laboratory Exercises*. CRC Press.
31. Wallen, V. R., Galway, D. A. (1977): Bacterial blight of field bean disease progress, yield loss, and crop canopy development in principal cultivars in Ontario. *Can. Plant Dis. Surv.* 57, 61-64
32. Wallen, V. R., Sutton, M. D. (1965): *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* (Burkh) Starr Burkh. on field bean in Ontario. *Canada Journal of Botany* 43, 437 - 446.
33. Wellwe D. M., Saettler, A. W. (1980): Evaluation of seedborne *Xanthomonas phaseoli* and *X. phaseoli* var. *fuscans* as primary inocula in bean blight. *Phytopathology* 70
34. Wellwe D. M., Saettler, A. W. (1980): Evaluation of seedborne *Xanthomonas phaseoli* and *X. phaseoli* var. *fuscans* as primary inocula in bean blight. *Phytopathology* 70
35. Wimalajeewa, D. L. S., Nancarrow, R. J. (1980): Survival in soil of bacteria causing common and halo blights of french bean in Victoria. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*
36. Алексић, Ж., Алексић, Д., Шутић, Д. (1980): Болести поврћа и њихово сузбијање. Нолит, Београд, Југославија, 268 стр.
37. Арсенијевић, М. (1982): Бактериозе пасуља и бораније. *Заштита биља* 161, 347 - 356.
38. Арсенијевић, М. (1997): Бактериозе биљака. С-Принт, Нови Сад
39. Арсенијевић, М., Балаж, Ј. (1974): Проузроковач орепне (масне) пегавости пасуља. *Биљни лекар* 4, 123 - 126.
40. Арсенијевић, М., Балаж, Ј. (1980): Бактериозе бораније и могућност њиховог хемијског сузбијања. IV југословенски симпозијум о заштити биља. *Гласник заштите биља* 11, 380.
41. Арсенијевић, М., Балаж, Ј., О
42. Балаж, Ј. (1996): Бактериозе на пасуљу и боранији. *Биљни лекар*, 4: 337-342.
43. Балаж, Јелица (1991): Испитивање могућности хемијског сузбијања *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) паразита пасуља, *Пестициди*, 6, 171 - 173

44. Балаж, Јелица, Поповић, Татјана, Васић, Мирјана (2008): Разрада методе за доказивање *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* на семену пасуља; Научни рад, Институт за ратарство и повртарство Нови Сад,
45. Балаж, Јелица, Стојшин, Вера, Балаж, Ф. Ф., Тошић, Т. М., Баги, Ф. Ф. (2010): Фитопатологија - болести ратарских и повртарских биљака; Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду
46. Билић Весна (2014): Пасуљ; Република Србија, Пољопривредна саветодавна служба АП Војводине“Актуелни саветник“, бр. 7
47. Билић Весна (2014): Пасуљ; Република Србија, Пољопривредна саветодавна служба АП Војводине“Актуелни саветник“, бр. 7
48. Васић, Мирјана (2004): Генетичка дивергентност пасуља. Задужбина Андрејевић
49. Васић, Мирјана., Тодоровић, Вида, Тодоровић, Ј. (2008): Пасуљ и боранија; Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад, Пољопривредни факултет, Бања Лука
50. Видовић, Олга (1964): Ботаничка систематика пасуља. Пољопривредни преглед, Сарајево
51. Росић К. (1957): Истраживање биолошких особина најраспрострањенијих сората пасуља *Phaseolus vulgaris* L. Сави на Космету у вези одређивања њихове економске вредности. Библиотека архива за пољопривредне науке, свеска 13, 72 стр.
52. Спасојевић, Б., Станчев, С., Старчевић, Љ., Маринковић, Б. (1984): Посевно ратарство I, Пољопривредни факултет Нови Сад
53. Такач, А., Гвозденовић, Ћ., Гвозденовић - Варга, Јелица, Јовићевић, Д., Червенски, Ј., Васић, Мирјана, Поповић, В., Глоговац, Светлана, Данојевић, Д. (2013): Сортимент поврћа за сетву 2013. године; Зборник реферата, 47. саветовање агронома Србије; Златибор, Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад, стр. 153, 1 - 289
54. Тешић, Ж. (1946): Бактериозе нашег пасуља. Архива за пољопривредне науке, Год. I, 1 - 44.
55. Форгић, Гордана, Мрдак, Гордана (2013): Значај бактериозне пегавости пасуља *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, Пољопривредна Саветодавна Служба АП Војводине Poljoprivredna Savetodavna Služba AP Vojvodine, Сомбор, стр. 30.