

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

**Milan M. Šević**

**INTEGRALNA ZAŠTITA PAPRIKE OD  
BAKTERIOZNE PEGAVOSTI BIOLOŠKIM I  
HEMIJSKIM METODAMA**

**doktorska disertacija**

**Beograd, 2019.**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE**

**Milan M. Šević**

**INTEGRATION OF BIOLOGICAL AND  
CHEMICAL METHODS IN CONTROL OF  
PEPPER BACTERIAL SPOT**

**Doctoral Dissertation**

**Belgrade, 2019.**

Mentor:

dr Aleksa Obradović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

---

KOMISIJA ZA OCENU I ODBRANU DOKTORSKE DISERTACIJE:

Članovi komisije:

1. dr Milan Ivanović, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

---

2. dr Milan Stević, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

---

3. dr Jasmina Zdravković, naučni savetnik

Institut za povrtarstvo, Smederevska Palanka

---

4. dr Katarina Gašić, viši naučni saradnik

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

---

5. dr Mila Grahovac, docent

Univerzitet u Novom Sadu – Poljoprivredni fakultet

---

Datum odbrane doktorske disertacije: \_\_\_\_\_

# Integralna zaštita paprike od bakterijske pegavosti biološkim i hemijskim metodama

Milan M. Šević

## SAŽETAK

Bakterijska pegavost koju prouzrokuje *Xanthomonas euvesicatoria* je najrasprostranjenija i ekonomski najštetnija bakterioza paprike u Srbiji. Raspoložive mere zaštite često bivaju izostavljene ili nisu dovoljno efikasne, stoga zaštita paprike od ovog patogena predstavlja stalan izazov, posebno pri povoljnim uslovima za razvoj bolesti. Kontrolu bolesti dodatno otežava pojava novih rasa bakterije i razvoj sojeva rezistentnih prema antibioticima i jedinjenjima bakra. Stoga postoji potreba za razvojem nove održive strategije u kontroli bolesti. Biološke metode kao što su primena bakteriofaga, virusa koji parazitiraju bakterije, i neke novije alternativne metode primena aktivatora sistemične opornosti biljaka, ukazuju na mogućnost razvoja efikasne strategije za suzbijanje *X. euvesicatoria*. Integralna zaštita paprike upotrebom bioloških i hemijskih metoda može predstavljati novi alternativan metod koji bi omogućio efikasnu i održivu zaštitu paprike od ove bolesti. U ovom radu, u cilju razvoja integralnog programa zaštite paprike od bakterijske pegavosti, proučena je efikasnost bioloških agenasa bakteriofaga (soj KΦ 1), *Bacillus subtilis* (sojevi AAac i QST 713), aktivatora sistemične otpornosti (acibenzolar-S-methyl - ASM), komercijalnog mikrobiološkog đubriva (Slavol), bakarnih preparata (bakar-hidroksid i bakar-oksihlorid), primenjenih samostalno ili u kombinaciji sa mankozebom i antibiotika (streptomycin sulfata i kasugamicina). Na osnovu efikasnosti pojedinačnih tretmana, različite kombinacije tretmana su integrisane radi proučavanja efikasnosti u tri zasebna eksperimenta u uslovima otvorenog polja. Takođe, proučen je uticaj ASM na porast i prinos biljaka paprike u uslovima fitokomore i uslovima otvorenog polja. Koncentracija ASM od 0,0015% pokazala se kao veoma efikasna u kontroli bolesti, pri čemu je ispoljila minimalan negativan uticaj na porast i prinos biljaka paprike.

Svi pojedinačni tretmani su značajno umanjili intenzitet oboljenja u poređenju sa netretiranom inokulisanom kontrolom izuzev tretmana mikrobiološkim đubrivom i antagonističkim sojem *B. subtilis* AAac. Tretmani bakarnim preparatima, antibioticima, ASM i bakteriofagima pokazali su visok nivo efikasnosti, dok je tretman sojem *B. subtilis* QST 713 bio manje efikasan.

Svi integrisani tretmani bioloških agenasa, ASM i bakar-hidroksida, proučavani u tri eksperimenata u polju značajno su umanjili intenzitet oboljenja u poređenju sa netretiranom inokulisanom kontrolom. Najefikasniji tretman predstavljala je integracija bakteriofaga, ASM i bakar-hidroksida smanjivši intenzitet bolesti za 96-98%. Stoga, ova kombinacija može predstavljati adekvatan alternativni program za kontrolu bakterijske pegavosti paprike.

**Ključne reči:** *Xanthomonas euvesicatoria*, paprika, bakar-hidroksid, antibiotici, bakteriofagi, acibenzolar-S-methyl, biološka kontrola.

**Naučna oblast:** Biotehničke nauke

**Uža naučna oblast:** Fitopatologija

**UDK broj:** 632.937:635.649(043.3)

## **Integration of biological and chemical methods in control of pepper bacterial spot**

**Milan M. Šević**

### **ABSTRACT**

Bacterial spot caused by *Xanthomonas euvesicatoria* is one of the widespread and economically most important pepper diseases in Serbia. Available management practices are often omitted or failed to provide satisfactory disease control, especially when weather conditions favoured spread of the pathogen. Occurrence of new pathogen races, as well as antibiotics and copper resistance development, make the disease control even more difficult. Therefore, development of new more sustainable disease management strategies is needed. Biological methods such as use of bacteriophages, viruses that infect bacteria, and some recent alternative treatments like systemic acquired resistance (SAR) inducers, provided the possibility of developing an effective strategy for *X. euvesicatoria* control. Integration of classical and biological treatments could be a successful and environmentally safe option for reducing pepper bacterial spot severity. In order to develop an efficient integrated disease management program for pepper bacterial spot control, we studied efficacy of biocontrol agents: bacteriophages (strain KΦ1) and two strains of *Bacillus subtilis* (AAac and QST 713), systemic acquired resistance (SAR) inducer (acibenzolar-S-methyl - ASM), a commercial microbial fertilizer (Slavol), copper based compounds (copper hydroxide and copper oxychloride) in combination with or without mancozeb, and antibiotics (streptomycin sulphate and kasugamycin). Based on the single treatment efficacy, various combinations of treatments were integrated for further testing in three separate field experiments. Additionally, we evaluated potential negative effect of ASM on pepper growth and yield in the growth chamber experiments and field. Spraying of ASM in concentration of 0.0015% effectively controlled the disease intensity and caused minimal negative effect on pepper growth and yield.

All the tested single treatments significantly reduced disease severity compared to the untreated inoculated control (UTC), except microbiological fertilizer and the antagonistic strain *B. subtilis* AAac. Copper compounds, antibiotics, ASM and bacteriophages treatments showed high efficacy, while *B. subtilis* strain QST 713 was less effective.

All integrated treatments of biocontrol agents, ASM and copper hydroxide, tested in three separate field experiments, significantly reduced disease severity as compared to the UTC. Integration of bacteriophages, ASM and copper hydroxide was the most efficient

treatment, reducing the disease intensity by 96-98%. The results indicated that this combination may be an adequate alternative program for control of pepper bacterial spot.

**Key words:** *Xanthomonas euvesicatoria*, pepper, copper-hydroxide, antibiotics, bacteriophages, acibenzolar-S-methyl, biological control.

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Narrow scientific field:** Phytopathology

**UDC number:** 632.937:635.649(043.3)

## ZAHVALNICA

*Doktorska disertacija realizovana je u okviru programa Integriranih i interdisciplinarnih istraživanja koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije za period 2011-2019. godine, u okviru projekta, III46008 "Razvoj integriranih sistema upravljanja štetnim organizmima u biljnoj proizvodnji sa ciljem prevazilaženja rezistentnosti i unapređenja kvaliteta i bezbednosti hrane", čiji je rukovodilac prof. dr Aleksa Obradović, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu.*

*Veliko hvala mentoru, prof. dr Aleksi Obradoviću, koji je definisao plan i program ove savremene i veoma aktuelne teme. Zahvaljujem se profesoru na ukazanom poverenju, strpljenju, na nesebično prenetom znanju i dragocenim savetima u toku izrade ovog rada, obavljanju svih eksperimentalnih istraživanja kao i na podršci tokom doktorskih studija.*

*Posebnu zahvalnost dugujem komentoru dr Katarini Gašić, višem naučnom saradniku Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu u Beogradu, na pripremi bakteriofaga KΦ1, korišćenom u istraživanjima, kao i na nesebičnoj pomoći u eksperimentalnom radu i korisnim savetima u toku izrade i pisanja disertacije.*

*Zahvaljujem se članovima komisije na veoma korisnim savetima koji su doprineli kvalitetu ove disertacije: dr Milanu Ivanoviću, vanrednom profesoru Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu, dr Milanu Steviću, vanrednom profesoru Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu, dr Jasmini Zdravković, naučnom savetniku Instituta za povrtarstvo u Smederevskoj Palanci, i dr Mili Grahovac, docentu Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu.*

*Zahvalnost dugujem dr Petru Vukši, profesoru u penziji, na konstruktivnim savetima tokom eksperimentalnih istraživanja i stručnim sugestijama koje su doprinele kvalitetu ove disertacije.*

*Posebno se zahvaljujem dr Mirjani Mijatović, naučnom savetniku u penziji Instituta za povrtarstvo u Smederevskoj Palanci, na nesebično prenetom znanju i dragocenim savetima u toku izrade ovog rada, kao i tehničkom saradniku Laboratorije za zaštitu povrća Instituta za povrtarstvo, Olgici Janković, na nesebičnoj pomoći prilikom izvođenja eksperimentalnih istraživanja.*

*Zahvalnost dugujem dr Anđelki Prokić iz Laboratorije za fitobakteriologiju Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu na dragocenoj pomoći i sugestijama tokom izrade i pisanja rada.*

*Zahvaljujem se dr Maji Ignjatov iz Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu na pruženoj pomoći i korisnim sugestijama u toku eksperimentalnog rada.*

*Svojim roditeljima, Dragani i Milovanu, sestri Ani, supruzi Milici i deci Mili i Mihailu zahvaljujem na podršci i razumevanju tokom ovih godina, stoga ovu disertaciju posvećujem njima.*



# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	2
2.1 Poreklo, rasprostranjenost i biologija paprike ( <i>Capsicum</i> spp.) .....	2
2.1.1 Najznačajniji patogeni paprike .....	3
2.1.2 <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> - patogen paprike i paradajza .....	4
2.2 Zaštita paprike i paradajza od prouzrokovača bakterijske pegavosti .....	8
2.2.1 Primena preparata na bazi jedinjenja bakra .....	10
2.2.2 Primena etilen-bis-ditiokarbamata (EBDC) .....	12
2.2.3 Primena antibiotika .....	13
2.2.4 Novi pravci u integralnoj zaštiti paprike i paradajza od bakterijske pegavosti .....	17
2.2.4.1 Primena aktivatora sistemne otpornosti .....	17
2.2.4.2 Primena antagonističkih sojeva bakterija .....	23
2.2.4.3 Primena bakteriofaga .....	24
3 CILJ ISTRAŽIVANJA .....	28
3.1 OSNOVNE HIPOTEZE .....	29
4. MATERIJAL I METODE .....	30
4.1 Održavanje bakterija u kolekciji, priprema inokuluma .....	30
4.2 Proučavani tretmani .....	30
4.2.1 Umnožavanje, određivanje titra i čuvanje bakteriofaga .....	32
4.3 Ogledi u kontrolisanim uslovima .....	33
4.3.1 Gajenje biljaka i inokulacija .....	33
4.3.2 Efekat tretmana i statistička obrada podataka ogleđa izvedenih u stakleniku i fitokomori .....	35
4.3.3 Proučavanje efikasnosti ASM u zaštiti paprike od bakterijske pegavosti .....	38
4.3.4 Proučavanje fitotoksičnosti ASM u uslovima fitokomore .....	38
4.3.5 Proučavanje efikasnosti pojedinačnih tretmana u zaštiti paprike od bakterijske pegavosti u uslovima veštačke inokulacije u stakleniku i fitokomori .....	39
4.3.6 Proučavanje efikasnosti integracije bioloških i hemijskih metoda u zaštiti paprike od bakterijske pegavosti u uslovima fitokomore .....	41
4.4. Ogledi u uslovima otvorenog polja .....	43

4.4.1 Proučavanje efikasnosti pojedinačnih tretmana u zaštiti paprike od bakteriозne pegavosti u uslovima otvorenog polja .....	43
4.4.2 Integracija bioloških i hemijskih tretmana u zaštiti paprike od bakteriозne pegavosti u uslovima otvorenog polja .....	46
4.4.3 Statistička analiza rezultata ogleда izvedenih u uslovima otvorenog polja .....	47
4.4.5 Proučavanje uticaja pojedinačnih tretmana i integracija na prinos paprike u uslovima otvorenog polja .....	48
5. REZULTATI .....	50
5.1 Proučavanje efikasnosti ASM u zaštiti paprike od bakteriозne pegavosti .....	50
5.2 Proučavanje fitotoksičnosti ASM u uslovima fitokomore.....	52
5.3 Efikasnosti pojedinačnih tretmana u zaštiti paprike od bakteriозne pegavosti u uslovima veštačke inokulacije u stakleniku i fitokomori .....	55
5.4 Proučavanje efikasnosti integracija bioloških i hemijskih metoda u zaštiti paprike od bakteriозne pegavosti u uslovima fitokomore .....	60
5.5 Proučavanje efikasnosti pojedinačnih tretmana u zaštiti paprike od bakteriозne pegavosti u uslovima otvorenog polja .....	61
5.6 Integracija bioloških i hemijskih tretmana u zaštiti paprike od bakteriозne pegavosti u uslovima otvorenog polja .....	64
6. DISKUSIJA .....	66
7. ZAKLJUČAK .....	74
8. LITERATURA .....	76
9. PRILOZI.....	87
10. BIOGRAFIJA.....	89
Izjava o autorstvu .....	90
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada .....	91
Izjava o korišćenju.....	92

# 1. UVOD

Paprika, po ekonomskim pokazateljima i površinama koje zauzima na otovrenom polju i u zaštićenom prostoru, spada u najznačajnije vrste povrća u našoj zemlji. Izuzetan diverzitet i prilagođenost sortimenta doprinosi popularnosti ove biljne vrste. Plodovi paprike se gaje za svežu potrošnju ali i za industrijsku preradu, kao i tradicionalnu preradu u domaćinstvima. Po tehnologiji proizvodnje spada u povrće koje zahteva intenzivne mere nege i zaštite. Bakteriozna pegavost paprike koju prouzrokuju bakterije *Xanthomonas* kompleksa ekonomski je najznačajnija i najrasprostranjenija bakterioza ove gajene biljne vrste. Pri povoljnim uslovima za razvoj bolesti, zaštita paprike od ovih bakterija predstavlja stalan izazov, kako za proizvođače, tako i istraživače fitopatologe. Tradicionalne mere za suzbijanje prouzrokovala bakteriozne pegavosti paprike obuhvataju primenu plodoređa, setvu zdravog semena poreklom iz nezaraženih plodova, kao i dezinfekciju semena, proizvodnju zdravog rasada, odstranjivanje i uništavanje biljnih ostataka, gajenje manje osetljivih sorti i primenu baktericida. Gajenje otpornih genotipova kao mera zaštite često ne obezbeđuje zadovoljavajući efekat usled pojave novih rasa bakterije. Primena preparata na bazi antibiotika i jedinjenja bakra u svetu ne obezbeđuje efikasnu zaštitu usled razvoja sojeva rezistentnih prema ovim jedinjenjima. Upotreba antibiotika u svetu, najčešće streptomocina dovela je do dominantne pojave rezistentnih sojeva ove bakterije u populaciji i tako značajno umanjila njegovu efikasnost (Stall and Thayer, 1961; Minsavage et al., 1990; Ritchie and Ditapongpitch, 1991; Obradović i Ivanović, 2007). Neke od poteškoća kod primene baktericida u Republici Srbiji su i nedostatak efikasnih komercijalnih baktericida, zakonska ograničenja za primenu baktericida i antibiotika koji se koriste u svetu, kao i ekonomska opravdanost upotrebe ovih jedinjenja.

Proizvođači paprike u Srbiji nemaju adekvatna sredstva za borbu protiv ovog patogena jer standardni baktericidi na bazi jona bakra često nisu dovoljno efikasni kada vremenski uslovi pogoduju intenzivnom razvoju bolesti. U cilju razvoja efikasnog programa kontrole prouzrokovala bakteriozne pegavosti paprike najnovija istaživanja usmerena su na proučavanje novih preparata i bioagenasa u suzbijanju ovog patogena.

U nedostatku efikasnih baktericida očigledno je da za sprečavanje pojave i širenje bakterioza bilja rešenje treba tražiti u integralnom pristupu, odnosno sintezi znanja o biologiji i epidemiologiji patogena, tehnologiji biljne proizvodnje, preventivnim agrotehničkim merama kao i baktericidnom efektu pojedinih supstanci (Obradović, 2009).

Usled ograničenog broja aktivnih materija za uspešnu zaštitu od *Xanthomonas* vrsta

istraživači izučavaju alternativna sredstva koja obezbeđuju efikasnu zaštitu paprike i paradajza od ove bolesti (Abbasi et al., 2002a, 2002b, 2003; Al-Dahmani et al., 2003).

Nova grupa preparata, su tzv. aktivatori otpornosti biljaka (SAR – systemic acquired resistance), koji u kontaktu sa biljkom aktiviraju biohemijske procese i dovode do povećanja odbrambene sposobnosti i smanjenja mogućnosti infekcije patogenim mikroorganizmima. Prvi komercijalno primenjivani aktivatori otpornosti, acibenzolar-S-metil i harpin su ispoljili efikasnost u kontroli bakterioza paradajza (Qui et al., 1997; Louws et al., 2001; Obradović et al., 2002a, 2002b, 2004a, 2005). Međutim, u nekim istraživanjima ovi aktivatori otpornosti nisu ispoljili zadovoljavajuću efikasnost ili su čak imali negativan efekat na porast i prinos paprike i paradajza (Louws et al., 2001; Abbasi et al., 2002a; Graves and Alexander, 2002).

Najnovija istraživanja ukazuju i na mogućnost efikasne primene u praksi nekih bioloških agenasa: bakterija antagonista i bakteriofaga (Flaherty et al., 2000; Balogh et al., 2002; 2003; Obradović et al., 2004a; 2007a; 2008; Gašić i sar., 2011; Gašić, 2011a; Gašić et al., 2012a).

Prema novijim literaturnim podacima biološke (primena bakteriofaga) i neke novije alternativne metode (primena aktivatora opornosti), ukazuju na mogućnost razvoja efikasne integralne strategije za suzbijanje *Xanthomonas* vrsta patogena paprike i paradajza.

## **2. PREGLED LITERATURE**

### **2.1 Poreklo, rasprostranjenost i biologija paprike (*Capsicum* spp.)**

Paprika (*Capsicum annuum* L.) predstavlja jednu od najznačajnijih povrtarskih vrsta u ljudskoj ishrani. Pripada familiji *Solanaceae*, rodu *Capsicum* kome pripadaju 32 vrste, od kojih su najznačajnije: *Capsicum annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. pubescens* i *C. baccatum*. Najveću rasprostranjenost i značaj ima vrsta *C. annuum* koja vodi poreklo iz južnog Meksika, srednje Amerike i tropskog dela južne Amerike (Miladinović i sar., 1997). Kristofer Kolumbo je prvi preneo papriku u Evropu početkom 16. veka, gde se njeno gajenje širilo veoma brzo, prvo u Portugaliji i Španiji, a zatim u drugim evropskim zemljama. U našu zemlju paprika je preneti iz Turske u 17. veku. U naše severne krajeve moguće je da je preneti iz Mađarske. Najviše se gaji u ravničarskim predelima Srbije i u slivu reke Morave. U našim klimatskim uslovima paprika je jednogodišnja biljka. U oblasti Meksika, centralne

Afrike i južne Amerike, do 40° južne geografske širine, raste kao višegodišnja biljka (Miladinović i sar., 1997).

Prosečna površina pod povrćem u Srbiji iznosi 247.000 ha, a oko 13.000 ha je pod usevima paprike (Republički zavod za statistiku, Beograd). Od ukupnog broja hektara pod paprikom, 75,21% se nalazi u Centralnoj i Južnoj Srbiji. U periodu od 2005 do 2015. godine prosečan ukupan prinos paprike iznosio je oko 102.197 tona na godišnjem nivou, a 2015. godine proizvedeno je 165.195 tona paprike, što je rekordna proizvodnja u poslednjih deset godina. Prosečni prinos paprike po hektaru u poslednjih 10 godina je 8,7 t/ha. Najveći prosečan prinos ostvaren 2015. iznosio je 11,1 t/ha (Republički zavod za statistiku, Beograd). U Srbiji se po zastupljenosti povrtarskih biljaka paprika nalazi na drugom mestu, iza paradajza. Po hranljivoj vrednosti paprika je znatno ispred paradajza. Sadrži znatne količine šećera, belančevina, mineralnih materija i vitamina. Izuzetno je bogata vitaminom C, sadrži vitamine B1, B2, provitamin A i dr. Pored ovih osnovnih sastojaka, u plodovima određenih sorti prisutan je i kapsaicin, alkaloid koji daje ljutinu plodovima paprike. U Republici Srbiji je zastupljen veliki broj domaćih sorti i hibrida paprike u proizvodnji. Plodovi paprike se gaje za svežu potrošnju ali i za industrijsku preradu, kao i tradicionalnu preradu u domaćinstvima. Najznačajnije sorte i hibridi stvorene su u Institutu za povrtarstvo, Smederevska Palanka (sorte: morava, duga bela, župska rana, palanačka babura, palanačka kapija, palanačko čudo, srižanka, danica i lola). U poslednjoj deceniji dvadesetog veka započet je program selekcije hibrida paprike. Prednosti hibrida su ranostasnost, veći broj plodova po biljci, veća debljina perikarpa plodova, veći prinos, ujednačenost habitusa biljaka i plodova, veća otpornost prema bolestima i dr. Kao rezultat proizvedena su tri nova hibrida: sirena F<sub>1</sub>, mona F<sub>1</sub>, tara F<sub>1</sub> (Cvikić i sar., 2007). U Institutu za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad stvorene su sorte: novosadska babura, amfora, atina, anita, novosadanka, plamena i dr. U poslednje tri decenije u našoj zemlji selekcijom novih sorti paprike i hibrida samostalno se bave privatne kompanije i pojedinci.

### **2.1.1 Najznačajniji patogeni paprike**

Pojava fitopatogenih gljiva, bakterija, virusa i fitoplazmi predstavlja ograničavajući faktor savremene i intenzivne proizvodnje ove biljke jer dovodi do smanjenja prinosa i pogoršanja kvaliteta plodova. Fitopatogene bakterije su najčešći ograničavajući faktor uspešne proizvodnje paprike u Srbiji (Obradović i sar., 1994; 1995; 1997; Obradović et al., 2004b; Mijatović i sar., 2004; Balaž i Delibašić, 2005). Bakteriozna pegavost paprike

prouzrokovana *Xanthomonas* vrstama predstavlja najznačajnije oboljenje. Kao prouzrokovajući bakterioza paprike i paradajza u literaturi se navode i: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910) Davis, Gillaspie, Vidaver et Harris 1984 - prouzrokovatelj bakterioznog raka i uvelosti paradajza, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer et Huntoon 1923 - prouzrokovatelj bakteriozne vlažne truleži, *Ralstonia solanacearum* (Smith 1986) Smith 1914 Yabuuchi et al. - prouzrokovatelj bakteriozne uvelosti i mrke truleži, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe 1933) Young, Dye et Wilkie 1978 - prouzrokovatelj crne pegavosti (mrljavosti) lišća i krastavosti plodova paradajza, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall 1902 - prouzrokovatelj bakteriozne pegavosti i uvelosti zeljastih biljaka (Arsenijević, 1997; CABI, 2004). Pored bakterioza, neke od ekonomski najznačajnijih mikoza paprike kod nas su: *Verticillium albo-atrum* - prouzrokovatelj zelenog uvenuća, *Fusarium oxysporium* - prouzrokovatelj uvenuća, *Phytophthora capsici* - prouzrokovatelj plamenjače, *Leveillula taurica* - prouzrokovatelj pepelnice, *Alternaria* spp. - prouzrokovatelj crne pegavosti, *Botrytis cinerea* - prouzrokovatelj sive plesni, *Rhizoctonia* spp. i *Pythium* spp. - prouzrokovatelji propadanja rasada (Marinković, 1985; Ivanović i Ivanović, 2001; Mijatović et al., 2007). U proizvodnji paprike problem predstavljaju i široko rasprostranjeni virusi, kao što su virus mozaika krastavca (CMV), virus mozaika duvana (TMV), virus mozaika paradajza (ToMV), virus crtičastog mozaika krompira (PVY) i virus mozaika lucerke (AMV) (Šutić, 1995; Mijatović i sar., 2007). Žuto uvenuće paprike prouzrokovano fitoplazmom *stolbur* javlja se periodično i prouzrokuje značajne gubitke u proizvodnji paprike u Republici Srbiji (Aleksić i sar. 1989).

### **2.1.2 *Xanthomonas euvesicatoria* - patogen paprike i paradajza**

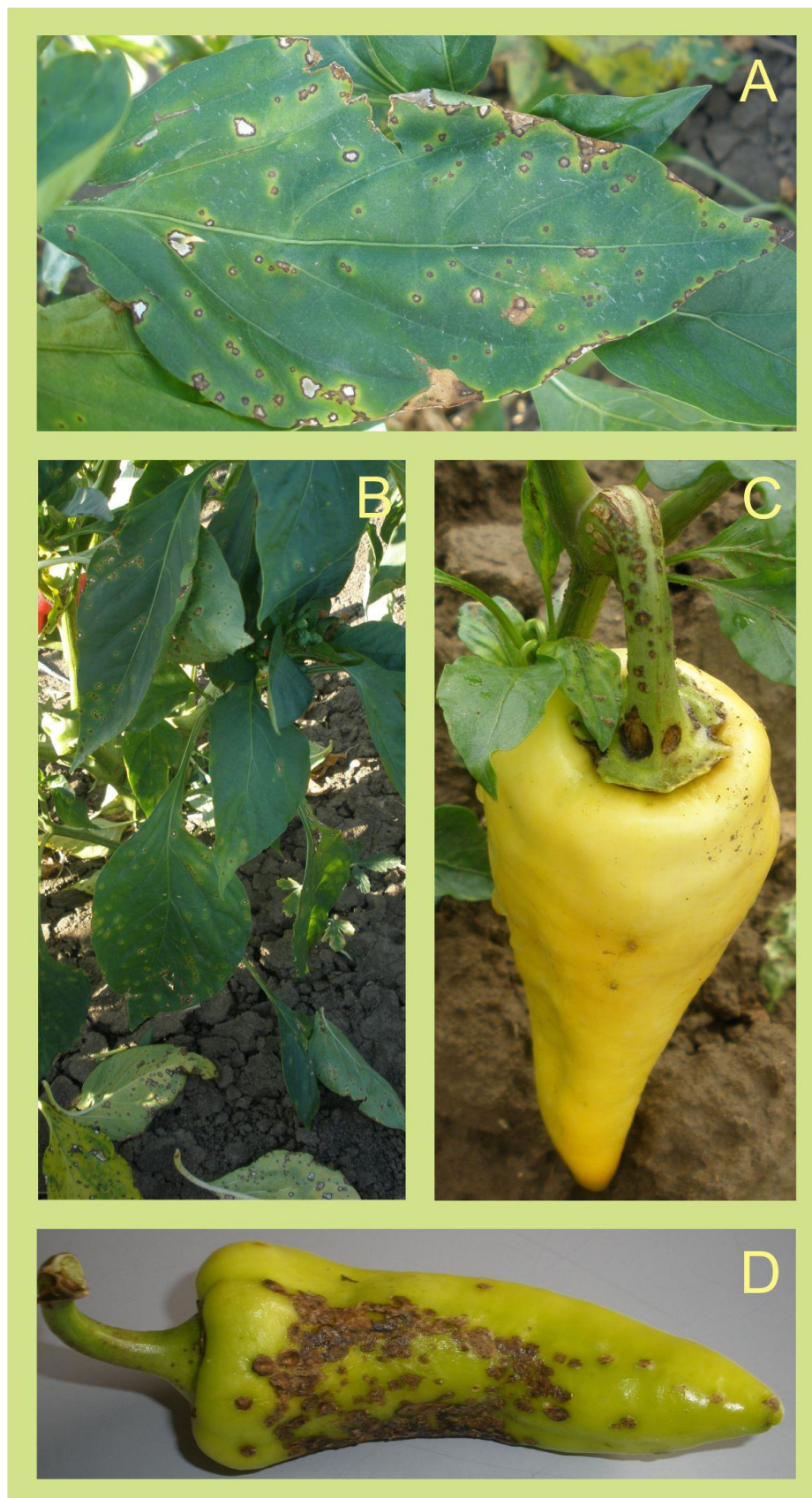
Bakteriozna pegavost prouzrokovana bakterijama koje pripadaju tzv. *Xanthomonas* kompleksu: *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. perforans* i *X. gardneri* (Jones et al., 2004), spada u red najznačajnijih i ekonomski najštetnijih bolesti paprike i paradajza u svetu, posebno u uslovima tropske i suptropske klime (Bashan et al., 1985; Jones. 1991; Jones et al., 1994; Jones et al., 2004; Obradović et al., 2008). Zbog endemske prirode patogena, povoljnih klimatskih uslova, sumnjivog kvaliteta semena i ograničenih mera kontrole ova bakterioza je ograničavajući faktor proizvodnje paprike u Republici Srbiji (Arsenijević i Balaž, 1978; Balaž, 1994; Obradović et al., 1999; 2000; 2000a; 2001a; 2001b; 2001c; Balaž i sar., 2003). Do ranih 90-tih godina prošlog veka smatralo se da ovu bolest prouzrokuje bakterija *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, relativno homogena vrsta (Dye et al., 1964; Jones et

al., 1998). Međutim, na osnovu rezultata proučavanja bakterioloških karakteristika patogena, došlo se do novih saznanja da populaciju bakterije čine dve genetički i fenotipski različite grupe bakterija (Stall et al., 1994). Na osnovu proučavanja genetskih karakteristika na molekularnom nivou, Jones et al. (2004) su ustanovili heterogenost među sojevima što je rezultiralo podelom na 4 taksonomski različite grupe A, B, C i D koje čine tzv. *Xanthomonas* kompleks, koje su Vauterin et al. (1990; 1995) diferencirali u *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (grupa A) i *Xanthomonas vesicatoria* (grupa B). Jones et al. (1998) su među patogenima paradajza identifikovali još dve *Xanthomonas* grupe, C i D. Nešto kasnije saopšteno je da grupe A, C i D međusobno imaju manje od 70% DNK sličnosti, kao i sa tipskim sojem *X. axonopodis* i sa tada klasifikovanim vrstama u okviru *Xanthomonas* roda (Jones et al., 2004). To je dovelo do najnovije klasifikacije *Xanthomonas* spp. patogena paprike i/ili paradajza na *X. euvesicatoria* (grupa A), *X. vesicatoria* (grupa B), *X. perforans* (grupa C) i *X. gardneri* (grupa D). Sojevi poreklom iz paprike, pripadnici grupe A (*X. euvesicatoria*), najšire su rasprostranjeni i ekonomski najznačajniji. *X. vesicatoria* i *X. gardneri* mogu imati značajan uticaj u regionima u kojima se nalaze. Sojevi grupe D prvobitno su identifikovani u našoj zemlji (Šutić, 1957) i zajedno sa identičnim sojevima iz Republike Kostarike zadržali su status vrste *X. gardneri*. Sojevi bakterije *X. perforans* do sada su izolovani samo iz paradajza (Ritchie et al., 1991; Jones et al., 2004).

Prema najnovijoj sistematici *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. perforans* i *X. gardneri*, po svojim karakteristikama predstavljaju zasebne vrste. Spadaju u klasu *Gammaproteobacteria*, red *Xanthomadales*, familiju *Xanthomodaceae* i rod *Xanthomonas*. Međutim, u literaturi se često sreću stari nazivi bakterije kao što su: *X. campestris* pv. *vesicatoria* i *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*.

Bakterioznu pegavost paprike u svetu može prouzrokovati više vrsta. U našoj zemlji do sada je utvrđeno prisustvo tri vrste: *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria* i *X. gardneri*, među kojima preovlađuje *X. euvesicatoria*, čiju populaciju sačinjavaju četiri fiziološke rase P1, P3, P7 i P8). Istraživanjima populacije *X. euvesicatoria* poreklom iz paprike u Srbiji utvrđeno je da su opšte rasprostranjene rase P7 i P8 (Obradović et al., 2004b; Ignjatov i sar., 2010; Gašić et al., 2011).

Bolest zahvata sve nadzemne delove biljaka paprike: list, stablo, cvet i plod (Slika 1). Na naličju lista paprike u početku se pojavljuju sitne pege, nepravilnog oblika. Ove pege su tamnozelenene, vlažnog izgleda i blago ispupčene. Kasnije se šire i postaju poligonalne i ograničene nervima. Središte pega postaje svetlije i suvo, okruženo uzanom tamnomrkom zonom (Slika 1a).



Slika 1. *Xanthomonas euvesicatoria*. Nekrotične pege sa oreolom na listu paprike (A i B). Nekrotične pege na dršci ploda i plodu paprike (krastavost ploda) (C i D). Prirodna infekcija (Foto: M. Šević).



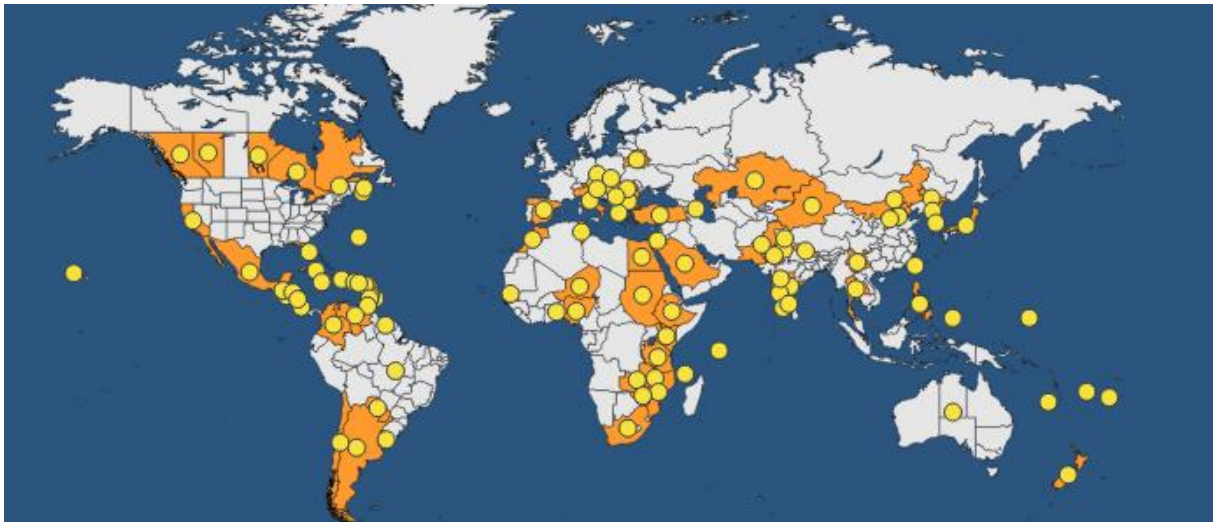
Obolelo lišće žuti i opada. Jako napadnute biljke ostaju bez lišća. Parazit napada i cvetnu dršku. Tada cvetovi kao i mlađi plodovi zajedno s napadnutom drškom ploda otpadaju, usled čega se prinos paprike znatno smanjuje (Slika 1c) (Šutić, 1957; Jones et al., 1986).

Na biljkama paradajza bakterije *Xanthomonas* kompleksa napadaju list, stablo, cvast i plod. Na listu se pojavljuju manje, vlažne ili uljaste pege, nepravilnog oblika, oivičene nervima. Vremenom središnji deo ovih pega postaje mrk, a periferni mrk do ljubičast. Kasnije, pege se povećavaju i spajaju usled čega nastaje nekroza većeg dela liske. Nekrotične zone se lako lome i ispadaju. Najveće štete kod paradajza nastaju usled razvoja mrkih pega na mladim plodovima. Mladi plodovi se nepravilno razvijaju i deformišu, što u jačem stepenu utiče na njihov spoljni izgled. Pege mogu zahvatiti veliku površinu ploda, obolelo tkivo u okviru pega puca, obrazujući tako pukotine ili kraste različitog oblika. Često biva zahvaćena skoro cela površina ploda koja dobija dosta neugledan, krastav izgled što umnogome umanjuje njegovu tržišnu vrednost. Ovakvi plodovi su i neupotrebljivi i za industrisku preradu, pošto se pomenute pege mogu naći u prerađevinama ostavljajući tako vrlo nepovoljan utisak, podsećajući ponekad na zagorele proizvode (pire na primer) (Šutić, 1957; Arsenijević, 1997).

Štete koje nanosi ova bakterioza usled smanjenja prinosa i kvaliteta plodova paradajza u SAD iznose i do 50%. U državi Florida koja je najveći proizvođač svežeg paradajza u SAD na površini od približno 44600 ha za period 2007-2008. gubici prinosa su iznosili su 31%. Finansijski gubitak preračunat na površini po hektaru iznosi 7725 američkih dolara. (USDA, 2010; Vallad et al., 2010).

Vlažno i toplo vreme pogoduje širenju bolesti. Parazit se prenosi semenom i održava u ostacima obolelih biljaka do sledeće vegetacije, kada nastaju zaraze prvo sejanaca, a kasnije i odraslih biljaka. Setvom semena koje je inficirano u veoma niskom procentu, može pri povoljnim vremenskim uslovima prouzrokovati bolest tipa epidemije u polju (Louws et al., 2001). Bakterija prodire kroz stome. Kišne kapi, vetar, a naročito voda prilikom zalivanja useva, potpomažu širenju infekcije (Jones et al. 1985; Arsenijević, 1997).

Glavni prouzrokovatelj bakteriozne pegavosti paprike u našoj zemlji, vrsta *X. euvesicatoria* nalazi se na A2 karantinskoj listi štetnih organizama Evropske organizacije za zaštitu bilja (European Plant Protection Organization, EPPO, Slika 2) kao i na A2 listi karantinski štetnih organizama Republike Srbije (Pravilnik o listama štetnih organizama i listama bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata, glasnik Republike Srbije br. 7/10 (Obradović i sar., 2000).



Slika 2. Distributivna mapa rasprostranjenosti *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (EPPO/OEPP, 2016, <https://gd.eppo.int/taxon/XANTAV/distribution> ). Žuti krugovi na mapi označavaju prisustvo patogena na teritoriji cele države.

## 2.2 Zaštita paprike i paradajza od prouzrokovača bakteriozne pegavosti

Tradicionalne mere zaštite od prouzrokovača bakteriozne pegavosti paprike obuhvataju primenu plodoreda, setvu zdravog semena poreklom iz nezaraženih plodova, kao i dezinfekciju semena, upotrebu zdravog rasada, odstranjivanje biljnih ostataka, održavanje optimalnog temperaturnog i vodnog režima u zaštićenom prostoru, odstranjivanje biljnih ostataka, izbor parcele i sprovođenje odgovarajućih agrotehničkih mera, gajenje manje osetljivih sorti i primenu baktericida (Jones and Jones, 1985; Jones et al., 1986; Arsenijević, 1997; Ivanović i sar., 1998; Mijatović i sar., 2007).

Papriku i paradajz ne treba gajiti na istim parcelama gde su gajene predhodne godine. Preporučuje se najmanje trogodišnji plodored. Izabрати osunčane parcele na blagim kosinama. Za gajenje paprike i paradajza treba izbegavati parcele na senovitim mestima i parcele na kojima je duže zadržavanje jutarnje rose. Pod dezinfekcijom zemljišta podrazumeva se izlaganje zemljišta ili druge vrste hranljivih supstrata dejstvu fizičkih ili hemijskih činilaca u cilju uništavanja štetnih organizama koji se u njemu nalaze. U zaštićenom prostoru najčešće se sa uspehom primenjuje dezinfekcija zemljišta vodenom parom, hemijskim sredstvima i solarizacijom. Preporučuje se setva zdravog sertifikovanog semena poreklom iz nezaraženih plodova, jer zaraženo seme predstavlja veoma čest izvor inokuluma za bakterioze. U našim klimatskim uslovima paprika i paradajz se najčešće gaje proizvodnjom iz rasada. Proizvodnja

zdravog i kvalitetnog rasada paprike i paradajza garantuje uspeh proizvodnje (Mijatović i sar., 2007; Obradović i sar., 2012).

Uništavanje biljnih ostataka, samoniklih biljaka i korovskih biljaka iz familije *Solanaceae* može u značajnoj meri sprečiti širenje inokuluma bakteriozne pegavosti paprike i paradajza (Jones et al., 1986).

Za pojavu oboljenja prouzrokovanih bakterijama, veliki uticaj imaju faktori spoljašnje sredine, među kojima su temperatura i vlažnost od presudnog značaja. Na ove faktore teško je ili nemoguće uticati pri gajenju biljaka na polju, ali je njihova regulacija od izuzetnog značaja u kontroli bakterioza u zatvorenom prostoru. U toplim lejama, plastenicima i staklenicima održavati optimalni vodni i vazdušni režim. Bakteriozama odgovaraju uslovi visoke vlažnosti vazduha kada i nastaju najveći gubici. Potrebno je objekte redovno provetravati (Mijatović i sar., 2007).

Pri đubrenju zemljišta koristiti optimalne i preporučene doze za papriku i paradajz. Veoma je korisno izvršiti analizu zemljišta na prisustvo određenih elemenata, pre svega azota, fosfora i kalijuma. Pri povišenim količinama azota biljke paprike i paradajza su veoma bujne, ali su istovremeno veoma osetljive na bakterioze. U periodu osetljivom za pojavu bakteriozne pegavosti, poželjno je izbegavati zalivanje orošavanjem i preći na zalivanje kroz brazde, jer se tako stvaraju manje povoljni uslovi za razvoj i širenje patogena. Preporučuje se i upotreba sistema za zalivanje kap po kap koji je sa aspekta preventivne zaštite biljaka najoptimalniji (Mijatović i sar., 2007; Obradović i sar., 2012).

Pronalaženje gena otpornosti i njihovo uvođenje u programe selekcije radi stvaranja otpornih komercijalnih genotipova zadatak je na kome rade mnogi istraživači (Jones et al., 2002; Mijatović i sar. 2004; Danojević i sar., 2016). Međutim, u našoj zemlji za sada ne postoji komercijalni genotip paradajza ili paprike koji je otporan na sve rase ovog patogena (Ignjatov i sar., 2012). Ignjatov i sar. (2012) proučili su osetljivost najčešće gajenih genotipova paprike u Srbiji prema najzastupljenijoj rasi (P8) bakterije *X. euvesicatoria*. Ovim istraživanjima potvrđeno je da su svi proučavani genotipovi paprike u našim uslovima ispoljili visok stepen osetljivosti prema ovoj rasi. U zaštiti paprike kod nas dominiraju hemijske mere borbe, odnosno korišćenje bakarnih preparata koji ne obezbeđuju zadovoljavajući efekat zaštite (Obradović i sar., 2004a; 2004b, 2009). Prema literaturnim podacima biološke i neke novije alternativne metode kao što su primena bakteriofaga i aktivatora otpornosti, ukazuju na mogućnost razvoja efikasne integralne strategije za suzbijanje *X. euvesicatoria* (Obradović i sar., 2002; 2005; Obradović, 2009; Gašić i sar., 2011).

Zaštita od bakterioza paprike može se uspešno sprovesti samo integrisanim merama zaštite (IPM) (Jones et al., 2002; Momol et al., 2002; Balaž, 2005; Obradović i sar., 2012). One obuhvataju skup mera kojima se smanjenje rizik od nastanka infekcije: nabavka zdravog sertifikovanog semena, izbor parcele i sprovođenje odgovarajućih agroteničkih mera, proizvodnja zdravog rasada. Ukoliko i pored primene navedenih mera ipak dođe do infekcije biljaka, preostaje hemijska zaštita biljaka u polju.

### **2.2.1 Primena preparata na bazi jedinjenja bakra**

Od baktericida, najčešće su u upotrebi preparati na bazi bakra, sami ili u kombinaciji sa etilen-bis-ditiokarbamatima (EBDC) kao što su maneb i mankozeb. Kombinacija bakarnih preparata i EBDC fungicida ima sinergističko delovanje u zaštiti od bakterioza povrća. Samostalna primena preparata na bazi bakra je manje efikasna od njihovih kombinacija sa EBDC fungicidima što potvrđuju mnogi autori (Marco et al., 1983; Pernezny et al., 2008). Kao posledica česte primene preparata na bazi bakra, registrovani su sojevi *X. euvesicatoria* tolerantni na sve bakarne formulacije ili slabo osetljivi na kombinaciju sa EBDC fungicidima (Marco et al., 1983; Adaskaveg and Hine, 1985; Jones et al., 1991; Mirik et al., 2007; Pernezny et al., 2008).

Bakarni preparati se nanose na biljne organe preventivno u vidu zaštitnog filma, tako da se onemogućava prodor patogena u unutrašnjost biljnog tkiva. Zbog toga je od izuzetnog značaja primena prvih tretmana neposredno pre pojave bolesti, kao i u odgovarajućim intervalima u toku osetljivog perioda vegetacije (Ritchie, 1991). U cilju zaštite od bakterioza paprike, preporučuje se upotreba bakarnih preparata u intervalima 7-10 dana zavisno od vremenskih uslova sve dok traje period pogodan za ostvarenje infekcije.

Najčešće primenjivani baktericidi na bazi jona bakra su bakar-hidroksid i bakar-oksihlorid (Tabela 1). Bakar-hidroksid je uveden u primenu 1968. godine u SAD-u. To je čvrsta supstanca plavo-zelene boje, slabo rastvorljiva u vodi i nerastvorljiva u organskim rastvaračima. Bakar-hidroksid je protektivni fungicid i baktericid. Može da bude fitotoksičan ako se primenjuje po hladnom i vlažnom vremenu.

Bakar-oksihlorid kao fungicid uveden je u primenu 1900-te godine. Tehnički proizvod je zelen do plavičasto zelen prašak koji je praktično nerastvorljiv u vodi kao i u organskim rastvaračima. Bakar-oksihlorid je osnovni folijarni fungicid i baktericid sa protektivnim delovanjem.

Bakar-sulfat je u primeni od kraja 19. veka. Čista supstanca je plavi kristal koji u sebi sadrži pet molekula vode (pentahidrat). Međutim, poseduje izraženo fitotoksično dejstvo na zeljaste delove biljaka, lako je rastvorljiv u vodi, brzo se spira i ima kratkotrajnu zaštitnu ulogu. Osnova njegova primena je uglavnom vezana za spravljanje bordovske čorbe (Janjić, 2005).

Tabela 1. Bakarna jedinjenja različitih formulacija (Tomlin, 2006; Janjić, 2005).

Naziv	Formula	Istorija upotrebe	Vrsta pesticida
<b>Bakar-oksidi</b>	$Cu_2O$	od 1932 (Horsfall, 1932)	fungicid
<b>Bakar-hidroksid</b>	$Cu(OH)_2$	od 1968 /SAD	fungicid baktericid
<b>Bakar-oktanoat</b>	$Cu[CH_3(CH_2)_6 COO]_2$	od 1997/ SAD	fungicid baktericid algicid
<b>Bakar-oksihlorid</b>	$CuCl_2 \cdot 3Cu(OH)_2$	od 1900	fungicid baktericid
<b>Bakar (II)-sulfat</b>	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	od kraja 19. veka	fungicid
<b>Bakar-sulfat</b>	$3Cu(OH)_2 \cdot CuSO_4$	/	fungicid
<b>Oksin-bakra</b>	$C_{18}H_{12}CuN_2O_2$	Od 1946	fungicid

Elementarni bakar toksičan je za sve žive ćelije jer reaguje sa sulfhidril (-SH) grupama određenih aminokiselina i izaziva denaturaciju proteina i enzima (Agrios, 2005). Izučavanjem mehanizma baktericidnog delovanja bakarnih preparata prihvaćeno je mišljenje da se delovanje zasniva na delovanju  $Cu^{++}$  jona koji bakterije pasivno apsorbuju. Kompleksi vezanog bakra imaju jače baktericidno delovanje od jona bakra usled veće liposolubilnosti koja onemogućuje bolje prodiranje bakra u ćelije bakterija što dovodi do remećenja njihovog razvoja. S druge strane, bakar ima i indirektnu funkciju, jer je utvrđeno da su biljke nedovoljno obezbeđene bakrom, osetljive na gljivična i bakterijska oboljenja (Janjić, 2005).

Nerastvorljiva bakarna jedinjenja (bakar-hidroksid, bakar-oksihlorid i dr.) posle tretiranja, pod uticajem ugljendioksida iz vazduha i proizvoda metabolizma biljaka i gljiva prelaze u jone bakra. Ovo može biti povezano i sa fitotoksičnim efektom bakra na pojedine gajene biljke. Fungicidi bakra mogu da dovedu i do oštećenja osetljivih biljaka, ukoliko je koncentracija rastvorljivog bakra velika, pogotovu što su razlike između fungicidnih i

fitotoksičnih koncentracija male (Janjić, 2005). Upotreba bakarnih preparata je u stalnom porastu, najčešće su u upotrebi kao fungicidi i baktericidi u vinogradarstvu i voćarstvu i povrtarstvu. Površine pod ovim kulturama su u stalnom porastu na svetskom nivou. Međutim zbog nagomilavanja ostataka bakarnih preparata u zemljištu postoje inicijative za smanjenje njihove upotrebe. Evropska unija je iz navedenih razloga ograničila količina primene bakarnih preparata u organskoj proizvodnji na 6 kg/ha u toku jedne godine. Ranija zakonska regulativa je dozvoljavala upotrebu 8 kg/ha. Slične inicijative za smanjenje upotrebe bakarnih preparata su pokrenute širom sveta (EC direktivom No. 473/2002; Quattrucci et al., 2013).

Ignjatov i saradnici proučavali su osetljivost sojeva *X. euvesicatoria* prema različitim koncentracijama bakar-sulfata *in vitro*. Rezultati ogleđa ukazali su na moguću pojavu rezistentnosti bakterije na navedeno jedinjenje bakra. Razlog pojave rezistentnosti proučavanih sojeva prema ovom jedinjenju leži u širokoj i često upotrebi različitih formulacija (bordovska čorba, bakar-hidroksid, bakarni-oksihlorid i dr.) na bazi jona bakra za kontrolu mikoza i bakterioza u našoj zemlji (Ignjatov i sar. 2010).

Ekperimentalnih podataka o hemijskoj zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti u uslovima otvorenog polja u domaćoj literaturi ima veoma malo. Milijašević i sar. (2006) su proučavali efikasnost bakarnih preparata (bakar-hidroksid i bakar-oksihlorid) u zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti u uslovima otvorenog polja. U ovim eksperimentima bakarni preparati su ispoljili zadovoljavajuću efikasnost na svim lokalitetima primene. U eksperimentima u toku 2005. godine, bakar-oksihlorid (Cuprozin 35 WP) je ispoljio efikasnost od 74,3-78,7% a bakar-hidroksid (Blauvit) 74,6-78,9%. U ogleđima izvedenim tokom 2006. godine, najveću efikasnost (86,1-89,1%) ispoljio je bakar-hidroksid (Fungohem SC). Na osnovu ovih istraživanja autori preporučuju navedene bakarne preparate za uspešnu zaštitu paprike od bakteriozne pegavosti u našim klimatskim uslovima (Milijašević i sar., 2006).

### **2.2.2 Primena etilen-bis-ditiokarbamata (EBDC)**

Kao fungicidi, po spektru dejstva i efikasnosti primene, ditiokarbamati su slični bakarnim preparatima, ali zbog lakoće pripreme i primene, smanjene fitotoksičnosti, kao i osobine da se mogu mešati sa mnogim drugim pesticidima, ditiokarbamati su počeli da potiskuju bordovsku čorbu. Ekspanzija upotrebe ovih fungicida nastaje otkrićem bis-ditiokarbamata, s vrlo značajnim cinebom (1946) i manebom (1950), smatranim najvećim

dostignućem ove grupe jedinjenja. Kasnije nastaje otkriće mankozeba (1961), propineba (1963) i drugih ditiokarbamata. Nakon pojave novih sistemskih organskih jedinjenja kao fungicida i otkrića određenih toksikoloških problema vezanih za upotrebu ditiokarbamata i karcinogenih svojstava njihovih metabolita u nekim zemljama dolazi do redukcije njihove upotrebe (Janjić, 2005; Gulino et al. 2010). U zaštiti od bakterioza povrća od etilen-bis-ditiokarbamata, najčešće su u upotrebi maneb i mankozeb u kombinaciji sa preparatima na bazi bakra. Smatra se da kombinacija bakarnih preparata i etilen-bis-ditiokarbamata ima sinergističko delovanje u zaštiti od bakterioza povrća. Potvrđeno je eksperimentima da toksičnost etilen-bis-ditiokarbamata u prisustvu jona bakra raste (Hassall, 1982). U biljkama glavni metabolit mankozeba je etilentiourea. U nekim eksperimentima, se pokazalo da etilentiourea ima slaba karcinogena svojstva. Međunarodna agencija za proučavanje kancera svetske zdravstvene organizacije (IARC – International Agency for Research on Cancer) klasifikovala je etilentiourea u grupu 3, mogućih slabih karcinogena za ljude, jer je eksperimentima na životinjama potvrđena karcinogenost ovog jedinjenja (IARC, 2017). U povrću su, takođe, često nalažene velike količine ostataka ditiokarbamata posle njihove upotrebe u zaštiti povrća. Mogući karcinogeni efekti, doveli su do restrikcije primene ditiokarbamata u Kanadi i nekim drugim zemljama i primorali istraživače da tragaju za alternativnim sredstvima zaštite (Abbasi et al., 2002a, 2002b, 2003; Al-Dahmani et al., 2003; Janjić, 2005;). Da bi se smanjila upotreba EBDC fungicida, u praksi se uvode nove aktivne supstance koje se mogu primeniti u kombinaciji sa bakarnim preparatima a toksikološki su prihvatljivije za upotrebu u usevu paprike i paradajza. Autori najčešće navode upotrebu famoksadona (fungicid iz grupe oksazolidinona) u kombinaciji sa cimoksanilom ili naizmeničnu primenu sa preparatima različitog mehanizma delovanja, kao što je hlortalonil (Al-Dahmani et al., 2003; Balaž, 2005; Roberts et al., 2008). Oksazolidinoni čine relativno novu klasu antimikrobnih agenasa koji poseduju jedinstveni mehanizam delovanja. Oksazolidinoni u bakterijskoj ćeliji inhibiraju sintezu proteina (Brickner et al., 1996).

### **2.2.3 Primena antibiotika**

Antibiotici su selektivne mikrobne supstance koje nastaju kao proizvodi biološke sinteze pojedinih mikroorganizama i u malim dozama inhibiraju rast i menjaju metabolizam drugih organizama. Više od polovine danas poznatih antibiotika su proizvodi aktinomiceta (končastih bakterija) iz roda *Streptomyces*, nekoliko antibiotika proizvode bakterije iz roda *Bacillus*, dok su ostali proizvod metabolizma gljiva iz rodova *Penicillium* i *Cephalosporium*

(Agrios, 2005; Janjić, 2005). Pedesetih godina prošlog veka, ubrzo nakon pojave antibiotika u humanoj medicini, počela su istraživanja u cilju njihovog terapijskog dejstva u kontroli bolesti biljaka. Upotreba streptomocina, u zaštiti bilja od bakterioza započela je pedesetih godina prošlog veka. Ubrzo nakon početka njihove primene pojavili su se rezistentni sojevi u populaciji patogena (Pernezny et al., 1995). Zbog eventualnih posledica po životnu sredinu i ljudsko zdravlje, primena antibiotika u zaštiti bilja postala je u poslednje vreme predmet intenzivnog preispitivanja i diskusije. Razlog su negativne strane njihove primene, kao što su posledice preteranog unošenja antibiotika u životnu sredinu i njihov efekat na korisne mikroorganizme, dospevanje ostataka antibiotika u lanac ishrane, efekat smanjenih doza na pojavu otpornosti štetnih vrsta bakterija, ne samo fitopatogenih, već i patogena ljudi, a takođe i direktan efekat na ljudsku populaciju, koja na ovaj način biva izložena njihovom dejstvu. Stoga su zemlje, koje su među prvima počele da primenjuju antibiotike u zaštiti bilja, prinuđene da ograničavaju njihovu primenu i pažnju usmeravaju na alternativna sredstva (Obradović i Ivanović, 2007). U nekim zemljama primena streptomocina je ograničena na primenu u paradajzu i to samo za prvi tretman nakon rasađivanja, drugi autori pominju upotrebu antibiotika samo u proizvodnji rasada (Schwartz et al., 2005). Antibiotici su registrovani za upotrebu u zemljama Severne i Južne Amerike, Japanu i Tajvanu. Zakonska regulativa Evropske unije ne dozvoljava upotrebu antibiotika u zaštiti biljaka. Zakonska regulativa Švajcarske i Mađarske dozvoljava upotrebu antibiotika u poljoprivredi ali uz određena ograničenja u njihovoj prodaji i primeni. Primena antibiotika u zaštiti bilja takođe nije dozvoljena u Republici Srbiji.

U svetu, najčešće primenjivani antibiotici za zaštitu od bakteriozne pegavosti su streptomycin, kasugamicin i oksitetračin (Tabela 2). Streptomycin i kasugamicin poseduju sistemična svojstva, biljka ih apsorbuje i transportuje pa se oni ponašaju kao sistemični fungicidi, imaju preventivno i kurativno delovanje, međutim izuzetno su fotodegradabilni. Streptomycin je proizvod metabolizma aktinomicete *Streptomyces griseus* i otkriven je od strane Waksmana 1944. godine (Agrios, 2005). Jedan je od prvih antibiotika koji su se koristili u zaštiti od biljnih bolesti. Pripada grupi aminoglikozida i u visokim koncentracijama može biti fitotoksičan i najčešće je formulisan kao streptomycin-sulfat, streptomycin-hlorid i streptomycin-nitrat. Streptomycin deluje tako što se vezuje za ribosome bakterija i na taj način sprečava sintezu proteina (Woodcock et al., 1991). Streptomycin se najčešće upotrebljava u zaštiti kruške i jabuke od bakteriozne plamenjače koju izaziva *Erwinia amylovora* (McManus and Stockwell, 2000). Ispoljava visok stepen efikasnosti u suzbijanju velikog broja fitopatogenih bakterija, izazivača pegavosti i plamenjača biljaka i truleži stabla. Tu spadaju



paraziti iz rodova *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium* i *Erwinia*. Primena streptomicina u usevu paradajza i paprike za suzbijanje *X. euvesicatoria* bila je kratkotrajna, jer je već početkom šezdesetih godina prošlog veka, otkrivena rezistentna populacija ove bakterije (Stall and Thayer, 1962). Streptomicin-rezistentni sojevi su se brzo proširili i postali široko rasprostranjeni (Argentina, Brazil, Kalifornija, Florida, Džordžija, Ohajo, Pensilvanija, Tajvan), primoravajući istraživače da tragaju za drugim rešenjima (Obradović et al., 2004a). Pored streptomicina, kasugamicin je antibiotik takođe iz grupe aminoglikozida koji se u nekim zemljama koristi u zaštiti bilja. Otkriven je 1965. godine u Japanu, nalazi se u prometu u obliku kao kasugamicin hidrokisid, ali i kao mešavina sa bakar-oksihloridom i to formulisan u nekoliko preparata (Kasumin, Kasumin 2L, Kasumin L EC, Kasumin 8 WP), registrovan je za primenu u pojedinim zemljama, za zaštitu od mikoza i bakterioza i ima protektivno i kurativno delovanje (Yamaguchi, 1998). Primenjuje se jedino u poljoprivredi, nije uveden u primenu u medicini i veterinarskoj medicini (Vallad et al., 2010). Najčešće se primenjuje u usevima pirinča, šećerne repe, pasulja, paradajza, paprike, celera, citrusa, jabuke, kruške, mušmule i ukrasnih biljaka, protiv parazita *Venturia inaequalis*, *V. pirina* i *E. amylovora*. Registrovan je za primenu u Meksiku ali u SAD postupak registracije još uvek traje (Vallad et al., 2010). Najviše je korišćen antibiotik u Japanu gde se najčešće primenjuje u zaštiti od bakterioza ali i mikoza pirinča i godišnje se troši 20000-30000 tona (Yamaguchi, 1998; Janjić, 2005). Od zemalja u našem okruženju registrovan je u Mađarskoj za suzbijanje prouzrokovala bakteriozne pegavosti lišća paprike. Primenjuje se kontrolisano kada prognozno-izveštajne službe daju preporuku i ne može se kupiti u slobodnoj prodaji. Mehanizam delovanja se zasniva na inhibiciji ugradnje aminokiselina tokom sinteze proteina (Yamaguchi, 1998). Postoji opasnost od pojave ukrštene rezistentnosti između ova dva antibiotika jer imaju isti mehanizam delovanja (Woodcock et al., 1991).

Vallad et al. (2010) su proučavali efikasnost kasugamicina u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti. Eksperimenti su izvedeni u stakleniku i na tri lokacije u državi Florida. Kasugamicin je primenjen samostalno i u kombinaciji sa standardnim bakarnim preparatima. U eksperimentima u stakleniku kasugamicin je umanjio intenzitet oboljenja za 37,5% u poređenju sa netretiranom kontrolom. U uslovima otvorenog polja u četiri eksperimenta efikasnost kasugamicina primenjenog samostalno je bila ista kao i standardni tretman bakar-hidroksidom + mankozeb. Efikasnost kombinacije kasugamicina sa bakar-hidroksidom + mankozeb nije se značajno razlikovala od standardnog tretmana ili kasugamicina primenjenog samostalno u tri od četiri eksperimenta. Autori navode da u uslovima otvorenog polja u državi

Florida postoji opasnost od brzog razvoja rezistentosti na ovaj antibiotik (Vallad et al., 2010).

Jedna od poteškoća vezanih za upotrebu baktericida odnosi se na učestalju pojavu sojeva patogena koji su otporni na dejstvo ovih jedinjenja. Rezistentnost štetnih organizama prema pesticidima predstavlja pojavu otpornosti pojedinih vrsta koje su ranije bile osetljive i predstavlja način prilagođavanja izmenjenim uslovima sredine, pri čemu se menjaju funkcionalne osobine ćelija i organizma u celini (Janjić, 2005). Otporni sojevi patogena nastaju selekcijom rezistentnih ili virulentnijih populacija kao posledica dugotrajne i nekontrolisane primene baktericida (Ritchie and Dittapongpich, 1991; McManus and Stockwell, 2000). Prvi podaci o pojavi rezistentnih sojeva na antibiotike potiču još iz 1954. godine, dakle samo nekoliko godina nakon početka njihove primene (Agrios, 2005). Iako su količine antibiotika koje se koriste u zaštiti bilja zanemarljive u odnosu na količinu upotrebljenih antibiotika u humanoj medicini i veterini, sve veći broj populacija bakterija patogena čoveka i životinja razvija rezistentnost. Procesom konjugacije (razmene genetičkog materijala) moguće je prenošenje gena rezistentnosti na antibiotike između bakterija (Stall et al., 1986; Russi et al., 2008). Minsavage et al. (1990) su potvrdili da se konjugacijom može preneti gen otpornosti na streptomycin na sojeve *X. campestris* pv. *vesicatoria*.

Tabela 2. Antibiotici najčešće primenjivani u poljoprivredi

<b>Antibiotik</b>	<b>Hemijska formula</b>	<b>Poreklo</b>	<b>Otkriće i istorija upotrebe</b>
<b>Streptomycin</b>	$C_{21}H_{39}N_7O_{12}$	<i>Actinomycetales</i> , <i>Streptomyces</i> <i>griseus</i> ,	Selman Abraham Vaksman, 1943.
<b>Kasugamicin</b>	$C_{14}H_{27}N_3O_{10}$	<i>Actinomycetales</i> , <i>Streptomyces</i> <i>kasugaensis</i>	Hamao Umezawa, 1965.
<b>Oksitetraciklin</b>	$C_{22}H_{24}N_2O_9$	<i>Actinomycetales</i> , <i>Streptomyces</i> <i>rimosus</i>	Finlay et al., 1950.

U cilju utvrđivanja praga osetljivosti sojeva bakterija prema antibioticima i jedinjenjima bakra moguće je koristiti *in vitro* testove kojima se proučava mogućnost razvoja sojeva na podlozi sa različitim koncentracijama aktivne supstance. U ranijim istraživanjima osetljivosti sojeva poreklom iz Srbije u *in vitro* uslovima prema bakar-sulfatu i streptomycinu, utvrđeno je da su primenjene koncentracije streptomicina i bakar-sulfata, potpuno zaustavile razvoj kolonija na podlozi (Obradović i sar., 2000b). Novija istraživanja Ignjatov i saradnika (2010) ukazuju da je populacija sojeva *X. euvesicatoria* poreklom iz Srbije osetljiva na streptomycin-sulfat. Međutim, upoređivanjem rezultata iznetih u ovom radu sa prethodnim rezultatima Obradovića i saradnika (2000b), može se konstatovati da je u periodu od 2000-2011. godine došlo do pojave rezistentosti patogena prema bakar-sulfatu i jednim delom prema kasugamicinu, što posebno zabrinjava. Obzirom da antibiotici u našoj zemlji nisu registrovani u zaštiti bilja, nekontrolisana i nelegalna upotreba antibiotika je ekološki neopravdana i može dovesti do pojave rezistentnih sojeva patogena, što je potvrđeno i ovim rezultatima (Ignjatov i sar., 2010).

## **2.2.4 Novi pravci u integralnoj zaštiti paprike i paradajza od bakteriozne pegavosti**

### **2.2.4.1 Primena aktivatora sistemичne otpornosti**

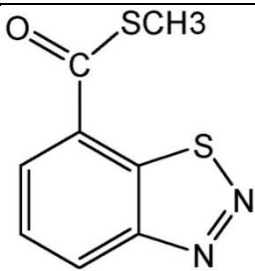
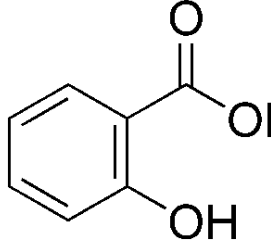
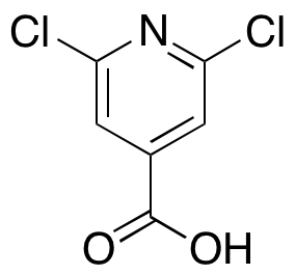
Prema novijim literaturnim podacima, biološke metode (primena bakteriofaga) i neke novije alternativne metode (aktivatori opornosti), ukazuju na mogućnost razvoja efikasne strategije za suzbijanje vrste *X. euvesicatoria* (Obradović et al., 2005).

Indukovana sistemična otpornost biljaka (Systemic Acquired Resistance, SAR) prvi put je opisana 1901. godine. Može biti indukovana patogenima koji prouzrokuju nekrozu biljnog tkiva, patogenima nekompatibilnim sa biljkom domaćinom, biološkim aktivatorima i hemijskim jedinjenjima. Prvi hemijski aktivatori otpornosti bili su salicilna kiselina i 2,6-dihlor-izonikotinska kiselina (INA) (Tabela 3). Ova jedinjenja utiču na aktiviranje sistemične otpornosti mnogih biljnih vrsta, ali zbog njihove fitotoksičnosti za većinu biljaka nisu komercijalno primenjivani (Agrios, 2005; Vernooij et al., 1995; Contrath et al., 1995; Garcion et al., 2007). Acibenzolar-S-metil (ASM) je prvi aktivator sistemične otpornosti koji je komercijalno primenjivan i nalazi se u prometu u SAD pod komercijalnim imenom Actigard, a u Evropi pod nazivom Bion 50 WG. U primeni je u nekim zemljama u okruženju, međutim još uvek nije registrovan za upotrebu u našoj zemlji. ASM se može primeniti u zaštiti od

fitopatogenih bakterija, fitoplazmi, virusa i gljiva. Nema direktan uticaj na patogene već aktivira prirodne biohemijske procese u biljkama i na taj način biljke postaju otporne na kompatibilne patogene (Louws et al., 2001; Vavrina et al., 2004).

ASM poseduje odličan potencijal za zaštitu paprike i paradajza od bakteriozne pegavosti, međutim neka istraživanja su pokazala da može ispoljiti negativan efekat na ove gajene biljke i njihov ukupan prinos (Louws et al., 2001; Abbasi et al., 2002a). ASM se ne preporučuje za upotrebu tokom cele vegetacije u usevu paradajza usled negativnog uticaja na prinos (Graves and Alexander, 2002).

Tabela 3. Hemijske i strukturne formule aktivatora otpornosti biljaka (Smith et al., 2007)

Aktivna supstanca	Struktura molekula	Hemijska formula
Acibenzolar-S-metil		$C_8H_6N_2OS_2$
Salicilna kiselina		$C_7H_6O_3$
2,6-dihlor-izonikotinska kiselina		$C_6H_5NO_2Cl_2$

Harpin protein, izolovan iz bakterije *Erwinia amylovora*, izaziva kompleksne metaboličke reakcije kod tretiranih biljaka i aktivira prirodnu otpornost. Primenjivan je u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti (Obradović et al., 2004a i 2005). Transferom DNK fragmenta koji kodira produkciju harpin proteina u *Escherichia coli* soj K12, omogućena je njegova proizvodnja i komercijalna primena u vidu preparata pod nazivom Messenger (Tabela

4). Klasifikovan je kao biohemijski pesticid, IV grupa otrova. Harpin se ne može primeniti sa hlorisanom vodom zbog denaturacije proteina (Anonymous, 2002).

Tabela 4. Aktivatori otpornosti komercijalno dostupni u SAD (Agrios, 2004)

Preparat	Aktivna supstanca	Registrovani za primenu u usevu	Način primene
<b>Actigard (Bion 50WG)</b>	Benzothiadiazole Benzodiathiazole derivati (Acibenzolar-S-methyl (ASM))	Duvan, paradajz, salata, spanać	Prskanjem, zalivanjem
<b>Serenade</b>	<i>Bacillus subtilis</i> soj QST716	Različiti usevi, voćne vrste, povrće	Prskanjem
<b>Messenger</b>	<i>Erwinia amylovora</i> harpin protein	Ratarski usevi, ukrasno bilje, povrće	Prskanje, zalivanje
<b>Oxycom</b>	Sintetska salicilna kiselina + kiseonik generator	Više useva	Prskanje, zalivanje

Obradović et al. (2005) proučavali su efikasnost aktivatora otpornosti (acibenzolar-S-metil, harpin protein), specifičnih baktriofaga, suspenzije bakterija sojeva antagonista (*Pseudomonas syringae* Cit 7, *Pseudomonas. putida* B56) i potencijalnih stimulatora rasta biljaka (*Bacillus pumilus* B 122, *Pseudomonas. fluorescens* B130 (PGPR - plant growth promoting rhizobacteria) u zaštiti od *X. c. pv. vesicatoria* u usevu paradajza sorte Florida 47, u uslovima staklenika. Kao kontrola korišćene su biljke tretirane vodom, a kao standardni tretman primenjen je bakar-hidroksid (Kocide 2000, Griffin Corp., 0,36%). U ovim eksperimentima korišćena je suspenzija 6 sojeva bakteriofaga (Agriphage, AgriPhi Inc., 1% v/v) specifičnih prema rasi T3 *X. c. pv. vesicatoria*. Sojevi bakterija stimulatora rasta i antagonisti nisu ispoljili značajan efekat u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti u uslovima veštačke inokulacije u stakleniku. Rezultati ovih autora ukazuju na ograničeni spektar aktivnosti i malu konkurentsku sposobnost ovih sojeva u uslovima staklenika. Primena preparata Agriphage u kombinaciji sa aktivatorima sistemične otpornosti značajno je umanjila intenzitet bolesti ukazujući na mogućnost efikasne primene u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti. Harpin protein nije aktivirao sistemičnu otpornost paradajza prema patogenu. Za razliku od Harpin proteina i bakterija stimulatora rasta, ASM je efikasno aktivirao sisitemičnu otpornost paradajza prema *X. c. pv. vesicatoria*, sprečavajući pojavu karakterističnih simptoma bolesti. Integrisani tretmani ASM i Agriphage su poslužili kao osnova za razvoj efikasne strategije zaštite paradajza od prouzrokovala bakteriozne pegavosti u polju (Obradović et al., 2005; Obradović, 2009).

U eksperimentima u polju sprovedenim tokom tri uzastopne godine u centralnoj i severnoj Floridi u uslovima suptropske klime, ASM primenjen samostalno ili u kombinaciji sa bakteriofagima značajno je smanjio intenzitet bakteriozne pegavosti paradajza u poređenju sa drugim tretmanima (Obradović et al., 2004a; Obradović, 2009). ASM u kombinaciji sa bakteriofagima, ili bakteriofagi i harpin protein, 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. Grupisanjem tretmana gde su primenjivani bakteriofagi utvrđeno je da se prinos značajno povećao u odnosu na tretmane bez bakteriofaga. Sojevi bakterija stimulatora rasta (PGPR) i antagonisti nisu ispoljili značajan efekat u kontroli ovog patogena u uslovima otvorenog polja.

Abbasi et al. (2002a) proučavali su efekat amonijum-lignosulfonata (ALS) dobijenog u procesu prerade drvene mase u kombinaciji sa đubrivom kalijum-fosfat (KP), dok je acibenzolar-S-metil (ASM) korišćen kao standardan tretman. Svi tretmani su značajno smanjili bakterioznu pegavost paradajza i paprike u uslovima zaštićenog prostora i otvorenog polja. Međutim, tri navedena tretmana nisu se statistički značajno razlikovala u prinosu u odnosu na netretiranu kontrolu. ASM je zapravo smanjio ukupan prinos. Nije bilo uočljivog fitotoksičnog efekta ALS i KP na lišću paprike (Abbasi et al., 2002a).

Efikasnost vodenog ekstrakta komposta poreklom iz fabrike za preradu otpada u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti proučavali su Abbasi et al. (2002b). Ogledi su postavljeni u organskom i konvencionalnom sistemu proizvodnje u državi Ohajo. Ogledi su izvedeni 1998. godine pri uslovima povoljnim za razvoj patogena. Korišćenjem vodenog ekstrakta komposta u organskoj proizvodnji, za 33% je povećana količina plodova koji se mogu izneti na tržište u odnosu na kontrolu. U konvencionalnom sistemu proizvodnje vodeni ekstrakt kompostirane trave umanjio je intenzitet oboljenja 1997. godine koja je bila pogodna za razvoj patogena. ASM je u ovoj studiji korišćen kao kontrolni tretman i uticao je na smanjenje intenziteta bakteriozne pegavosti paradajza i povećanje prinosa plodova koji se mogu plasirati (Abbasi et al., 2002b).

Abassi, Cuppels i Lazarovic (2003) su proučavali primenu nim ulja iz tropske biljke *Azadirachta indica* i ribljev ulja u zaštiti paprike i paradajza dve uzastopne sezone u zaštićenom prostoru i u uslovima otvorenog polja. Intenzitet bolesti bio je smanjen na plodovima paradajza ali rezultati često nisu bili statistički značajni (Abassi et al., 2003).

Efekat folijarne primene vodenog ekstrakta komposta u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti proučavali su Al-Dahmani et al. (2003). U eksperimentima su korišćeni vodeni ekstrakti komposta različitog porekla, kravljev stajnjaka, kompost borove kore,

kompost sa organske farme i kompost pokošene trave. Vodeni ekstrakt komposta sterilisan je autoklaviranjem ili filtracijom pre primene. Svi ekstrakti komposta ispoljili su statistički značajnu efikasnost u zaštićenom prostoru u odnosu na netretiranu kontrolu. Najveću efikasnost ispoljio je vodeni ekstrakt komposta kravljeg stajnjaka. Stepenu zaštite obezbeđen primenom najefikasnijeg vodenog ekstrakta komposta nije se razlikovao od zaštite koju je ispoljio ASM koji je korišćen kao kontrola. Međutim, u uslovima otvorenog polja 1997. godine, u uslovima povoljnim za razvoj patogena, vodeni ekstrakt komposta nije značajno umanjio bakterioznu pegavost paradajza, a ni druga oboljenja. Primenom kombinacije hlorotalonila i bakar-hidroksida sa ili bez ASM ispoljena je veća efikasnost u kontroli bolesti (Al-Dahmani et al., 2003).

Efikasnost fungicida famoksadona u kombinaciji sa cimoksanilom, ASM i *Bacillus subtilis* u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti proučavali su Roberts et al. (2008) i Fayette et al. (2012). U ovoj studiji korišćen je antagonistički soj bakterije *Bacillus subtilis*, QST 713 preparat Serenade Max. Bakar-hidroksid u kombinaciji sa mankozebom korišćen je kao standardni tretman. Ogledi su izvedeni u uslovima otvorenog polja uz primenu različitih kombinacija ovih jedinjenja u različitim vremenskim intervalima. Svi programi zaštite su značajno umanjili intenzitet bakteriozne pegavosti paradajza u odnosu na netretiranu kontrolu. Takođe, svi primenjeni programi bili su jednako efikasni u odnosu na standardni tretman bakar-hidroksidom u kombinaciji sa mankozebom i nisu se značajno razlikovali. Programi zaštite čija su osnova ASM i *Bacillus subtilis* značajno su umanjili intenzitet bakteriozne pegavosti u odnosu na netretiranu kontrolu i nisu se značajno razlikovali u odnosu na standardni tretman. U eksperimentu *in vitro* nije potvrđeno direktno baktericidno dejstvo famoksadona u kombinaciji sa cimoksanilom na *Xanthomonas* vrste. Međutim u ogleđima u stakleniku i uslovima otvorenog polja ove aktivne supstance su umanjile intenzitet bakteriozne pegavosti paradajza. Autori preporučuju primenu kombinacije ove dve aktivne supstance kao alternativno rešenje u integralnoj zaštiti bakteriozne pegavosti paradajza (Roberts et al., 2008 Fayette et al., 2012).

Wen et al. (2007a; 2007b; 2009) proučavali su efikasnost soli fosforne kiseline (SFK) u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti. Ogledi su izvedeni tri uzastopne godine u zaštićenom prostoru i uslovima otvorenog polja. Primenjene su SFK same ili u kombinaciji sa standardnim bakarnim baktericidom ili u kombinaciji sa ASM. U uslovima otvorenog polja efikasnost SFK primenjene sa standardnim baktericidom u punoj koncentraciji ili SFK primenjene jedanput nedeljno u kombinaciji sa ASM primenjenog u intervalu od 14 dana je bila ista kao i efikasnost dobijena primenom standardnog bakarnog preparata. U zaštićenom

prostoru SFK su imale sličan nivo efikasnosti kao standardni tretman a značajno veću efikasnost SFK u kombinaciji sa standardnim baktericidom od standarda primenjenog samog. Međutim, uočena je fitotoksičnost SFK u zaštićenom prostoru na obodu lista paradajza u vidu nekroze. Autori preporučuju SFK u kombinaciji sa bakarnim preparatima ili ASM za kontrolu bakterijske pegavosti paradajza u uslovima otvorenog polja. Mehanizam efikasnosti SFK je i dalje nejasan, u *in vitro* uslovima je imao slab uticaj na porast kolonija *Xanthomonas* vrsta, ali nije ispoljio efikasnost kao aktivator otpornosti u uslovima *in vivo*.

Efekat primene smanjene doze ASM u zaštiti paradajza od bakterijske pegavosti uslovima otvorenog polja proučavali su Huang et al. (2012). Ogledi su postavljeni u državi Florida i cilj je bio da se prouči i potreban broj tretmana i razmak između tretmana za efikasnu zaštitu paradajza a da se pri tom umanju negativan efekat ASM na prinos. ASM je primenjen u razmaku od dve sedmice u koncentraciji od 12,9; 64,5 i 129  $\mu\text{M}$  u eksperimentima izvedenim tokom sezona 2007-08. Bakarni preparat je korišćen kao standardni tretman i svim ogledima je uključena netretirana kontrola. Međutim, u eksperimentima nije došlo do statistički značajnog umanjenja bolesti u odnosu na standardni tretman i netretiranu kontrolu izuzev jednog ogleada i to samo u koncentraciji od 129  $\mu\text{M}$ . U drugoj seriji ogleada izvedenih u toku sezona 2009-10. ocenjena je efikasnost folijarne primene ASM u koncentracijama 50-200  $\mu\text{M}$  i to primenjenog u intervalima od 7 ili 14 dana. U ogledima je utvrđeno je da je ASM efikasniji ako se primenjuje u razmaku od 7 dana i to primenjen u koncentracijama 75  $\mu\text{M}$  (1,58 g aktivne supstance/ha u količini od 100 l vode) i 200  $\mu\text{M}$  (4,2 g a.s./ha na 100 l vode) Navedene koncentracije su statistički značajno umanjile intezitet bolesti a nisu imale negativan efekat na prinos paradajza u odnosu na netretiranu kontrolu.

Primena ASM pokazala se kao izuzetno efikasna u kontroli bakterijske pegavosti u kontrolisanim uslovima. U literaturi se navode da je efikasnost ASM na istom nivou kao i efikasnost nekih standardnih baktericida. Nasuprot ovim, Gašić i Obradović (2012) navode da postoje podaci koji govore o varijabilnoj efikasnosti ASM u polju. Varijabilna efikasnost ASM je očekivana, s obzirom da se ispoljava kao odgovor biljke na pokušaj infekcije i uslovljena je genotipom, fiziološkim statusom biljke i uslovima spoljne sredine (Gašić i Obradović, 2012).

Romero et al. (2001) su proučavali efikasnost ASM primenjenog na različite genotipove paprika u tipu babura. Utvrdili su da je indukova sistemična otpornost aktivirana kod svih genotipova paprike i ispoljena 3 dana nakon primene dok se njeno dejstvo ispoljavalo tokom dve nedelje nakon primene. Primenom ASM u intervalima od 14 dana u uslovima otvorenog polja zaštita paprike od bakterijske pegavosti je bila iste efikasnosti kao i



kod standardnog tretmana bakrom u kombinaciji sa mankozebom. Međutim, prinos paprike je značajno smanjen kod jednog genotipa od ukupno šest proučavanih.

Louws et al. (2001) su proučavali efikasnost ASM u zaštiti paradajza od bakterijske pegavosti u uslovima staklenika i otvorenog polja. ASM je ispoljio efikasnost u stakleniku međutim, biljke tretirane ASM u koncentraciji od 35 g aktivne supstance po ha su bile vizuelno manje. Navode primer da su biljke tretirane ASM imale prosečnu masu od 5,4g a kontrolne biljke su imale prosečnu masu od 10,7g. Što iznosi približno 50% redukcije porasta u odnosu na netretiranu kontrolu.

Prednost upotrebe ASM je mogućnost aktiviranja sistemične otpornosti paprike i paradajza prema više patogena istovremeno. Pored brojnih prednosti koje navode mnogi autori, primena ASM može negativno uticati na prinos paprike. Za maksimalnu efikasnost treba pažljivo podesiti koncentraciju preparata i vreme između tretmana jer prekomerna eksploatacija odbrambenog mehanizma biljke može dovesti do preopterećenja metabolizma, zaostajanja u porastu i smanjenje produktivnosti (Gašić i Obradović, 2012).

#### **2.2.4.2 Primena antagonističkih sojeva bakterija**

Biološka kontrola bakterijske pegavosti prouzrokovana rasom T1 se može postići upotrebom antagonističkog soja *X. c. pv. vesicatoria* rase T3 (Jones et al., 1998). Sa uspehom se mogu koristiti i druge antagonističke bakterije kao što su *Pseudomonas syringae* Cit 7, *Pseudomonas putida* B56, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia* sp. i različitim sojevima *Bacillus* sp. (Ji et al., 2006; Mirik et al., 2008).

Ji et al. (2006) su proučavali integralnu biološku kontrolu bakterijske pegavosti paradajza u uslovima staklenika i otvorenog polja. U ogleđima su koristili biološke agense i PGPR- sojeve bakterija. Sojevi PGPR u ovoj studiji su korišćeni na osnovu njihovog kapaciteta da indukuju otpornost prema bakterijskoj pegavosti paradajza. Folijarni tretman sojem *P. syringae* Cit7 je bio najefikasniji od tri primenjena biološka agensa, pružajući značajno umanjenje intenziteta bakterijske pegavosti paradajza u dva od tri eksperimenta u polju. Ovim rezultatima je potvrđeno da neki sojevi PGPR mogu aktivirati sistemičnu otpornost paradajza u uslovima otvorenog polja (Ji et al., 2006).

Efikasnost biološkog baktericida Serenade (*Bacillus subtilis* QST 713), bakar-hidroksida i njihove kombinacije u zaštiti paradajza od bakterijske pegavosti proučavali su Abbasi et al. (2015). Ogledi su izvedeni u uslovima otvorenog polja u Londonu, Ontario, Kanada. Vodena suspenzija preparata Serenade primenjenog samostalno umanjila je intenzitet

oboljenja na listovima u tri od četiri uzastopne sezone koliko su trajala istraživanja. Bakar-hidroksid primenjen kao standardni tretman je bio efikasan u tri od četiri sezone. Smesa ova dva baktericida umanjila je intenzitet oboljenja na listovima u sve četiri sezone. Međutim, nije bilo značajne razlike u intenzitetu oboljenja na plodovima. Ovi rezultati potvrđuju umerenu efikasnost ovih baktericida u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti.

### **2.2.4.3 Primena bakteriofaga**

Bakteriofagi su virusi koji zaražavaju bakterijsku ćeliju. Veoma su specifični za bakterijske i ne parazitiraju eukariotske ćelije. Specifični su prema domaćinu, tj. eliminišu samo kompatibilnu bakteriju, bez uticaja na ostale članove životne sredine (Obradović i sar., 2006; Gašić i sar., 2007). Umnožavaju se samo dok postoji bakterija-domaćin i brzo se inaktiviraju kada je domaćin odsutan. Netoksični su i mogu se koristiti u zaštiti i kada upotreba hemijskih jedinjenja nije dozvoljena, kao što je slučaj u organskoj proizvodnji (Balogh et al., 2003; Gašić i sar., 2007; Obradović, 2009; Sadunishvili et al., 2015). Jedna od prednosti bakteriofaga je i što se mogu primeniti standardnom opremom za zaštitu bilja i mogu se čuvati mesecima pri temperaturi 4°C bez značajnog gubitka efikasnosti (Jones et al., 2007).

Isušivanje i ultraljubičasto zračenje negativno utiču na opstanak faga u spoljnoj sredini (Iriarte et al., 2007, Jones et al., 2007, Gašić i sar., 2009). U dosadašnjoj primeni faga u zaštiti bilja čest problem predstavlja perzistentnost faga na površini biljnog tkiva usled isušivanja i pogubnog dejstva sunčevog zračenja. Drastičan pad populacije primenjenih faga spoljnoj sredini usled pomenutih faktora, imao je za posledicu promenljivu efikasnost u suzbijanju bakterija i nestandardne rezultate, što je bila glavna smetnja njihovoj masovnijoj primeni (Jones et al., 2007; Obradović, 2009). Prilagođavanjem vremena aplikacije pokazalo se da se tretmanima biljaka u sumrak, pred zalazak sunca, može izbeći negativan uticaj dnevnog svetla i značajno produžiti opstanak faga, čime se povećava šansa za ostvarenje kontakta faga sa bakterijom domaćinom (Jones et al., 2002; 2007).

Problemi perzistentnosti faga na površini biljnog tkiva su rešavani korišćenjem formulacija koje omogućavaju dužu vitalnost faga na površini lista (Balogh, 2002; Balogh et al., 2003; Obradović et al., 2005; Iriarte et al., 2007) kao i korišćenjem bakterija nosilaca faga, koje omogućavaju umnožavanje faga specifičnih istovremeno i za patogena (Svircev et al., 2006). Korišćenje faga izolovanih iz ove sredine u biološkoj kontroli ima i prednosti, s

obzirom da oni mogu biti bolje prilagođeni za preživljavanje i umnožavanje na površini biljaka. Iriarte et al. (2007) saopštili su da su fagi izolovani iz filofsere bili otporni prema isušivanju.

Na površini lista, fagi mogu doći u kontakt sa velikim brojem pesticida. Iako većina ovih hemijskih jedinjenja nema uticaja na vitalnost faga (Zaccardelli et al., 1992; Balogh et al., 2005), bakarni preparati su se pokazali štetni ukoliko se primene u periodu kraćem od tri dana pre tretmana fagima (Balogh et al., 2005; Iriarte et al., 2007).

Balogh et al. (2003) su proučavali uticaj formulisanja bakteriofaga na povećanje njihove efikasnosti i perzistentnosti u spoljnoj sredini. Proučavanjem više potencijalnih supstanci, utvrđeno je da se efikasnost faga značajno povećava formulisanjem obranim mlekom u prahu i saharozom neposredno pre upotrebe suspenzije faga za zaštitu paradajza od bakteriozne pegavosti (Balogh et al., 2003; Obradović et al., 2004a)

Efekat koncentracije faga na smanjenje zaraze je takođe proučavan. Balogh (2002) je tretirao biljke paradajza mešavinom faga različite koncentracije:  $10^4$ ,  $10^6$  i  $10^8$  PFU/ml pre inokulacije bakterijom *Xanthomonas perforans*. Najmanja koncentracija faga nije imala efekta na nivo zaraze dok su poslednje dve značajno smanjile njen intenzitet.

Usled pojave otpornosti bakterija prema fagima, Jackson (1989) je razvio nov sistem primene faga za zaštitu od bakterioza u vidu mešavine h-mutanta. H-mutanti su fagi koji poseduju sposobnost da liziraju soj bakterije rezistentan prema materinskim fagima. Stoga oni imaju širi spektar domaćina u odnosu na materinske fage. Primenom ovog modela postignuti su dobri rezultati u suzbijanju prouzrokača bakteriozne pegavosti paradajza *X. perforans*, kako u stakleniku tako i u uslovima otvorenog polja (Flaherty et al., 2000). Ideja primene h-mutant faga iskorišćena je u projektu razvoja nove strategije zaštite paradajza od prouzrokača bakteriozne pegavosti. Flaherty et al. (2000) su pokazali da se ovakvom primenom faga mogu ostvariti zadovoljavajući rezultati. Međutim, ispostavilo se da efikasnost faga umnogome zavisi od njihove osetljivosti prema uslovima spoljne sredine (isušivanje, UV zračenje) i sposobnosti da održavaju svoju populaciju na biljkama. Posle istraživanja nekoliko načina primene faga, pokazalo se da suspenzija h-mutanata faga, formulisana obranim mlekom u prahu i saharozom, primenjena u predvečerje, obezbeđuje značajno manji stepen zaraze nego standardni tretman bakarnim preparatima ili netretirana kontrola (Flaherty et al., 2000; Balogh et al., 2003)

Gašić i sar. (2010; 2011) proučavali su efikasnost suspenzije faga u kontroli bakteriozne pegavosti paprike u stakleniku. Rezultati israživanja su pokazali da se primenom

faga 2 sata pre i istovremeno sa inokulacijom biljaka paprike može značajno smanjiti intenzitet bakteriozne pegavosti u uslovima staklenika.

U pogledu primene bakteriofaga u praksi, najdalje se otišlo njihovom integracijom u novu strategiju zaštite paradajza od bakteriozne pegavosti, i to u područjima gde klima povoljno utiče na nastanak i razvoj ovog oboljenja (Obradović i sar., 2007b; 2008; 2009). U takvim uslovima zaštita paradajza od bakteriozne pegavosti predstavlja nerešiv problem. Usled pojave novih rasa bakterije *X. euvesicatoria* i razvoja otpornosti ovog patogena prema baktericidima, gajenje otpornih genotipova i primena preparata na bazi streptomcina ili bakra ne obezbeđuje zadovoljavajući efekat zaštite (Momol et al., 2002; Obradović et al., 2004a). Stoga su započeta proučavanja mogućnosti primene bioloških agenasa, superparazita i antagonista navedenog patogena, bakterija stimulatora rasta biljaka i hemijskih supstanci aktivatora sistemичne otpornosti, u cilju integracije njihovih pozitivnih efekata u jedinstvenu i održivu strategiju zaštite. Na osnovu ranije ispoljene zadovoljavajuće efikasnosti u eksperimentima u stakleniku, tretmani bakteriofagima i aktivatorima otpornosti (ASM i Harpin), kao i njihove međusobne kombinacije, odabrani su za dalja istraživanja u polju. Još u ogleđima u zaštićenom prostoru uočen je do tada nezabeležen pozitivan efekat integracije tretmana fagima i aktivatorima otpornosti (Obradović et al., 2005). Primenom acibenzolar-S-metila, u biljkama paradajza starosti šest nedelja došlo je do aktiviranja otpornosti prema patogenu do nivoa hipersenzitivnosti. U uslovima veoma povoljnim za ostvarenje infekcije i pri visokoj koncentraciji inokuluma ( $10^8$  bakterija/ml), to je imalo za posledicu vidljive nekroze biljnog tkiva na mestima prodora bakterija, podsećajući na simptome prirodne infekcije. Autori navode da je dalje širenje patogena na tretiranim biljkama bilo zaustavljeno, međutim, nekroza tkiva je umanjila asimilativnu površinu lišća, što se negativno odrazilo na rast i prinos biljaka. Takva reakcija biljaka u polju, pri jačem intenzitetu zaraze, prouzrokovala bi dodatne negativne efekte i stoga je bilo potrebno naći način da se nivo otpornosti biljaka zadrži ali da se smanji intenzitet njenog pobuđivanja i izbegne pojava nekroze tkiva. Kombinacija tretmana aktivatora sistemичne otpornosti i bakteriofaga donela je rešenje nastalog problema. Ispostavilo se da su bakteriofagi uspešno smanjili populaciju bakterija na površini lišća umanjujući i broj prodora patogena kroz prirodne otvore, a samim tim i intenzitet reakcije biljke čija je otpornost pobuđena preparatom acibenzolar-S-metil (Obradović, 2012). Naredni eksperimenti su izvedeni na ogleđnim poljima Florida Univerziteta, u uslovima suprotropske klime, izuzetno povoljnim za pojavu bakteriozne pegavosti. Rezultati ogleđna izvedenih u stakleniku (Obradović et al., 2005) i tokom tri sezone na polju (Obradović et al., 2004a), ukazali su da primena selekcionisanih sojeva bakteriofaga,

formulisanih obranim mlekom i saharozom, u kombinaciji sa aktivatorima sistemичne otpornosti biljaka, pruža efikasnu zaštitu paradajza čak i u uslovima suptropske klime. Istraživanja Obradovića et al. (2004a) doprinela su da tretman bakteriofagima, integrisan sa drugim merama zaštite, postane strategija integralne zaštite paradajza od bakteriozne pegavosti koja je zaživela u praksi u SAD, što predstavlja prvi praktičan primer primene bakteriofaga u zaštiti bilja u svetu (Momol et al., 2006; Jones et al., 2007; Obradović et al., 2008), a preparat bakteriofaga je u SAD dostupan od 2005. godine za komercijalnu upotrebu (Agriphage, OmniLytics Inc., Salt Lake City, UT, EPA Registration # 67986-1) (Jones et al., 2007; Obradović, 2009).

### 3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja ovog rada je da se utvrdi efekat baktericida koji su već u upotrebi, kao i supstanci koje nisu u primeni u našoj zemlji, na populaciju *X. euvesicatoria* poreklom iz paprike. Podaci o efikasnosti bili bi od izuzetnog značaja za dalji razvoj strategije kontrole patogena i sprečavanje širenja rezistentne populacije. Praktičan cilj ovih proučavanja ogleda se u mogućnosti primene novijih, savremenih metoda za suzbijanje ovog parazita koji svake godine nanosi sve veće gubitke u proizvodnji paprike u našoj zemlji.

Pretpostavka je da se integracijom pozitivnog efekta različitih metoda može postići povoljniji efekat zaštite. Biološke metode (primena bakteriofaga i antagonističkih sojeva bakterija) i neke novije alternative (aktivatori sistemne otpornosti), ukazuju na mogućnost razvoja efikasne strategije za kontrolu *X. euvesicatoria*. U cilju optimizacije i integracije različitih metoda za zaštitu od ovog patogena, proučiće se efikasnost pojedinačne i kombinovane primene bioloških agenasa (bakteriofaga i sojeva *Bacillus subtilis*), aktivatora sistemne otpornosti biljaka (acibenzolar-S-metil), kao potpuno novih tretmana u zaštiti bilja u nas, uz kombinaciju i poređenje sa klasičnim baktericidima. Proučavanje mogućnosti primene nekih bioloških agenasa, poreklom iz prirodnog mikrobioma, specifičnih prema patogenu i bezopasnih po čoveka i životnu sredinu, imalo bi značajnu ulogu u unapređenju efikasnosti i održivosti metoda zaštite, kroz integraciju sa konvencionalnim metodama, kao i u smanjenju primene hemijskih preparata u zaštiti bilja. Poznavanje korisnih mikroorganizama, prirodnih neprijatelja, kao i mogućnosti njihove primene u zaštiti od bakterioza predstavlja naučnu osnovu za razvoj bioloških metoda zaštite. Ne retko su proučavanja korisnih mikroorganizama, antagonista i superparazita, ostajala bez rezultata upravo zbog nedovoljnog poznavanja uslova neophodnih za njihovu efikasnu primenu. Obzirom da se radi o živim organizmima, njihova interakcija sa drugim tretmanima i uslovima spoljne sredine je mnogo kompleksnija nego što je kod klasičnih pesticida sintetskog porekla. Bez proučavanja međusobnih odnosa i optimizacije uslova njihove primene, biološki agensi se ne mogu adekvatno iskoristiti i njihova primena će ostati bez rezultata. To može dovesti u zabludu i zaustaviti napredak u razvoju biološke zaštite bilja. Osim naučnog ova istraživanja imaće i praktičan značaj. Istraživanja mogućnosti primene novijih mera u suzbijanju *X. euvesicatoria* doprineće poboljšanju tehnologije proizvodnje paprike i umanjiti gubitke u proizvodnji. Takođe doprineće smanjenoj primeni hemijskih preparata i doprineće očuvanju zdravlja proizvođača, potrošača i zaštiti drugih činilaca

životne sredine. Proizvedeni plodovi će biti zdravstveno bezbedniji.

### **3.1 OSNOVNE HIPOTEZE**

Da bi istražili prednosti različitih strategija za kontrolu populacije *X. euvesicatoria* u Srbiji, osnovne hipoteze od kojih se polazi su: (i) da u prirodi postoje biološki agensi: bakterije antagonisti, bakteriofagi; kojima se može uticati na populaciju *X. euvesicatoria* i koji se stoga mogu iskoristiti u zaštiti paprike od ovog patogena. (ii) Da se integracijom primene konvencionalnih baktericida i bioloških agenasa može unaprediti strategija zaštite paprike od bakteriozne pegavosti. (iii) Takođe, pretpostavlja se da se primenom aktivatora otpornosti može pojačati odbrambena reakcija biljaka paprike bez negativnog uticaja na prinos i porast paprike. (iv) Pretpostavka je da se integracijom tretmana, bakteriofaga i aktivatora otpornosti može unaprediti strategija zaštite paprike od bakteriozne pegavosti i da se njihovom primenom može smanjiti intenzitet zaraze biljaka i uticati značajno na povećanje prinosa paprike.

## 4. MATERIJAL I METODE

### 4.1. Održavanje bakterija u kolekciji, priprema inokuluma

U istraživanjima je korišćen soj KFB 13 *X. euvesicatoria* izolovan iz paprike, sa lokaliteta Horgoš. Pripada rasi P7, jednoj od dve najrasprostranjenije i najučestalije rase u našoj zemlji, osetljiv prema jedinjenjima bakra i streptomycinu (Obradović i sar., 2004b). Čuvan je u kolekciji fitopatogenih bakterija (KFB) Instituta za fitomedcinu, Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu, pri temperaturi od  $-80^{\circ}\text{C}$ , u podlozi od hranljivog bujona sa 30% glicerola u krioepruvetama (Schaad et al., 2001), i u Institutu za povrtarstvo na temperaturi  $+4^{\circ}\text{C}$  na zakošenoj YDC podlozi (podloga od kvašćevog ekstrakta, dekstroze i hranljivog agara). Za kratkoročno čuvanje bakterija tokom nekoliko meseci pripremljena je radna kolekcija tako što je pun zahvat kolonije starosti 24 h suspendovan u sterilnoj česmenskoj vodi u mikroepruvetama i čuvan pri sobnoj temperaturi (Klement et al., 1990). Za pripremu inokuluma korišćene su sveže kulture bakterija gajene 24 h na hranljivom agaru (HA) (agar 18,0 g, hranljivi bujon 23,0 g, destilovana voda 1,0 L) na temperaturi  $26 - 27^{\circ}\text{C}$  u termostatu. Sveža kultura bakterije je zatim suspendovana u sterilnoj česmenskoj vodi. Bakterijska suspenzija je podešena do konačne koncentracije približno  $10^8$  CFU  $\text{ml}^{-1}$  upotrebom McFarland-ove skale i potvrđena je zasevanjem serije razređenja na hranljivu podlogu i brojanjem razvijenih kolonija (Klement et al., 1990).

### 4.2. Proučavani tretmani

Od klasičnih preparata odabrani su preparati na bazi jona bakra: bakar-hidroksid (Kocide 2000), bakar-oksihlorid (Cuprozin 35 WP) (Tabela 5). Bakarni preparati su primenjeni samostalno ili u kombinaciji sa mankozebom (Mankogal 80-WP). Od aktivatora otpornosti korišćen je acibenzolar-S-metil (Bion 50 WG). Radi poređenja sa drugim tretmanima korišćeni su antibiotici streptomycin-sulfat (Streptomycin P) i kasugamicin (Kasumin 2L). Antibiotici nisu registrovani za upotrebu u poljoprivredni u našoj zemlji i u ovom radu su korišćeni u eksperimentalne svrhe. U cilju razvoja biološke zaštite primenjeni su bakteriofagi soj KΦ 1, komercijalno mikrobiološko đubrivo Slavol (Agrounik) i



Tabela 5. Naziv preparata, proizvođača, aktivne supstance i koncentracija aktivne supstance primenjene u kontroli bakterijske pegavosti paprike.

	<b>Preparati</b>	<b>Proizvođač</b>	<b>Aktivna supstanca</b>	<b>Koncentracija aktivne supstance u preparatu</b>
1.	Bion 50 WG (Actigard)	Syngenta crop protection, Švajcarska	Acibenzolar-S-methyl	50%
2.	Kocide 2000	DuPont, Griffin corp, Francuska	Bakar-hidroksid	53,8%
3.	Cuprozin35WP	Galenika fitofarmacija, Srbija	Bakar-oksihlorid	35%
4.	Mankogal	Galenika fitofarmacija, Srbija	Mankozeb	80%
5.	Kasumin 2L	Sumitomo Chemicals Corporation, Japan	Kasugamicin	2%
6.	Streptomycin P	NCP, Srbija	Streptomycin sulfat	100%
7.	Serenade	AgraQuest Inc, Italija	<i>B. subtilis</i> soj QST 713	$5 \times 10^9$ CFU/g
8.	Bakteriofagi	(Gašić et al., 2011; 2018)	Soj faga KΦ1	$10^9$ PFU/ml
9.	Antagonist AAac	Kolekciji fitopatogenih bakterija (KFB) Instituta za fitomedicinu	<i>B. subtilis</i> soj AAac	$10^8$ CFU/ml
10	Slavol	Agrounik, Srbija	Mikrobiološko đubrivo	-

*Bacillus subtilis* sojevi QST 713 (Serenade) i AAac. Soj bakteriofaga KΦ 1 izolovan iz zemljišta u lokalitetu Družetić kod Koceljeve (Gašić et al., 2011). Specifičan je za *X. euvesicatoria* i ne lizira druge vrste bakterija. *Bacillus subtilis* (AAac) je soj odabran na osnovu ispoljenog jakog antagonističkog dejstva prema *X. euvesicatoria* u eksperimentima *in vitro*. Ovaj soj se čuva u kolekciji fitopatogenih bakterija (KFB) Instituta za fitomedicinu, Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu, pri temperaturi od  $-80^{\circ}\text{C}$ , u podlozi od hranljivog bujona sa 30% glicerola u krioepurvetama (Schaad et al., 2001). U tabeli 5. je dat pregled aktivnih supstanci, proizvođača i koncentracija aktivnih supstanci u preparatima.

#### 4.2.1 Umnožavanje, određivanje titra i čuvanje bakteriofaga

Za primenu bakteriofaga u eksperimentima, vršeno je njihovo umnožavanje kako bi se dobila suspenzija visokog titra (približno  $10^{10}$  PFU/ml). Soj faga KΦ 1 umnožen je u kulturi kompatibilne bakterije *X. euvesicatoria* soj KFB 189 gajene u hranljivom bujonu u kolbama. Kolbe su postavljene na rotacionu mešalicu u termostatu (150 rpm) pri temperaturi  $27^{\circ}\text{C}$  tokom 19h. U eksponencijalnoj fazi porasta, pri koncentraciji od  $10^8$  CFU/ml ( $\text{OD}_{600} = 0,3$ ), dodata je odgovarajuća količina faga tako da odnos broja čestica faga i ćelija bakterije bude oko 1:10. Nakon umnožavanja, u cilju eliminacije preostalih živih bakterijskih ćelija, dodat je hloroform (10:1 v/v) uz postepeno mešanje u trajanju od 1h. Zatim je pažljivo izdvojena gornja faza u zatamnjenu sterilnu posudu i nakon provere titra čuvana do upotrebe pri temperaturi  $+4^{\circ}\text{C}$  u frižideru. U eksperimentima za tretiranje biljaka korišćena je suspenzija bakteriofaga koncentracije  $10^{10}$  PFU/ml za oglede u kontrolisanim uslovima i  $10^9$  PFU/ml za oglede u uslovima otvorenog polja. Suspenzija bakteriofaga je po potrebi razređivana sterilnom česmenskom vodom.

Da bi se proverio titar suspenzije bakteriofaga pre upotrebe u eksperimentima, napravljeno je deset razređenja suspenzije faga u odnosu 1:10, u sterilnoj česmenkoj vodi. U praznu Petri kutiju naneto je 100  $\mu\text{l}$  suspenzije kompatibilnog soja *X. euvesicatoria*, pripremljene u sterilnoj česmenkoj vodi i 100  $\mu\text{l}$  suspenzije faga određenog razređenja. Zatim je već pripremljena podloga NYA prohladna do  $48^{\circ}\text{C}$  u vodenom kupatilu. Nakon toga u Petri kutije je razlivena odgovarajuća količina podloge tako da prekrije dno. Suspenzije bakteriofaga i podloga izmešane su kružnim pokretima Petri kutije nekoliko puta i nakon očvršćavanja podloge, postavljene su u termostat na  $27^{\circ}\text{C}$ . Razaranje ćelija bakterija u podlozi

uočava se u vidu prosvetljene zone kružnog oblika u kojoj nema razvoja bakterija. Ova zona se naziva „plak“. Nakon 24 h inkubacije, posmatrani su plakovi u podlozi. Na osnovu broja formiranih plakova u određenim razređenjima, vršeno je izračunavanje titra faga izraženog u broju formiranih plakova po ml suspenzije (plaque forming units/ml, PFU/ml) (Klement et al., 1990).

$$\text{Koncentracija faga (PFU/ml)} = \text{broj formiranih plakova} \times 1/\text{razređenje} \times 10^*$$

\*obzirom da se pri postavljanju ogleda koristi 100  $\mu$ l suspenzije faga, neophodno je rezultat pomnožiti sa 10 kako bi se omogućilo izražavanje koncentracije po ml.

Za dugoročno čuvanje faga u kolekciji, 100  $\mu$ l suspenzije faga i 100  $\mu$ l suspenzije bakterije domaćina pomešano je u sterilnoj mikroepreveti. Nakon 5 min, tokom kojih je došlo do adsorpcije faga na površinu bakterijske ćelije, suspenzija je pipetom prenetu u krioeprevetu sa 2 ml podloge od hranljivog bujona i 30% glicerola i postavljena na čuvanje u zamrzivaču na  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## **4.3 Ogledi u kontrolisanim uslovima**

### **4.3.1 Gajenje biljaka i inokulacija**

Efikasnost pojedinačnih tretmana bioloških agenasa, aktivatora otpornosti i konvencionalnih baktericida, kao i eventualni fitotoksičan efekat, proučeni su u ogledima u stakleniku i fitokomori Instituta za povrtarstvo, Smederevska Palanka. Setva semena paprike (*Capsicum annuum* L.) sorta kalifornijsko čudo (Early California Wonder - ECW) je izvedena u polistirenske kontejnere sa 104 otvora u hranljivi supstrat (Klasmann Substrat 1; Klasmann-Deilmann GmbH, Nemačka). Nakon nicanja biljke su gajene pri veštačkom osvetljenju u trajanju 15 časova i mraka u trajanju 9 časova, pri temperaturi  $26 - 28^{\circ}\text{C}$ . Za ogled u kontrolisanim uslovima nakon mesec dana od nicanja biljke paprike su presađene u saksije prečnika 10 cm, zapremine 510 ml, napunjene supstratom Klasmann Substrat TS2 (Klasmann-Deilmann GmbH, Nemačka). Do veštačke inokulacije biljke su gajene u stakleniku pri temperaturi  $23 - 28^{\circ}\text{C}$  i po potrebi prihranjivane (Murtonik NPK 19-9-27, K+N Efthymiadis S.A., Grčka ) i zalivane (Slika 3). Veštačka inokulacija vršena je prskanjem ručnom prskalicom tipa Mercury 0,5l (Kwazar, Češka), sa naličja i lica lista u fazi šestog - sedmog stalnog lista. Za inokulaciju je korišćena bakterijska suspenzija soja KFB 13 pripremljena po predhodno opisanoj metodi. Nakon inokulacije biljke su održavane u

uslovima visoke vlažnosti tako što su pokrivene plastičnim kesama u trajanju od 24 h (Slika 4). Visoka relativna vlažnost vazduha doprinosi otvaranju stoma i intenzivnijem prodoru bakterija u lisno tkivo. Kесе su skinute nakon 24 h i biljke su raspoređene po potpuno slučajnom planu. Biljke paprike tretirane sterilnom česmenskom vodom korišćene su kao negativna kontrola dok su inokulisane netretirane biljke predstavljale pozitivnu kontrolu. Tretirane i inokulisane biljke su gajene u stakleniku pri prirodnom osvetljenju i prosečnoj temperaturi od  $27\pm 4^{\circ}\text{C}$ . U fitokomori biljke su gajene pri veštačkom osvetljenju u trajanju 16 časova i mraku u trajanju 8 časova, pri temperaturi  $26 - 28^{\circ}\text{C}$  i vlažnosti vazduha 85%. Ogledi su izvedeni u vremenskom intervalu od 24 dana. Tretmani su primenjeni tretiranjem biljaka ručnom prskalicom tipa Mercury 0,5l (Kwazar, Češka). Ogledi u stakleniku i fitokomori su postavljeni po potpuno slučajnom planu u pet ponavljanja. Na osnovu rezultata oglеda u stakleniku i fitokomori, najefikasniji pojedinačni tretmani su integrisani radi provere efikasnosti njihovih kombinacija, a zatim su izabrani najpogodniji preparati čije je baktericidno dejstvo proučeno u uslovima otvorenog polja.

### 4.3.2 Efekat tretmana i statistička obrada podataka oglada izvedenih u stakleniku i fitokomori

Rezultati oglada ocenjeni su 7 i 14 dana nakon inokulacije. Intenzitet oboljenja određen je ocenom površina nekrotiranih pega na lišću korišćenjem skale po Horsfall i Barratt-u (HB scale) (Horsfall and Barratt, 1945) (Tabela 6.). Eksperimentalni dizajn oglada u stakleniku i fitokomori je potpuno slučajan plan u pet ponavljanja sa po pet biljaka u svakom ponavljanju. Rezultati su statistički obrađeni metodom analize varijanse, a za pojedinačna poređenja korišćen je Duncan-ov test za višestruke intervale u statističkom programu SPSS za Windows program (IBM Corp. Released, 2012).

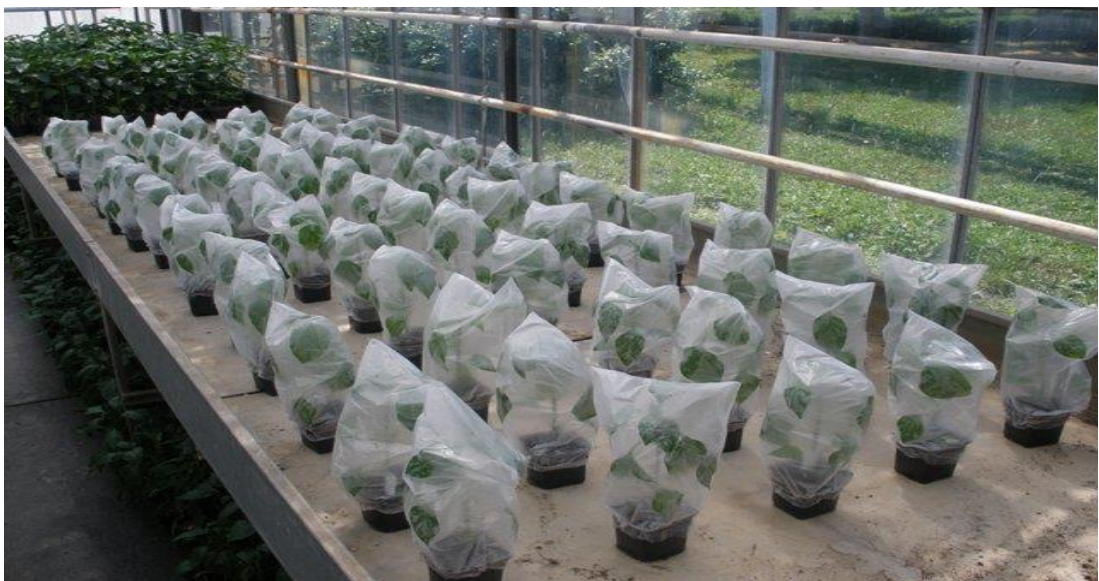
Tabela 6. Skala za ocenu nekrotične površine na listovima paprike po Horsfall-Barratt-u i srednje vrednosti indeksa oboljenja.

Vrednosti HB-skale (ocena)	Procenat infekcije	Srednje vrednosti*
1	0	0
2	0 - 3	2,34
3	3 - 6	4,68
4	6 - 12	9,37
5	12 - 25	18,75
6	25 - 50	37,5
7	50 - 75	62,5
8	75 - 87	81,25
9	87 - 94	90,63
10	94 - 97	95,31
11	97 - 100	97,66
12	100	100

\*Srednje vrednosti iz Enlanco konverzionih tablica za Barratt-Horsfall skalu (Elanco products CO., Indianapolis, IN) (Redman et al., 1964; 1969).



Slika 3. Biljke paprike u fenofazi razvoja 5-6 stalnih listova korišćene u eksperimentu, raspoređene po potpuno slučajnom planu u stakleniku (Foto: M. Šević).



Slika 4. Inokulisane biljke pokrivenne plastičnim kesama radi održavanja visoke relativne vlažnosti vazduha u stakleniku (Foto: M. Šević).



Slika 5. Biljke paprike u fenofazi razvoja 5-6 stalnih listova korištene u eksperimentu, raspoređene po potpuno slučajnom planu u fitokomori (Foto: M. Šević).



Slika 6. Inokulisane biljke pokrивene plastičnim kesama radi održavanja visoke relativne vlažnosti vazduha u fitokomori (Foto: M. Šević).

### **4.3.3 Proučavanje efikasnosti ASM u zaštiti paprike od bakteriозne pegavosti**

Acibenzolar-S-metil (ASM) se primenjuje preventivno u uslovima povoljnim za pojavu infekcije, ne deluje direktno na patogena već aktivira prirodnu sistemičnu otpornost biljka povećavajući otpornost prema bolestima. Nakon primene, ASM se brzo usvaja preko lista ili korena, translocira se kroz biljku tako da ispoljava sistemično dejstvo. Zbog specifičnog načina delovanja ASM se primenjuje pre pojave infekcije. Cilj ovog oglеda je da se prouči potrebna koncentracija, učestalost i način primene ASM za efikasnu zaštitu paprike od bakteriозne pegavosti. Ogledi za ocenu efikasnosti aktivatora sistemične otpornosti, ASM, postavljeni su u fitokomori. Proučena je efikasnost tri koncentracije ASM (0,0012, 0,0015 i 0,0025%) (Bion 50WG) prskanjem biljaka, korišćenjem oko 15 ml ili zalivanjem sa 50 ml rastvora po biljci. Preparat je primenjen 9 i 4; 7 i 1; 7; 4 i 1 dan pre veštačke inokulacije. U ovom ogledu Bakar-hidroksid (0,102% - Kocide 2000) je korišćen kao standardni tretman i primenjen je jedan dan pre inokulacije. Biljke paprike tretirane sterilnom česmenskom vodom korišćene su kao negativna kontrola dok su inokulisane netretirane biljke predstavljale pozitivnu kontrolu. Priprema inokuluma i inokulacija su izvedene po predhodno opisanoj metodi.

### **4.3.4 Proučavanje fitotoksičnosti ASM u uslovima fitokomore**

Fitotoksičnost ASM proučavana je u fitokomori. Biljke paprike gajene su saksijama zapremine 510 ml. Biljke paprike su tretirane sa po 50 ml rastvora preparata po saksiji u tri koncentracije aktivne supstance (0,0015; 0,0025 i 0,0035%) zalivanjem i u istim koncentracijama primenjene prskanjem (približno 15 ml rastvora preparata po biljci). ASM je primenjen dva puta pre inokulacije po modelu koji se u prethodnom ogledu pokazao kao najefikasniji. Prvi tretman ASM primenjen je deset dana nakon presađivanja u saksije iz polistirenskih kontejnera (kada se biljke paprike dobro ukorene i nastave sa rastom), drugi tretman primenjen pet dana nakon prvog. Biljke paprike tretirane česmenskom vodom korišćene su kao kontrola. Eksperimentalni dizajn ogleda je potpuno slučajan plan u pet ponavljanja. Očitavanje rezultata ogleda je izvedeno 10 dana nakon drugog tretmana merenjem visine nadzemnog dela i 7. dana kasnije merenjem visine i mase nadzemnog dela,



kao i merenjem ukupne mase biljke sa korenom. Statistička obrada podataka je urađena korišćenjem analize varijanse i Duncan-ovog testa za višestruke intervale.

#### **4.3.5 Proučavanje efikasnosti pojedinačnih tretmana u zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti u uslovima veštačke inokulacije u stakleniku i fitokomori**

Efikasnost pojedinačnih tretmana u kontroli bakteriozne pegavosti lišća paprike proučavana je tokom 2010. i 2011. godine u uslovima veštačke inokulacije u stakleniku i fitokomori Instituta. Pregled tretmana i primenjene koncentracije date su u tabeli 7. Svi preparati su primenjeni prskanjem osim preparata Slavol koji je primenjen zalivanjem. ASM je primenjen 9. i 4. dana pre veštačke inokulacije, prskanjem u koncentraciji 0,0015% aktivne supstance. Ova koncentracija ASM je ispoljila najmanji negativan uticaj na biljke paprike i pokazala se kao najefikasnija u zaštiti od bakteriozne pegavosti u predhodnim ogledima. Biljke paprike tretirane sterilnom česmenskom vodom korišćene su kao negativna kontrola, dok su inokulisane netretirane biljke predstavljale pozitivnu kontrolu.

Tabela 7. Naziv, koncentracija i vreme primene različitih tretmana u kontroli bakterijske pegavosti lišća paprike u stakleniku i fitokomori.

	<b>Tretmani</b>	<b>Koncentracija primene aktivne supstance</b>	<b>Vreme, način primene i broj tretiranja</b>
1.	ASM	0,0015%	Dve aplikacije pre inokulacije prskanjem, 9. i 4. dana pre inokulacije.
2.	Bakar-hidroksid	0,102%	Jedna aplikacija prskanjem, 1 dan pre inokulacije.
3.	Bakar-oksihlorid	0,123%	Jedna aplikacija prskanjem, 1 dan pre inokulacije
4.	Bakar-hidroksid + Mankozeb	0,102% + 0,144%	Jedna aplikacija prskanjem, 1 dan pre inokulacije
5.	Bakar-oksihlorid + Mankozeb	0,123% + 0,144%	Jedna aplikacija prskanjem, 1 dan pre inokulacije.
6.	Kasugamicin	0,004%	Jedna aplikacija prskanjem, 1 dan pre inokulacije.
7.	Streptomycin	0,02%	Jedna aplikacija prskanjem, 1 dan pre inokulacije.
8.	<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	$2 \times 10^6$ CFU/ml	Jedna aplikacija prskanjem, 1 dan pre inokulacije.
9.	Bakteriofagi KΦ1	$10^{10}$ PFU/ml	Jedna aplikacija prskanjem, 2 h pre inokulacije.
10.	<i>Bacillus subtilis</i> AAac	$10^8$ CFU/ml	Jedna aplikacija prskanjem, 1 dan pre inokulacije.
11.	Mikrobiološko đubrivo	2%	Jedna aplikacija prskanjem i zalivanjem 1 dan pre inokulacije
12.	Negativna kontrola, neinokulisane i netretirane biljke	-	-
13.	Pozitivna kontrola, inokulisane, netretirane biljke	-	-

#### **4.3.6 Proučavanje efikasnosti integracije bioloških i hemijskih metoda u zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti u uslovima fitokomore**

U cilju razvoja efikasnog programa kontrole prouzrokovaca bakteriozne pegavosti paprike, postavljeni su ogledi za ocenu efikasnosti razlicitih integracija bioloskih i hemijskih tretmana (Tabela 8). Ogledi su postavljeni u fitokomori. U ogledu je proučena efikasnost integracija tretmana acibenzolar-S-metil (ASM, Bion 50WG; 0,0015%) u razlicitim kombinacijama sa bioloskim tretmanima: *Bacillus subtilis* (soj Aaac, konc.  $10^8$  CFU/ml i preparat *Bacillus subtilis* QST 713) i bakteriofagima (soj KΦ1; konc.  $10^9$  PFU/ml). ASM je integrisan i sa tretmanom antibiotikom kasugamicin. Integrisani su bioloski tretmani *Bacillus subtilis* soj AAac i bakteriofagi. Tretman bakar-hidroksidom (Kocide 2000; 0,19%) primenjen je samostalno kao standardni tretman i u kombinaciji sa ASM i mankozebom (Mankogal; 0,18%); antibioticima (streptomycin i kasugamicin) i bakteriofagima. Bakar-hidroksid je primenjen u kombinaciji sa mankozebom istovremeno. Svi preparati primenjeni su prskanjem jedan dan pre inokulacije tako da je vreme između primene prvog i drugog preparata 12h. Izuzev tretmana ASM, koji je primenjen dva puta, 9 i 4 dana pre inokulacije. Tretman bakteriofagima izveden je 2 h pre inokulacije. U svakoj varijanti tretirano je po pet biljaka. Eksperimentalni dizajn ogleda je potpuno slučajajan plan u pet ponavljanja. Biljke paprike tretirane sterilnom česmenskom vodom korišćene su kao negativna kontrola dok su inokulisane netretirane biljke predstavljale pozitivnu kontrolu.

Tabela 8. Integrirani tretmani za kontrolu bakteriозne pegavosti paprike, primenjeni u uslovima fitokomore.

Tretmani		Koncentracija primene aktivne supstance	Vreme primene
1.	ASM + bakar-hidroksid + mankozeb	0,0015% +0,102%+ 0,144%	Dve aplikacije, 9 i 4 dana pre inokulacije + 1 dan pre inokulacije.
2.	ASM + kasugamicin	0,0015% + 0.004%	Dve aplikacije, 9 i 4 dana pre inokulacije + 1 dan pre inokulacije.
3.	ASM + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713 + bakteriofagi KΦ1	0,0015% + $2 \times 10^6$ CFU/ml + $10^{10}$ PFU/ml	Dve aplikacije, 9 i 4 dana pre inokulacije + 1 dan pre inokulacije. + 2 časa pre inokulacije.
4.	ASM + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	0,0015% + $2 \times 10^6$ CFU/ml	Dve aplikacije, 9 i 4 dana pre inokulacije + 1 dan pre inokulacije
5.	ASM + bakteriofagi KΦ1	0,0015% + $10^{10}$ PFU/ml	Dve aplikacije, 9 i 4 dana pre inokulacije + 2 časa pre inokulacije.
6.	ASM + <i>Bacillus subtilis</i> AAac	0,0015% + $2 \times 10^6$ CFU/ml	Dve aplikacije, 9 i 4 dana pre inokulacije + 1 dan pre inokulacije
7.	<i>Bacillus subtilis</i> AAac + bakteriofagi KΦ1	$10^8$ CFU/ml + $10^{10}$ PFU/ml	Jedna aplikacija 1 dan pre inokulacije + 2 časa pre inokulacije.
8.	Bakar-hidroksid + bakteriofagi KΦ1	0,102% + $10^{10}$ PFU/ml	Jedna aplikacija, 1 dan pre inokulacije + 2 časa pre inokulacije.
9.	Bakar- hidroksid + mankozeb	0,102% + 0,144%	Jedna aplikacija, 1 dan pre inokulacije
10.	Bakar-hidroksid + kasugamicin	0,102% + 0,004%	Jedna aplikacija, 1 dan pre inokulacije + . Jedna aplikacija, 12 h pre inokulacije
11.	Bakar-hidroksid + streptomycin	0,102% + 0,02%	Jedna aplikacija, 1 dan pre inokulacije + . Jedna aplikacija, 12 h pre inokulacije
12.	Bakar-hidroksid	0,102%	Jedna aplikacija, 1 dan pre inokulacije
14.	Negativna kontrola, neinokulisane i netretirane biljke	-	-
15.	Pozitivna kontrola, inokulisane, netretirane biljke	-	-

#### **4.4. Ogledi u uslovima otvorenog polja**

U uslovima otvorenog polja, proučena je efikasnost pojedinačnih tretmana koji su ispoljili najveću efikasnost u kontrolisanim uslovima. Ogledi su izvedeni tokom tri vegetacione sezone (2011 - 2013. godine) na oglednom polju Instituta za povrtarstvo u Smederevskoj Palanci koje se nalazi na 102 m nadmorske visine, 44° 22' severne geografske širine i 20° 57' istočne geografske dužine. U stakleniku je proizveden rasad za ogled u uslovima otvorenog polja. Setva semena paprike kalifornijsko čudo je izvedena u polistirenske kontejnere sa 104 otvora prečnika 3,5 cm. Kontejneri su napunjeni hranljivim supstratom (Klasmann Substrat 1; Klasmann-Deilmann GmbH, Nemačka). Proizvedeni rasad je bio spreman za rasađivanje nakon 7-8 nedelja. Krajem maja paprika je rasađena na oglednom polju u redove. Biljke paprike su rasađene na oglednom polju u redove, po 25 biljaka u redu sa razmakom 25 cm. Redovi su međusobno udaljeni 70 cm. Ogledi postavljeni su po slučajnom blok sistemu u četiri ponavljanja 12 različitih tretmana (Tabela 9). Površina glavne parcele bila je 262,5 m<sup>2</sup>. Površina blok parcele bila je 65,625 m<sup>2</sup>. Površina elementarne parcele bila je 4,375 m<sup>2</sup>. Zemljište na kome su izvedeni ogledi je tipa aluvijalna smonica. Inokulum je pripremljen istom metodom kao u ogledima u kontrolisanim uslovima. Biljke paprike, u fazi petog – šestog lista, su inokulisane prskanjem inokuluma koncentracije 10<sup>8</sup> CFU/ml, ručnom prskalicom tipa Orion 91 (Kwazar, Češka), predveče devet dana nakon rasađivanja.

##### **4.4.1 Proučavanje efikasnosti pojedinačnih tretmana u zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti u uslovima otvorenog polja**

U ogledu je proučavana efikasnost sledećih baktericida: *Bacillus subtilis* (sojevi AAac i QST 713), neformulisani bakteriofagi (soj KΦ1), komercijalno mikrobiološko đubrivo (Slavol), bakarni preparati (bakar-hidroksid (Kocide 2000), bakar-oksihlorid (Cuprozin 35 WP), bakar-hidroksid + mankozeb (Mankogal), bakar-oksihlorid + mankozeb), antibiotici (streptomicin sulfat (Streptomicin P) i kasugamicin (Kasumin 2L) i aktivator otpornosti acibenzolar-S-metil (Bion 50WG). Bakarni preparati, antibiotici, sojevi *Bacillus subtilis* i mikrobiološko đubrivo su primenjeni jedan dan pre inokulacije a nakon toga jedanput nedeljno, do šest tretmana. Tretman acibenzolar-S-metil je primenjen dva puta, 9. i 4. dana

pre inokulacije, a nakon toga u intervalima od 14 dana, do šest tretmana ukupno. Tretman bakteriofagima je primenjen neposredno pre inokulacije, nakon toga primenjen je dva puta nedeljno u sumrak, maksimalno 12 tretmana. Svi tretmani i kontrole primenjeni su ručnom prskalicom tipa Orion 6l (Kwazar, Češka) u količini 400 l/ha. Neinokulisane i inokulisane biljke tretirane česmenskom vodom korišćene su kao kontrole. Ogledi su održavani u konvencionalnim uslovima đubrenja i suzbijanja korova i štetočina. Biljke su zalivane, zavisno od vremenskih uslova, veštačkom kišom. Tako su stvoreni povoljni uslovi za razvoj bolesti. Ogledi na otvorenom polju su izvedeni u uslovima veštačke inokulacije prema već opisanom postupku (Obradović et al., 2004a, 2005). Biljke paprike su obrane na kraju sezone radi utvrđivanja ukupnog prinosa po tretmanu.

Tabela 9. Primenjeni tretmani i količina aktivne supstance po hektaru u kontroli bakterijske pegavosti lišća paprike u uslovima otvorenog polja.

Red br.	Tretmani	Količina primene a.s. (ha <sup>-1</sup> )	Vreme primene
1.	ASM	0,015 kg	9. i 4. dana pre inokulacije, zatim u intervalima od četrnaest dana
2.	Bakar-hidroksid	1,02 kg	1 dan pre inokulacije, zatim sedmično
3.	Bakar-oksihlorid	1,23 kg	1 dan pre inokulacije, zatim sedmično
4.	Bakar-hidroksid + mankozeb	1,02 + 1,44 kg	1 dan pre inokulacije, zatim sedmično
5.	Bakar-oksihlorid + mankozeb	1,23 + 1,44 kg	1 dan pre inokulacije, zatim sedmično
8.	Kasugamicin	0,04 kg	1 dan pre inokulacije, zatim sedmično
7.	Streptomycin	0,2 kg	1 dan pre inokulacije, zatim sedmično
6.	<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	2x 10 <sup>6</sup> CFU ml <sup>-1</sup>	1 dan pre inokulacije, zatim sedmično
9.	Bakteriofagi KΦ 1	10 <sup>9</sup> PFU ml <sup>-1</sup>	2 h pre inokulacije, zatim 2puta sedmično u sumrak
10.	<i>Bacillus subtilis</i> AAac	10 <sup>8</sup> CFU ml <sup>-1</sup>	1 dan pre inokulacije, zatim sedmično
11.	Mikrobiloško đubrivo	20 l	1 dan pre inokulacije, zatim sedmično
12.	Negativna kontrola, neinokulisane, netretirane biljke	-	-
13.	Pozitivna kontrola, inokulisane, netretirane biljke	-	-

#### **4.4.2 Integracija bioloških i hemijskih tretmana u zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti u uslovima otvorenog polja**

U cilju razvoja integralne zaštite paprike od bakteriozne pegavosti, proučene su različite kombinacije bioloških i hemijskih tretmana: bakteriofagi (soj KΦ1), *Bacillus subtilis* (Serenade), (ASM, Bion 50WG) i bakar-hidroksid (Kocide 2000) (Tabela 10). Eksperimenti su postavljeni na ekseperimentalnom polju Instituta za povrtarstvo u Smederevskoj Palanci tokom 2012. i 2013. godine. U oglelima je primenjena ista količina aktivne supstance po hektaru kao u prethodnom oglelima izvedenom u uslovima otvorenog polja 2011. godine. Bakar-hidroksid je primenjen kao standardni tretman jedan dan pre inokulacije, a nakon toga primenjivan je jednom nedeljno. Ostali integrisani tretmani su primenjeni po istom modelu kao u prethodnom oglelima iz 2011. godine. Kada su integrisani sa bakar-hidroksidom, biološki agensi su primenjeni najmanje tri dana pre ili posle primene bakarnog preparata. Neinokulisane i inokulisane biljke tretirane česmenskom vodom korišćene su kao kontrole. Eksperiment je ukupno ponavljen tri puta u toku dve godine. Svaki integrisani tretman je primenjen u četiri ponavljanja a eksperimentalni dizajn je potpuno slučajni blok sistem. Inokulacija biljaka paprike je izvedena istim postupkom i istim sojem bakterije kao što je opisano u oglelima izvedenim na polju tokom 2011. godine.



Tabela 10. Proučavani integrirani tretmani i količina primene u kontroli bakterijske pegavosti lišća paprike u uslovima otvorenog polja.

Red br.	Tretmani	Količina primene a.s. (ha <sup>-1</sup> )
1.	Bakar-hidroksid + ASM	1,02 kg + 0,015 kg
2.	ASM + Bakteriofagi	0,015 kg + 10 <sup>9</sup> PFU/ml
3.	ASM + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	0,015 kg + 2 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
4.	ASM + Bakteriofagi + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	0,015 kg + 10 <sup>9</sup> PFU/ml + 2 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
5.	Bakar-hidroksid + ASM + Bakteriofagi	1,02 kg + 0,015 kg + 10 <sup>9</sup> PFU/ml
6.	Bakar-hidroksid + Bakteriofagi + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	1,02 kg + 10 <sup>9</sup> PFU/ml + 2 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
7.	Bakar-hidroksid + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	1,02 kg + 2 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
8.	Bakar-hidroksid + Bakteriofagi	1,02 kg + 10 <sup>9</sup> PFU/ml
9.	Bakra-hidroksid	1,02 kg
10.	Negativna kontrola, neinokulisane, netretirane biljke	-
11.	Pozitivna kontrola, inokulisane, netretirane biljke	-

#### 4.4.3 Statistička analiza rezultata oglada izvedenih u uslovima otvorenog polja

Rezultati oglada izvedenih u uslovima otvorenog polja obrađeni su metodom izračunavanja površine ispod progresivne funkcije bolesti – (area under disease progress curve - AUDPC) (Shaner and Finnley, 1977). U ogledima u uslovima otvorenog polja, efekat

tretmana je ocenjen tri puta u toku vegetacije (28. jula, 26. avgusta i 15. septembra 2011.). Ocenjivana je površina nekrotičnih pega na lišću paprike, vizuelnim pregledom, korišćenjem Horsfall-Barratt (HB) skale (Tabela 6.) (Horsfall and Barratt, 1945). Procenjene vrednosti HB skale se konvertuju u srednje vrednosti indeksa oboljenja korišćenjem Elanco konverzije tablice za Horsfall-Barratt skalu za procenjene srednje vrednosti indeksa oboljenja (ELANCO Products Co., Indianapolis, IN) (Redman et al., 1964; 1969). Prilikom očitavanja oglada za jednu eksperimentalnu jedinicu (jedna biljka u ogledima u stakleniku ili jedna elementarna jedinica u ogledima u uslovima otvorenog polja), očitava se tako što se dodeljuje aritmetička srednja vrednost u procentima od više ocena iz HB-skale, određena u datom trenutku, u kojem je svaki pojedinačni procenat uzet kao srednja vrednosti u odgovarajućem intervalu u procentima (Tabela 6). Na primer, ako su sledeće četiri HB ocene, 10, 7, 5 i 10, zatim srednja vrednost procenta infekcije izračunata je po modelu  $(95,31 + 62,5 + 18,75 + 95,31) / 4 = 78,5$ . Površina ispod progresivne funkcije bolesti (AUDPC) je izračunata numeričkom integracijom (trapezna formula) korišćenjem srednjih vrednosti tačaka za svako očitavanje (procenat bolesti) korišćenjem formule po Shaner and Finnley (1977):

$AUDPC = \sum_n [(X_i + X_{i-1})/2] [t_i - t_{i-1}]$  gde je  $X_i$ =ocena u procentima ;  $X_{i-1}$ = Prethodna ocena u procentima;  $t_i - t_{i-1}$ = Vreme između dva uzastopna očitavanja.

Za statističku obradu rezultata svih oglada i podataka o prinosu po hektaru korišćena je metoda analize varijanse, a za pojedinačna poređenja korišćen je Duncan-ov test za višestruke intervale (Obradović et al., 2004a; 2005). Da bi se standardizovali rezultati između oglada, efikasnost tretmana je iskazana u procentima. Efikasnost proučavanih baktericida izračunata je korišćenjem Abbott-ove jednačine:  $[(\text{ocenjen procenat bolesti ili AUDPC u kontroli} - \text{ocenjen procenat bolesti ili AUDPC u tretmanu}) / \text{ocenjen procenat bolesti ili AUDPC u kontroli}] \times 100$  (Abbott, 1925). Rezultati oglada u polju analizirani su korišćenjem programa SPSS statistical software version 15 IBM SPSS Statistics.

#### **4.4.5 Proučavanje uticaja pojedinačnih tretmana i integracija na prinos paprike u uslovima otvorenog polja**

Plodovi paprike su obrani poslednje nedelje avgusta ili prve nedelje septembra. Obrani su plodovi sa deset biljaka koje se nalaze u sredini svake elementarne parcele izbegavajući biljke na početku i kraju redova kada su približno 80% plodova bili u fazi biološke zrelosti.

Plodovi sa svake elementarne parcele su izmereni i preračunat je ukupan prinos po tretmanu. Dobijeni podaci prinosa su konvertovani u prinos po hektaru.

## 5. REZULTATI

### 5.1 Proučavanje efikasnosti ASM u zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti

U ogledu u fitokomori, koji je izveden tokom 2009. godine, sedam dana od veštačke inokulacije, na biljkama paprike u kontroli bili su vidljivi simptomi bakteriozne pegavosti u vidu uljastih pega na licu i naličju listova (Slika 8). Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da je srednja vrednost indeksa oboljenja u kontroli iznosila 70,7. Pri takvim uslovima zaraze sve tri koncentracije ASM od 0,0012, 0,0015 i 0,0025% primenjene prskanjem ili zalivanjem dva puta 9. i 4. dana pre inokulacije aktivirale su otpornost biljka paprike do nivoa hipersenzitivnosti i ispoljile su visok nivo efikasnosti (95,7 - 97,9%) pri čemu između ove tri koncentracije nije postojala značajna razlika na nivou verovatnoće 0,05 (Tabela 11). Kod biljaka tretiranim po ovom modelu nakon sedam dana bile su uočljive malobrojne, sitne nekrotične pege nastale na mestu prodora bakterija u lisno tkivo, čiji se broj i veličina nisu bitno menjali između dve ocene. ASM primenjen prskanjem ili zalivanjem dva puta 7. i 1. dana pre veštačke inokulacije ispoljio je efikasnost od 92,2 - 93,6%. Nije bilo značajne razlike između efikasnosti sve tri koncentracije primenjene po ovom modelu. Standardni tretman bakar-hidroksidom je ispoljio efikasnost od 85,3%. Značajno veću efikasnost je ispoljio ASM primenjen dva puta u poređenju sa primenom jednom pre veštačke inokulacije. Slabiju ali statistički značajnu efikasnost u odnosu na netretiranu kontrolu ispoljili su tretmani ASM primenjeni 7, 4 i 1 dan pre veštačke inokulacije. Primena ASM u sve tri primenjene koncentracije 1 dan pre inokulacije i 4 dana pre u sve tri koncentracije primenjene zalivanjem ispoljila je efikasnost od 13,7-19,6%. Vremenski period od 1 ili 4 dana pokazao se kao nedovoljan za aktiviranje otpornosti biljaka paprike, tako da je ASM primenjen ovim modelom ispoljio nizak nivo efikasnosti. Kod biljka tretiranih ASM u koncentraciji od 0,0025% zapaženo je zaostajanje u porastu u odnosu na kontrolu.

Tabela 11. Efikasnost ASM u uslovima fitokomore.

Tretmani i koncentracije	Vreme i način primene	Srednje vrednosti*	Efikasnost %
Netretirana kontrola		70,708 a	-
ASM 0,0025 %	4* zalivanjem	60,969 b	13,7
ASM 0,0012 %	4 zalivanjem	60,171 b	14,9
ASM 0,0025 %	1 prskanjem	59,341 b	16
ASM 0,0015 %	4 zalivanjem	59,251 b	16,2
ASM 0,0025 %	1 zalivanjem	59,088 b	16,4
ASM 0,0012 %	1 zalivanjem	58,949 b	16,6
ASM 0,0015 %	1 zalivanjem	57,892 b	18,1
ASM 0,0015 %	1 prskanjem	57,696 b	18,4
ASM 0,0012 %	1 prskanjem	56,828 b	19,6
ASM 0,0015 %	4 prskanjem	17,476 c	75,2
ASM 0,0025 %	4 prskanjem	17,278 c	75,5
ASM 0,0012 %	4 prskanjem	17,200 c	75,6
ASM 0,0015 %	7 zalivanjem	16,910 c	76
ASM 0,0012 %	7 zalivanjem	16,880 c	76,1
ASM 0,0025 %	7 zalivanjem	16,618 c	76,4
ASM 0,0025 %	7 prskanjem	15,728 cd	77,7
ASM 0,0015 %	7 prskanjem	15,205 cd	78,4
ASM 0,0012 %	7 prskanjem	14,716 cd	79,1
ASM 0,0015 %	7, 1 zalivanje	5,473 ef	92,2
ASM 0,0025 %	7, 1 prskanje	5,230 ef	92,6
ASM 0,0012 %	7, 1 zalivanje	5,222 ef	92,6
ASM 0,0015 %	7, 1 prskanjem	5,075 ef	92,8
ASM 0,0012 %	7, 1 prskanjem	4,533 ef	93,5
ASM 0,0025 %	7, 1 zalivanjem	4,483 ef	93,6
ASM 0,0012 %	9, 4 zalivanjem	3,040 f	95,7
ASM 0,0015 %	9, 4 prskanjem	3,040 f	95,7
ASM 0,0012 %	9, 4 prskanjem	2,448 f	96,5
ASM 0,0015 %	9, 4 zalivanjem	2,448 f	96,5
ASM 0,0025 %	9, 4 zalivanjem	1,760 f	97,5
ASM 0,0025 %	9, 4 prskanjem	1,435 f	97,9
Bakar-hidroksid 0,102 %	1 prskanjem	10,385 de	85,3

\*Dani primene pre veštačke inokulacije

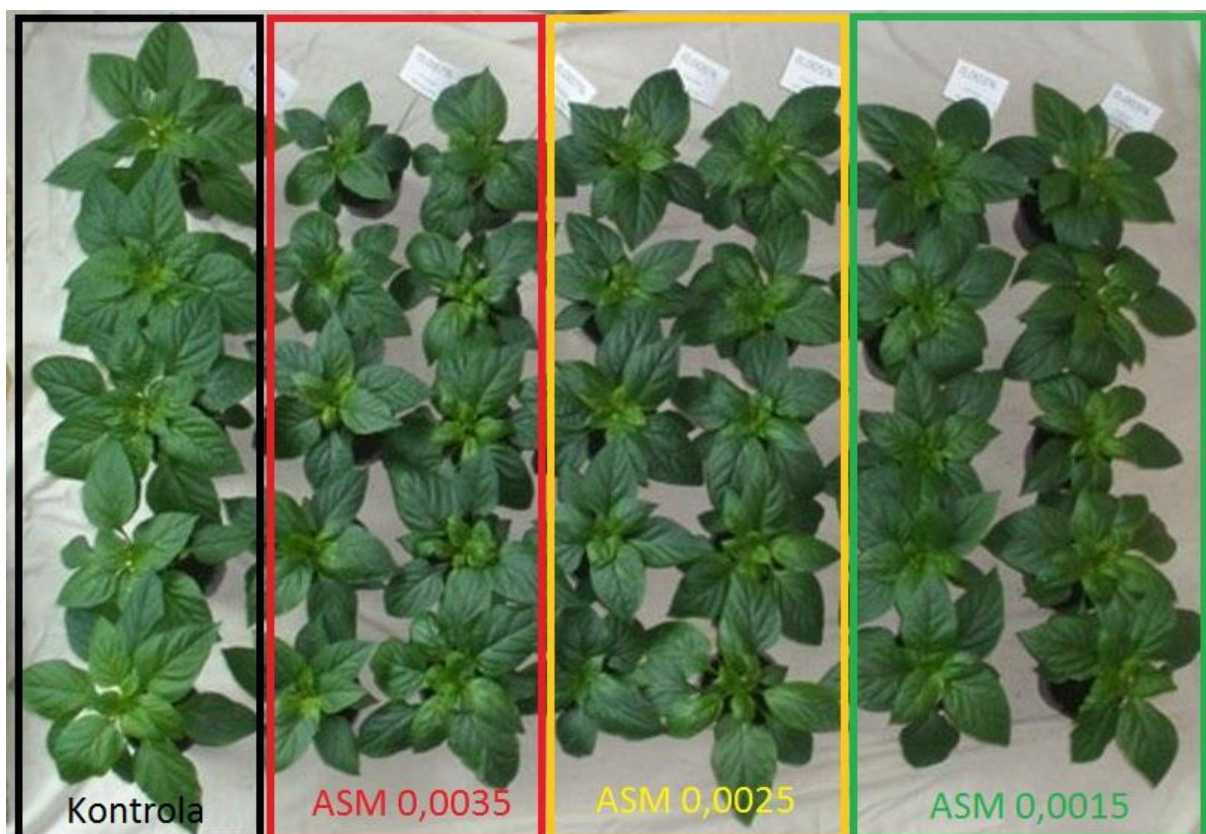
## 5.2 Proučavanje fitotoksičnosti ASM u uslovima fitokomore

Tretman ASM primenjen u sve tri koncentracije aktivne supstance značajno je usporio porast biljaka paprike u uslovima fitokomore. Drugi negativni efekti u vidu nekroze ili hloroze nisu bili uočljivi na biljkama (Slika 7). U prvom merenju visine biljaka 10 dana posle tretmana ASM sve tri koncentracije primenjene zalivanjem ili prskanjem su statistički značajno uticali na visinu i porast biljaka paprike u poređenju sa netretiranom kontrolom (Tabela 12). U drugom merenju visine biljaka nakon 7 dana od prvog merenja negativan efekat u odnosu na netretiranu kontrolu se takođe ispoljio kod sve tri primenjene koncentracije zalivanjem i prskanjem. Najmanja redukcija porasta paprike od 24% je zabeležena kod tretmana ASM koncentracije 0,0015% primenjenog zalivanjem i prskanjem. Najveća redukcija porasta od 38% prouzrokovala je koncentracija ASM 0,0035 primenjenog prskanjem.

Tabela 12. Visina biljaka paprike tretiranih ASM

Tretmani	Srednje vrednosti visine biljaka paprike	
	Prvo merenje 10 dana posle drugog tretmana	Drugo merenje 7 dana posle prvog
kontrola	139*** a	170 a
0,0015 z*	96 b	129 b
0,0015 p**	94 b	126 bc
0,0025 p	92 b	116 cd
0,0025 z	86 b	110 d
0,0035 z	84 b	107 d
0,0035 p	82 b	106 d

\*z- ASM primenjen zalivanjem \*\*p ASM primenjen prskanjem. \*\*\* srednje vrednosti visine biljaka u milimetrima obeležene istim slovom ne razlikuju se značajno na nivou značajnosti 0,05.



Slika 7. Proučavanje uticaja ASM na porast biljaka paprike (Foto: M. Šević).

Merenjem mase nadzemnog dela biljaka 17 dana posle drugog tretmana (Tabela 13) izdvojile su se tri grupe tretmana u odnosu na netretiranu kontrolu. U prvu grupu izdvojio se tretman 0,0015% primenjen prskanjem koji je imao po statističkoj značajnosti najmanji negativan uticaj na masu biljaka paprike. U drugu grupu su svrstani tretmani koncentracije 0,0015 primenjen zalivanjem, 0,0025 i 0,0035 primenjeni prskanjem. U treću grupu su se

izdvojili tretmani koncentracija 0,0025 i 0,0035 % primenjenih zalivanjem. Navedene grupe su se međusobno razlikovale značajno. Sve tri primenjene koncentracije ASM su značajno uticale na masu biljka paprike u poređenju sa netretiranom kontrolom na nivou verovatnoće od 0,05. Merenjem ukupne mase biljaka paprike (Tabela 13) je utvrđeno da su sve tri primenjene koncentracije primenjene prskanjem i zalivanjem uticale na smanjenje porasta biljaka paprike. Najveći negativan uticaj na ukupnu masu biljaka paprike zabeležen je kod tretmana koncentracije 0,0025 i 0,0035% primenjenih zalivanjem. Redukcija mase biljka paprike u ovoj grupi iznosila je 42 – 43 %. U drugu grupu su svrstani tretmani koncentracije 0,0015 primenjeni zalivanjem, 0,0025 i 0,0035 primenjeni prskanjem. Najmanji negativan uticaj na ukupnu masu paprike ispoljio je tretman 0,0015% primenjen prskanjem. Redukcija mase biljaka paprike tretirane ovom koncentracijom iznosila je 20%. U narednim ogledima ASM je primenjen prskanjem u koncentraciji 0,0015% jer se ta koncentracija pokazala kao veoma efikasna i ispoljila je minimalan negativan uticaj na biljke paprike. Biljke paprike tretirane ovom koncentracijom su nakon drugog očitavanja normalno razvijale i plodonosile.



Tabela 13. Masa biljaka paprike tretiranih ASM

Tretmani	Srednje vrednosti mase u gramima	
	nadzemnog dela biljaka	ukupne mase biljaka
	paprike	paprike
kontrola	17,70 a***	20,80 a
0,0015p**	13,66 b	16,64 b
0,0035p	12,36 c	15,20 c
0,0025p	12,22 c	15,18 c
0,0015z*	11,96 c	15,08 c
0,0025z	9,94 d	12,02 d
0,0035z	9,46 d	11,74 d

\*z- ASM primenjen zalivanjem \*\*p ASM primenjen prskanjem. \*\*\* srednje vrednosti mase biljaka u gramima obeležene istim slovom ne razlikuju se značajno na nivou značajnosti 0,005

### 5.3 Efikasnosti pojedinačnih tretmana u zaštiti paprike od bakterijske pegavosti u uslovima veštačke inokulacije u stakleniku i fitokomori

U ogleđima u stakleniku i fitokomori, koji su izvedeni tokom 2009. i 2010. godine, svi tretmani su značajno umanjili intenzitet simptoma bakterijske pegavosti paprike u poređanju sa netretiranom kontrolom (Tabela 14). Izuzetak je bio tretman mikrobiološkim đubrivom koji nije uticao na otpornost biljaka paprike prema patogenu i nije značajno umanjio intenzitet oboljenja u poređanju sa netretiranom kontrolom. Za ocenu efikasnosti tretmana statistički su obrađeni rezultati očitavanja nakon 14 dana. Intenzitet bolesti biljaka određen je na osnovu HB skale određivanjem površine nekrotičnih pega na površini lišća paprike 7 i 14 dana nakon inokulacije (Slika 9). Najveću efikasnost ispoljio je tretman ASM, smanjivši intenzitet oboljenja 93-97%. Nije postojala statistički značajna razlika u efikasnosti ovog tretmana i tretmana: bakar-hidroksid, bakar-hidroksid + mankozeb, bakar-oksihlorid + mankozeb, streptomycin sulfat, kasugamicin i *Bacillus subtilis* QST 713 u eksperimentima 1 i 2. U

eksperimentu 3 tretman *Bacillus subtilis* QST 713 je ispoljio značajno slabiju (50.9%) efikasnost u odnosu na efikasnost u predhodna dva eksperimenta. S obzirom da je u svim eksperimentima korišćen soj *X. euvesicatoria* KFB 13, osetljiv prema jedinjenjima bakra i antibioticima, tretman streptomycinom, kasugamicinom, bakarnim preparatima (bakar-hidroksidom i bakar-oksihloridom) primenjen samostalno ili u kombinaciji sa mankozebom pokazao se veoma efikasnim. Smanjenje zaraze pri primeni ovih tretmana iznosilo je (73,8-94,7). Slabiju ali statistički značajnu efikasnost u odnosu na prvu grupu tretmana ispoljili su tretmani: bakteriofagi soj KΦ 1 i antagonistički soj bakterije AAac. Tretman bakteriofagi KΦ 1 (78-85%) je bio efikasniji u uslovima fitokomore u poređenju sa efikanošću u eksperimentu u uslovima staklenika (38%).

Tabela 14. Efikasnost tretmana u kontroli bakteriozne pegavosti lista paprike u uslovima staklenika i fitokomore.

Tretmani	Koncentracija	Eksperiment 1		Eksperiment 2		Eksperiment 3	
		staklenik		fitokomora		fitokomora	
		Srednje vrednosti <sup>a</sup>	Efikanost %	Srednje vrednosti	Efikasnost %	Srednje vrednosti	Efikasnost %
ASM	0,0015 %	2,119 c	93,0	1,435 c	97,5	2,533 d	96,6
Bakar-hidroksid	0,102 %	3,002 c	90,1	10,196 c	82,3	13,451 cd	81,8
Bakar-oksihlorid	0,123 %	6,506 c	78,4	6,862 c	88,1	12,735 cd	82,8
Bakar-hidroksid + mankozeb	0,102 % + 0,144 %	6,821 c	77,4	3,796 c	93,4	18,947 c	74,4
Bakar-oksihlorid + mankozeb	0,123 % + 0,144 %	7,559 c	74,9	9,484 c	83,5	19,426 c	73,8
<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	2×10 <sup>6</sup> CFU/ml	3,922 c	87,0	11,905 c	79,3	36,338 b	50,9
Streptomycin sulfat	0,02 %	7,174 c	76,2	3,040 c	94,7	6,657 cd	91,0
Kasugamicin	0,004 %	7,371 c	75,6	3,787 c	93,4	7,403 cd	90,0
Bakteriofagi KΦ 1	10 <sup>10</sup> PFU/ml	18,584 b	38,4	12,135 c	78,9	11,032 cd	85,1
<i>Bacillus subtilis</i> AAac	10 <sup>8</sup> CFU/ml	18,820 b	37,6	38,299 b	33,3	36,650 b	50,5
Mikrobiološko đubrivo	2%	30,631 a	0	56,569 a	1,5	73,905 a	0,2
Netretirana kontrola		30,173 a	-	57,454 a	-	74,045 a	-

<sup>a</sup> Srednje vrednosti indeksa oboljenja označene istim slovom ne razlikuju se značajno na nivou vjerovatnoće P = 0,05 na osnovu Duncan-ovog testa višestrukih intervala



Slika 8. *X. euvesicatoria*. Tamnozeleno vlažne pege na listu paprike sedam dana nakon inokulacije. Izgled pega na licu (a) i naličju (b) lista. Veštačka infekcija (Foto: M. Šević).



Slika 9. *X. euvesicatoria*. Nekrotične pege na listu paprike 14 dana nakon inokulacije. Izgled pega na licu (a) i naličju (b) lista. Veštačka infekcija (Foto: M. Šević).

## 5.4 Proučavanje efikasnosti integracija bioloških i hemijskih metoda u zaštiti paprike od bakterijske pegavosti u uslovima fitokomore

U ogledu u fitokomori svi integrisani tretmani značajno su umanjili intenzitet oboljenja u poređenju sa netretiranom kontrolom (Tabela 15). Integracija bakar-hidroksid + streptomycin je bila najefikasniji tretman ispoljivši efikasnost 97,1% značajno veću od bakar-hidroksid standardnog tretmana i svih ostalih tretmana osim integracije ASM + bakar-hidroksid + mankozeb. Integracija ASM + bakar-hidroksid + mankozeb je ispoljila efikasnost 93,9% i nije se značajno razlikovala od integracija ASM + *Bacillus subtilis* QST 713 + bakteriofagi KΦ i ASM + kasugamicin. Integracije bakar-hidroksid + kasugamicin, ASM + *Bacillus subtilis* QST 713, ASM + bakteriofagi KΦ 1, bakar-hidroksid, ASM + *Bacillus subtilis* AAac, bakar-hidroksid + mankozeb su ispoljile efikasnost 83,9-86,6%, pripadale su istoj grupi po značajnosti između ovih integracija nije bilo značajne razlike. Integrisani tretmani *Bacillus subtilis* AAac + bakteriofagi KΦ 1 i bakar-hidroksid + bakteriofagi KΦ 1 su ispoljili efikasnost 80% i 81,8%.

Tabela 15. Efikasnost integracije u uslovima fitokomore.

Integrirani tretmani	Srednje vrednosti*	Efikasnost %
Bakar-hidroksid + streptomycin	1,435 f	97,1
ASM + bakar-hidroksid + mankozeb	3,040 ef	93,9
ASM + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713 + bakteriofagi KΦ 1	4,897 ed	90,1
ASM + kasugamicin	5,910 cde	88,1
Bakar-hidroksid + kasugamicin	6,657 bcd	86,6
ASM + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	6,843 bcd	86,2
ASM + bakteriofagi KΦ 1	7,403 bcd	85,1
Bakar-hidroksid	7,728 bcd	84,5
ASM + <i>Bacillus subtilis</i> AAac	7,728 bcd	84,5
Bakar-hidroksid + mankozeb	8,003 bcd	83,9
Bakar-hidroksid + bakteriofagi KΦ 1	9,074 bc	81,8
<i>Bacillus subtilis</i> AAac + bakteriofagi KΦ 1	9,968 b	80,0
Kontrola	49,933 a	-

\*Srednje vrednosti indeksa oboljenja označene istim slovom ne razlikuju se značajno na nivou verovatnoće  $P = 0,05$  na osnovu Duncan-ovog testa višestrukih intervala.

## 5.5 Proučavanje efikasnosti pojedinačnih tretmana u zaštiti paprike od bakteriозne pegavosti u uslovima otvorenog polja

U ogledima na otvorenom polju u eksperimentima 1 i 2, koji su izvedeni tokom 2011. godine, prema rezultatima AUDPC svi tretmani izuzev antagonističkog soja AAac i mikrobiološkog đubriva su ispoljili statistički značajnu efikasnost u odnosu na netretiranu kontrolu (Tabela 16). U eksperimentu 1, tretmani bakar-hidroksid, bakar-hidroksid + mankozeb, bakar-oksihlorid, bakar-oksihlorid + mankozeb i streptomycin značajno su umanjili intenzitet oboljenja u poređenju sa netretiranom kontrolom i izdvojili su se kao posebna grupa po efikasnost umanjivši intenzitet oboljenja od 85,9 do 90,9% i između ovih tretmana nije postojala statistički značajna razlika. Tretman ASM, kasugamicin i bakteriofagi KΦ 1 su značajno umanjili intenzitet oboljenja ali značajno manje nego predhodna grupa tretmana. Tretman *Bacillus subtilis* QST 713 je bio značajno manje efikasan od svih preostalih tretmana (Tabela 16). U eksperimentu 2 tretmani bakar-hidroksid, bakar-hidroksid + mankozeb, bakar-oksihlorid i streptomycin su pripadali istoj gupi i ispoljili su efikasnost od 83,9 do 87,7%. Nije bilo značajne razlike između tretmana bakar-oksihloridom i bakar-oksihlorid + mankozeb koji su ispoljili efikasnost od 79 i 83,9%. U treću grupu po efikasnosti su tretmani ASM (63,5), bakteriofagima (62,3) i kasugamicinom (58,1). Tretman *Bacillus subtilis* QST 713 je pripadao četvrtoj grupi po efikasnosti ispoljivši efikasnost od 42,2%. U eksperimentu 1 i 2 nije bilo statistički značajne razlike u efikasnosti između bakarnih preparata primenjenih samostalno ili u kombinaciji sa mankozebom.

U eksperimentu 1 i 2, svi tretmani su značajno uticali na povećanje prinosa u poređenju sa mikrobiološkim đubrivom (Slavol), antagonističkim sojem AAac i netretiranom kontrolom (Tabela 16). Najveći prinos izmeren je u elementarnim parcelama tretiranim streptomycinom 16,7 t/ha, značajno se razlikovao u poređenju sa svim ostalim tretmanima osim prinosa u elementarnim parcelama tretiranim bakteriofagima 16,5 t/ha. Međutim, u eksperimentu 2 nije bilo statistički značajne razlike u ukupnom prinosu između ova dva tretmana i preostalih nasuprot razlikama u efikasnosti.



Slika 10. *Xanthomonas euvesicatoria*. Pojedinačne nekrotične pege sa oreolom na listu paprike (A i B). Krupnije nekrotične površine nastale spajanjem pega na listu paprike (C i D). Veštačka infekcija (Foto: Petar Vukša).



Tabela 16. Efikasnost pojedinačnih tretmana u kontroli bakterijske pegavosti paprike u uslovima otvorenog polja (2011. godina).

Tretmani	Eksperiment							
	Količina primene a.s. (ha <sup>-1</sup> )	Vreme primene <sup>cd</sup>	1			2		
			AUDPC <sup>a</sup>	Efikasnost %	Prinos (t/ha)	AUDPC	Efikasnost %	Prinos (t/ha)
Bakar-hidroksid + mankozeb	1,02 + 1,44 kg	1	83,36 d*	90,9	14,4 cd	57,33 e	87,7	8,9 a
Streptomycin	0,2 kg	1	89,22 d	90,3	16,7 a	65,81 e	85,8	10,6 a
Bakar-hidroksid	1,02 kg	1	112,03 d	87,8	15,4 bc	69,03 e	85,1	10,2 a
Bakar-oksihlorid	1,23 kg	1	128,99 d	86,0	14,6 cd	97,71 d	79,0	8,7 a
Bakar-oksihlorid + mankozeb	1,23 + 1,44 kg	1	129,58 d	85,9	15,2 cd	74,88 de	83,9	9,2 a
ASM	0,015 kg	2	187,57 c	79,6	14,9 cd	169,36 c	63,5	9,3 a
Kasugamicin	0,04 kg	1	195,39 c	78,7	14,3 cd	194,81 c	58,1	8,7 a
Bakteriofagi KΦ 1	10 <sup>9</sup> PFU/ml	3	203,87 c	77,8	16,5 ab	175,21 c	62,3	10,4 a
<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	2×10 <sup>6</sup> CFU/ml	1	472,03 b	48,6	14,0 d	268,37 b	42,2	8,5 a
<i>Bacillus subtilis</i> AAac	10 <sup>8</sup> CFU/ml	1	897,53 a	2,3	9,4 e	448,58 a	3,4	5,3 b
Mikrobiološko đubrivo	20 l	1	939,72 a	0	9,5 e	453,85 a	2,3	5,8 b
Netretirana inokulisan kontrola <sup>b</sup>	-	-	918,62 a	-	9,1 e	464,41 a	-	5,9 b

<sup>a</sup> Površina ispod progresivne krive bolesti (Area under the disease progress curve (AUDPC)) vrednosti su izračunate korišćenjem formule  $\Sigma[(x_i + x_{i-1})/2](t_i - t_{i-1})$ , gde je  $x_i$ =ocena u procentima ;  $x_{i-1}$ = predhodna ocena u procentima;  $t_i - t_{i-1}$ = vreme između dva uzastopna očitavanja. Vrednosti obeležene različitim slovovima u koloni se značajno razlikuju na osnovu Duncan-ovog testa za višestruke intervale, na nivou značajnosti:  $P = 0,05$ .

<sup>b</sup>Kontrole su tretirane česmenskom vodom.

<sup>c</sup>Označava broj tretmana i vreme primene za određeni tretman.

<sup>d</sup> Vreme primene: 1 = jednom pre inokulacije, posle inokulacije u intervalima na 7 dana; 2 = dve aplikacije pre inokulacije, posle inokulacije u intervalu od 14 dana; i 3 = jednom pre inokulacije, posle inokulacije dva puta nedeljno u sumrak..

## 5.6 Integracija bioloških i hemijskih tretmana u zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti u uslovima otvorenog polja

U ogledima na otvorenom polju u eksperimentima 3, 4 i 5 koji su izvedeni tokom 2012. i 2013. godine, prema rezultatima AUDPC svi integrisani tretmani značajno su umanjili intenzitet oboljenja u poređenju sa netretiranom kontrolom (Tabela 17). Integracija bakar-hidroksid, ASM i bakteriofagi bila je najefikasniji tretman ispoljivši efikasnost 96-98%, pružajući bolju zaštitu od bakar-hidroksid standarda u sva tri eksperimenta. Međutim, u eksperimentu 3 integracija tretmana (bakar-hidroksid i ASM), (bakar-hidroksid i bakteriofaga), (bakar-hidroksid, bakteriofaga i *Bacillus subtilis* QST 713) kao i (bakar-hidroksid i *Bacillus subtilis* QST 713) i (ASM, bakteriofaga i *Bacillus subtilis* QST 713) su ispoljili statistički isti nivo efikasnosti u poređenju sa bakar-hidroksid standardnim tretmanom. Integracije tretmana (ASM i bakteriofaga) i (ASM i *Bacillus subtilis* QST 713) značajno su umanjili intenzitet oboljenja u poređenju sa netretiranom kontrolom, nivo efikasnosti je bio značajno manji od bakar-hidroksid standarda. U eksperimentu 4 efikasnost integrisanih tretmana: (bakar-hidroksid, ASM i bakteriofaga), (bakar-hidroksid i ASM) i (bakar-hidroksid, bakteriofaga i *Bacillus subtilis* QST 713) je značajno efikasnija od bakar-hidroksid standarda. Ipak, svi ostali integrisani tretmani nisu značajno različiti od bakar-hidroksid standarda. U eksperimentu 5 postoji samo statistički značajna razlika u efikasnosti integracija (bakar-hidroksid, ASM i bakteriofaga) u odnosu na bakar-hidroksid standardni tretman. Nije bilo statistički značajne razlike u efikasnosti preostalih tretmana u odnosu na standardni tretman.

Svi integrisani tretmani su imali statistički značajan uticaj na prinos u odnosu na netretirane kontrolu u eksperimentu 3, 4 i 5. U eksperimentu 3 prinos izmeren na elementarnim parcelama tretiranih integrisanim tretmanom bakar-hidroksid, ASM i bakteriofagi se značajno razlikovao u odnosu na prinos tretirane integrisanim tretmanom ASM + bakteriofagi i ASM + *Bacillus subtilis* QST 713. Nije bilo značajne razlike u ukupnom prinosu između tretmana u eksperimentu 4 i 5 (Tabela 17).

Tabela 17. Efikasnost integracije bioloških i hemijskih tretmana u kontroli bakteriozne pegavosti paprike u uslovima otvorenog polja (2012. i 2013. godina).

Treatments	Eksperiment								
	3			4			5		
	AUDPC <sup>a</sup>	Efikasn ost %	Prinos (t/ha)	AUDPC	Efikasn ost%	Prinos (t/ha)	AUDPC	Efikasn ost%	Prinos (t/ha)
Bakar-hidroksid	237,6 de	91,1	8,9 ab	180,2 bc	86,7	9,3 a	256,5 bc	88,3	10,3 a
Bakar-hidroksid + ASM + Bakteriofagi	54,4 f	98,0	11,2 a	49,1 d	96,4	10,0 a	45,9 d	97,9	10,8 a
Bakar-hidroksid +ASM	121,1 ef	95,5	10,5 ab	67,3 d	95,1	10,2 a	163,5 cd	92,6	10,3 a
Bakar-hidroksid + Bakteriofagi	131,6 ef	95,1	10,6 ab	87,8 cd	93,5	10,5 a	149,8 cd	93,1	9,4 a
Bakar-hidroksid + Bakteriofagi + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	208,8 de	92,2	10,4 ab	74,9 d	94,5	9,7 a	174,4 cd	92,0	9,5 a
Bakar-hidroksid + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	330,2 cd	87,7	9,7 ab	193,1 b	85,8	9,1 a	316,7 bc	85,6	10,4 a
ASM + Bakteriofagi + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	345,4 cd	87,2	10,2 ab	93,0 cd	93,2	9,5 a	299,7 bc	86,4	9,4 a
ASM + Bakteriofagi	386,5 c	85,6	8,2 b	100,6 bcd	92,6	9,8 a	344,2 bc	84,3	9,9 a
ASM + <i>Bacillus subtilis</i> QST 713	745,2 b	72,3	7,9 b	103,0 bcd	92,4	9,5 a	453,3 b	79,4	9,7 a
Netretirana inokulisana kontrola <sup>b</sup>	2690,6 a	-	4,4 c	1359,4 a	-	4,1 b	2169,9 a	-	5,4 b

<sup>a</sup> Površina ispod progresivne krive bolesti (Area under the disease progress curve (AUDPC)) vrednosti su izračunate korišćenjem formule  $\sum[(x_i + x_{i-1})/2](t_i - t_{i-1})$ , gde je  $x_i$ =ocena u procentima ;  $x_{i-1}$ = predhodna ocena u procentima;  $t_i - t_{i-1}$ = vreme između dva uzastopna očitavanja. Vrednosti obeležene različitim slovomima u koloni se značajno razlikuju na osnovu Duncan-ovog testa za višestruke intervale, na nivou značajnosti:  $P = 0.05$ .

<sup>b</sup>Kontrole su tretirane česmenskom vodom.

## 6. DISKUSIJA

Bakteriozna pegavost paprike i krastavost plodova paradajza koju prouzrokuju bakterije *Xanthomonas* kompleksa, spada u red rasprostranjenih i ekonomski veoma značajnih bolesti paprike i paradajza u svetu. U našoj zemlji bakteriozna pegavost paprike, koju prouzrokuje fitopatogena bakterija *X. euvesicatoria*, predstavlja ograničavajući faktor uspešne proizvodnje paprike. Osim šteta koje nastaju usled smanjenja prinosa i kvaliteta plodova, veliki gubici nastaju u proizvodnji semena usled detekcije patogena na semenu (EPPO, 1992). Kontrola bolesti predstavlja veliki izazov, kako za proizvođače, tako i istraživače fitopatologe. Trenutna kontrola zasniva se na primeni baktericida na bazi jedinjenja bakra. Međutim, usled ograničene efikasnosti i pojave sojeva bakterija otpornih prema ovim jedinjenjima, kao i povećane zabrinutosti za životnu sredinu, započeta su istraživanja alternativnih i održivih metoda koje bi omogućile efikasnu kontrolu ove bolesti. Kada vremenski uslovi pogoduju razvoju bolesti, proizvođači paprike nemaju adekvatna sredstva za borbu protiv ovog patogena. Stoga je potreban razvoj nove strategije koja bi omogućila efikasnu kontrolu bolesti. Usled nedostatka otpornih sorti kao i efikasnih sredstava za zaštitu, istraživači proučavaju alternativna rešenja, kao što su antagonistički sojevi bakterija, bakteriofagi i aktivatori otpornosti biljaka (Louws et al., 2001; Romero et al., 2001; Momol et al., 2002; Abbasi et al., 2002a; 2002b; 2003; Al-Dahmani et al., 2003; Obradovic et al., 2004a, Wen et al., 2007; 2009).

U cilju razvoja nove integralne strategije zaštite paprike, u ovom radu proučen je efekat folijarne primene klasičnih baktericida i bioloških agenasa u kontroli bakteriozne pegavosti paprike u stakleniku, fitokomori i u uslovima otvorenog polja. Proučena je efikasnost bakarnih preparata, njihova kombinacija sa mankozebom, antibiotici, ASM, bakteriofagi, *Bacillus subtilis* sojevi i mikrobiološko đubrivo.

Jedini registrovani baktericidi u našoj zemlji, na bazi jona bakra, često nisu dovoljno efikasni, posebno u vremenskim uslovima koji pogoduju intenzivnom razvoju bolesti. U ovom radu, bakar-hidroksid je u uslovima staklenika i fitokomore ispoljio visoku efikasnost od 81,8-90,1% a bakar-oksihlorid od 78,4-88,1%. U uslovima otvorenog polja efikasnost bakar-hidroksida je bila 85,1-87,8% a bakar-oksihlorida 79-86%. S obzirom na to da je u ovom radu za veštačku inokulaciju korišćen soj *X. euvesicatoria* KFB 13 osetljiv na jedinjenja bakra postignut je visok nivo efikasnosti. Eksperimentalnih podataka o hemijskoj zaštiti od

bakteriozne pegavosti paprike u domaćoj literaturi ima veoma malo. Do sličnih rezultata došli su Milijašević i sar. (2006) proučavajući efikasnost bakarnih preparata u zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti u uslovima otvorenog polja. Eksperimenti za ocenu efikasnosti bakarnih preparata (bakar-hidroksi, bakar-oksihlorid) su izvedeni na lokalitetima Dobanovci i Kupinovo tokom 2005. godine i Zemun i Smederevska Palanka tokom sezone 2006. godine. Po rezultatima ovih autora bakarni preparati su ispoljili zadovoljavajuću efikasnost na svim lokalitetima primene. U eksperimentima u toku 2005. godine bakar-oksihlorid (Cuprozin 35 WP) je ispoljio efikasnost od 74,3-78,7% a bakar-hidroksid (Blauvit) od 74,6-78,9%. U ogleđima izvedenim tokom 2006. godine, najveću efikasnost 86,1-89,1% ispoljio je bakar-hidroksid (Fungohem SC). Na osnovu ovih istraživanja autori preporučuju navedene bakarne preparate za uspešnu zaštitu od bakteriozne pegavosti paprike u našim klimatskim uslovima (Milijašević i sar., 2006).

Usled višedecenijske primene bakarnih preparata na Floridi su još 1983. godine registrovani sojevi *X. euvesicatoria* rezistentni prema jedinjenjima bakra (Marco and Stall, 1983). U područjima gde je prisutna populacija rezistentna prema bakarnim preparatima, utvrđena je manja efikasnost ovih jedinjenja u odnosu na njihovu primenu u kombinaciji sa EBDC fungicidima (Adaskaveg and Hine, 1985). Mnogi autori navode da kombinovanje mankozeba i maneba sa bakarnim preparatima povećava njihovu efikasnost (Marco and Stall, 1983; Sherf and MacNab, 1986; Pernezny et al., 2008). U proučavanjima u ovom radu, jedinjenja bakra primenjena u kombinaciji sa mankozebom ili samostalno, značajno su smanjila intenzitet bolesti u odnosu na netretiranu kontrolu. Međutim nije bilo statistički značajne razlike u efikasnosti bakarnih preparata primenjenih samih ili u kombinaciji sa mankozebom u ogleđima u kontrolisanim uslovima, kao i u ogleđima u uslovima otvorenog polja. Na osnovu dobijenih rezultata može se preporučiti izostavljanje mankozeba iz programa zaštite, što bi doprinelo smanjenoj primeni hemijskih preparata i nakupljanju ostataka EBDC fungicida u biljkama i plodovima paprike, kao i očuvanju zdravlja proizvođača i potrošača proizvodnjom zdravstveno bezbednijih plodova i zaštiti drugih činilaca životne sredine. Proizvedeni plodovi će biti zdravstveno bezbedniji.

Uspešna primena streptomocina u svetu u usevu paradajza i paprike za suzbijanje *X. euvesicatoria* bila je kratkotrajna, jer je već početkom šezdesetih godina prošlog veka, otkrivena rezistentna populacija ove bakterije (Stall and Thayer, 1962). Streptomycin-rezistentni sojevi su se brzo proširili i postali široko rasprostranjeni, primoravajući istraživače da tragaju za drugim rešenjima (Obradović et al., 2004a). Smanjena efikasnost streptomocina nameće pitanje testiranja i korišćenja nekih drugih antibiotika u zaštiti od bakteriozne

pegavosti paprike. Jedan od takvih je antibiotika je kasugamicin. Njegova prednost u odnosu na streptomycin bi u budućnosti mogla biti u tome što, za sada, još uvek nisu izolovani sojevi *X. euvesicatoria*, otporni na ovaj antibiotik u svetu. Međutim, postoji opasnost od pojave ukrštene rezistentnosti između ova dva antibiotika zbog istog mehanizma delovanja koji se zasniva na vezivanju za ribosome bakterija i na taj način sprečavanja sinteze proteina (Yamaguchi, 1998).

U ovom radu, antibiotici su ispoljili visok nivo efikasnosti u kontrolisanim uslovima: streptomycin-sulfat 76-94% i kasugamicin 75-93%. U ogledima u uslovima otvorenog polja efikasnost streptomycin-sulfata iznosila je 85-90% a kasugamicina 58-78%. Antibiotici nisu registrovani za primenu u našoj zemlji i u ovom radu su primenjivani u eksperimentalne svrhe, radi poređenja sa drugim tretmanima. Neracionalna i nekontrolisana upotreba antibiotika, kao i česta primena bakarnih preparata doveli su do opasnosti od razvoja rezistentnosti bakterija. Ignjatov i sar. (2009) su utvrdili različit stepen osetljivosti među proučavanim *X. euvesicatoria* sojevima prema baktericidima u *in vitro* uslovima u našoj zemlji. Među proučavanim sojevima 19 je rezistentno prema CuSO<sub>4</sub> (konc. 200 ppm), a 6 sojeva prema kasugamicinu koncentracije 50 ppm. Za razliku od bakar-sulfata i kasugamicina, streptomycin-sulfat je u ovim ogledima delovao baktericidno i pri najnižoj koncentraciji.

U ovom radu mikrobiološko đubrivo (Slavol) i *Bacillus subtilis* soj AAac nisu ispoljili značajnu efikasnost u kontrolisanim uslovima i uslovima otvorenog polja u zaštiti paprike od bakteriozne pegavosti. *Bacillus subtilis* soj AAac ispoljio je jaku konkurentsku sposobnost u odnosu na sojeve *X. euvesicatoria* u kontrolisanim uslovima *in vitro*. U uslovima otvorenog polja navedeni sojevi su ispoljili ograničen niz aktivnosti i niske konkurentske sposobnosti u uslovima *in vivo*.

U našim istraživanjima, tretman sojem *Bacillus subtilis* QST 713 je ispoljio efikasnost od 79,3 i 87% u eksperimentima 1 i 2 u uslovima staklenika i fitokomore. U eksperimentu 3 u fitokomori isti tretman ispoljio je značajno slabiju efikasnost od 50.9% u odnosu na efikasnost u predhodna dva eksperimenta. U eksperimentima u uslovima otvorenog polja tretman *Bacillus subtilis* soj QST 713 ispoljio je efikasnost od 42,2 i 48.6% statistički značajno slabiju u odnosu na druge grupe tretmana. Slične rezultate o efikasnosti različitih formulacija *Bacillus subtilis* soja QST 713 u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti izneli su Abbasi et al. (2015). U njihovim istraživanjima sprovedenim tokom četiri uzastopne sezone u Kanadi, *Bacillus subtilis* soj QST 713 primenjen samostalno je značajno umanjio intenzitet bakteriozne pegavosti paradajza u tri sezone u odnosu na netretiranu kontrolu. Međutim,

primenjen u smeši u istom rezervoaru sa bakar-hidroksidom ispoljio je značajnu efikasnost u sve četiri sezone. Idealan pristup problemu zaštite paprike od bakteriozne pegavosti bila bi integracija različitih metoda, kojim bi se postigao visok stepen zaštite useva, smanjila količina ostataka pesticida u hrani, kao i toksični efekat pesticida na životnu sredinu i organizme koji nisu cilj suzbijanja.

Živa priroda bioloških agenasa, kao i specifičan mehanizam dejstva aktivatora otpornosti biljaka onemogućavaju njihovu primenu kao da je to samo jedan tretman više u programu zaštite, već zahtevaju pažljivu optimizaciju vremena i broja tretmana, određivanje koncentracije i usaglašavanje sa konvencionalnim tretmanima, kako bi se postigla maksimalna efikasnost. Prema najnovijim literaturnim podacima, biološke metode (upotreba bakteriofaga) i neke novije alternativne metode (aktivatori sistemične otpornosti) ukazuju na moguću efikasnu primenu u suzbijanju *X. euvesicatoria* (Louws et al., 2001; Obradovic et al., 2004a). Integracija biobaktericida i konvencionalnih baktericida je značajna u kontroli biljnih bolesti sa ciljem umanjenja ostataka pesticida u hrani. Integracija bioloških agenasa (bakteriofaga i sojeva *Bacillus subtilis*) sa konvencionalnim baktericidima na bazi jona bakra je značajna strategija u kontroli bakteriozne pegavosti u organskim sistemima proizvodnje. Primena bakteriofaga kao prirodnih agenasa u zaštiti od bakterioza biljaka je nov metod. Bakteriofagi su usko specifični za ciljanog patogena i bezopasni su za eukariotsku ćeliju. Ograničavajući faktor primene bakteriofaga je njihova osetljivost prema nepovoljnim uslovima spoljne sredine. Čestice bakteriofaga se brzo dezintegrišu na površini lista biljaka usled isušivanja i UV spektra sunčevog zračenja, što ograničava njihovu efikasnu primenu. Gašić et al., (2018) navode da je preduslov za uspešnu primenu bakteriofaga u kontroli fitopatogenih bakterija kontakt faga i ciljane bakterije na lisnoj površini. Neefikasan kontakt između faga i bakterije domaćina često je ograničavajući faktori pri praktičnoj primeni faga u biološkoj kontroli biljnih patogena (Gašić et al., 2018). Rezultati Gašić i sar. (2018) su pokazali da bakteriofagi mogu da opstanu najmanje 7 dana na površini lista paprike u uslovima staklene bašte, bez prisustva bakterije domaćina. Ovaj nalaz je značajan za definisanje vremenskog intervala budućeg tretmana bakteriofaga u kontroli bolesti. Međutim, ovi autori navode da treba imati na umu da je postojanost faga u stakleniku verovatno veća od njene postojanosti u uslovima otvorenog polja, jer staklenik štiti fage od negativnih efekata nekih od faktora okoline. Intenzitet UV svetla je značajno smanjen zbog prolaska sunčeve svetlosti kroz staklenu površinu. Takođe, uslovi staklenika štite fage od ekstremno visokih temperatura i spiranja virusa kišom, i doprinose njihovoj postojanosti u atmosferi (Gašić et al., 2018). Bakteriofagi mogu predstavljati buduću alternativu streptomycinu i baktericidima na

bazi jona bakra, naročito u područjima gde su dominantni sojevi *X. euvesicatoria* rezistentni prema streptomycinu i bakarnim preparatima.

U ovom radu u istraživanjima sprovedenim u kontrolisanim uslovima tretman bakteriofagima KΦ 1 je bio efikasniji 78-85% u uslovima fitokomore u poređenju sa efikanošću u eksperimentu u uslovima staklenika 38%. Moguće objašnjenje za ovu nekonzistentnost može biti ograničeno preživljavanje bakteriofaga u uslovina staklenika i korišćenje neformulisanih bakteriofaga. U ovom radu bakteriofagi su primenjeni dva puta nedeljno u sumrak u uslovima otvorenog polja, i ispoljili su efikasnost od 62 do 77%. Balogh et al. (2003) su saopštili da formulisanjem bakteriofaga sa obranim mlekom i saharozom doprinelo je većem preživljavanju na lisnoj površini a samim tim i većoj efikasnosti tretmana u uslovima otvorenog polja. Momol et al. (2002) takođe preporučuju aplikaciju bakteriofaga uveče da bi se izbegao nepovoljni uticaj UV spektra sunčevog zračenja. Ovi autori navode da je efikasnija primena po zalasku sunca u kontroli bakterijske pegavosti paradajza u poređenju sa primenom rano ujutru (Momol et al., 2002). U eksperimentima u uslovima otvorenog polja u ovom radu korišćen je neformulisani soj bakteriofaga primenjen u sumrak da bi se izbegao negativan efekat UV zračenja na postojanost faga na listu paprike i na ovaj način postignuta je veća efikasnost tretmana. Na osnovu rezultata eksperimenta izvedenih u ovom radu u uslovima staklenika i fitokomore neformulisani bakteriofagi se mogu uspešno primeniti za kontrolu bakterijske pegavosti paprike. U eksperimentima u stakleniku i polju, Iriarte et al. (2007) saopštili su rezultate istraživanja o negativnom uticaju koji su bakarna jedinjenja ispoljila ukoliko se primene istovremeno sa fagima, ali ne i ukoliko se primene 7 ili 4 dana pre tretmana fagima. Formulacija bakteriofaga obranim mlekom i saharozom imala je pozitivan efekat na brojnost faga u poređenju sa primenom neformulisanih faga (Iriarte et al., 2007).

Gašić et al. (2018) su utvrdili na osnovu eksperimenata u uslovima *in vitro* da su bakteriofagi osetljiviji na prisustvo bakar-oksihlorida u odnosu na bakar-hidroksid. U istraživanjima ovih autora dokazan je negativan uticaj na smanjenje koncentracije faga u suspenziji bakarnog preparata pri korišćenju koncentracija preporučenih za komercijalnu upotrebu. U ovim istraživanjima dokazano je da je komercijalno preporučena koncentracija bakar-oksihlorida deset puta toksičnija za bakteriofage od preporučene koncentracije bakar-hidroksida. Balogh et al.(2005) su takođe dokazali negativan efekat bakarnih jedinjenja na preživljavanje faga u eksperimentima *in vitro* uslovima. Bakarni preparati su negativno uticali na vitalnost bakteriofaga ukoliko se primene u periodu kraćem od tri dana pre tretmana fagima (Balogh et al., 2005; Iriarte et al., 2007). Ovi rezultati ukazuju na nemogućnost



korišćenja bakarnih preparata sa neformulisanim fagima u istom rezervoaru prilikom tretiranja biljaka.

U ovom istraživanju bakteriofagi su uspešno integrisani sa preparatima na bazi bakra. Korišćen je bakar-hidroksid koji je u istraživanjima Gašić i sar. (2018) ispoljio manje štetan efekat na vitalnost bakteriofaga u odnosu na bakar-oksihlorid. Primenjena su dva tretmana nedeljno najmanje tri dana nakon ili pre tretmana bakar-hidroksidom. Na taj način izbegnut je negativan efekat bakar-hidroksida na neformulisane bakteriofage. Na ovaj način postignuta je efikasna integracija biološkog agensa i klasičnog baktericida. Primenom bakteriofaga tri dana nakon ili pre tretmana bakar-hidroksidom oni se mogu uspešno integrisati u program zaštite što je potvrđeno ovim eksperimentima.

U ovom radu ASM primenjen 9. i 4. dana pre inokulacije biljaka paprike u kontrolisanim uslovima aktivirao je otpornost biljaka do nivoa hipersenzitivnosti. Ovaj model primene se pokazao kao najefikasniji. U eksperimentima u fitokomori najmanji negativni uticaj na porast i masu biljka paprike ispoljila je koncentracija ASM od 0,0015% primenjena prskanjem. Redukcija mase biljaka paprike iznosila je 20%. Po ovom modelu i u navedenoj koncentraciji primenjen je ASM u narednim ogledima u fitokomori i staklari i u uslovima otvorenog polja. Slične rezultate o negativnom uticaju ASM na porast biljaka paradajza saopštili su Louws et al., (2001). Autori su proučavali efikasnost ASM u zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti u uslovima staklenika i otvorenog polja. Iako je ASM ispoljio efikasnost u stakleniku, biljke tretirane ovim preparatom u koncentraciji od 35g aktivne supstance po ha su bile vizuelno manje. Tako su na primer biljke tretirane ASM bile u proseku mase 5,4g a kontrolne biljke su imale prosečnu masu od 10,7g, što iznosi približno 50% redukcije porasta u odnosu na netretiranu kontrolu.

Aktivatori sistemичne otpornosti biljaka kao i ASM nemaju direktan uticaj na patogene (Agrios, 2005). Prednost primene ASM ogleda se u tome što se istovremeno može aktivirati otpornost prema više patogena paprike. U ovom radu u ogledima izvedenim u kontrolisanim uslovima staklenika i fitokomore ASM je ispoljio najveću efikasnost 93-97%. ASM primenjen samostalno u uslovima otvorenog polja nije ispoljio efikasnost kao u što je bio slučaj u eksperimentima u kontrolisanim uslovima. Slične rezultate saopštili su Obradović et al. (2004a) u proučavanju kontrole bakteriozne pegavosti paradajza. Aplikacija ASM u intervalu od 14 dana integrisana sa primenom bakteriofaga dva puta nedeljno u sumrak značajno je umanjila intenzitet pojave bakteriozne pegavosti paprike 84-92%. Pored brojnih prednosti koje navodi više autora (Obradović et al., 2004a; 2005; Jones et al., 2007; Huang et al., 2012), upotreba ASM može negativno uticati na prinos paprike u uslovima otvorenog

polja (Louws et al., 2001; Romero et al., 2001; Abbasi et al., 2002a,b). Stoga, u cilju postizanja maksimalne efikasnosti, potrebno je koristiti odgovarajuću koncentraciju aktivne supstance kao i odrediti vreme primene između dva tretmana. Kao posledica prekomerne eksploatacije mehanizama sistemичne otpornosti biljke, može dovesti do metaboličkih preopterećenja, kašnjenje u porastu i smanjene produktivnosti (Gašić et al., 2012b). U ovom radu, u eksperimentima izvedenim u polju nije zabeležen fitotoksičan efekat ASM tretmana. ASM primenjen u koncentraciji od 0,0015% u intervalu od 14 dana u uslovima otvorenog polja nije uticao na smanjenje prinosa paprike u odnosu na kontrolu i standardni tretman bakar-hidroksidom (tabela 16 i 17).

U ovom radu dokazano je da se bakteriofagi i ASM mogu integrisati kao nova strategija u kontroli bakteriozne pegavosti paprike u stakleniku i u uslovima otvorenog polja. Na osnovu rezultata oglada izvedenih u uslovima otvorenog polja integracija neformulisanih bakteriofaga i ASM se pokazala kao veoma efikasna 84-92%. Ova integracija se može primeniti kao uspešna strategija u zaštiti od bakteriozne pegavosti paprike sa ciljem smanjenja upotrebe bakarnih preparata.

Korišćenjem soja *X. euvesicatoria* KFB 13 za veštačku inokulaciju, koji je osetljiv prema bakarnim preparatima i antibioticima, favorizovana je kontrola bolesti ovim jedinjenjima. Uvođenje bioloških tretmana i ASM u program zaštite smanjio bi se selekcionni pritisak na populaciju patogena i rizik od razvoja rezistentnosti na pomenute baktericide.

Rezultati istraživanja sprovedenih tokom četiri godine, pokazali su da se najbolja kontrola bolesti 96 - 98% može postići integracijom bakteriofaga, ASM i bakar-hidroksida, tretmana sa različitim mehanizmom delovanja (tabela 17). Uspešna zaštita paprike od bakteriozne pegavosti sa pozitivnim efektom na prinos može se postići integracijom različitih metoda što je potvrđeno ovim rezultatima. Svi integrisani tretmani su značajno uticali na povećanje prinosa paprike u poređenju sa netretiranom inokulisanom kontrolom. Aplikacijom novih i alternativnih metoda u kontroli *X. euvesicatoria* može se unaprediti tehnologija proizvodnje i umanjiti gubici u prinosu. U ovom radu je potvrđeno da se alternativne metode, kao što su primena bakteriofaga i aktivatora otpornosti biljaka, mogu preporučiti kao nova strategija proizvođačima paprike u kontroli bakteriozne pegavosti. Sličan model je korišćen na Floridi tokom četvorogodišnjeg proučavanja metoda zaštite bakteriozne pegavosti paradajza (Obradović et al., 2004a). Primena specifičnih sojeva faga u vidu komercijalno dostupnog preparata Agriphage, korišćenog u kombinaciji sa drugim alternativnim ili standardnim tretmanima rezultirala je povećanom efikasnošću u kontroli bolesti. Ova strategija uspešno se koristi u praksi na poljima Floride (Obradovic et al., 2004a). Integracija

aplikacije faga sa standardnim bakarnim preparatima, primena otpornih sorti ili upotreba aktivatora sistemичne otpornosti biljaka kod tolerantnih sorti, uticali su na značajno smanjenje širenja bolesti u uslovima u kojima je veštačkom inokulacijom favorizovan patogen. Podaci o mogućoj pojavi rezistentnih sojeva patogena u populaciji bilo od velikog značaja za dalji razvoj strategija i sprečavanja širenja rezistentne populacije patogena. Moguća upotreba prirodnih neprijatelja ima značajnu ulogu u poboljšanju efikasnosti i održivosti metoda zaštite, kroz integraciju sa konvencionalnim metodama, kao i u smanjenju primene hemijskih supstanci za zaštitu bilja. Za održivu strategiju biološka kontrola bakterijskih bolesti mora se proceniti na lokalnom nivou u kontekstu integrisanih strategija za upravljanje biljnim bolestima. U ovom radu je proučena mogućnost efikasne kontrole bakteriozne pegavosti paprike, čak i u uslovima visokog pritiska veštačkog inokuluma. Strategija se zasniva na blagovremenoj i integrisanoj primeni kombinacije prirodnih agenasa kao što su bakteriofagi, aktivatora otpornosti biljaka (ASM) i konvencionalnih baktericida na bazi bakra. Korišćenjem prirodnih neprijatelja i mehanizama sistemичne otpornosti biljaka može se smanjiti primena hemijskih supstanci, što ovaj integrisani pristup čini efikasnijom alternativom, isplativom i bezbednom za useve i životnu sredinu.

## 7. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata dobijenih tokom ovih istraživanja, može se zaključiti sledeće:

Aktivator otpornosti biljaka, ASM primenjen 9 i 4 dana pre inokulacije, u koncentraciji 0,0015% prskanjem ispoljio je visok nivo efikasnosti (96,5%) u zaštiti biljaka paprike u uslovima fitokomore. Primenom ove koncentracije aktivne materije ispoljen je najmanji negativan uticaj na visinu i masu biljaka.

Primenom ASM kao aktivatora otpornosti, može se pojačati odbrambena reakcija biljaka paprike prema prouzročivaču bakteriozne pegavosti bez negativnog uticaja na prinos i porast biljaka. ASM se može uspešno primeniti u koncentraciji od 0,0015% u uslovima otvorenog polja.

Konvencionalni baktericidi na bazi jona bakra su u ovom radu ispoljili visok nivo efikasnosti, ali zbog česte upotrebe postoji rizik od razvoja rezistentnosti prema ovim jedinjenjima.

Na osnovu rezultata eksperimenata izvedenih u ovom radu u kontrolisanim uslovima staklenika i fitokomore i u uslovima otvorenog polja, bakteriofagi se mogu uspešno primeniti za kontrolu bakteriozne pegavosti paprike.

Integracija ASM i bakteriofaga može biti od značaja u eliminisanju ili značajnom smanjenju upotrebe jedinjenja bakra u zaštiti paprike.

Primena mankozeba u kombinaciji sa bakarnim preparatima nije značajno uticala na povećanje efikasnosti. Isključivanjem EBDC fungicida iz programa zaštite smanjila bi se upotreba hemijskih preparata, a samim tim dobili bi se zdravstveno bezbedniji plodovi paprike.

Kombinacija bioloških preparata (bakteriofaga KΦ 1 i soja *Bacillus subtilis* i bakarnog preparata (bakar-hidroksid) može biti efikasna strategija kontrole bakterijske pegavosti u organskim sistemima proizvodnje.

Integracijom pozitivnog efekta različitih metoda može se postići odgovarajući efekat zaštite. Integracijom tretmana bakteriofaga, soja *Bacillus subtilis* i aktivatora otpornosti moguće je unaprediti strategiju zaštite paprike od bakterijske pegavosti, smanjenjem intenziteta zaraze biljaka i uticati značajno na povećanje prinosa paprike.

Na osnovu ovih istraživanja, kombinacija tri agensa različitog mehanizma delovanja, bakteriofaga, ASM i bakara-hidroksida može biti efikasna strategija za proizvođače paprike u kontroli bakterijske pegavosti.

## 8. LITERATURA

Abbasi, P. A., Al-Dahmani, J., Sahin, F., Hoitink, H. A. J., Miller, S. A. (2002a): Effect of compost amendments on disease severity and yield of tomato in conventional and organic production systems. *Plant Disease*, 86: 156-161.

Abbasi, P. A., Soltani, N., Cuppels, D. A., Lazarovits, G. (2002b): Reduction of bacterial spot disease severity on tomato and pepper plants with foliar applications of ammonium lignosulfonate and potassium phosphate. *Plant Disease*, 86: 1232-1236.

Abbasi, P. A., Cuppels, D. A., Lazarovits, G. (2003): Effect of foliar applications of neem oil and fish emulsion on bacterial spot and yield of tomatoes and peppers. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 25: 41-48.

Abbasi, P. A., Weselowski, B. (2015): Efficacy of *Bacillus 1 subtilis* QST 713 formulations, 2 copper hydroxide, and their tank mixes on bacterial spot of tomato. *Crop Protection*, 74: 70-76.

Abbott, W.S. (1925): A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.

Adaskaveg, J. E., Hine, R. B. (1985): Copper tolerance and zinc sensitivity of Mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Disease*, 69: 993-999.

Agrios, G. N. (2005): *Plant Pathology* (5th edition). Elsevier Academic Press, Burlington, MA.

Aleksić, Ž., Aleksić, D., Šutić, D. (1989): Bolesti povrća i njihovo suzbijanje, Nolit.

Al-Dahmani, J. H., Abbasi, P. A., Miller, S. A., Hoitink, H.A.J. (2003): Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. *Plant Disease*, 87: 973-919.

Anonymous (2002): Biopesticide regulatory action document Harpin protein. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs PC Code 006477.

Arsenijević, M., Balaž, J. (1978): Etiološka proučavanja bakteriozne pegavosti lista paprike. *Savremena poljoprivreda*, 7 - 8: 75-76.

Arsenijević, M. (1997): Bakterioze biljaka. S-print, Novi Sad.

Balaž, J. (1994): Pegavost lišća paprike prouzrokovana bakterijom *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Savremena poljoprivreda*, vanredni broj, 42: 341-345.

Balaž, J., Obradović, A., Knežević, T. (2003): Bakterioze na semenu i sadnom materijalu povrtarskih, ratarskih i ukrasnih biljaka. *Biljni lekar*, 31 (6): 629-638.

Balaž, J. (2005): Seme kao izvor primarnog inokuluma za nastanak bakterioza povrća i integrisane mere zaštite. *Pesticidi i fitomedicina*, 20 (2): 79-88.

Balaž, J., Delibašić, T. (2005): Iznalaženje meoda za izolaciju *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* sa semena paprike. *Pesticidi i fitomedicina*, 20 (1): 51-60.

Balogh, B. (2002): Strategies for improving the efficacy of bacteriophages for controlling bacterial spot of tomato. Masters Thesis, University of Florida. Florida, USA.

Balogh, B., Jones, J. B., Momol, M. T., Olson, S. M., Obradović, A., King, B., Jackson, L. E. (2003): Improved efficacy of newly formulated bacteriophages for management of bacterial spot on tomato. *Plant Disease*, 87: 949-954.

Balogh, B., Jones, J. B., Momol, M. T., Olson, S. M. (2005): Persistence of bacteriophages as biocontrol agents in the tomato canopy. *Acta Horticulturae (ISHS)* 695: 299-302.

Bashan, Y., Azaizeh, M., Diab, S., Yunis, H., Okon, Y. (1985): Crop loss of pepper plants artificially infected with *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in relation to symptom expression. *Crop Protection*, 4: 77-84.

Brickner, S. J., Hutchinson, D. K., Barbachyn, M. R., Manninen, P. R., Ulanowicz, D. A., Garmon, S. A., Zurenko, G. E. (1996): Synthesis and antibacterial activity of U-100592 and U-100766, two oxazolidinone antibacterial agents for the potential treatment of multidrug-resistant gram-positive bacterial infections. *Journal of medicinal chemistry*, 39(3): 673-679.

CABI (2004): *Crop Protection Compendium* - CD.

Conrath, U., Chen, Z., Ricigliano, J. R., Klessig, D. F. (1995): Two inducers of plant defense responses, 2, 6-dichloroisonicotinic acid and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(16): 7143-7147.

EC Commission Regulation (2002): No 473/2002 of 15 March 2002 amending Annexes I, II and VI to Council Regulation (EEC) No 2092/91 on organic production of agricultural products and indications referring thereto on agricultural products and foodstuffs, and laying down detailed rules as regards the transmission of information on the use of copper compounds.

Cvikić, D., Zečević, B., Pavlović, N., Đorđević, R. (2007): Mona F1 - novi hibrid paprike (*Capsicum annuum* L.) Centra za povrtarstvo. *Selekcija i semenarstvo*, 13(1-2): 33-35.

Danojević D., Medić-Pap S., Ignjatov M., Červenski J. (2016): Otpornost paprike prema prouzročivaču bakteriozne pegavosti - značajan zadatak oplemenjivanja. *Biljni lekar*, 44(4):303-308.

- Dye, D. W., Starr, M. P., Stolp, H. (1964): Taxonomic classification of *Xanthomonas vesicatoria* based upon host specificity, bacteriophage sensitivity and cultural characteristics. *Phytopathology*, 51: 394-407.
- Fayette, J., Roberts, P. D., Pernezny K. L., Jones, J. B. (2012): The role of cymoxanil and famoxadone in the management of bacterial spot on tomato and pepper and bacterial leaf spot on lettuce. *Crop Protection*. 31: 107-112.
- Flaherty, J. E., Jones, J. B., Harbaugh, B. K., Somodi, G. C., Jackson, L. E. (2000): Control of bacterial spot on tomato in the greenhouse and field with h - mutant bacteriophages. *HortScience*, 35: 882-884.
- Gašić, K., Ivanović, M., Obradović, A. (2007): Proučavanje specifičnosti bakteriofaga prema *Xanthomonas* sp. patogena paprike i paradajza. XIII simpozijum sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 121-122.
- Gašić, K., Ignjatov, M., Ivanović, M., Čalić, A., Kuzmanović, N., Obradović, A. (2010): Bakteriofagi kao biološki agensi u kontroli bakteriozne pegavosti paprike. X Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 63-64.
- Gašić, K., Ivanović, M. M., Ignjatov, M., Čalić, A., Obradović, A. (2011): Isolation and characterization of *Xanthomonas euvesicatoria* bacteriophages. *Journal of Plant Pathology* 93, 415-423.
- Gašić, K. (2011a): Biologija bakteriofaga prirodnih neprijatelja *Xanthomonas* spp. patogena paprike. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Gašić, K., Ivanović, M., Čalić, A., Obradović, A. (2012a): Ecology og *Xanthomonas euvesicatoria* bacteriophages. VI Congress of plant protection. Zlatibor, Book of abstracts: 53.
- Gašić, K., Obradović, A. (2012b): Indukovana otpornost biljaka. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 49, 326-334.
- Gašić, K., Kuzmanović, N., Ivanović, M., Prokić, A., Šević, M., Obradović, A., (2018): Complete genome of the *Xanthomonas euvesicatoria* specific bacteriophage KΦ1, its survival and potential in control of pepper bacterial spot. *Frontiers in Microbiology*. 9:2021. doi: 10.3389/fmicb.2018.02021
- Gullino, M. L., Tinivella, F., Garibaldi, A., Kemmitt, G. M., Bacci, L., Sheppard, B. (2010): Mancozeb: past, present, and future. *Plant Disease*. 94: 1076-1087.
- Graves, A. S., Alexander, S. A. (2002): Managing bacterial speck and spot of tomato with acibenzolar-S-methyl in Virginia. *Plant Health Progress* doi, 1094/php-2002-0220-01-rs.
- Garcion, C., Lamotte, O., Métraux, J. P. (2007): Mechanisms of Defence to Pathogens: Biochemistry and Physiology, in *Induced Resistance for Plant Defence: A Sustainable Approach to Crop Protection* (eds D. Walters, A. Newton and G. Lyon), Blackwell Publishing, Oxford, UK.



Huang, C.H., Vallad, G.E., Zhang, S., Wen, A., Balogh, B., Figueiredo, J.F.L., Behlau, F., Jones, J.B., Momol, M.T., Olson, S.M. (2012): Effect of application frequency and reduced rates of acibenzolar-S-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato. *Plant Disease*. 96: 221–227.

Hassall, K. A. (1982): *The chemistry of pesticides: their metabolism, mode of action and uses in crop protection*. Verlag Chemie. Weinheim, Deerfield Beach, Florida , Basel.

Horsfall, J.G., Barratt, R.W. (1945): An improved system for measuring plant disease. *Phytopathology* 35: 655.

IBM Corp. Released (2012): *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0*. Armonk, NY: IBM Corp.

IARC (2017): *Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-118*. International Agency for Research on Cancer, Lyon Cedex, France.

Ignjatov, M., Gašić, K., Ivanović, M., Šević, M., Obradović, A., Milošević, M. (2010): Karakterizacija sojeva *Xanthomonas euvesicatoria*, patogena paprike u Srbiji. *Pesticidi i fitomedicina*, 25(2):139-149.

Ignjatov, M., Šević, M., Gašić, K., Jovičić, D., Nikolić, Z., Milošević, D., Obradović, A. (2012): Proučavanje osetljivosti odabranih genotipova paprike prema prouzrokovaču bakteriozne pegavosti. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 49, 177-182.

Ivanović, M., Mijatović, M., Obradović, A. (1998): Suzbijanje prouzrokovača bolesti, štetočina i korova u lejama za proizvodnju rasada paradajza i paprike. *Poljoprivredne aktuelnosti*, 1 - 2: 59 - 63.

Ivanović, M., Ivanović, D. (2001): *Mikoze i pseudomikoze biljaka*. GND produk, Beograd – Zemun.

Iriarte, B. F., Balogh, B., Momol, M. T., Smith, M. L., Wilson, M., Jones, J. B. (2007): Factors Affecting Survival of Bacteriophage on Tomato Leaf Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 1704-1711.

Jackson, L. E. (1989): Bacteriophage prevention and control of harmful plant bacteria. US Patent No. 4,828,999.

Janjić, V. (2005): *Fitofarmacija*, Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd

Ji, P., Campbell, H. L., Kloepper, J. W., Jones, J. B., Suslow, T. V., Wilson, M. (2006): Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control* 36: 358-367.

Jones, J. B., Jones, J. P. (1985): The effect of bactericides, tank mixing time and spray schedule on bacterial leaf spot of tomato. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 98: 244-247.

Jones, J. B., Pboronezny, K. L., Stall, R. E., Jones, J. P. (1986): Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on tomato crop residue, weeds, seeds, and volunteer tomato plants. *Phytopathology*, 76: 430-434.

Jones, J.B. (1991): Bacterial spot, p. 27. In: Jones, R.E. Stall and T.A. Zitter (eds.). *Compendium of tomato diseases*. APS Press, St. Paul, MN.

Jones, J.B., Woltz, S.S., Jones, J.P., Portier, K.L., (1991): Population dynamics of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on tomato leaflets treated with copper bactericides. *Phytopathology* 81: 714-719.

Jones, J. B., Stall, R. E., Minsavage, G. V., Scott, J. W., Bouzar, H. (1994): Distribution of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* races in the Caribbean and Central America. *Phytopathology*, 84: 1476

Jones, J. B., Stall, R. E. (1998): Diversity among xanthomonads pathogenic on pepper and tomato. *Annual Review Phytopathology*, 36, 41 - 58.

Jones, J. B., Obradović, A., Balogh, B., Momol, M. T., Jackson, L. E. (2002): Control of bacterial leaf spot on tomato with bacteriophages. *Phytopathology*, 92: S108

Jones, J. B., Stall, R. E., Minsavage, G. V., Roberts, P. D., Kousik, C. S., Subramanya, S. R., Johnson, R. R. (2002): A Non-Hypersensitive resistance in *Capsicum annuum* to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* races associated with field resistance to all known pepper races. XII simpozijum o zaštiti bilja i savetovanje o primeni pesticida, Zlatibor. Knjiga abstrakata: 22-23.

Jones, J. B., Lacy, H. G., Bouzar, H., Stall, E. R., Schaad, W. N. (2004): Reclassification of the Xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology*, 27: 755-762.

Jones, J. B., Jackson, L. E., Balogh, B., Obradović, A., Iriarte, F. B., Momol, M. T. (2007): Bacteriophages for plant disease control. *Annual Review of Phytopathology*, 45: 245-262.

Klement, Z., Rudolf, K., Sands, D. C. (1990): *Methods in phytobacteriology*. Akadémiai Kiadó, Budapest.

Louws, F. J., Wilson, M., Campbell, H. L., Cuppels, D. A., Jones, J. B., Shoemaker, P. B., Sahin, F., Miller, S.A., (2001): Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant resistance activator. *Plant Disease*, 85: 481-488.

Marco, G. M., Stall, R. E. (1983): Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. *Plant Disease*, 67: 779-81

Marinković, M. (1985.): Otpornost paprike (*Capsicum Sp.*) prema *Verticillium Albo-atrum Reinke et Berth*, Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.

McManus, P., Stockwell, V. (2000): Antibiotics for Plant Disease Control: Silver Bullets or Rusty Sabers? <http://www.apsnet.org/online/feature/Antibiotics/>

Mirik, M., Aysan, Y., Cinar, O., (2007): Copper-resistant strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 89: 153-154.

Mirik, M., Aysan, Y., Cinar, O. (2008): Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* strains. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32: 381-390.

Minsavage, G. V., Canteros, B. I., Stall, R. E. (1990): Plasmid-mediated resistance to streptomycin in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology*, 80: 719-23.

Miladinović, Ž., Damjanović, M., Brkić, S., Marković, Ž., Stevanović, D., Sretenović-Rajičić, T., Zečević, B., Đorđević, R., Čorokalo, D., Stanković, Lj., Zdravković, M., Zdravković, J., Marinković, N., Mijatović, M., Obradović, A., Starčević, M., Milić, B., Todorović, V. (1997): *Gajenje povrća*. Institut za istraživanja u poljoprivredi Srbija, Beograd, 1-486.

Milijašević, S., Rekanović, E., Todorović, B., Stepanović, M. (2006): Efikasnost bakarnih preparata u suzbijanju *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, prouzrokovala bakteriozne pegavosti lišća paprike. *Pesticidi i fitomedicina*, 21(4): 305-310.

Mijatović, M., Zečević, B., Cvikić, D., Obradović, A. (2004): Diseases of pepper in Serbia and results of breeding for resistance. XII Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant, Noordwijk, Netherlands. Book of abstracts: 187.

Mijatović, M., Obradović, A., Ivanović, M. (2007): *Zaštita povrća*. AgroMivas, Smederevska Palanka.

Momol, T. M., Jones, J. B., Olson, S. M., Obradović, A., Balogh, B., King, P., (2002): Integrated Management of Bacterial Spot on Tomato in Florida. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Fact Sheet PP110, EDIS, <http://edis.ifas.ufl.edu/PP110>.

Momol, M.T., Jackson, L.E. (2006): Management of bacterial spot on tomatoes with bacteriophages. *Proceedings 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Diseases*, Darmstadt, Germany – Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtsch., 408: 154-157.

Obradović, A., Arsenijević, M., Marinković, N., Mijatović M. (1994): Bakteriozna pegavost rasada paprike. Treći jugoslovenski kongres o zaštiti bilja, Vrnjačka Banja. *Zbornik rezimea*: 65.

Obradović, A., Arsenijević, M., Marinković, N., Mijatović, M. (1995): Bakteriozna pegavost rasada paprike. *Zaštita bilja*, 213: 215-220.

Obradović, A., Arsenijević, M., Mijatović, M. (1997): Bakterioze paprike. Treće jugoslovensko savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor. *Zbornik rezimea*: 33-34.

- Obradović, A., Mavridis, A., Rudolph, K., Arsenijević, M. (1999): Characterization of pathogenic bacteria isolated from pepper in Yugoslavia. *Phytopathology* 29: 40-41.
- Obradović, A., Arsenijević, M., Mavridis, A., Rudolph, K. (2000): Patogene i biohemijsko fiziološke karakteristike sojeva *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* patogena paprike u Srbiji. *Zaštita bilja*, 51 (1 - 2): 157-175.
- Obradović, A., Mavridis, A., Rudolph, K., Arsenijević, M. (2000a): Bacterial spot of capsicum and tomato in Yugoslavia. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 30(4): 333-336.
- Obradović, A., Arsenijević, M., Mijatović, M., Ivanović, M. (2000b): Sve učestalija pojava *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* parazita paradajza u Srbiji. 11. jugoslovenski simpozijum o zaštiti bilja, Zlatibor. *Zbornik rezimea*: 51.
- Obradović, A., Mavridis, A., Rudolph, K., Arsenijević, M., Mijatović, M. (2001a): Bacterial diseases of pepper in Yugoslavia. In: De Boer SH (ed) *Plant Pathogenic Bacteria*: 255-258. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.
- Obradović, A., Mavridis, A., Rudolph, K., Zdravković, J. (2001b): Sudden appearance of the tomato race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Yugoslavia. In: De Boer SH (ed) *Plant Pathogenic Bacteria* (pp 350-352). Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.
- Obradović A., Mavridis A., Rudolph K., Arsenijević M., Mijatović M. (2001c): Bacterial diseases of pepper in Yugoslavia. In: De Boer S.H. (ed.). *Plant Pathogenic Bacteria*, pp. 255-258. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Obradović, A., Jones, J. B., Momol, T., Olson, S., Pradhanang, P., Balogh, B. (2001b): Interaction of PGPR, bacteriophages, bacterial antagonists, and SAR inducers in control of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on tomato in the greenhouse. 17<sup>th</sup> Annual Tomato Disease Workshop, West Palm Beach, Florida. *Proceedings book*: 77-79.
- Obradović, A., Jones, J. B., Momol, M. T., Olson, S. M., King, p. C., Balogh, B. (2002a): Mogućnosti primene nekih bioloških agenasa i aktivatora otpornosti biljaka u integralnoj zaštiti paradajza od bakteriozne pegavosti. XII simpozijum o zaštiti bilja i savetovanje o primeni pesticida, Zlatibor. *Knjiga abstrakata*: 40-41.
- Obradović, A., Jones, J. B., Momol, M., T., Olson, S. M., Pradhanang, P., Balogh, B. (2002b): Efficacy of biocontrol agents and resistance inducers against tomato bacterial spot in the greenhouse. Annual Meeting of the American Phytopathological Society, Milwaukee, WI, USA. *Phytopathology*, 92: S 60.
- Obradović, A., Jones, J. B., Momol, M. T., Balogh, B. and Olson, S. M. (2004a): Management of tomato bacterial spot in the field by foliar applications of bacteriophages and SAR inducer. *Plant Disease*, 88: 736-740.

Obradović A., Mavridis A., Rudolph K., Janse J.D., Arsenijević M., Jones J.B., Minsavage G.V., Wang J.F. (2004b): Characterization and PCR-based typing of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from peppers and tomatoes in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 285-292.

Obradović, A., Jones, J. B., Momol, M. T., Olson, S. M., Jackson, L. E., Balogh, B., Guven, K., Iriarte, F. B. (2005): Integration of biological control agents and systemic acquired resistance inducers against bacterial spot of tomato. *Plant Disease*, 89: 712-716.

Obradović, A., Gašić, K., Ivanović, M. (2006): Izolacija bakteriofaga specifičnih prema sojevima *Xanthomonas euvesicatoria* patogenu paprike u Srbiji. VIII savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor. Zbornik rezimea: 74.

Obradović, A., Ivanović, M. (2007a): O primeni antibiotika u poljoprivredi. *Biljni lekar*, 1, 52-59.

Obradović, A., Gašić, K., Stepanović, M. (2007b): Bakteriofagi u zaštiti bilja. *Biljni lekar*, 1, 36-44,

Obradović, A., Jones, J.B., Balogh, B., Momol, M.T. (2008): Integrated management of tomato bacterial spot. In: *Integrated Management of Plant Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria* (A. Ciancio and K.G. Mukerji, eds.), Springer Science, Business Media B.V., pp. 211-223.

Obradović, A. (2009): Bakteriofagi kao baktericidi u zaštiti bilja. *Pesticidi i fitomedicina*, 24: 9-17.

Obradović, A., Moravčević, Đ., Sivčev, I., Vajgand, D., Rekanović, E. (2012): Priručnik za integralnu proizvodnju i zaštitu paradajza. Institut za primenu nauke u poljoprivredi, Beograd.

OEPP/EPPO (1992): Quarantine procedures. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* -seed -testing method. *EPPO/EPPO Bulletin*, 22: 247-252.

Pernezny, K., Kudela, V., Kokosková, B., Hládká, I. (1995): Bacterial diseases of tomato in the Czech and Slovak Republics and lack of streptomycin resistance among copper - tolerant bacterial strains. *Crop Protection*, 14 (4): 267-270.

Pernezny, K., Nagata, R., Havranek, N., Sanchez, J. (2008): Comparison of two culture media for determination of the copper resistance of *Xanthomonas* strains and their usefulness for the prediction of control with copper bactericides. *Crop Protection* 27: 256-262.

Redman, C. E., Brown, I. F., Jr. (1964): A statistical evaluation of the Barratt and Horsfall rating system. *Phytopathology*, 54: 904. (Abstract).

Redman, C. E., King, E. P., Brown Jr, I. F. (1969): Tables for converting Barratt and Horsfall rating scores to estimated mean percentages, p. 8. Elanco Products: Indianapolis

- Roberts, P. D., Momol, M. T., Ritchie, L., Olson, S. M., Jones, J. B., Balogh, B. (2008): Evaluation of spray programs containing famoxadone plus cymoxanil, acibenzolar-S-methyl, and *Bacillus subtilis* compared to copper sprays for management of bacterial spot on tomato. *Crop Protection*, 27, (12): 1519-1526.
- Romero, A. M., Kousik, C. S., Ritchie, D. F. (2001): Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar-S-methyl. *Plant Disease*, 85: 189-194
- Ritchie, D. F., Dittapongpitch, V. (1991): Copper- and streptomycin-resistant strains and host differentiated races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina. *Plant Disease*, 75: 733-736.
- Russi, S., Boer, R., Coll, M. (2008). Molecular machinery for DNA translocation in bacterial conjugation. *Plasmids: Current Research and Future Trends: Caister Academic Press, Cambridge, UK*, 183-214.
- Sadunishvili, T., Kvesitadze, E., Kvesitadze, G. (2015): *Xanthomonas vesicatoria* Specific Virus and Its Potential to Prevent Tomato Bacterial Spot Disease. In *Nanotechnology to Aid Chemical and Biological Defense* (pp. 35-47). Springer Netherlands.
- Shaner, G., Finney, R. E. (1977): The effect of nitrogen fertilizer on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67: 1051-1056.
- Schaad, N., Jones, J. B., Chun, W. (2001): Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Schwartz, H.F., Gent, D.H. (2005): Bacterial Spot. Eggplant. Pepper and Tomato, XXIV, <http://highplainsipm.org/HpIPMScareh/Docs/BacterialSpotEggplantPepperTomato.htm>
- Stall, R. E., Thayer, P. L. (1962): Streptomycin resistance of the bacterial spot pathogen and control with streptomycin. *Plant Disease*, 45: 389-92
- Stall, R. E., Loschke, D. C., Jones, J. B. (1986): Linkage of copper resistance and avirulence loci on a self-transmissible plasmid in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology* 76: 240-243.
- Stall, R. E., Beaulieu, C., Egel, D., Hodge, N. C., Leite, R. P., Minsavage, G. V., Bouzar, H., Jones, J. B., Alvarez, A. M., Benedict, A. A. (1994): Two genetically diverse groups of strains are included in a pathovar of *Xanthomonas campestris*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44: 47-53.
- Sherf, A. F., MacNab, A. A., (1986): Vegetable diseases and their control. John Wiley and Sons, New York, Ed. 2, 728 pp.
- Smith, Michael B.; March, Jerry (2007): *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*. New York: Wiley-Interscience
- Šutić, D. (1957): Bakterioze crvenog patlidžana. Institut za zaštitu bilja, Beograd. Posebna izdanja, 1 - 67.

- Šutić, D. (1995): Viroze biljaka. Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd.
- Tomlin, C. D. S. (2006): A World Compendium The Pesticide Manual, 14<sup>th</sup> edition. BCPC British Crop Production Council, UK.
- USDA. (2010): Vegetables: (2009): summary. U.S. Department of Agriculture, National Agricultural Statistics Service. January 2010. Vg 1-2 (10).
- Vauterin, L., Swings, J., Kersters, K., Gillis, M., Mew, T. W., Schroth, M. N., Palleronni, N. J., Hildebrand, D. C., Stead, D. E., Civerolo, E. L., Hayward, A. C., Maraite, H., Stall, R. E., Vidaver, A. K., Bradbury, J. F. (1990): Towards an improved taxonomy of *Xanthomonas*. International Journal of Systematic Bacteriology, 40 (3): 12-16.
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., Swings, J. (1995): Reclassification of *Xanthomonas*. International Journal of Systematic Bacteriology, 45: 472-489.
- Vavrina, C.S., Roberts, P.D., Kokalis-Burelle, N., Ontermma, E.O. (2004): Systemic resistance in tomato: Greenhouse screening of commercial products and application programs. HortScience 39: 433-437.
- Vallad, G. E., Pernezny, K. L., Balogh, B., Wen, A., Figueiredo, J. F. L., Jones, J. B., Momol, T., Muchovej, R., Havranek, N., Abdallah, N., Olson, S. (2010): Comparison of kasugamycin to traditional bactericides for the management of bacterial spot on tomato. HortScience, 45(12): 1834-1840.
- Vernooij, B., Friedrich, L., Goy, P. A., Staub, T., Kessmann, H., Ryals, J. (1995): 2, 6-Dichloroisonicotinic acid-induced resistance to pathogens without the accumulation of salicylic acid. Molecular plant-microbe interactions: *MPMI (USA)*.
- Zaccardelli, M., Saccardi, A., Gambin, E., Mazzucchi, U. (1992): *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* bacteriophages on peach trees and their potential use for biological control. Phytopathologia Mediterranea, 31: 133-140.
- Quattrucci, A., Ovidi, E., Tiezzi, A., Vinciguerra, V., and Balestra, G. M. (2013): Biological control of tomato bacterial speck using *Punica granatum* fruit peel extract. Crop protection, 46, 18-22.
- Qui, D., Wei, Z. M., Bauer, D. W., Beer, S. V. (1997): Treatment of tomato seed with harpin enhances germination and growth and induces resistance to *Ralstonia solanacearum*. Phytopathology, 87: S80.
- Wen, A., Balogh, B., Momol, M.T., Jones, J.B., Olson, S.M., Ritchie, L.S., Roberts, P.D., Systma, R., Meister, C.W., (2007a):. Management of bacterial spot of tomato with phosphorous acid containing compounds. Phytopathology S121.
- Wen, A., Balogh, B., Momol, M.T., Olson, S.M., Jones, J.B., (2007b): Integration of reduced rates of ASM and host resistance in management of bacterial spot of tomato. Phytopathology S121.

Wen, A., Balogh, B., Momol, M.T., Olson, S.M., Jones, J.B., (2009): Management of bacterial spot of tomato with phosphorous acid salts. *Crop Protection*, 28: 859-863.

Woodcock, J., Moazed, D., Cannon, M., Davies, J., Noller, H. F. (1991): Interaction of antibiotics with A- and P-site-specific bases in 16S ribosomal RNA. *EMBO J.* 10: 3099-3103.

Yamaguchi, I. (1998): Fungicidal Activity in : *Chemical and Biological Approaches to Plant Protection*, ed. Hutson, D.H. and Miyamoto, J., Wiley, Chichester, UK, pp. 57-85.



## 9. PRILOZI

### PREGLED SLIKA:

1. *Xanthomonas euvesicatoria*. Nekrotične pege sa oreolom na listu paprike (A i B). Nekrotične pege na dršci ploda i plodu paprike (krastavost ploda) (C i D). Prirodna infekcija (Foto: M. Šević).
2. Distributivna mapa rasprostranjenosti *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Izvor: EPPO/OEPP, 2016, <https://gd.eppo.int/taxon/XANTAV/distribution> ). Žuti krugovi na mapi označavaju prisustvo patogena na teritoriji cele države.
3. Biljke paprike u fenofazi razvoja 5-6 stalnih listova korišćene u eksperimentui, raspoređene po potpuno slučajnom planu u stakleniku (Foto: M. Šević).
4. Inokulisane biljke pokrivene plastičnim kesama radi održavanja visoke relativne vlažnosti vazduha u stakleniku (Foto: M. Šević).
5. Biljke paprike u fenofazi razvoja 5-6 stalnih listova korišćene u eksperimentu, raspoređene po potpuno slučajnom planu u fitokomori (Foto: M. Šević).
6. Inokulisane biljke pokrivene plastičnim kesama radi održavanja visoke relativne vlažnosti vazduha u fitokomori (Foto: M. Šević).
7. Proučavanje uticaja ASM na porast paprike (Foto: M. Šević).
8. *X. euvesicatoria*. Tamnozeleno vlažne pege na listu paprike sedam dana nakon inokulacije. Izgled pega na licu (a) i naličju (b) lista. Veštačka infekcija (Foto: M. Šević).
9. *X. euvesicatoria*. Nekrotične pege na listu paprike 14 dana nakon inokulacije. Izgled pega na licu (a) i naličju (b) lista. Veštačka infekcija (Foto: M. Šević).
10. *Xanthomonas euvesicatoria*. Pojedinačne nekrotične pege sa oreolom na listu paprike (A i B). Krupnije nekrotične površine nastale spajanjem pega na listu paprike (C i D). Veštačka infekcija (Foto: Petar Vukša).

## PREGLED TABELA:

1. Bakarna jedinjenja različitih formulacija (Tomlin, 2006; Janjić, 2005).
2. Antibiotici najčešće primenjivani u poljoprivredi.
3. Hemijske i strukturne formule aktivatora otpornosti biljaka (Smith i sar., 2007).
4. Aktivatori otpornosti komercijalno dostupni u SAD (Agrios, 2004).
5. Naziv preparata, proizvođača, aktivne supstance i koncentracija aktivne supstance primenjene u kontroli bakteriозne pegavosti paprike.
6. Skala za ocenu nekrotične površine na listovima paprike po Horsfall-Barratt-u i srednje vrednosti indeksa oboljenja.
7. Naziv, koncentracija i vreme primene različitih tretmana u kontroli bakteriозne pegavosti lišća paprike u stakleniku i fitokomori.
8. Integrirani tretmani za kontrolu bakteriозne pegavosti paprike, primenjeni u uslovima fitokomore.
9. Primenjeni tretmani i količina aktivne supstance po hektaru u kontroli bakteriозne pegavosti lišća paprike u uslovima otvorenog polja.
10. Proučavani integrirani tretmani i količina primene u kontroli bakteriозne pegavosti lišća paprike u uslovima otvorenog polja.
11. Efikasnost ASM u uslovima fitokomore.
12. Visina biljaka paprike tretiranih ASM.
13. Masa biljaka paprike tretiranih ASM.
14. Efikasnost tretmana u kontroli bakteriозne pegavosti lista paprike u uslovima staklenika i fitokomore.
15. Efikasnost integracije u uslovima fitokomore.
16. Efikasnost pojedinačnih tretmana u kontroli bakteriозne pegavosti paprike u uslovima otvorenog polja (2011. godina).
17. Efikasnost integracije bioloških i hemijskih tretmana u kontroli bakteriозne pegavosti paprike u uslovima otvorenog polja (2012. i 2013. godina).

## 10. BIOGRAFIJA

Milan Šević dipl. inž.

Šević Milan je rođen 3. septembra 1981. godine u Beogradu. Osnovnu školu završio je u Topoli, gimnaziju prirodno-matematičkog smera završio je u Aranđelovcu. Poljoprivredni fakultet, Odsek za zaštitu bilja i prehrambenih proizvoda, Univerziteta u Beogradu, upisao je školske 2000/01. godine. Diplomirao je 2006. godine, sa prosečnom ocenom 8,32, odbranivši diplomski rad pod nazivom „Efikasnost kvinoksifena u suzbijanju *Uncinula necator* Burr.“ sa ocenom deset (10). Na istom fakultetu školske 2016/17. godine upisao je doktorske studije, studijski program Fitomedicina, uža oblast istraživanja: Fitopatologija. Položio je sve ispite propisane nastavnim planom i programom navedenog studijskog programa. Od 2008. godine bio je zaposlen je u Institutu za povrtarstvo u Smederevskoj Palanci u Odeljenju za zaštitu povrća, kao fitopatolog na proučavanju bolesti povrtarskih biljaka prouzrokovanim fitopatogenim bakterijama. Samostalno ili kao koautor objavio je 48 naučnih radova. Od toga su pet radova objavljeni u međunarodnim časopisima, a šest je objavljeno u nacionalnim naučnim časopisima. Dvanaest radova saopšteno je na međunarodnim skupovima, od čega su četiri štampana u celini, dok je petnaest radova saopšteno na domaćim naučnim skupovima. Koautor je tehničkog rešenja. Izbor u istraživačko zvanje stekao je u Institutu za povrtarstvo u Smederevskoj Palanci 12.3.2012. godine. Od 2019 zaposlen je u Poljoprivrednoj savetodavnoj i stručnoj službi Mladenovac d.o.o. u Mladenovcu.

Učestvovao je na dva nacionalna projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja. Član je Društva za zaštitu bilja Srbije. U naučnom i stručnom radu služi se engleskim jezikom.

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora Milan Šević

Broj indeksa FM 16/47

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Integralna zaštita paprike od bakteriозne pegavosti biološkim i hemijskim

---

metodama

---

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis autora**

U Beogradu, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora \_\_\_\_\_ Milan Šević \_\_\_\_\_

Broj indeksa \_\_\_\_\_ FM 16/47 \_\_\_\_\_

Studijski program \_Fitomedicina\_\_\_\_\_

Naslov rada Integralna zaštita paprike od bakteriozne pegavosti biološkim i hemijskim metodama \_\_\_\_\_

Mentor \_\_\_\_\_ Prof dr Aleksa Obradović \_\_\_\_\_

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjena u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**

U Beogradu, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Integralna zaštita paprike od bakteriozne pegavosti biološkim i hemijskim  
metodama

---

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.  
Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

**Potpis autora**

U Beogradu, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.