

IDENTIFIKACIJA NAJZNAČAJNIJIH VIRUSA PASULJA U VOJVODINI

Dragana Petrović¹, Ferenc Bagi², Mirjana Milošević³, Mirjana Vasić⁴

¹Nacionalna laboratorija za ispitivanje semena, Novi Sad

²Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

³Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, Beograd

⁴Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

Email: dragana.petrovic@ifvcns.ns.ac.yu

Izvod

Cilj istraživanja je bio utvrđivanje prisustva i rasprostranjenosti ekonomski najštetnijih virusa pasulja na području Vojvodine: virusa običnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic virus*-BCMV), virusa nekrotičnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic necrosis virus*-BCMNV), virusa žutog mozaika pasulja (*Bean yellow mosaic virus*-BYMV), virusa mozaika lucerke na pasulju (*Alfalfa mosaic virus*-AMV) i virusa mozaika krastavca na pasulju (*Cucumber mosaic virus*-CMV).

Tokom 2006. godine prikupljeno je 500 uzoraka, sa 26 lokaliteta Vojvodine. Na osnovu rezultata DAS ELISA testa, u najvećem broju uzoraka konstatovan je BCMV (35%), u znatno manjem broju konstatovani su CMV (8%), BCMNV (5%) i AMV (4%), dok nijedan uzorak nije pokazao pozitivnu reakciju na BYMV. U nekoliko uzoraka je utvrđena mešana infekcija virusa. Najveći procenat biljaka zaraženih virusima je zabeležen u Kovilju (95% od ukupno prikupljenih), dok u Gajdobri i Sremskoj Mitrovici ni u jednom uzorku nije konstatovano prisustvo virusa. U ostalim lokalitetima procenat zaraze se kretao od 10-88%.

Najveći procenat zaraženih biljaka, u okviru jedne parcele, utvrđen je u Kovilju (33%), zatim Gospođincima (13% i 16%) i Kikindi (13%), dok se u ostalim lokalitetima ovaj procenat kretao od 1-7%.

Ključne reči: viroze pasulja, DAS ELISA test, Vojvodina.

UVOD

Pasulj (*Phaseolus vulgaris*), kao povrtarska biljna vrsta, na prvom je mestu po gajenju među zrnenim mahunjačama. Do umanjenja prinosa najčešće dolazi zbog grešaka u agrotehnici, koje su još veće pri nepovoljnim vremenskim uslovima. Značajni uzročnici smanjenog prinosa su i brojni patogeni mikroorganizmi. Među prouzrokovateljima viroza naročito su značajni virus običnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic virus* /serotip A/ - BCMV), virus nekrotičnog mozaika pasulja (*Bean common mosaic necrosis virus* /serotip B/ - BCMNV), virus žutog mozaika pasulja (*Bean yellow mosaic virus* - BYMV), virus mozaika krastavca (*Cucumber mosaic virus* - CMV) i virus mozaika lucerke (*Alfalfa mosaic virus* - AMV). Navedeni virusi mogu da prouzrokuju velike štete u proizvodnji, čemu doprinosi i velika rasprostranjenost vektora virusa (lisnih viši) na biljkama pasulja (Spence, Walkey, 1995). Štetnost viroza varira i zavisi od osetljivosti sorte pasulja, faze razvoja biljaka u kojoj se zaraze ostvaruju, kao i od ekoloških uslova, koji utiču na aktivnost vektora (Šutić, 1995).

S obzirom da su BCMV, BCMNV, BYMV, CMV i AMV najznačajniji virusi, koji se javljaju u uslovima intenzivne proizvodnje ove povrtarske biljne vrste, istraživanja su bila usmerena na utvrđivanje rasprostranjenosti pomenutih virusa u uslovima Vojvodine.

Metod rada

Prikupljanje uzoraka. Uzorci listova pasulja, sa simptomima koji su ukazivali na virusnu prirodu oboljenja, prikupljeni su sa različitih lokaliteta na području Vojvodine tokom 2006. godine. Ukupno je prikupljeno 500 uzoraka listova pasulja. Od ukupnog broja, 262 uzorka su uzeta sa lokaliteta: Rimski Šančevi (35), Žabalj (8), Kać (10), Đurđevo (9), Crvenka (13), Stepanovićevo (10), Čičovi (7), Bački Brestovac (15), Kovilj (20), Čonoplja (29), Lalić (12), Gajdobra (6), Bački Jarak (15), Bečej (5), Bačko Gradište (6), Zrenjanin (10), Kikinda (9), Titel (8), Pančevo (5), Indija (11), Žarkovac (12) i Sremska Mitrovica (7). Uzorci su svrstani u četiri grupe, u zavisnosti od tipa simptoma (Tab. 1).

Tab. 1. Tipovi simptoma na prikupljenim uzorcima pasulja

Tip A	Tamno zeleno obrublivanje nerava (sa ili bez klobučavosti)
Tip B	Mozaik u vidu hlorotičnih i zelenih površina sa blagom naboranošću
Tip C	Mozaik u vidu zelenih i žućkastih razlivenih površina (sa ili bez klobučavosti)
Tip D	Tamno zelena klobučavost listova.

U cilju utvrđivanja procenta zaraženih biljaka, sa 12 parcela, iz devet lokaliteta na području Vojvodine, prikupljeno je dodatnih 238 uzoraka listova pasulja. Prikupljeni su listovi biljaka pasulja sa 25 slučajno odabranih biljaka, sa četiri mesta u okviru svake parcele (Tab. 2). Serološki su testirane biljke koje su ispoljavale simptome viroznog oboljenja.

Tab. 2. Broj prikupljenih uzoraka za određivanje procenta zaraženosti biljaka

Lokalitet	Broj prikupljenih uzoraka po ponavljanjima od 25 slučajno odabranih biljaka			
	I/25	II/25	III/25	IV/25
Žabalj	3	4	3	3
Gospodinci I	4	3	6	4
Gospodinci II	8	4	5	6
Kovilj I	0	1	0	1
Kovilj II	11	7	14	13
Žarkovac	3	2	2	1
Stejanovci	4	4	3	2
Kikinda I	11	11	8	9
Kikinda II	8	8	7	10
Ravni Topolovac	5	8	7	7
Melenci	1	2	1	3
Zrenjanin	2	3	2	4

Determinacija virusa. Za izvođenje serološkog metoda DAS ELISA test (Clark and Adams, 1977), korišćene su Nunc-96 polistirenske mikrotitarske ploče sa 96 bazena i komercijalni set antiseruma virusa BCMV, BCMNV, BYMV, AMV i CMV (LOEWE Biochemica GmbH, Nemačka). DAS ELISA test je izveden prema standardnom protokolu za ovu serološku metodu (Clark and Adams, 1977), a prema uputstvu proizvođača antitela. Rezultati ELISA testa očitavani su na Multiskan Ascent automatskom čitaču, na talasnoj dužini od 405 nm. Vrednosti ekstinkcije ispitivanih izolata, čija je vrednost dva puta veća od vrednosti ekstinkcije negativne kontrole (LOEWE Biochemica GmbH), smatrane su pozitivnim (Ignjatov, M. i sar., 2006).

REZULTATI I DISKUSIJA

Na osnovu rezultata serološke analize, najveća zaraženost biljaka pasulja konstatovana je u Kovilju (95% od ukupno prikupljenih uzoraka sa simptomima viroza), dok u Gajdobri i Sremskoj Mitrovici nije konstatovano prisustvo nijednog ispitivanog virusa. U ostalim lokalitetima, sa kojih su prikupljeni uzorci, zaraženost se kretala od 10-88% (Tab. 3).

Tab. 3. Zastupljenosti virusa BCMV, BCMNV, BYMV, CMV i AMV

Lokalitet (br. uzoraka)	Zara- ženo % br.	Zdravo % br.	BCMV	BCMNV	BYMV	CMV	AMV	BCMV + BCMNV	BCMV + CMV	BCMNV + AMV
R. Šančevi (35)	37 13	63 22	9	3	0	1	0	0	0	0
Žabalj (8)	88 7	12 1	0	0	0	0	6	0	0	1
Kač (10)	50 5	50 5	4	0	0	0	1	0	0	0
Đurđevo (9)	67 6	33 3	2	1	0	1	0	1	1	0
Bački Brestovac (15)	33 5	67 10	0	0	0	3	2	0	0	0
Stepanovićevo (10)	10 1	90 9	1	0	0	0	0	0	0	0
Čičovi (7)	29 2	71 5	2	0	0	0	0	0	0	0
Crvenka (13)	23 3	77 10	3	0	0	0	0	0	0	0
Kovilj (20)	95 19	5 1	12	0	0	1	0	2	4	0
Čonoplja (29)	66 19	34 10	19	0	0	0	0	0	0	0
Lalić (12)	25 3	75 9	2	0	0	0	0	1	0	0
Gajdobra (6)	0 0	100 6	0	0	0	0	0	0	0	0
Bački Jarak (15)	20 3	80 12	3	0	0	0	0	0	0	0
Bečej (5)	40 2	60 3	0	0	0	2	0	0	0	0
Bač.Gradište (6)	33 2	67 4	0	2	0	0	0	0	0	0
Zrenjanin (10)	60 6	40 4	4	0	0	2	0	0	0	0
Kikinda (9)	67 6	33 3	4	0	0	0	0	0	2	0
Titel (8)	75 6	25 2	6	0	0	0	0	0	0	0
Panč (5)	20 1	80 4	1	0	0	0	0	0	0	0
Indija (11)	46 5	55 6	1	0	0	4	0	0	0	0
Žarkovac (12)	67 8	33 4	8	0	0	0	0	0	0	0
Sr.Mitrovica (7)	0 0	100 7	0	0	0	0	0	0	0	0

Kod dvanaest uzoraka konstatovano je prisustvo mešane infekcije, pri čemu su najčešće mešane infekcije bile između virusa BCMV i CMV (sedam uzoraka), zatim između BCMV i BCMNV (četiri uzorka) i u jednom uzorku je konstatovano prisustvo mešane infekcije virusa BCMNV i AMV.

U najvećem broju uzoraka konstatovano je prisustvo virusa BCMV (35%) (Naslovna str., gore). Najčešći tip simptoma, kod uzoraka koji su zaraženi ovim virusom, je tip B, a u nešto manjem broju C i A. U znatno manjem broju uzoraka je konstatovan CMV (8%) (Sl. 1a), sa najčešćim tipom simptoma D, zatim BCMNV (5%) (Nasl. str., dole), sa najčešćim tipom simptoma B i AMV (4%) (Sl. 1b), sa najčešćim tipom simptoma B. Nijedan ispitivani uzorak nije bio zaražen sa BYMV (Tab. 4).

Tab. 4. Ispoljeni tip simptoma virusa BCMV, BCMNV, BYMV, CMV i AMV i procenat ustanovljenih virusa u ukupnom broju uzoraka

Virus	Tip simptoma				Mešana infekcija	Ukupan broj i % zaraženih biljaka Br. %
	A	B	C	D		
BCMV	23	29	28	0	11	91 35
BCMNV	2	4	1	0	5	12 5
AMV	0	6	3	0	1	10 4
CMV	4	1	0	9	7	21 8
BYMV	0	0	0	0	0	0 0



Sl. 1. Listovi pasulja zaraženi virusima: CMV (a), i AMV (b) (Orig.)

U pogledu procenta zaraženih biljaka u različitim lokalitetima (Tab. 5), može se konstatovati da je najveći broj zaraženih biljaka bio zabeležen na parceli u Kovilju (33%), zatim u Gospodincima (13% i 16%) i Kikindi (13%), dok su u ostalim lokalitetima virusi zastupljeni u znatno manjem obimu (između 1-7%).

N L I S



NACIONALNA LABORATORIJA ZA ISPITIVANJE SEMENA

21000 Novi Sad, Maksima Gorkog 30 ● Tel: 021/421-248, Fax: 021/421-249

Nacionalna laboratorija za ispitivanje semena "NLIS" je osnovana 1999. godine u Novom Sadu, kao nezavisna i akreditovana laboratorija za testiranje semena.

Laboratorija je postala članica međunarodne organizacije za ispitivanje semena ISTA (Internacional Seed Testing Association) i AOSA (Association of Official Seed Analysis). Do sada je za potrebe ISTA bila angažovana na ispitivanju semena 75 biljnih vrsta. Uključena je u mrežu komparativnih oglada preko kojih ujednačava svoje metode ispitivanja sa međunarodnim.



Uvođenjem ISO ISTA akreditacije i standardizacije od strane JUAT-a znatno je poboljšana organizacija rada Laboratorije, kao i odgovornost svakog zaposlenog u Laboratoriji za izvođenje operacija za koje je zadužen. Sistem kvaliteta predstavlja garanciju dugoročnog rada i razvoja, a ključ je za poslovni uspeh u oštroj međunarodnoj konkurenciji.

Opremljenost Nacionalne laboratorije za ispitivanje semena, visokostručni kadrovi, ujednačenost izvođenja analiza, kao i neutralnost u oceni su na najvišem nivou. Laboratorija ima ukupno 13 zaposlenih, po strukturi: 4 doktora, 1 magistar, 2 diplomirana inženjera i 4 analitičara. Kadrovi koji rade u Laboratoriji su angažovani na inoviranju metoda ispitivanja, što je važno za unapređenje rada ovakve jedne ustanove.

ISPITIVANJE ZDRAVSTVENOG STANJA SEMENA POŠILJAKA IZ UVOZA, PREGLED NA KARANTINSKE BILJNE BOLESTI I ŠTETOČINE, VRŠI SE U LABORATORIJI.

ORGANIZACIJE KOJE SE BAVE IZVOZOM SEMENSKOG MATERIJALA U NLIS-U MOGU DOBITI POTREBNU DOKUMENTACIJU: ISTA CERTIFIKAT I OECD CERTIFIKAT.

Tab. 5. Procenat zaraženih biljaka pasulja virusima BCMV, BCMNV, BYMV, CMV i AMV u ispitivanim lokalitetima

Lokalitet	BCMV	BCMNV	BYMV	CMV	AMV	Ukupno (%)
Žabalj	0	0	0	3	0	3
Gospođinci I	10	3	0	0	0	13
Gospođinci II	2	12	0	1	1	16
Kovilj I	0	0	0	0	1	1
Kovilj II	18	5	0	4	6	33
Žarkovac	0	1	0	0	1	2
Stejanovci	0	1	0	1	0	2
Kikinda I	8	0	0	5	0	13
Kikinda II	6	0	0	0	1	7
Ravni Topolovac	2	0	0	0	0	2
Melenci	0	0	0	1	0	1

ZAKLJUČAK

Najzastupljeniji virus na pasulju je BCMV, dok su ostali virusi (BCMNV, CMV i AMV) zastupljeni u znatno manjem obimu. BYMV nije konstatovan ni u jednom ispitivanom uzorku. U slučaju virusa običnog mozaika pasulja, zaraženo seme predstavlja glavni izvor zaraze, zbog čega se ovaj virus može naći na velikom broju biljaka već nakon nicanja. Pored setve zdravog semena, kao preventivna mera protiv viroza pasulja, može poslužiti i suzbijanje vektora - lisnih vaši.

LITERATURA

- Clark, A. X., Adams, M. J. (1977): Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
- Ignjatov, Maja, Balaž, Jelica, Milošević, Mirjana, Popović, Tatjana. (2006): Bakteriozna pegavost soje. *Arhiv za poljoprivredne nauke*, 3, 67, 11-17. Akademska izdanja, Beograd.
- Spence, N. J., Walkey, D. G. A. (1995): Variation for pathogenicity among isolates of bean common mosaic virus in Africa and a reinterpretation of the genetic relationship between cultivars of *Phaseolus vulgaris* and pathotypes of BCMV. *Plant Pathology*, 44: 527-546.
- Šutić, D. (1995): Viroze biljaka. Naučna knjiga. Beograd.

Abstract

IDENTIFICATION OF THE MOST SIGNIFICANT BEAN VIRUSES IN VOJVODINA

Dragana Petrović¹, Ferenc Bagi², Mirjana Milošević³ and Mirjana Vasić⁴

¹National Laboratory for Seed Testing, Novi Sad; ²Faculty of Agriculture, Novi Sad

³Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management, Belgrade

⁴Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Serbia

Email: dragana.petrovic@ifvcns.ns.ac.yu

The aim of this investigation was determination of presence and distribution of economically most important viruses appearing on bean in Vojvodina region: *Bean common mosaic virus*, *Bean common mosaic necrosis virus*, *Bean yellow mosaic*, *Alfalfa mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus*.

The samples of bean leaves showing viral origin of diseases were taken from different localities in Vojvodina region during 2006 growing period. Total of 500 samples were collected. Viruses were identified using DAS ELISA test.

On the basis of the results of serological analysis can be concluded that BCMV (35%) was determined in the greatest number of samples. CMV (8%), BCMNV (5%) and AMV (4%) were found in much lesser number of samples, while none of the samples were positive for BYMV. Mixed viral infection was found in several samples.

The highest percentage of viruses was recorded in Kovilj (95% of collected samples), whereas in Gajdobra and Sremska Mitrovica none of the samples were infected. The percentage of infection with investigated viruses, in samples showing symptoms, ranged from 10 to 88% in samples collected from other localities.

The highest percentage of infected plants within one plot was found in Kovilj (33%), then in Gospodjinci (13% and 16%), and Kikinda (13%), whereas in other localities the percentage of infection with investigated viruses ranged from 1 to 7%.

Key words: bean virosis, DAS ELISA test, province Vojvodina.

BAKTERIOFAGI U ZAŠTITI BILJA

Aleksa Obradović¹, Katarina Gašić¹, Miloš Stepanović²

¹Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun

²Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Zemun

Email: aleksao@agrifaculty.bg.ac.yu

Izvod

Bakteriofagi predstavljaju posebnu grupu virusa, čiji su domaćini bakterije. Odmah nakon otkrića, s početka prošlog veka, privukli su pažnju svojom sposobnošću da parazitiraju ćelije bakterija i tako utiču na njihovu populaciju u životnoj sredini. Nedovoljno poznavanje biologije i ekologije bakteriofaga imalo je za posledicu ograničen uspeh početnih istraživanja terapije bolesti, prouzrokovanih patogenim bakterijama.

Posle otkrića antibiotika, s početka četrdesetih godina prošlog veka, primena bakteriofaga u terapijske svrhe biva potisnuta u potpunosti. Tokom narednih nekoliko decenija antibiotici su bili korišćeni kao veoma efikasno antibakterijsko sredstvo. Međutim, prevelika i nekontrolisana primena dovela je do pojave rezistentnosti bakterija prema pojedinim ili više srodnih antibiotika. To je ponovo usmerilo pažnju istraživača na potencijalnu primenu bakteriofaga, ne samo u humanoj medicini i veterini, već i zaštiti bilja.

Ključne reči: bakteriofagi, bakterije, antibiotici, terapija, zaštita bilja.

UVOD

Do sada je poznato oko 1600 vrsta bakterija, od kojih su oko 100 prouzrokovajući bolesti biljaka (Agrios, 2005). Suzbijanje fitopatogenih bakterija predstavlja veliki izazov u poljoprivrednoj praksi, naročito u uslovima povoljnim za nastanak i širenje infekcije. Nasuprot velikom broju hemijskih