

OTPORNOST PAPRIKE PREMA PROUZROKOVAČU BAKTERIOZNE PEGAVOSTI – ZNAČAJAN ZADATAK OPLEMENJIVANJA

Dario Danojević, Slađana Medić-Pap, Maja Ignjatov, Janko Červenski

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

E-mail: dario.danojevic@ifvcns.ns.ac.rs

Rad primljen: 09.12.2016.

Prihvaćen za štampu: 20.12.2016.

Izvod

Bakteriozna pegavost paprike (prouzrokovatelj *Xanthomonas euvesicatoria*) je jedna od najznačajnijih bolesti paprike u Srbiji. Gajenje otpornih sorti paprike je najefikasniji način kontrole bakteriozne pegavosti. Istraživanje je počelo 2013. godine u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, kada su tri linije slatke paprike ukrštene sa linijom ECW-20R koja nosi gen otpornosti na bakterioznu pegavost (Bs2). Nakon ukrštanja, seme tri dobijena hibrida je posejano u stakleniku u oktobru 2013. godine kako bi se dobila F2 generacija. Biljke F2 generacije su u 2014. godini u poljskim uslovima inokulisane bakterijom *X. euvesicatoria*. Intenzitet zaraze je ocenjen prema Horsfal-Barat (HB) skali. Neparametrijski Kruskal-Valis test je korišćen za statističku analizu. Biljke iz F2 generacije su pokazale znatno veću varijabilnost u otpornosti na bakterioznu pegavost u poređenju sa roditeljskim linijama. Biljke bez simptoma bakteriozne pegavosti će biti korišćene u daljem procesu selekcije radi dobijanja otpornih sorti.

Ključne reči: bakteriozna pegavost, *Xanthomonas euvesicatoria*, paprika, otpornost

UVOD

Bakteriozna pegavost (BP), koju prouzrokuje *Xanthomonas euvesicatoria* (Xe-Grupa A) je široko rasprostranjena i smatra se jednom od najčešćih bolesti paprike u Srbiji (Ignjatov i sar. 2010). Paprika se u okviru povrtarskih vrsta nalazi na drugom mestu po površinama u Srbiji, a BP je ekonomski veoma značajno oboljenje. Kada su vremenski uslovi za razvoj bolesti povoljni, proizvođači paprike imaju poteškoća u suzbijanju ovog oboljenja. Baktericidi na bazi bakra registrovani u našoj zemlji više nisu dovoljno efikasni (Šević i sar. 2015). Oplemenjivanje, odnosno unošenje gena otpornosti na BP, se smatra jednim od najefikasnijih strateških mera za kontrolu bolesti. Međutim, razvoj otpornosti je ograničen visokim stepenom genetske i fenotipske različitosti unutar vrsta kompleksa *Xanthomonas*. Otpornost na BP paprike je uslovljena dominantnim genima Bs1, Bs2, Bs3 i Bs4 (APS-ISF, 2010). Do sada je širom sveta opisano 11 fizioloških rasa *X. euvesicatoria*. Četiri rase (P1, P3, P7, P8) su potvrđene u Srbiji, a rasa P8

je dominantna (Obradović et al., 2004; Ignjatov i sar., 2015). U uslovima, Srbije sorte paprike su pokazale različit stepen osetljivosti na *X. euvesicatoria* (rasa P8) (Ignjatov i sar., 2012). S obzirom da je većina genotipova osetljiva na *X. euvesicatoria* (P8), sa izuzetkom izogene linije ECW-20R (nosilac Bs2 gena), transfer ovog gena u komercijalne sorte paprike bi bio značajan doprinos u kontroli ove ekonomski važne bolesti. U Institutu za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad oplemenjivanjem je do sada dobijeno dvanaest sorti paprike različitih tipova ploda. Od 2013. godine započet je program razvoja novih sorti paprika otpornih na BP, kako zbog efikasnosti ove mere u suzbijanju patogena, tako i zbog sve većih zahteva tržišta.

MATERIJAL I METOD RADA

Oplemenjivački program je započet 2013. godine, kada su tri linije slatke paprike u tipu babure (B), polubabure (PB) i kapije (K) Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, ukrštene sa linijom ECW-20R koja je nosilac gena otpornosti Bs2 na BP. Nakon ukrštanja, tri hibridne kombinacije (B x ECW-20R, PB x ECW-20R i K x ECW-20R) su posejane u oktobru 2013. godine u stakleniku, da bi se tokom zimskog perioda dobilo seme F2 generacije. Dobijeno F2 seme, ECW-20R, sorta Kalifornijsko čudo i linija 30 je posejano početkom aprila 2014. godine u plasteniku, a biljke su rasađene početkom juna na otvoreno polje Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad. Linija 30 je na lokalitetu Rimski Šančevi ispoljila otpornost na BP tokom 2012. godine i nepoznatog je porekla. Razmak između biljaka je bio 70 x 25 cm. Inokulacija je izvršena mesec i po dana nakon rasađivanja. Biljke su inokulisane izolatom *X. euvesicatoria* (izolovan 2011. godine na lokalitetu Rimski Šančevi) koji pripada rasi P8 u koncentraciji 10^6 CFU/ml (Slika 1).



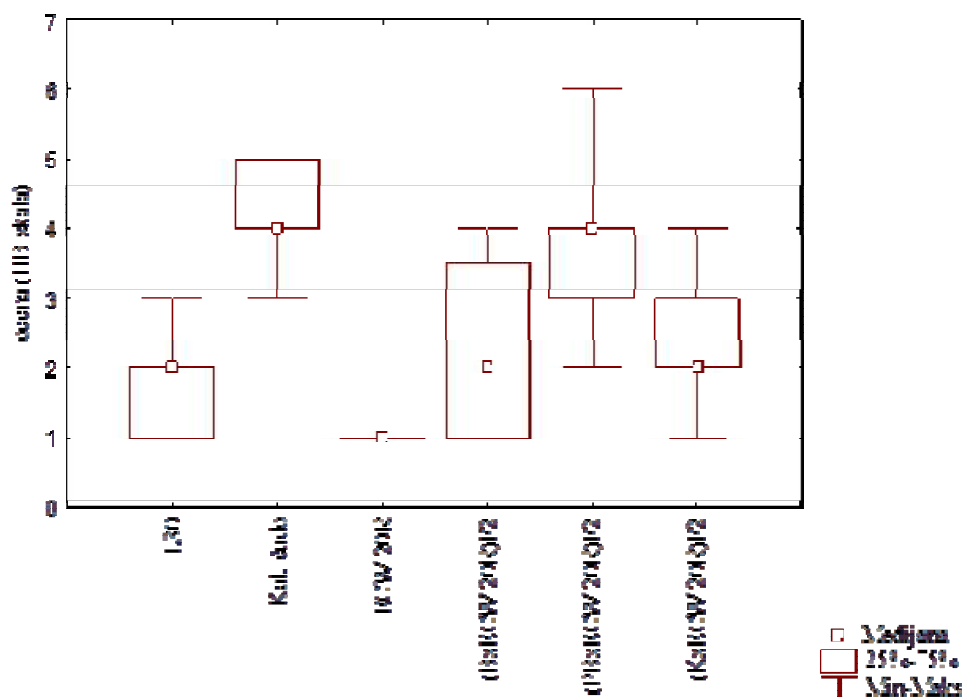
Slika 1. Inokulacija biljaka paprike sa *X. euvesicatoria* u poljskim uslovima (foto: Danojević, D.)

Biljke su jedan sat pre inokulacije orošene vodom, a nakon inokulacije prekrivene folijom preko noći da bi se obezbedili optimalni uslovi za ostvarenje infekcije. Preparati na bazi bakra i drugi baktericidi nisu primenjivani. Ocena pegavosti izvršena je tri puta, a prikazana je konačna ocena koja je obavljena u

septembru. Intenzitet zaraze je određen na osnovu Horsfal-Barat-ove (HB) skale čije su vrednosti od 1 do 12 (Horsfall and Barratt, 1945). Neparametarski Kruskal-Valis test je korišćen za statističku analizu, jer podaci nisu težili normalnom rasporedu. Podaci su obrađeni u programu STATISTICA, verzija 12.

REZULTATI I DISKUSIJA

Sve biljke ECW-20R su u uslovima veštačke inokulacije u 2014. godini ispoljile otpornost na bakterioznu pegavost (Slika 2), dok je kod drugih genotipova zabeležena veća ili manja varijabilnost u otpornosti (Graf. 1).



Grafikon 1. Vrednosti ocena biljaka paprike 73 dana posle inokulacije sa *X. euvesicatoria* u 2014. god.

Nije bilo značajne razlike između linije 30 (Slika 2) i ECW-20R (Tabela 1), ali su vrednosti ocena kod linije 30 više varirale (1-3). Naročito velika varijabilnost je zabeležena kod biljaka F2 generacije, što je za očekivati, jer je došlo do cepanja na otporne i umereno osetljive biljke. Vrednosti ocena zaraze na biljkama F2 generacije su se kretale od 1 do 4 i od 2 do 6. Riva et al. (2004) su utvrdili da heritabilnost kao reakcija na bakterioznu pegavost značajno varira i da zavisi od ispitivane populacije biljaka, kao i od sredine ispitivanja. Naše istraživanje je u saglasnosti sa prethodno navedenim, jer su vrednosti na HB skali za kombinaciju PB x ECW-20R F2 varirale u rasponu 2-6. Pored veštačke inokulacije i povoljnih vremenskih uslova za razvoj oboljenja, u 2014. godini nije došlo do potpunog propadanja biljaka (ocena 12). Na pojedinačnim biljkama je zabeležena najveća ocena 6, te je procenat infekcije kod pojedinih biljaka bio 25-50% od ukupne lisne površine.

Tabela 1. Višestruko poređenje p-vrednosti između genotipova paprika inokulisanih sa *X. euvesicatoria* po Kruskal-Valis test-u

Genotip	Kal. čudo	ECW-20R	(BxECW-20R) F2	(PBxECW-20R) F2	(KxECW-20R) F2
30	0,0**	0,13035	1,00000	0,00000**	0,04904*
Kal. čudo		0,0000**	0,10375	1,00000	0,00014**
ECW-20R			0,85061	0,00000**	0,00004**
(BxECW-20R) F2				0,37405	1,00000
(PBxECW-20R) F2					0,00002**

*, ** značajno na nivou od 0,05 i 0,01

Umereno osetljive (medijana 4) su bile biljke sorte Kalifornijsko čudo (Slika 2) i F2 generacija kombinacije (PB x ECW-20R).



Slika 2. a) ECW-20R (inokulisana biljka) avgust 2014. god. b) Linija 30 (inokulisana biljka) septembar 2014. god. c) Kalifornijsko čudo (inokulisana biljka) septembar 2014. god. (foto: Danojević, D.)

Između biljaka (B x ECW-20R) F2 i drugih genotipova nije bilo značajnih razlika, što potvrđuje velika učestalost biljaka sa ocenom inteziteta zaraze od 1 do 3 (Tabela 1). Budući da u potomstvu (PB x ECW-20R) F2 nije bilo biljaka sa ocenom 1 (bez bakterioznih pega), ova kombinacija je odbačena iz daljeg oplemenjivanja. Ustanovljene su značajne razlike između biljaka (K x ECW-20R) F2 i drugih genotipova, osim u poređenju sa (B x ECW-20R) F2. U ovom trenutku ECW-20R (Bs2 gen) je dobar donor za otpornost na bakterioznu pegavost u uslovima Srbije. Kako navodi Wai et al. (2015) gen Bs2 i dalje funkcioniše i u Južnoj Koreji i može se uspešno koristiti u oplemenjivanju na otpornost prema bakterioznoj pegavosti.

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata iz F2 generacije, kombinacije B x ECW-20R i K x ECW-20R će biti korišćene u daljem oplemenjivačkom radu. U daljem procesu selekcije biće odabrane samo biljke bez simptoma BP. Ukoliko od odabra-

nih otpornih biljaka, plodovi i prinos ne budu komercijalno zadovoljavajući, primeniće se povratna ukrštanja sa rekurentnim roditeljem. Takođe se planira korišćenje marker asistiranе selekcije kako bi se ubrzao proces rada na dobijanju otpornih sorti.

LITERATURA

- APS-ISF (2010): Guideline for identification of pepper bacterial leaf spot races using differential hosts. (Kurowski C., Conn K., Himmel P.).
- Horsfall, J. G., and R. W. Barratt. (1945): An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology* 35: 655.
- 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 prouzročivaču bakterijske pegavosti. *Rat/Pov* 49 (2): 177-182.
- Ignjatov M., Šević M., Gvozdanić-Varga J., Gašić K., Milošević M., Obradović A. (2015): Race differentiation within strains of *Xanthomonas euvesicatoria* causal agent of bacterial spot of pepper in Serbia. *Proceedings of the 7th Congress on Plant Protection „Integrated Plant Protection – a Knowledge-Based Step towards Sustainable Agriculture, Forestry and Landscape Architecture“* (November 24-28, Zlatibor, Serbia. Plant Protection Society of Serbia, IOBC-EPRS, IOBC-WPRS, Belgrade, 297-300.
- Obradović A., Mavridis A., Rudolph K., Janse J. D., Arsenijević M., Jones J. B., Minsavage G. V., Wang J. F. (2004): Characterization and PCR-based typing of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from peppers and tomatoes in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*, (110): 285–292.
- Riva E. M., Rodrigues R., Pereira M. G., Sudré C. P., Karasawa M. (2004): Inheritance of bacterial spot disease in *Capsicum annuum* L. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4: 490-494.
- Šević M., Gašić K., Đorđević M., Ignjatov M., Mijatović M., Zečević B., Obradović A. (2015): Integration of biological and chemical methods in control of pepper bacterial spot. *Proceedings of the 7th Congress on Plant Protection „Integrated Plant Protection – a Knowledge-Based Step towards Sustainable Agriculture, Forestry and Landscape Architecture“* (November 24-28, Zlatibor, Serbia. Plant Protection Society of Serbia, IOBC-EPRS, IOBC-WPRS, Belgrade, 49 – 51.
- Wai K. P., Siddique M. I., Mo H. S., Yoo H. J., Byeon S. E., Jegal Y., Mekuriaw A. A., Kim B. S. (2015): Pathotypes of Bacterial Spot Pathogen Infecting Capsicum Peppers in Korea. *Plant Pathology Journal* 31 (4): 428-432.

Abstract
**RESISTANCE OF PEPPER TO BACTERIAL LEAF SPOT – A
SIGNIFICANT BREEDING TASK**

Dario Danojević, Slađana Medić-Pap, Maja Ignjatov, Janko Červenski
Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Serbia
E-mail: dario.danojevic@ifvcns.ns.ac.rs

Bacterial spot of pepper (BS) caused by *Xanthomonas euvesicatoria* is one of the most important pepper diseases in Serbia. Growing of resistant pepper genotypes is the most efficient method for BS control. The study was initiated in 2013, when three sweet pepper lines from the Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Serbia, were crossed with ECW-20R which is a donor of Bs2 gene. After crossing, three hybrids were sown in a greenhouse in October 2013 to obtain F2 generation. Those F2 transplants with ECW-20R, Cal. Wonder and line 30 were planted in 2014 in the open field and inoculated with *X. euvesicatoria* strain P8. Intensity of infection was evaluated according to the Horsfall-Barratt (HB) scale. Nonparametric Kruskal-Wallis test was used for statistical analysis. Plants from the F2 generation showed higher variability in resistance to bacterial leaf spot compared to parental lines. Based on the results obtained in F2 generation, plants from combinations B x ECW-20R and K x ECW-20R will be used in the further breeding activities. At this time ECW-20R (Bs2 gene) is a good donor for resistance to bacterial leaf spot under conditions prevailing in Serbia. Plants without symptoms will be used for further selection in order to develop resistant varieties to bacterial spot.

Key words: bacterial spot, *Xanthomonas euvesicatoria*, pepper, resistance