

Zaštita bilja  
Vol. 62 (4), № 278, 209-218, 2011, Beograd

UDK: 635.652-235  
579.841.1  
Naučni rad

## IDENTIFIKACIJA RASA *PSEUDOMONAS SAVASTANOI* PV. *PHASEOLICOLA* NA DOMAĆIM SORTAMA PASULJA

TATJANA POPOVIĆ \*<sup>1</sup>, SVETLANA ŽIVKOVIĆ <sup>1</sup>,  
NENAD DOLOVAC <sup>1</sup>, PREDRAG MILOVANOVIĆ <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd, Srbija

<sup>2</sup> GALENIKA - Fitofarmacija AD, Beograd – Zemun, Srbija

\*e-mail: tanjaizbis@gmail.com

Oreolna plamenjača pasulja čiji je prouzrokovatelj fitopatogena bakterija *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ekonomski je štetno oboljenje ove gajene kulture kod nas. U ovom radu vršena je izolacija patogena iz obolelog lišća pasulja sorti Oplenac, Slavonski žutozeleni i Zlatko na hranljivi agar (NA) i podlogu obogaćenu saharozom (NSA). Patogenost izolata je dokazana infiltracijom bakterijske suspenzije u mlade mahune boranije i pozitivnom hipersenzitivnom reakcijom (HR) na listu duvana i muškatile. Biohemijsko-fiziološke odlike ispitane su standardnim bakteriološkim metodama.

Pripadnost dobijenih izolata fiziološkim rasama određena je korišćenjem diferencijalnog sortimenta *Phaseolus* spp.: Canadian Wonder, ZAA54 (A52), Tendergreen, Red Mexican U13, 1072 *P. acutifolius*, ZAA55 (A53), ZAA12 (A43) i Guatemala 196-B. Inokulacija je vršena atomizerom, prskanjem naličja primarnog lišća bakterijskom suspenzijom. Dobijeni rezultati ukazuju na najveću sličnost izolata sa rasom 1 ove bakterije.

*Ključne reči:* *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, pasulj, rase.

### UVOD

*Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Burkholder 1926) Gardan et al. 1992, prouzrokovatelj oreolne plamenjače (halo blight) široko je rasprostranjena i ekonomski štetna bakterija boranije i pasulja u svetu (Bradbury, 1986). Beležene

su štete u prinosu od 43% u UK i od 23-43% u Mičigen-u (USA) u eksperimentalnim uslovima (CPC, 2004). Bakterija *P. s. pv. phaseolicola* vrši infekciju *Phaseolus vulgaris* L. tokom perioda nicanja, intenzivnog porasta, cvetanja i sazrevanja mahuna, a može inficirati list, stablo, tačke porasta, mahune i seme (Frison et al., 1990; Franc, 1998; CPC, 2004). Razvoj bolesti favorizuje hladnije i vlažno vreme. Schwartz (2004) navodi da *P. s. pv. phaseolicola* predstavlja ozbiljan problem ukoliko se u toku 24 sata ili duže pojavi umereno hladna temperatura, ispod 80F (26.7°C) i visoka vlažnost (viša od 95%).

Na proučavanju rasnog sastava bakterije *P. s. pv. phaseolicola* radio je veći broj istraživača (Walker i Patel, 1964; Epton i Deverall, 1965; Coyne et al., 1967; Guthrie, 1968; Poryazov, 1976; Balaž, 1985, 1989; Edington, 1990; Mabagala i Saettler, 1992; Taylor et al., 1996a, Fourie, 1998; Kiryakov, 2001; Lamppa et al., 2002; Fourie et al., 2004). Prema ranijim navodima utvrđeno je postojanje dve rase *P. s. pv. phaseolicola* (rasa 1 i 2) na osnovu reakcije sorte Red Mexican U13 (Walker i Patel, 1964). Ove dve rase opisane su u Evropi (Epton i Deverall, 1965; Wharton, 1967; Taylor, 1970), Novom Zelandu (Hale i Taylor, 1973), Africi (Boelema, 1984; Msuku, 1986; Edington, 1990), Severnoj Americi (Patel i Walker, 1965; Guthrie i Fenwick, 1967) i Latinskoj Americi (Buruchara i Pastor-Corrales, 1981). Balaž (1985, 1989) je u našoj zemlji utvrdila prisustvo rase 2 ove bakterije. Treća rasa poreklom iz Afrike opisana je na osnovu reakcije sorte Tendergreen (Taylor i Teverson, 1985; Mabagala i Saettler, 1992).

Prema najnovijim literaturnim podacima (Taylor et al., 1996a, Fourie, 1998; Kiryakov, 2001; Lamppa et al., 2002; Fourie et al., 2004) utvrđeno je 9 fizioloških rasa bakterije *P. s. pv. phaseolicola* na osnovu reakcije diferencijalnih sorti *P. vulgaris* (Canadian Wonder, ZAA54 /A52/, Tendergreen, Red Mexican U13, ZAA55 /A53/ i Guatemala 196-B) i *P. acutifolius* (1072 i ZAA12 /A43/). Taylor et al. (1996a) navode da su rasa 1, kao i rase 5, 7 i 9 izvedene od originalne rase 1, rase 2, 6 i 8 od originalne rase 2, a rase 3 i 4 od originalne rase 3.

Cilj ovog rada bio je prikupljanje većeg broja obolelih uzoraka pasulja, izolacija i identifikacija *P. s. pv. phaseolicola* i identifikacija fizioloških rasa patogena.

## MATERIJAL I METODE

Izolacija bakterije vršena iz tri obolela uzorka pasulja (sorte Oplenac, Slavonski žutozeleni i Zlatko) iz macerata biljnih fragmenata dobijenih sa prelaža zdravog i obolelog tkiva lista na hranljivu podlogu, NA (Nutrient Agar; Fahy i Hayward, 1983) i podlogu obogaćenu sa 5% saharoze, NSA (Lelliott i Stead, 1987). Za dalji rad je odabrano 6 reprezentativnih izolata, pod sledećim šiframa: TP5, TP6 (poreklom sa sorte Oplenac), TP11, TP12 (poreklom sa sorte Slavonski žutozeleni), TP16 i TP17 (poreklom sa sorte Zlatko).

Provera patogenosti izolata vršena je infiltracijom bakterijske suspenzije (koncentracije  $10^6$ - $10^7$  ćel/ml) pomoću medicinske igle u mlade mahune boranije (Balaž et al., 1995) i u lišće duvana i muškatle (Klement et al., 1990).

Za proučavanja biohemijsko-fizioloških odlika ispitivanih izolata izvedeni su sledeći testovi: aktivnost oksidaze (Kovacs, 1956), katalaze (Dye, 1962), stvaranje zelenog pigmenta – fluorescencija (King et al., 1954), oksidativno-fermentativni metabolizam glukoze (Hugh i Leifson, 1953), redukcija nitrata (Király et al., 1970), razlaganje želatina (Lelliott i Stead, 1987), hidroliza skroba i eskulina (Lelliott i Stead, 1987), stvaranje sumpor vodonika iz peptona (Goszczyńska et al., 2000), stvaranje indola (Király et al., 1970) i stvaranje kiseline iz ugljenih hidrata (Dye, 1968).

Određivanje rasa prisutne bakterijske populacije bakterije *P. s.* pv. *phaseolicola* vršeno je na osnovu reakcije diferencijalnih sorti *Phaseolus* sp., prema metodi koju opisuju Taylor et al. (1996a).

Za ova proučavanja je korišćeno osam različitih genotipova *Phaseolus* spp. (Canadian Wonder, ZAA54 /A52/, Tendergreen, Red Mexican U13, 1072 *P. acutifolius*, ZAA55 /A53/, ZAA12 /A43/ i Guatemala 196-B). Biljke su gajene u kontrolisanim uslovima staklenika. Sejanci različitih genotipova *Phaseolus* spp. inokulisani su u fazi potpuno razvijenog primarnog lišća (10-ak dana nakon zasedavanja semena). Inokulacija je vršena atomizerom, prskanjem naličja primarnog lišća bakterijskom suspenzijom koncentracije  $3 \times 10^8$  ćel/ml (podešene pomoću McFarland-ove skale). Lišće je inokulisano prskanjem suspenzije u tkivo obe strane glavnog nerva, pri čemu je rasprskivač atomizera postavljen na udaljenost 1-2 cm od površine lista. Izvršena inokulacija se manifestovala pojavom dve vlažne pege (water-soaked), prečnika oko 0,5 cm. Zatim je udaljavanjem atomizera na razdaljinu 10-15 cm isprskana cela površina lista. Nakon izvršene inokulacije, biljke su održavane u klima komori, u uslovima visoke vlažnosti (90-100%), temperaturi od  $19 \pm 1^\circ\text{C}$  i dnevnom režimu svetlosti.

Ocena ostvarene infekcije vršena je tokom 10 dana nakon inokulacije, korišćenjem skale od 1-5 koju navode Innes et al. (1984):

1 = crvenkastomrke nekrotične pege u zoni inokulacije sa obe strane glavnog nerva (visoko otporno),

2 = crvenkastomrke nekrotične pege sa vlažnim pegama u tragovima (otporno),

3 = nekroza ali više rasprostranjene vlažne pege u zoni inokulacije (slabo osetljivo),

4 = sitne vlažne pege (prečnika < 1 mm) rasprostranjene po celoj površini naličja lista (osetljivo),

5 = krupnije vlažne pege (prečnika 1-3 mm) rasprostranjene po celoj površini naličja lista (vrlo osetljivo).

Na osnovu ispoljene reakcije lista, utvrđivana je pripadnost rasama prema shemi datoj od Taylor et al. (1996a). Znakom + označene su sorte koje su ispoljile reakciju sa ocenama od 3-5, a znakom – sorte sa ocenama 1 i 2.

Reakcija diferencijalnih *Phaseolus* spp. prema rasama *P. s. pv. phaseolicola* (Taylor et al., 1996a)

Sorta	Rase <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i>								
	Rasa 1	Rasa 2	Rasa 3	Rasa 4	Rasa 5	Rasa 6	Rasa 7	Rasa 8	Rasa 9
Canadian Wonder	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ZAA54 (A52)	+	+	+	+	–	+	+	+	+
Tendergreen	+	+	–	–	+	+	+	+	+
Red Mexican U13	–	+	+	+	–	+	–	+	–
1072 <i>P. acutifolius</i>	+	–	+	–	–	+	–	+	+
ZAA55 (A53)	+	+	–	–	–	+	+	+	+
ZAA12 (A43)	+	–	–	–	–	+	–	–	–
Guatemala 196-B	–	+	–	–	–	+	–	+	–

## REZULTATI

Bakterija *P. s. pv. phaseolicola* je uspešno izolovana iz obolelog lišća pasulja na standardnu hranljivu podlogu NA na kojoj su se nakon tri dana razvoja obrazovale bele kolonije, okruglastog oblika, ravne, prečnika oko 2 mm. Na NSA podlozi kolonije su biserno-bele, krupne, sluzave, konveksne, levan pozitivne. Na King B podlozi svi izolati obrazuju zeleni fluorescentni pigment.

Na inokulisanim mahunama boranije su se trećeg dana nakon inokulacije pojavile vlažne i masne pege u okviru tkiva infiltriranog bakterijskom suspenzijom ispitivanih izolata. Beličast bakterijski eksudat se obrazovao nekoliko dana nakon inokulacije, a ivični deo pega je dobijao crvenkastu boju. Na lišću duvana i muškatele izolati su prouzrokovali hipersenzitivnu reakciju, koja se ispoljila tokom 24 časa od inokulacije.

Svi ispitivani izolati pripadaju grupi aerobnih bakterija (glukozu metabolišu oksidativnim putem), ne stvaraju oksidazu, katalaza je pozitivna, stvaraju zeleni fluorescentni pigment, ne redukuju nitrate, ne stvaraju indol, ne razlažu želatin, ne hidrolizuju skrob niti eskulin i ne stvaraju sumpor vodonik iz peptona.

Rezultati ispitivanja prisutnih rasa bakterije *P. s. pv. phaseolicola* korišćenjem test sortimenta, kojeg čini osam genotipova *Phaseolus* spp. inokulisanih sa šest naših izolata ove bakterije su bili sledeći:

- sorte Canadian Wonder, ZAA54 (A52) i Tendergreen su ispoljile reakciju u vidu sitnijih vlažnih pega rasprostranjenih po celoj površini naličja lista, veličine oko 1mm, uz pojavu hloroze;

- kod linija 1072 *P. acutifolius*, ZAA55 (A53) i ZAA12 (A43) na inokulisanim listovima su se pojavljivale crvenkastomrke nekrotične pege na mestu inokulacije, sa po kojom sitnom vlažnom pegom, koje su se mogle primetiti samo u zoni inokulacije;

- kod sorti Red Mexican U13 i Guatemala 196-B su se uglavnom pojavile samo crvenkastomrke nekrotične pege. Na sorti Red Mexican U13, oko pojedinih crvenkastomrkih pega se nazirala tamnozeleno, vlažna ivična zona pege, a u nekim slučajevima i jasno izražene vlažne pege.

Na osnovu dobijenih rezultata i upoređenja sa skalom koju za ova ispitivanja navodi Taylor et al. (1996a), naši izolati pokazuju najveću sličnost sa rasom 1 bakterije *P. s. pv. phaseolicola*.

Na sličnost rasi 1 ukazuje činjenica da su se kod sorti i linija Canadian Wonder, ZAA54 (A52) i Tendergreen pojavile sitne vlažne pege po celoj površini naličja lista, što je prema skali Innes et al. (1984) označavalo osetljivu reakciju (ocena 4). Kod linija 1072 *P. acutifolius*, ZAA55 (A53) i ZAA12 (A43) javile su se crvenkastomrke nekrotične pege na mestu inokulacije sa po kojom sitnom vlažnom pegom, što je karakteristično za ocenu 3, odnosno slabo osetljivu reakciju (Innes et al., 1984). Kod sorte Guatemala 196-B reakcija se javljala u vidu crvenkastomrkih nekrotičnih pega, što je prema Innes et al. (1984) visoko otporna reakcija (ocena 1). Nedovoljno jasnu reakciju smo imali na sorti Red Mexican U13 jer su se javile crvenkastomrke nekrotične pege (visoko otporna reakcija, ocena 1) oko kojih su se u pojedinim slučajevima nazirale i vlažne pege u tragovima (otporna reakcija, ocena 2) ili su bile i jasno izražene (slabo osetljiva reakcija, ocena 3). Prema tome, kod sorte Red Mexican U13 nismo sa sigurnošću mogli odrediti da li je u pitanju otporna ili slabo osetljiva reakcija, a samim tim i sa sigurnošću utvrditi pripadnost naših izolata rasi 1 bakterije *P. s. pv. phaseolicola*, sa kojom ispoljavaju najviše sličnosti.

## DISKUSIJA

Proučavajući rasni sastav bakterije *P. s. pv. phaseolicola* na području Vojvodine Balaž (1985, 1989) navodi prisustvo rase 2 ovog patogena određene na osnovu reakcije sorte Red Mexican U13. Prema rezultatima dobijenim u našem radu, smatramo da proučavani izolati *P. s. pv. phaseolicola* pokazuju najveću sličnost sa rasom 1 ove bakterije. Sličnost rasi 1 ukazuje činjenica da se kod sorti i linija Canadian Wonder, ZAA54 (A52), Tendergreen, 1072 *P. acutifolius*, ZAA55 (A53) i ZAA12 (A43) ispoljavala osetljiva reakcija, a kod sorte

Guatemala 196-B otporna reakcija. Međutim, na sorti Red Mexican U13 nije sa sigurnošću određeno da li je u pitanju otporna ili slabo osjetljiva reakcija, a samim tim i pripadnost izolata rasi 1 bakterije *P. s. pv. phaseolicola*. Ovi rezultati ukazuju na mogućnost promene rasnog sastava ove bakterije, jer je Balaž (1985) utvrdila prisustvo rase 2 bakterije *P. s. pv. phaseolicola*. Ova promena bi se eventualno mogla objasniti i potpunom izmenom sadašnjeg sortimenta *P. vulgaris* u odnosu na 1980-te godine.

Kiryakov (2001) je na području severoistočne Bugarske kod 42 ispitivana izolata bakterije *P. s. pv. phaseolicola* identifikovao 5 rasa (rase 1, 2, 6, 7 i 9), navodeći pri tom da je 35.71% izolata pripadalo rasi 1. Prema Taylor et al. (1996a) na području Evrope je najzastupljenija i široko rasprostranjena rasa 6.

Prema Singh i Jauhar (2005) opisana je specifična i nespecifična otpornost prema rasama 1 i 2 bakterije *P. s. pv. phaseolicola*. Nespecifična otpornost je pronađena kod sorti kao što su GN Nebraska #1 Sel 27 (Coyne et al., 1967; Taylor et al., 1978, 1996b) i PI 150414 (Taylor et al., 1978, 1996b). Ariyaratne et al. (1999) navodi otpornost putem QTL u BelNeb-RR-1/A 55 populaciji pasulja. Fourie et al. (2004) je identifikovao tri nezavisna dominantna gena za otpornost prema rasama bakterije *P. s. pv. phaseolicola*, pod imenima Pse-1 (za otpornost prema rasama 1, 7 i 9), Pse-3 (za otpornost prema rasama 3 i 4) i Pse-4 (za otpornost prema rasi 5), ističući pri tome da nijedan od specifičnih gena ne pruža otpornost prema najraširenijoj i najvirulentnijoj rasi 6 ove bakterije.

Proučavanje rasnog sastava bakterije *P. s. pv. phaseolicola* nije nam dalo jasnu sliku o pripadnosti ispitivanih izolata rasama ovog patogena kod nas, ali rezultati ukazuju na najveću sličnost sa rasom 1 ove bakterije. Iz dobijenih rezultata proizilazi da bi ova ispitivanja trebalo nastaviti, korišćenjem većeg broja izolata, a verovatno postoji i objektivna poteškoća u određivanju rasa *P. s. pv. phaseolicola*, jer prema raspoloživoj novijoj literaturi podaci o utvrđivanju 9 rasa ove bakterije su vrlo oskudni. Navode se samo radovi Taylor et al. (1996a), Fourie, (1998), Kiryakov (2001), Lamppa et al. (2002) i Fourie et al. (2004). Znatno veći broj radova u vezi utvrđivanja rasa ove bakterije odnosi se na period kada su bile poznate samo rasa 1 i rasa 2 *P. s. pv. phaseolicola* (Walker i Patel, 1964; Epton i Deverall, 1965; Patel i Walker, 1965; Guthrie i Fenwick, 1967; Wharton, 1967; Taylor, 1970; Hale i Taylor, 1973; Buruchara i Pastor-Corrales, 1981; Boelema, 1984; Balaž, 1985, 1989; Msuku, 1986; Edington, 1990).

## LITERATURA

- Ariyaratne, H.M., Coyne, D.P., Jung, G., Skroch, P.W., Vidaver, A.K., Steadman, J.R., Miklas, P.N., Bassett, M.J. (1999): Molecular mapping of disease resistance genes for halo blight, common bacterial blight, and bean common mosaic virus in a segregating population of common bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124(6): 654-662.
- Balaž, J. (1985): Otpornost i priroda otpornosti boranije i pasulja prema *Pseudomonas phaseolicola* Burkholder (Dowson). Doktorski rad, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Balaž, J. (1989): Bakteriološke karakteristike i fiziološke rase *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkholder) Young, Dye et Wilkie u Jugoslaviji. *Zaštita bilja* 40 (2), 188: 187-194.
- Balaž, J., Vasić, M., Pecić, J., Doroški, H. (1995): Contribution to the Study of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* as Parasite of Bean in Yugoslavia. Breeding and Cultivation of Wheat, Sunflower and Legume Crops in the Balkan Countries. Albena – IWS, Bulgaria, 356-359.
- Boelema, B. H. (1984): Infectivity titrations with race 2 of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in green beans (*Phaseolus vulgaris*). *Phytophylactica* 16: 327-329.
- Bradbury, J.F. (1986): Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB International, Wallingford, UK.
- Buruchara, R.A., Pastor-Corrales, M.A. (1981): Pathogenic variation and virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Colombia. In Proceedings of the 5<sup>th</sup> Int. Conf. Plant Path. Bacteria, Cali, Colombia, CIAT, 341-351.
- Coyne, D.P., Schuster, M.L., Fast, R. (1967): Sources of Tolerance and Reaction of Beans to Races and Strains of Halo Blight Bacteria. *Plant Disease Reporter* 51(1): 20-24.
- CPC - Crop Protection Compendium (2004): Crop Protection Compendium 2004 Edition. Wallingford, UK, CAB International.
- Dye, D.W. (1962): The Inadequacy of the Usual Determinative Tests for the Identification of *Xanthomonas* spp. *N.Z.J. Sci.* 5: 393-416.
- Dye, D.W. (1968): The taxonomic study of the genus *Erwinia*. I. The „amylovora“ group. *N.Z.J. Sci.* 11(4): 590-607.
- Edington, B. R. (1990): The identification of race 1 of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in South Africa. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 33: 171.
- Epton, H.A.S., Deverall, B.J. (1965): Physiological Races of *Pseudomonas phaseolicola* Causing Halo Blight of Bean. *Plant Pathology* 14: 53-54.

- Fahy, P.C., Hayward, A.C. (1983): Media and Methods for Isolation and Diagnostic Tests. In: Plant Bacterial Diseases, A Diagnostic Guide. Fahy, P.C., Persley, G.J. (ed). Academic Press, Australia.
- Fourie, D. (1998): Characterization of halo blight races on dry beans in South Africa. *Plant Disease* 82: 307-310.
- Fourie, D., Miklas, P., Ariyaranthe, H. (2004): Genes Conditioning Halo Blight Resistance to Races 1, 7 and 9 Occur in a Tight Cluster. Report of the Bean Improvement Cooperative 47: 103-104.
- Franc, G.D. (1998): Bacterial Diseases of Beans. Cooperative Extension Service, University of Wyoming.
- Frison, E.A., Bos, L., Hamilton, R.I., Mathur, S.B., Taylor, J.D. (1990): FAO/ IBPGR Technical Guidelines for the Safe Movement of Legume Germplasm. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome/International Board for Plant Genetic Resources, Rome.
- Goszczyńska, T., Serfontein, J.J., Serfontein, S. (2000): Introduction to Practical Phytobacteriology. A Manual for Phytobacteriology by SAFRINET, the Southern African (SADC) LOOP of BioNET-INTERNATIONAL, p.83.
- Guthrie, J.W. (1968): The Serological Relationship of Races of *Pseudomonas phaseolicola*. *Phytopathology* 58: 716-717.
- Guthrie, J.W., Fenwick, H.S. (1967): Pathogenicity of Idaho isolates of *Pseudomonas phaseolicola*. *Plant Dis.Repr.* 51: 591-593.
- Hale, C. N., Taylor, J. D. (1973): Races of *Pseudomonas phaseolicola* causing halo blight of beans in New Zealand. *N. Z. J. Agric. Res.* 16: 147-149.
- Hugh, R., Leifson, E. (1953): The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrate by various Gram negative bacteria. *J. Bact.* 66: 24.
- Innes, N.L., Conway, J., Taylor, J. D. (1984): Resistance to halo blight in the Cambridge accession V4604 and V4058 of *Phaseolus* beans. *Ann. Appl. Biol.* 104: 307-314.
- King, E.O., Ward, M.K., Raney, D.E. (1954): Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 44: 301-307.
- Király, Z., Klement, Z., Solymosy, F., Vöröš, J. (1970): *Methods in Plant Pathology*, Budapest.
- Kiryakov, I. (2001): Characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* Races in North-Eastern Bulgaria. *Bulg. J. Agric. Sci.* 7: 313-318.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D.C. (1990): *Methods in Phytobacteriology*. Akadémiai Kiadó, Budapest.



- Kovacs, N. (1956): Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. Nature 178: 703.
- Lamppa, R. S., Gross, P. L., del Rio, L. E. (2002): Races of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in North Dakota. Annu. Rpt. Bean Improv. Coop. 45: 103-105.
- Lelliott, R.A., Stead, D.E. (1987): Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Mabagala, R.B., Saettler, A.W. (1992): Races and survival of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in Northern Tanzania. Plant Disease 76(7): 678-682.
- Msuku, W.A.B. (1986): Pathogenic variation and virulence of isolates of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in Malawi. Annual report of the Bean Improvement Cooperative 28: 125-126.
- Patel, P.N., Walker, J.C. (1965): Resistance in *Phaseolus* to Halo Blight. Phytopathology 55(8): 889-894.
- Poryazov, I. (1976): Physiological Races of *Pseudomonas phaseolicola* (Burk.) Dowson, a Causal Organism of Halo Blight of Beans. Plant Protection Science 3: 44-49.
- Schwartz, H.F. (2004): Bacterial Diseases of Beans. Crop Series Diseases 2.913.
- Singh, R.J., Jauhar, P.P. (2005): Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement. Grain Legumes, Volume1, CRC Press, p. 376.
- Taylor, J.D. (1970): Bacteriophage and serological methods for the identification of *Pseudomonas phaseolicola* (Burkh.) Dowson. Ann. appl. Biol. 66: 387-397.
- Taylor, J.D., Innes, N.L., Dudley, C.L., Griffiths, W.A. (1978): Sources and inheritance of resistance to halo-blight of *Phaseolus* beans. Ann. Appl. Biol. 90: 101-110.
- Taylor, J. D., Teverson, D. M. (1985): Halo-blight of *Phaseolus* bean. Rep. Nat. Veg. Res. Stn. for 1984, p. 87.
- Taylor, J.D., Teverson, D.M., Allen, M.A., Pastor-Corrales, M.A. (1996a): Identification and origin of races of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* from Africa and other bean growing areas. Plant Pathology 45: 469-478.
- Taylor, J.D., Teverson, D.M., Davis, J.H.C. (1996b): Sources of resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* races in *Phaseolus vulgaris*. Plant Pathology 45: 479-485.
- Walker, J.C., Patel, P.N. (1964): Inheritance of Resistance to Halo Blight of Bean. Phytopathology 54 (2): 140-141.
- Wharton, A.C. (1967): Detection of infection by *Pseudomonas phaseolicola* (Burkh.) Dowson in white seeded dwarf bean seed stocks. Ann. Appl. Biol. 60(2): 305-312.

(Primljeno: 16.11.2011.)

(Prihvaćeno: 20.12.2011.)

**RACE IDENTIFICATION OF *PSEUDOMONAS SAVASTANOI* PV.  
*PHASEOLICOLA* ON DOMESTIC BEAN CULTIVARS**

TATJANA POPOVIĆ \*<sup>1</sup>, SVETLANA ŽIVKOVIĆ <sup>1</sup>,  
NENAD DOLOVAC <sup>1</sup>, PREDRAG MILOVANOVIĆ <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia

<sup>2</sup> »GALENKA« - Fitofarmacija AD, Belgrade – Zemun, Serbia

\*e-mail: tanjaizbis@gmail.com

**SUMMARY**

Halo blight caused by the phytopathogenic bacterium *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* is economically important disease of bean in our area. In the present study, the pathogen was isolated from the leaves of the diseased bean plants, with the leaf samples having been collected from cultivars Oplenac, Slavonski žutozeleni and Zlatko using a nutrient agar (NA) and the medium enriched with 5% sucrose (NSA). Pathogenicity of the obtained isolates was proved by inoculation of young bean pods and by hypersensitive reaction (HR) on tobacco and geranium leaves. Biochemical and physiological characteristics were tested by conventional phytobacteriological methods.

The race identity of the isolates was determined using a differential set of *Phaseolus* spp.: Canadian Wonder, ZAA54 (A52), Tendergreen, Red Mexican U13, 1072 *P. acutifolius*, ZAA55 (A53), ZAA12 (A43) i Guatemala 196-B). Inoculation was performed with atomizer, by spraying of bacterial suspension onto the undersurface of primary leaves. Obtained results indicated that strains showed the most similarity to race 1 of this bacterium.

*Key words:* *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, bean, race.

(Received: 16.11.11.)

(Accepted: 20.12.2011.)