

# BAKTERIOZNA MRLJAVOST PLODOVA LUBENICE U SRBIJI

Nevena Zlatković<sup>1</sup>, Anđelka Prokić<sup>1</sup>, Nemanja Kuzmanović<sup>1</sup>,  
Katarina Gašić<sup>2</sup>, Milan Šević<sup>3</sup>, Milan Ivanović<sup>1</sup>, Aleksa Obradović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Zemun

<sup>2</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

<sup>3</sup>Institut za povrtarstvo, Smederevska Palanka

E-mail: nevena\_blogojevic@yahoo.com

Rad primljen: 24.04.2015.

Prihvaćen za štampu: 03.07.2015.

## Izvod

U leto 2014. godine, proizvođači lubenice iz sremskog okruga uočili su pojavu simptoma u vidu pega vodenastog izgleda i nepravilnog oblika na zrelim plodovima lubenice, koji su ukazivali na oboljenje bakterijske prirode. Izolacijom i identifikacijom patogena, utvrđeno je prisustvo bakterije *Acidovorax citrulli*, prouzročivača bakterijske mrljivosti plodova lubenice. Ova vrsta je u skorije vreme dosta dobila na značaju, posebno zbog gubitaka u proizvodnji koji su u pojedinim oblastima Sjedinjenih Američkih Država (SAD) dostizali i 90% od ukupnog prinosa. U Srbiji *A. citrulli* ima karantinski status i nalazi se na A1 listi Evropske i mediteranske organizacije za zaštitu bilja (EPPO).

**Cljučne reči:** Cucurbitaceae, lubenica, bakterijska mrljivost, *Acidovorax citrulli*

## UVOD

Lubenica (*Citrullus vulgaris*) je povrtarska vrsta koja vodi poreklo iz centralne i južne Afrike. U naše krajeve proširila se iz Turske, dok je u ostale zemlje Evrope introdukovana iz Sredozemlja (Gvozdanović-Varga, 2011). Areal rasprostranjenosti je usko povezan sa klimatskim faktorima. Uspešnoj proizvodnji pogoduju suvi i topliji regioni, gde je vegetaciona sezona duga, a prosečna temperatura visoka (Popović, 1981). Iako se u ishrani najviše koristi plod u fiziološkoj zrelosti, upotrebljava se i za proizvodnju slatkog, sirupa i ekstrakciju vitamina D, kojim je seme izuzetno bogato. Prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu (eng. Food and Agriculture Organization, FAO) iz 2012. godine, najveći svetski proizvođač lubenice je Kina, koja je ostvarila ukupni prinos od približno 70 000 000 t. Srbija pripada grupi srednjih proizvođača u Evropi, sa površinom od oko 14 000 ha (FAO, 2012). Bogat sortiment i raznovrsnost genotipova omogućavaju uspešnu proizvodnju u našoj zemlji (Obradović i sar., 2014).

Biljke iz porodice tikava naročito su osetljive prema nekoliko vrsta fitopatogenih bakterija. Vrsta *Pseudomonas lachrymans*, prouzročivač uglaste pegavosti lišća krastavca, dosta je rasprostranjena i štetna. Na teritoriji naše zemlje često se može izolovati, a pojedinih godina dovodila je do ozbiljnih šteta u semenskom usevu i usevu kornišona (Ristić i sar., 2007). *Erwinia tracheiphila*, prouzročivač bakterijske uvelosti, još uvek nije zvanično detektovan na teritoriji Srbije. Prema navodima proizvođača, s vremena na vreme uočava se simptom uvelosti krastavca čija priroda nije utvrđena, pa je potrebno obratiti veću pažnju i detaljno proučiti etiologiju ovog oboljenja (Mijatović i sar., 2007). *Xanthomonas cucurbitae* je jedan od najvažnijih prouzročivača bolesti biljaka familije Cucurbitaceae poslednjih godina u Americi (Babadoost i Ravanlou, 2012). U našoj zemlji ovaj patogen nije bio predmet prouča-

vanja. Oboljenje nazvano žutilo vreža (eng. Cucurbit yellow vine disease, CYVD) prvi put je uočeno 1988. godine u Oklahomi i Teksasu (SAD). Prouzrokovatelj bolesti je bakterija *Serratia marcescens*, čiji je vektor insekt *Anasa tristis*. Gubici u proizvodnji mogu dosežati 5-100% od ukupnog prinosa (Bruton i sar., 2003).

U Džordžiji (SAD) 1965. godine, uočena je pojava simptoma opisanog kao plamenjača klijanaca lubenice. Izolovana je nova vrsta bakterije koja je nazvana *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* (Walcott i sar., 2004). Na osnovu molekularne karakterizacije, vrsta je preimenovana u *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Willems i sar., 1992, loc. cit. Feng i sar., 2013). Daljim izučavanjima, došlo je do još jedne izmene u taksonomiji, pa je vrsta nazvana *A. citrulli*. Najosetljiviji domaćini su lubenica (*C. lanatus*) i dinja (*Cucumis melo*), kod kojih se simptomi mogu pojaviti na listovima i plodovima. Kod drugih vrsta porodice *Cucurbitaceae* - krastavca (*Cucumis sativus*), tikve (*Cucurbita pepo*) i muskatne tikve (*Cucurbita moschata*), simptomi su ograničeni samo na listove i uočavaju se u vidu tamnijih, vodenastih pega. U uslovima veštačke inokulacije biljaka iz drugih porodica, takođe dolazi do ispoljavanja simptoma na listovima. U Izraelu je 1997. godine bakterija izolovana iz paradajza i plavog patlidžana, nakon čega je ubrzo zabeležena pojava zaraze na lubenici i dinji (Burdman i sar., 2005, loc. cit. Burdman i Walcott, 2012). Takođe, pojedine vrste iz spontane flore mogu biti rezervoari inokuluma ([www.eppo.int](http://www.eppo.int)).

Najkarakterističniji simptomi se uočavaju na zrelim plodovima lubenice i dinje. Na gornjoj strani ploda se formiraju pege, vodenastog izgleda, nepravilnog oblika. Vremenom, pege zahvataju sve veću površinu, dolazi do pucanja tkiva kore. Kroz nastale lezije prodiru i drugi patogeni, pri čemu dolazi do razmekšavanja unutrašnjeg tkiva ploda. Oboleli plodovi su potpuno neupotrebljivi i nemaju komercijalnu vrednost. Iako prisustvo *A. citrulli* u našoj zemlji do skoro nije bilo detektovano, činjenica da areal rasprostranjenosti obuhvata i zemlje u okruženju, dovela je do zabrinutosti naših proizvođača za buduću proizvodnju (Obradović, 2014).

## MATERIJAL I METODE RADA

**Izolacija i čuvanje bakterija.** Na području Srema, u leto 2014. godine, na plodovima lubenice u fazi fiziološke zrelosti, uočena je pojava simptoma u vidu vodenastih pega nepravilnog oblika, unutar kojih dolazi do pucanja tkiva kore i truleži unutrašnjeg tkiva (Tab. I, sl. 1 i 2). Prikupljeni biljni materijal dopremljen je u fitobakteriološku laboratoriju Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu, gde je izvršena analiza. Odabrani su simptomatični delovi tkiva kore plodova iz kojih je izvršena izolacija patogena (Tab. I, sl. 3). U cilju eliminisanja nečistoća i epifitnih mikroorganizama koji bi mogli otežati izolaciju samog patogena, fragmenti su ispirani pod mlazom česmenske vode u trajanju pet minuta. Potom je pristupljeno maceraciji fragmenata uzetih sa prelaza zdravog u obolelo tkivo, u 1 ml sterilne destilovane vode. Kap macerata zasejana je bakteriološkom petljom na podlogu od hranljivog agara (HA) u Petri kutijama. Zasejane podloge su inkubirane u termostatu, pri 27 °C, u trajanju 48 h. Nakon toga, izabrane su pojedinačne kolonije radi dobijanja čistih kultura. Sojevi su održavani periodičnim presejavanjem i čuvanjem u termostatu pri 27 °C. Za dalji rad odabrano je 13 sojeva. U cilju trajnijeg čuvanja bakterija, izolovani sojevi čuvani su u podlozi od hranljivog bujona sa 30% glicerola u krioeprevetama pri temperaturi -80 °C (Schaad i sar., 2001), u kolekciji fitopatogenih bakterija (KFB) Instituta za fitomedcinu Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu. Pri izvođenju oglada korišćene su sveže kulture gajene 24 h u termostatu pri 26-27 °C.

**Patogenost izolovanih sojeva.** Test patogenosti proučavanih sojeva izveden je na biljkama lubenice (sorta Rosa), koje su gajene u tresetnom supstratu (Floradur B, Floragard), u saksijama prečnika 16 cm, u uslovima staklenika. Za inokulaciju je primenjen metod prskanja biljaka u fazi kotiledona bakterijskom suspenzijom koncentracije  $10^8$  bakterija/ml, u 4 ponavljanja (2 saksije sa po 2 biljke). Nakon inokulacije, na saksije su postavljene najlonske kese, kako bi se obezbedila povećana vlažnost, što je neophodan uslov za nastanak infekcije. Kao pozitivna kontrola, korišćen je referentni soj *A. citrulli*, KFB 0250 (NCPFB 3679), dok je kao negativna kontrola korišćena destilovana voda. Rezultati testa očitani su 48 h nakon inokulacije biljaka.

**Bakteriološke karakteristike.** Reakcija po Gramu proučena je primenom 3% KOH (Arsenijević, 1997). U cilju dokazivanja fluorescentnosti, sojevi su zasejani na King-ovu podlogu B (King i sar., 1954). Od odgajivačkih odlika, proučeni su izgled i porast bakterijskih kolonija na podlozi od glukoze, kvašćevog ekstrakta i  $\text{CaCO}_3$  (YDC) i razvoj pri  $41^\circ\text{C}$ . Od biohemijskih svojstava, proučeni su korišćenje glukoze, arabinoze i saharoze, kao i redukcija nitrata (Lelliott i Stead, 1987). Testirane su aktivnost katalaze pomoću vodonikperoksida i aktivnost oksidaze (Arsenijević, 1997). Takođe, proučen je metabolizam glukoze (Arsenijević, 1997). Sposobnost sojeva da prouzrokuju hipersenzitivnu reakciju proverena je inokulacijom listova duvana sorte Samsun infiltracijom suspenzije bakterija u sterilnoj destilovanoj vodi, koncentracije oko  $10^8$  cfu/ml, sa naličja listova između dva lisna nerva, pomoću medicinskog šprica. Kao pozitivna kontrola korišćeni su sojevi bakterija *P. s. pv. syringae* KFB 0103 i *A. citrulli* KFB 0250, a kao negativna kontrola sterilna destilovana voda. Reakcija je očitana nakon 24 h. Pektolitička aktivnost sojeva utvrđena je testom truleži kriški krompira (Arsenijević, 1997). Kao pozitivna kontrola upotrebljen je soj *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* KFB 85, dok je kao negativna kontrola korišćena sterilna destilovana voda.

**Molekularna identifikacija patogena.** Primenom lančanog umnožavanja DNK fragmenata (eng. Polymerase Chain Reaction, PCR) i sekvencionom analizom 16S rRNK gena izvršena je molekularna karakterizacija patogena. DNK bakterija je pripremljena inkubacijom suspenzije bakterija ( $\sim 10^6$  bakterija/ml) pri  $95^\circ\text{C}$  u trajanju 15 min, zatim hlađenjem na ledu u trajanju 5 min, i centrifugiranjem na 10 000 rcf u trajanju 1 min. U PCR reakciji korišćen je par prajmera BX-L1/BX-S-R2 (Bahar i sar., 2008), kojim se umnožava fragment veličine 279 baznih parova (bp). PCR reakcija je izvedena prema prethodno razvijenom protokolu (Bahar i sar., 2008). Dobijeni proizvodi razdvojeni su elektroforezom u agaroznom gelu koncentracije 1,5 %, pri konstantnom naponu od 80V, a potom obojeni u rastvoru etidijum bromida (0,001 g/ml, w/v), u trajanju 20 min. Agarozni gel je posmatran pod UV svetlom na transiluminatoru i fotografisan pomoću Doc Print sistema (Vilber Roumart, Francuska).

Za sekvencionu analizu 16S rRNK gena, odabrana su dva soja: RKFB 793 i RKFB 794. Fragment dužine oko 1450 bp umnožen je upotrebom univerzalnog para prajmera fD1/rP2 (Weisburg i sar., 1991). Reakciona PCR smeša zapremine 50  $\mu\text{l}$  sadržala je sledeće komponente: 1 X PCR pufer sa 20 mM  $\text{MgCl}_2$  (Thermo Scientific, Vilnius, Lithuania), 200  $\mu\text{M}$  dNTPs, 0,2  $\mu\text{M}$  svakog prajmera, 1,5 U enzima *Taq* polimeraze (Thermo Scientific, Vilnius, Lithuania) i 3  $\mu\text{l}$  uzorka DNK. Reakcija se odvijala prema sledećem programu: početna denaturacija pri temperaturi  $95^\circ\text{C}$  u trajanju 5 min; 35 ciklusa denaturacije pri  $94^\circ\text{C}$  u trajanju 1 min, vezivanja prajmera pri  $57^\circ\text{C}$  u trajanju 1 min i ekstenzije pri  $72^\circ\text{C}$  u trajanju 1,5 min; poslednji ciklus ekstenzija 7 min. pri  $72^\circ\text{C}$ . Elektroforezom u agaroznom gelu određen

je kvalitet i kvantitet PCR proizvoda koji su poslani na sekvenciranje (Macrogen, Holandija). Dobijene nukleotidne sekvence su vizuelizovane i obrađene korišćenjem softvera Finch TV 1.4.0 (Geospiza, Inc., Seattle, WA, USA; <http://www.geospiza.com>) i MEGA 5.1 (Tamura i sar., 2011). U cilju identifikacije sojeva konsenzus nukleotidna sekvenca ukupne dužine 1367 bp upoređena je sa postojećim sekvencama u NCBI (National Center for Biotechnology Information) bazi podataka (januar, 2015. godine) korišćenjem BLASTn algoritma (Altschul i sar., 1997).

## REZULTATI RADA I DISKUSIJA

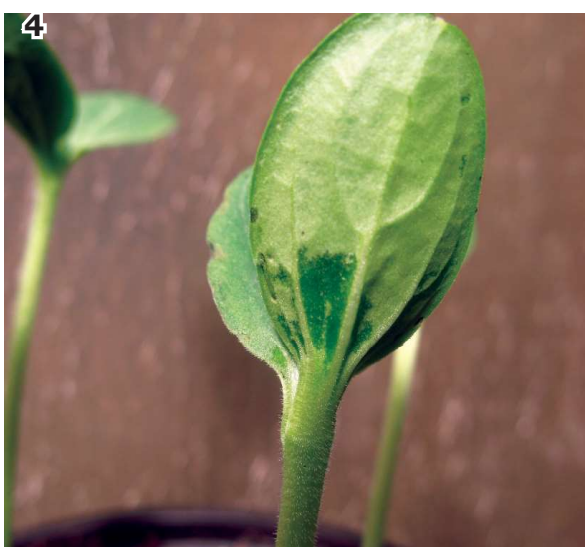
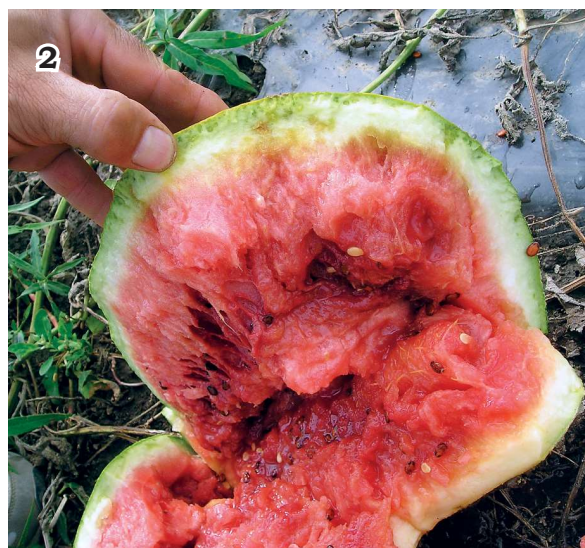
Dva dana nakon izolacije, na podlozi od hranljivog agara uočen je razvoj blago ispupčenih i glatkih kolonija, beličaste boje, okruglog oblika, pravilnih ivica. Utvrđeno je da bakterije nakon mesec dana gube vitalnost čuvanjem u vidu vodene suspenzije pri temperaturi 4 °C.

U testu patogenosti, nakon 48 h od inokulacije, došlo je do pojave simptoma na kotiledonima biljke domaćina u vidu pega vodenastog izgleda, tamno zelene boje. Prvobitno, pege su bile vidljive samo sa naličja kotiledona, dok su se nakon trećeg dana mogle uočiti i sa lica (Tab. I, sl. 4). Nakon 7 dana, došlo je do izumiranja obolelog tkiva. Biljke kod kojih je i hipokotil bio zahvaćen infekcijom su polegle i vrlo brzo potpuno izumrle. Ovakva pojava često se greškom dovodi u vezu sa pojedinim gljivama rasprostranjenim u zemljištu. Na osnovu rezultata biohemijско-fizioloških testova, utvrđeno je da su opisane promene na biljnom tkivu prouzrokovale Gram i katalaza negativne, oksidaza pozitivne, nefluorescentne bakterije. Nakon 48h, proučavani sojevi su na YDC podlozi obrazovali ispupčene, okrugle kolonije, krem boje. Sojevi su se razvijali pri temperaturi 41°C, razlagali su arabinozu, ali ne i saharozu, niti su redukovali nitrate. Takođe, sojevi su ispoljili slabo oksidativna svojstva u testu stvaranja kiseline iz glukoze. Sojevi nisu ispoljili pektolitičku aktivnost, ali su prouzrokovali HR reakciju duvana. Primenom prajmera BX-L1/BX-S-R2, specifičnih za vrstu *A. citrulli*, umnoženi su specifični DNK fragmenti veličine 279 bp. Upoređivanjem sekvenci 16S rRNK gena proučavanih sojeva (GenBank pristupni brojevi KP410333 i KP410334) sa sekvencama iz NCBI baze, utvrđen je visok stepen identičnosti (100%) sa sojevima *A. citrulli*, poreklom iz Kine, Amerike i Tajlanda.

Biljke familije *Cucurbitaceae* imaju veoma značajno mesto u poljoprivrednoj proizvodnji i ishrani stanovništva naše zemlje. Poslednjih nekoliko godina beleži se porast u prinosu lubenice u Srbiji (FAO, 2013). Kao i kod drugih biljnih vrsta, bolesti prouzrokovane različitim vrstama patogenih organizama predstavljaju ograničavajući faktor koji negativno utiče na visinu prinosa i ekonomski efekat proizvodnje. Intenzivnu proizvodnju pomenutih vrsta može ugroziti pojava preko 200 različitih oboljenja (Zitter i sar., 1996). Iako bakterioze uglavnom ne prednjače po intenzitetu pojave, gubici nastali usled njihovog prisustva mogu biti visoki.

S obzirom da razvoju infekcije pogoduju visoka temperatura i vlažnost vazduha, prema iskustvu stranih autora, procenat obolelih biljaka veći je u zaštićenom prostoru nego na otvorenom polju. Ukoliko nastupe nepovoljni uslovi, infekcija se zaustavlja, ali se patogen i dalje održava u biljci domaćinu. Nakon rasađivanja na stalno mesto, zaražene biljke postaju izvor za širenje sekundarnih infekcija (Obradović i sar., 2014). Zalivanjem i kišom *A. citrulli* se veoma lako prenosi na susedne zdrave biljke, što za posledicu može imati 100% infekciju klijanaca tokom proizvodnje rasada, a takođe i visok procenat zaraze biljaka u polju. Patogen se održava i prenosi semenom, stoga zaraženo seme predstavlja glavni izvor inokuluma. Epidemiološke karakteristike patogena, kao što su prezimljavanje u zemljištu,





**Tablo I.** *Acidovorax citrulli*: Mrljavost ploda lubenice, prirodna infekcija (sl. 1); razmekšano unutrašnje tkivo ploda, prirodna infekcija (sl. 2); prodor bakterija u dublje delove tkiva, prirodna infekcija (sl. 3) i vodenaste zone na naličju kotiledona lubenice, veštačka infekcija (sl. 4). (Foto: A. Obradović).

u ostacima zaraženih biljaka, u alternativnim domaćinima, mogućnosti opstanka i širenja u našim agroekološkim uslovima, tek treba ispitati. Do tada treba voditi računa o plodoredu, sanitarnim merama u objektima za proizvodnju rasada i svakako poreklu i zdravstvenom stanju semena.

## ZAKLJUČAK

S obzirom da je prisustvo vrste *A. citrulli* utvrđeno u zemljama koje su najveći izvoznici reproduktivnog materijala (Kina, Turska, Italija), postoji stalna opasnost od pojave ovog oboljenja u zemljama gde bolest još uvek nije opisana. U mnogim krajevima bakterijska mrljavost predstavlja ozbiljnu pretnju proizvodnji lubenice i dinje. Iako se poslednjih godina dosta radi na istraživanjima u cilju proizvodnje zdravstveno ispravnog semena, rezultati još uvek nisu zadovoljavajući. Otežavajući faktor predstavlja nedovoljno poznavanje mehanizma nastanka bolesti. Uvođenjem novih, otpornih sorti lubenice i dinje u proizvodnju, značajno bi se umanjili mogući gubici. Kako se biljke familije *Cucurbitaceae* kod nas dosta gaje, neophodna je kontrola zdravstvenog stanja biljnog materijala u prometu preko granice. Na taj način bi se sprečilo dalje unošenje i širenje zaraženog semena u našoj zemlji.

Ovaj rad je rezultat istraživanja u okviru projekta III46008, finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke, i tehnološkog razvoja Republike Srbije i projekta Evropske Komisije AREA, broj 316004.

## LITERATURA

- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. & Lipman, D. J. (1997): Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25:3389-3402.
- Arsenijević, M. (1997): Bakterioze biljaka. S-Print, Novi Sad, (treće izmenjeno i dopunjeno izdanje).
- Babadoost, M., Ravanlou, A. (2012): Outbreak of Bacterial Spot (*Xanthomonas cucurbitae*) in Pumpkin Fields in Illinois. *Plant Disease*, Vol. 96, No. 8: 1,222.1.
- Bahar, O., Efrat, M., Hadar, E., Dutta, B., Walcott, R. R. and Burdman, S. (2008). New sub-species-specific polymerase chain reaction-based assay for the detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Plant Pathology*, 57, 754-763.
- Bruton, B. D., Mitchell, F., Fletcher, J., Pair, S. D., Wayadande, A., Melcher, U., Brady, J., Bextine, B., Popham, T. W. (2003): *Serratia marcescens*, a Phloem-Colonizing, Squash Bug -Transmitted Bacterium: Causal Agent of Cucurbit Yellow Vine Disease. *Plant Disease* 87:937.
- Burdman, S., Kots, N., Kritzman, G. and Kopelowitz, J. (2005) Molecular, physiological, and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel. *Plant Dis.* 89, 1339–1347.
- Burdman, S., Walcott, R. (2012): *Acidovorax citrulli*: generating basic and applied knowledge to tackle a global threat to the cucurbit industry. *Molecular Plant Pathology*, 13 (8), 805-815.
- FAO (2012): The FAO Statistical Database (FAOSTAT): Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from <http://faostat.fao.org>
- FAO (2013): The FAO Statistical Database (FAOSTAT): Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from <http://faostat.fao.org>
- Feng, J. J., Li, J. Q., Walcott, R. R., Zhang, G. M., Luo, L. X., Kang, L., Zheng, Y. and Schaad, N. W. (2013): Advances in detection of *Acidovorax citrulli*, the causal agent of bacterial fruit blotch of cucurbits. *Seed Science & Technology*, 41, 1-15.

- Gvozdanić-Varga, J. (2011): Proizvodnja lubenica, Semearstvo. Milošević, M., Kobiljski, B. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 223-225.
- King, E. O., Ward, M., Raney, D. E. (1954): Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44:301-307.
- Lelliott, R. A. and Stead, D. E. (1987): *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, UK, pp. 169-199.
- Mijatović, M., Obradović, A., Ivanović, M. (2007): Zaštita povrća od bolesti, štetočina i korova. Agromivas, Smederevska Palanka, Zemun, 264.
- Obradović, A., Prokić, A., Zlatković, N., Gašić, K. (2014): Mrljavost ploda - nova bakterioza lubenice u Srbiji. *Zbornik radova, XV savetovanje „Savremena proizvodnja povrća“*. *Savremeni povrtar*, br. 52, 24-26.
- Popović, M. (1981): *Povrtarstvo*. Nolit, Beograd, 365.
- Ristić, D., Gašić, K., Ivanović, M., Obradović, A. (2007): Pojava *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* na krastavcu i dinji u Srbiji. *Zbornik rezimea, XIII Simpozijum sa savetovanjem o zaštiti bilja, Društvo za zaštitu bilja Srbije*, 115-116.
- Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. (2001): *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN., USA, pp. 56-71.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011): MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28, 2731-2739.
- Walcott, R. R., Fessehaie A., Castro, A. C. (2004): Differences in Pathogenicity between two Genetically Distinct Groups of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on Cucurbit Hosts. *Journal of Phytopathology*, 152, 277-285.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., Lane, D. J. (1991): 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology* 173, 697-703.
- Willems, A., Goor, M., Thielemans, S., Gillis, M., Kersters, K. and Ley, J. D. (1992). Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42, 107-119.
- Zitter, T. A., Hopkins, D. L., Thomas, C. E. (1996): *Compendium of Cucurbit Diseases*. The American Phytopathological Society, APS Press, 87 p.
- [http://www.eppo.int/QUARANTINE/Alert\\_List/bacteria/Acidovorax\\_citrulli.htm](http://www.eppo.int/QUARANTINE/Alert_List/bacteria/Acidovorax_citrulli.htm)
- <http://www.geospiza.com>