

УДК: 632.35:635.64:631.544

Оригинален научен труд

Original research paper

***PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *TOMATO* ПРИЧИНИТЕЛ НА
ЧАДЛИВАТА ДАМКАВОСТ КАЈ ЛИСТОВИТЕ И ЗА КРАСТАВОСТ
НА ПЛОДОВИТЕ ОД ДОМАТОТ ВО УСЛОВИ НА ОРАНЖЕРИСКО
ПРОИЗВОДСТВО**

С. Митрев, Ф. Пејчиновски*

КРАТОК ИЗВАДОК

Бактериските карактеристики на девет одбрани изолати (Д-41, Д-42, Д-43, Д-44, Д-45, Д-46, Д-47, Д-48 и Д-49) се проучувани во ова испитување. Изолатите се добиени од заболени растенија и плодови од домати, одгледувани во услови на стакленици во с. Просениково, Струмичко. Првите симптоми кај домати се забележани во почетокот на февруари.

Од испитуваните морфолошки, патогени, биохемиски, физиолошки и одгледувачки одлики, може да се заклучи дека добиените изолати припаѓаат на фитопатогената бактерија *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

Во испитуваната година, штетите што ги предизвика оваа бактерија кај домати изнесуваше околу 10-15%. Оваа бактерија досега не е проучувана и беше непозната како позначаен предизвикувач на патогени промени кај листовите и кај плодовите на домати. Од ова може да се каже дека е релативно нов патоген за многу производители на домати во Република Македонија.

Клучни зборови: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, карактеристики, домати, дамкавост, стакленици.

* Д-р Саша Митрев, Институт за земјоделство, Гоце Делчев бб, 92400 Струмица, Република Македонија.

Д-р Филип Пејчиновски, редовен професор, Земјоделски факултет, 91000 Скопје, Република Македонија.

PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. *TOMATO* THE CAUSAL OF BLACK SPOTS ON LEAVES AND SCABS OF TOMATO FRUITS IN CONDITION OF GREENHOUSE PRODUCTION

S. Mitrev, F. Pejčinovski**

The characteristics of nine selected strains (D-41, D-42, D-43, D-44, D-45, D-46, D-47, D-48 and D-49) were investigated in this study. The strains were isolated from diseased tomato plants and fruits from greenhouse in Prosenikovo village, near Strumica surrounding. The first symptoms on tomato plants were note in the beginning of February.

On the basis of investigated morphological, pathogenic, biochemical, physiological and nutritional characteristics, we could conclude that the mentioned strains belong to the phytopathogenic bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

The losses caused by this pathogen on tomato plants were estimated about 10-15% in the examined year. This bacteria until now examine and unknown as important causal agent of the pathogenic changes of the tomato leaves and fruits, therefore is relatively new for a lot of producers in the region of Republic of Macedonia.

Key words: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, characteristics, tomato, spots, greenhouses.

ВОВЕД

Доматот претставува едно од најзастапените и најзначајните градинарски растенија што се одгледуваат во нашава земја. Ова растение е изложено на напад од поголем борј паразити и штетници. Покрај многубројните различни болести од габно и вирусно потекло и болестите со бактериска природа добиваат сè поголемо значење во намалувањето на приносот на оваа градинарска култура.

Во последно време во светската литература бактеријата *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*bacterial speck*) сè почесто се споменува како една од позначајните причинители на патогени промени кај домотот во услови на оранжериско производство. Патогенот што ја предизвикува црната дамкавост на листовите и ситните темни дамки на плодовите на домотите за прв пат е идентификуван и опишан во

** D-r Saša Mitrev, Institute of Agriculture - Strumica, Goce Delčev bb, 92 400 Strumica, Republic of Macedonia

Dr Filip Pejčinovski, Full Professor Faculty of Agruculture, 91 000 Skopje, Republic of Macedonia.

Тајван и САД во 1933 год. (J o n e s et al., 1993). Долго време паразитот бил од помало економско значење, додека во последниве десет години се зголемува бројот на извештаите за сè поголемото присуство и значење на овој паразит.

P. s. pv. tomato денес е космополитски паразит и е застапен секаде каде се одгледуваат доматиите. Според некои автори (S m i t h et al., 1988; J o n e s et al., 1993; A r s e n i j e v i ć, 1988), по своето економско значење меѓу фитопатогените бактерии што го напаѓаат домотот овој паразит се наоѓа веднаш по *Hanthomonas campestris pv. vesicatoria*. Во СФРЈ имаше одредени испитувања од страна на Ш у т и ć, 1955 и A р с е н и j е в и ć, 1981; 1993. Во нашава земја овој паразит досега не е испитуван.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

Изолација на бактериите

Карактеристичните симптоми на ова заболување се забележани во одредени стакленици во с. Просениково, во непосредната близина на Струмица. Погодните климатски услови во стаклениците во текот на февруари, високата релативна влажност на воздухот и температура од 18-24°C, многу поволно влијаеја на развојот на заболувањето. Изолациите се извршени од заболените лисни дршки, стеблото и плодовите на доматиите. Како подлога е користена хранлива месопептонска подлога збогатена со 5% сахароза (NAS) (L e l l i o t t et al., 1987). По два-три дена, развиените одделни колонии се прифатени на коса хранлива подлога (NA) и се чуваа во фрижидер на 4°C.

Морфолошки одлики

Боењето по Грам е одреден со реакција на бактериите во 3% КОН. Обликот и подвижноста на бактериите се одредени со помош на светлосен микроскоп, објектив 100x/1.30 (A r s e n i j e v i ć, 1988).

Фитопатогени одлики

Патогеноста на добиените изолатите е проверена на неколку начини: со појава на хиперсензибилна реакција на листовите од тутунот; со инјектирање на бактериска суспензија во листовите на домотот и пиперката; со прскање на бактериската суспензија на младите растенија од домотот; со увод од игла на неколку места во плодовите, лисните дршки и стеблото на доматиите; со увод од игла на неколку места во плодовите од пиперката, лимонот и на зелените плодови од: вишна, јаболко, круша и слива и со увод на неколку места на леторастите од: праска, круша и јаболко. Концентрацијата на суспензијата изнесуваше околу 10^7 k/ml. При проверката на патогеноста се користени методите на работа опишани по A r s e n i j e v i ć, 1981; 1988;) и S a e t t l e r et al., 1995. За секој изолат се користени по

три растенија и по три плодови што се чуваа 36 часа во влажна комора, а потоа се одржуваа на собна температура. Појавата на симптомите е регистрирана во наредните 5 до 7 дена.

Биохемиско-физиолошки и одгледувачки одлики

Како прелиминарени тестови за сите изолати е користен ЛОПАТ-тестот и создавањето на флуоресцентен пигмент на кинг б подлога. Во понатамошните истражувања се применети следните тестови: О/Ф-тест на гликозата, редуција на нитратите, пектолитичка активност на плочките од компир, активност на фосфатазата, фенилаланин-дезаминазата, каталазата, аминокептидазата, уреазата, создавањето на индол, амоњак и H_2S од пептони и цистеин, разлагање на желатин, хидролиза на твин 80, ескулин и скроб, развој во 5% и 7% NaCl, развој на 37°C и 41°C и стварање на киселини од повеќе јаглехидрати. При развојот на изолатите на различни хранливи подлоги се набљудувани: бојата, големината, пречникот, рабовите и сл. Како подлоги се користени: месопептонска подлога (NA), месопептонска подлога обогатена со 5% сахароза (NAS) и кингова Б подлога (King B), (L Elliott et al., 1987; Klement et al., 1990; Schaad, 1994; Young et al. 1994; Arsenijević, 1981; 1988; 1993).

Како контоли се вклучени неколку бактериски изолати: два изолатата од бактеријата *P.S. pv. syringae* (еден домашен П-150 и еден со потекло од CPJ J-50) и еден изолат (2212) со потекло од Франција.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Симптоми

Патогените промени се јавуваа на стеблото, лисните дршки, листовите и на плодовите. На стеблото и лисните дршки имаше појава на поголеми неправилно распоредени некрози на ткивото, по боја темнокафеави до црни. Некратирани површини се развиваат по површината на ткивото не навлегувајќи во камбиумот и во спроводните садови. Околу вака формираните некрози не се појавуваше хлоротични ореоли како што се појавува кај листовите на доматиите. На листовите во почетокот имаше ситни дамки, 1-3 mm во дијаметар, темнокафеави до црни, со присуство на хлоротичен ореол околу нив. Дамките се неправилно расфрлани по целата површина на листовите, но претежно се групирани кон периферниот дел од лиската. На плодовите на доматиите се забележани многубројни групирани ситни дамки. Дамките се вдлабени во ткивото со темнокафеава до црна боја, ограничени и стеснети со ткивото на плодот.

Два до три дена по засејувањето на хранлива подлога во петриевите кутии, развиени се поголем број на бактериски колонии, со бела до крем боја. Од чистите бактериски колонии одбрани се девет изолати (Д-41, Д-42, Д-43, Д-44, Д-45, Д-46, Д-47, Д-48 и Д-49) што се вклучени во понатамошните испитувања.

Морфолошки одлики

Добиените изолати по Gram се бојат негативно, имаат стапичест облик и се подвижни.

Патогени одлики

Сите девет изолати од проучуваната бактерија предизвикуваа брзи хиперсензибилни реакции кај листовите од тутунот.

При инјектирањето на бактериската суспензијата, со помош на медицински шприц, во листовите од домотот и пиперката, реакциите беа многу интензивни. Околу местата на убодите за 2-4 дена се јавуваа некротични промени што постепено се прошируваа и го зафаќаа целиот лист. Инокулираните листови потполно некротираа и изумираа. Нанесената бактериска суспензија со убод од игла во лисните дршки и во стеблото на домотите предизвикуваше промена во бојата и се манифестираа јасни некрози. Некрозите беа со црна боја, во почетокот распоредени околу убодите и за 3-4 дена се прошируваа и зафаќаа поголем дел од ткивото. На крајот целото растеније над убодот се прекршуваше и изумираше.

Инокулираните плодови од домотот реагираа на нанесената бактериска со игла на тој начин што формираат белкасти дамки околу местото на инокулација, со црна боја на местото од убодот. Плодовите од пиперката не реагираа на извршените вештачки инокулации.

При прскањето на бактериската суспензија на тест-растенијата од домотот, за неколку дена се јавуваа карактеристични ситни црни дамки по листовите, чии број постепено се зголемуваа и се среќаваа по целата лисна површина на инокулираните растенија.

Леторастите на крушата, јаболкото и праската не реагираа на нанесената бактериска суспензија, исто како и зелените плодови од: вишна, јаболко, круша и слива, како и плодот од лимонот. Контролните изолати од *P.s. pv. syringae* (П-150 и J-50) предизвикуваа јасни некрози и пропаѓање на овошните тест растенија и плодови.

Одгледувачки одлики

По три дена развој на месопептонска хранлива подлога (NA) на 28°C, испитуваните изолати имаа 2-3 mm колонии во пречник, бела до крем боја, неиспапчени, сјајни, со цели и рамни рабови и правилен облик. Кај месопептонската подлога, обогатена со 5% сахароза (NAS), колониите имаа големина од 4-5 mm во дијаметар, крем боја, испапчени, леван тип, со рамни рабови и правилна форма. На кинговата Б подлога (King B) колониите имаа големина од 3-4 mm во пречник, рамни, неиспапчени и создава флуоресцентен пигмент.

Бактериски одлики

Резултатите од биохемиско-физиолошките и одгледувачките одлики, како и користењето на различните јаглехидрати се прикажани во Таб. 1.

Таб. 1. - Биохемиско-физиолошки и одгледувачки карактеристики на домашните изолати споредени со контролните изолати од странство

Tab. 1. - Biochemical, physiological and nutritional characteristics of domestic strains compared with control foreign strains

Карактеристики Characteristics	P.s. pv. tomato		1	2	3
	Изолати Strains*	Контроли Controls**			
1	2	3	Развој на: 37°C Growth at 37°C 41°C Growth at 41°C	-	-
ЛОПАТ тестови-OPAT tests:	(+ - - - +)	(+ - - - +)	Толерантност спрема - Tolerance of: 5% NaCl 7% NaCl	-	-
Реакција по Грам-Gram reaction	-	-	Активност на - Activity of: уреаза-urease каталаза-catalase фосфатаза-phosphatase фенилаланиндезиминаза phenylalaninaminase лецитиназа-lecithinase аминопептидаза-aminopeptidase	-	-
О/Ф тест на глюкоза-O/F on glucose	0	0	Пектолитичка активност: pH ₅ Pectolytic activity	-	-
Редуција на нитратите Nitrate reduction	-	-		-	-
Создавање на: - Production of: флуоресцент пир.- Fluorescent pig. H ₂ S од цистеин - H ₂ S from cysteine H ₂ S од пептони - H ₂ S from peptone NH ₃ индол indole	+ - - - -	+ - - - -		-	-
Хидролиза на - Hydrolysis of: твин 80 - tween 80 желатин - gelatin ескулин - aesculin скроб - starch	- + + -	- + + -		-	-

+ = позитивна реакција - positive reaction

- = негативна реакција - negative reaction

0 = наши изолати Our strains: Д-41 Д-42, Д-43, Д-44, Д-45, Д-46, Д-47, Д-48 и Д-49.

** Карактеристики на бактериите што се опишани во литературата controls from literature.

V = вариабилна реакција - variable reaction

O = оксидативен метаболизам - oxidative metabolism

Карактеристики Characteristics	P.s. pv. <i>tomato</i>				
	Изолати Strains*	Контроли Controls**			
1	2	3			
Користење на јаглехидратите; Carbon compounds utilization: Д (+) глюкоза-D (+) glucose метил- α -D-глицозид methyl- α -D-glucosid Д (-) фруктоза - D (-) fructose рафиноза - rafinose сахароза - sucrose Л (+) арабиноза - L (+) arabinose Д (+) киселина - D (+) xylose Л (+) рамноза - L (+) rhamnose Д (-) манитол - D (-) mannitol Д (+) галактоза - D (+) galactose дулцит - dulcitol Д (+) целобиоза - D (+) celobiose Д (+) трохалоза - D (+) trehalose α -лактоза - α -lactose декстрин - dextrin	+	+			- + - - + + + + - + + - - - - -
			ДЛ лактат-DL lactate Д (-) тартарат-tartarate Л (+) тартарат-tartarate еритритол-erythritol сорбитол-sorbitol глицерол-glycerol ескулин-aesculin скроб-starch		- + - - + + + -
			Осетливост на стрептомицинсулфат Sensitivity to streptomincinsulfat CuSO ₄	V +	+ +

+ = позитивна реакција - positive reaction
 - = негативна реакција - negative reaction
 * Наши изолати Our strains: Д-41 Д-42, Д-43, Д-44, Д-45, Д-46, Д-47, Д-48 и Д-49.
 ** Карактеристики на бактериите што се спикани во литературата controls from literature.

V = варибилна реакција - variable reaction

O = оксидативен метаболизам - oxidative metabolism

Врз основа на бројните тестови за потврдување на патогеноста на изолатите, резултатите од одгледувачките одлики, биохемиско-физиолошките тестови и користењето на јаглехидратите, укажаа дека се работи за бактеријата *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Бактериските изолати не покажаа патогеност на зелените плодови и на леторастите од овошките, како и на плодовите од лимонот, со што ова бактерија се разликува од *P.s.* pv. *syringae*.

Во Македонија домотот како градинарско растение е на првото место во однос на површините што ги зазема на отворено, во пластеници и стакленици. Според тоа и економското значење што го има кај производителите е мошне големо (Ст. год. 1994, на РМ).

Во нашава земја домотот го напаѓаат голем број на штетници и паразити во текот на целата вегетација, при сите три начини на одгледување. Од паразитите, секако по економските штети што ги предизвикуваат, најзначајни се габите, но во последно сè позначајно е присуството на заболувања што имаат бактериска природа (М и Т-р е в, 1994, 1996).

Во Македонија фитопатогената бактерија *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* досега не е лабораториски потврдена и не е проучувана нејзината природа. Во нашево испитување се проучени 9 бактериски изолати, добиени од стеблото, лисните дршки, листовите и плодовите на домотите. Изолатите се одликуваа со изразена агресивност и вирулентност при испитувањето на патогените својства кај домотот. Покрај изразената патогеност при вештачките инокулации кај домотот, изолатите покажуваа и јасни хиперсензибилен реакции кај листовите од тутунот.

Врз основа на нашите согледувања од теренот, потребно е да се посвети поголемо внимание на овој патоген. Според наша проценка, може да се каже дека во испитуваниот стакленик, како резултат на нападот од бактерија *P.s.* pv. *tomato*, приносот е намален од 10 до 15%.

Треба да се има предвид дека во последно време во многу земји во светот присуството на овој патоген претставува сè позначаен причинител во намалувањето на приносот кај домотите, особено кај домотите одгледувани под оранжери.

Начините за сузбивање на овој патоген се дадени од повеќе истражувачи, како што е *Simone*, 1994 и др. Неопходно е преземање на понатамошни испитувања, во смисла на изнаоѓање на адекватни мерки и примена на потврдените искуства од светот за успешно сузбивање на оваа фитопатогена бактерија во нашите производни услови.

ЗАКЛУЧОЦИ

Во испитувањето се вклучени девет бактериски изолати што се добиени при изолациите од заболени листови и плодови од домати. Доматите се одгледувани во текот на зимата во услови на оранжерии, во близината на Струмица.

Врз основа на добиените резултати од извршените лабораториски тестови за потврдување на патогеноста, одгледувачките и биохемиско-физиолошките карактеристики на изолатите може да се заклучи дека се работи за бактеријата *Pseudomonas syringae* *pv. tomato*.

Добиените резултати покажуваат дека нема некои позначајни разлики меѓу бактериските карактеристики на домашните изолати и контролните изолати од странство.

Врз основа на нашите согледувања од теренот, потребно е да се посвети поголемо внимание на овој патоген. Потребно е да се има предвид дека во последно време во многу земји овој патоген претставува сè позначаен фактор во намалувањето на приносот кај домати, особено кај домати одгледувани во услови на оранжерии.

Проучуваната бактерија не е многу позната меѓу производителите на домати во Република Македонија.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arsenijević M. 1981 Etiological Investigations of the bacterial speck and rot of tomato. *Plant Protection*, 157:293-305, Beograd.
2. Arsenijević M., Jovanović O. 1993: *Pseudomonas syringae* *pv. tomato* parazit rasada paradajza. *Zaštita bilja*, 203:73-83.
3. Arsenijević M. 1988. Bakterioze biljaka. Naučna knjiga, Beograd.
4. Jones J. B., Stall R. E. and Zitter T. A. 1993. *Compendium of Tomato Diseases*. APS PRESS, The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
5. Klement Z., Rudolph K. and Sands D. C. 1990 *Methods in Phytobacteriology*. Akademiai Kiado, Budapest 1990.
6. Lelliott R. A. and Stead D. E. 1987, *Methods for the Diagnosis of Bacterial Disease of Plants* William Clowes Limited, Baccles and London.
7. Митрев, С. 1994. *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* (Smith 1910) Jensen 1934 како причинител на бактерискиот рак и венењето на домати во Стумичкиот регион. Зборник на трудови, XIX Советување за заштита на растенијата, Охрид.
8. Митрев, С. 1996. *Pseudomonas viridiflava* the causal of the pathogenic changes by the tomato fruits. Balkanski kongres za povrće. Juni, 1996, Beograd.
9. Saettler A. W., Schaad, N. W. and Roth D. A. 1995. *Detection of Bacteria in Seed*. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.

10. Schaad N. W. 1994. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
11. Simone G. 1994. Disease Control in Tomato (*Lycopersicon esculentum*). FAIRS Disc 10. University of Florida. Fact Sheet PP-117; August 1994.
12. Smith, I.M., Dunez, J., Lelliott, R. A., Phillips, D.H. and Archer, S.A. 1988. European Handbook of Plant Diseases. Blackwell Scientific publications. 136-199. Oxford.
13. Статистички годишник на Република Македонија. Завод за статистика - Скопје
14. Šutić D. 1955. Bakterioze crvenog patlidzana. Institut za zaštitu bilja, Beograd. Doktorska disertacija.
15. Young J.M. and Triggs C.M. 1994. Evaluation of determinative tests for pathovars of *Pseudomonas syringae* van Hall 1902. Journal of Applied Bacteriology, 77, 195-207.