

РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА  
МИНИСТЕРСТВО ЗА НАУКА

**ЗАВРШЕН ИЗВЕШТАЈ  
ЗА НАУЧНОИСТРАЖУВАЧКИ ПРОЕКТ  
Образец ОБ-3**

**ШИФРА НА ПРОЕКТОТ:** 40140295

**НАСЛОВ НА ПРОЕКТОТ:**

Проучување на причинителите на бактериските заболувања кај пиперката  
во струмичкиот регион.

**ГЛАВЕН ИСТРАЖУВАЧ:** ФИЛИП ПЕЈЧИНОВСКИ

**ИНСТИТУЦИЈА:** ИНСТИТУТ ЗА ЗЕМЈОДЕЛСТВО СТРУМИЦА

**ТРАЕЊЕ НА ПРОЕКТОТ:** од: 01/01/95  
до: 31/12/97

**БРОЈ НА ДОГОВОР:** 03 - 476 / 1 од : 11. 12. 1995 година

**ИЗВЕШТАЈНА ГОДИНА:** 1995/97

**ДАТУМ НА ПОДНЕСУВАЊЕ НА ИЗВЕШТАЈОТ:** 10.12.1997 год.

---

Овој образец се пополнува во 3 копии и се доставува до министерството за наука

**1. УЧЕСНИЦИ ВО РЕАЛИЗАЦИЈАТА НА ПРОЕКТОТ  
(Име и презиме, научно, наставно-научно звање, матична институција)**

**а) Главен истражувач**

Име и презиме:	Проф Д-р Филип Пејчиновски
Научно/наставно-научно звање:	Редовен професор
Установа:	Земјоделски факултет Скопје

**б) Соработници истражувачи**

- |                   |                   |                               |
|-------------------|-------------------|-------------------------------|
| 1. Митрев Саша    | асистент          | Земјоделски институт-Струмица |
| 2. Васил Глигоров | научен соработник | Министерство за земјоделие    |
| 3. Душан Спасов   | помлад асистент   | Земјоделски институт-Струмица |

**б) Соработници - млади истражувачи**

- |                   |                 |                               |
|-------------------|-----------------|-------------------------------|
| 1. Лилјана Гудева | помлад асистент | Земјоделски институт-Струмица |
|-------------------|-----------------|-------------------------------|

**2. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО СОДРЖАНИ ВО ПРЕДЛОГ -  
ПРОЕКТОТ:**

Пиперката (*Capsicum annum* L.) е едно од најквалитетните и едно од најценетите градинарски растенија што се одгледува во нашата држава. Во Република Македонија вкупните површини под пиперка се движат околу 9.000 ха, од кои повеќето од половината се наоѓат во Струмичкиот реон. Просечениот принос изнесува приближно 12.000 кг/ха (ст. год. 1994 на Р.М.).

Бактериите како причинители на болести кај пиперката се познати од поодамна и доста се проучувани во светот насекаде каде што се одгледува ова растение. Според многу истакнати истражувачи во светот како што се L e l l i o t t i S t e a d (1987), K l e m e n t e t a l . (1990), A r s e n i j e v i ć (1980, 1988, 1992), B o u z a r e t a l . (1994), S t a l l e t a l . (1984), S m i t h e t a l . (1986) др. како позначајни патогени бактерии кои ја напаѓаат пиперката се: *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* и *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

Со ова проучување предвидено е да се одредат фитопатогените бактерии кои ја напаѓаат пиперката во Струмичкиот производен реон. Исто така ќе се одреди и нивното влијание во одгледувањето на пиперката, намалувањето на приносот, влијанието на климатските фактори врз патогенезата, ќе се потврдат биохемиско-физиолошките, одгледувачките, патогените и серолошките одлики на бактериите кои се јавуваат по пиперката како и тие да се споредат со карактеристики на бактериите од други производни подрачја.

Познавањето на точните причинителите на болестите кај пиперката, ќе допринесе за правилна и навремена заштита на пиперката од нив.

### **3. ОЧЕКУВАНИ РЕЗУЛТАТИ ОД ИСТРАЖУВАЊЕТО СОДРЖАНИ ВО ПРЕДЛОГ-ПРОЕКТОТ:**

Од предвидените истражувања се очекува да се потврдат и идентификуват бактерии како причинители на болести во струмичкиот регион. Ќе се одредат патогените, одгледувачките, биохемиско-физиолошките и серолошките одлики, како и генетските одлики и расната припадност на одредени бактериски изолати.

Со точната идентификација на поважните причинители на болестите ќе се знае и примената на соодветни мерки за нивно сузбивање.

Со овие испитувања може да се потврди и евентуално присуство на нови досега непроучени патовари, раси или биотипови на одредени бактерии, кои досега не се регистрирани, а се карактеристични за нашето подрачје.

Испитувањето ќе допринесе за запознавање на пошироката научна и стручна јавност со карактеристиките на патогените бактерии кај пиперката во Струмичко и Македонија.

Воедно со реализацијата на овој проект се предвидува и афирмација на фитопатолошките истражувања и фитобактериологијата како нејзин составен дел, во Македонија, како научна област со посебно значење во земјоделството.

### **4. ОСВРТ НА ОПРАВДАНОСТА НА ИСТРАЖУВАЊЕТО ВО ПОГЛЕД НА ПОСТИГНУВАЊЕТО НА ДЕФИНИРАНИТЕ ЦЕЛИ И ОЧЕКУВАНИТЕ РЕЗУЛТАТИ СОДРЖАНИ ВО ПРЕДЛОГ-ПРОЕКТОТ:**

Во текот на предвиденото истражување се остварени сите очекувани резултати. Потврдени се и идентификувани бактериите како причинители на болести во повеќето реони во Струмичко.

Испитани се:

- патогените, биохемиско-физиолошките, одгледувачките и серолошките карактеристики на бактериските изолати од трите групи: *E.c. subsp carotovora*, *P.s. pv. syringae* и *X.c. pv. vesicatoria*.

- генетските карактеристики на *Pseudomonas syringae pv. syringae* со помош на ДНК/ДНК хибридизација (Испитувањата се извршени во соработка со Д-р Луис Гардан, од Институтот за растителна патологија во Анжерс, Франција,

- одредени се расите на бактеријата *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*.

Познавањето на точната природата на бактериите причинители на болестите кај пиперката ќе допринесе за поефикасно нивно сузбивање, зголемување на приносот и допринос во заштитата на животната средина од неадекватно и непотребно третирање на растенијата со хемиски средства. Ова ја оправдува причината за преземањето на ова истражување.

## 5. ДЕТАЛЕН ИЗВЕШТАЈ ЗА НАУЧНОИСТРАЖУВАЧКИОТ ПРОЕКТ:

Во текот на летниот период од производните реони во Струмичко, собрани се поголем број на растенија со карактеристичните симптоми на бактериските заболувања. Бактериските чисти култури се изолирани воглавно од листовите и плодовите од растенијата каде имаше појава на лисна дамкавост и влажно гниење.

Засеаните Петриеви кутии се чувани 2-4 дена во термостат на 27°C. Карактеристичните колонии прифаќани се на коса хранлива подлога (NA или YDCA) со помош на бактериска еза и се инкубирани во текот на 24 часа во термостат при 27°C. Изолатите се чувани за подолг временски период во фрижидер на 4°C.

Сите припремени хранливи подлоги и прибор за работа се стерилизирани во автоклав на 121°C во текот на 15 минути.

### Морфолошки одлики

Боењето по Gram е потврдено со реакцијата на бактериите во 3% KOH, подвижноста на бактериите е набљудувана со помош на светлосен микроскоп (објектив 100x/1.30), додека обликот и присуството на флагелите со помош на електронски микроскоп. За електронска микроскопија се користени 24 часа стари бактериски изолати. Бактериите се боени со ураниумацетат.

### Патогени одлики на испитуваните изолати

Патогените одлики на добиените изолати се испитани на неколку начини, со употреба на бактериска суспензија во концентрација од  $10^7$  клетки/мл:

- предизвикување на хиперсензибилни реакции со ињектирање на бактериска суспензија во листовите од тутунот (*Nicotiana tabacum*) и малоката (*Pelargonium zonale*) со помош на медицински шприц;

- со инокулација на растенијата од пиперка и домати на неколку начини. Листовите се инокулирани со нанесување на бактериска суспензија со медицински шприц, со прскање на претходно повредени и на неповредени листови. Исто така извршено е инокулирање на растенијата со убод со игла на неколку места во лисната дршка и во стеблото. Растенијата од пиперка се од сортите куртовска капија, златен медал и рано калифорниско чудо, а доматиот од сортата балка. Растенијата се одгледувани во природни и нонтролирани услови. На две недели по расадувањето во саксии, кога нивната височина изнесува 20-25см, извршена е инокулација на растенијата.

- патогеноста е проверена и кај незозрели плодови од домати и пиперка, од наведените сорти. За детерминација на *P.s. pv. syringae* патогеноста е проверена и кај зелени плодови од ковчести овошни видови и лимон. Инокулацијата е извршена со нанесување на капки од бактериската суспензија со помош на игла, на по три места кај секој плод. Инокулираните плодови се чувани во влажна комора, при собна температура од приближно 22°C, а резултатите се читувани после: 3, 5 и 7 дена.

### Развој на различни хранливи подлоги

Одгледувачките одлики на добиените изолати се испитувани на неколку подлоги кои се користат доста во фитобактериологијата, како што се:

- 1) Стандардна месопептонска (NA) подлога;
- 2) Модифицирана подлога со екстракт од квасец и декстроза (YDCA);
- 3) Месопептонска подлога обогатена со 5% сахароза (NAS);
- 4) Кингова подлога Б (**King B**) (Arsenijevi}, 1988, Klement et al., 1990).
- 5) Чепови од компир (за изолатите од *Xanthomonas sp.*) (Arsenijevi}, 1988);
- 6) Подлога со 0,1 и 0,02% трифенилтетразолиум хлорид - TTC (за изолатите од *Xanthomonas sp.*) (Arsenijevi}, 1988, Klement et al., 1990);
- 7) Подлога со стрептомицин сулфат и бакар сулфат (за изолатите од *Pseudomonas syringae* и *Xanthomonas sp.*) (Klement et al., 1990);

За секој изолат користени се по три стаклени Петриеви кутии од секоја посебна подлога. После три дена инкубација во термостат на 27°C регистриран е: развојот, обликот, бојата, провидноста, конзистенцијата, изгледот на ивиците, големината, слузавоста на колониите и сл.

### Биохемиско-физиолошки и одгледувачки одлики

Во овие истражувања користени се методите опишани по Arsenijevi} (1988), Lelliott et al. (1987), Klement et al. (1990) и Schaad (1994) за следните тестови: О/Ф-тестот на гликозата, редукација на нитратите, активност на оксидазата, фосфатазата, фенилаланиндезаминазата, каталазата, лецитиназата, аминокептидазата уреазата и пектиназата, создавање на индол, H<sub>2</sub>S од цистеин и пептони, како и создавање на леван, амоњак и флуоресцентен пигмент на Кинг Б подлога. Хидролиза на желатинот, твин 80, ескулинот и скробот, развој во 5% и 7% NaCl, развој на 37°C и 41°C, дехидролиза на аргининот, формирање на редукациони супстанции од сахарозата и стварање на киселини од следните јаглехидрати: лактоза, Д(-) фруктоза, Д(+)гликоза, Д(+)галактоза, рафиноза, сахароза, Д(+)целобиоза, Д(-)тартарат, Л(+)тартарат, метил- $\alpha$ -Д-глукозид, Д(+)ксилоза, Л(+)рамноза, Л(+)арабиноза, Д(+)трехалоза, еритритол, сорбитол, глицерол, Д(-)манитол, дулцит, декстрин, ескулин и скроб. Како контроли се вклучени бактерии кои се јавуваат по пиперката и чија припадност е детерминирана, како што се *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* од CPJ и три раси од *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* со потекло од САД.

### Серолошки одлики на испитуваните изолати

За добивање на антисерум користена е методологијата по Klement et al. (1990). Како антигени употребени се бактериите: 93-1 *X.c.* pv. *vesicatoria* од САД, P-2090 *E.c.* subsp. *caratovora* од CPJ и П-150 *P.s.* pv. *syringae* од Р. Македонија.

Приматели на бактериските антигени се зајци околу пет- шест месеци старост и за секој изолат користен е по еден зајак. Инокулациите се изведени со цели бактериски клетки, термички третирани на 60°C, предизвикувајќи создавање на ЛПС (anti-cell wall lipopolysaccharide) антитета.

Добиените серуми се користени во серолошките тестови за детерминација на изолираните бактерии. Аглутинацијата на микроскопска плочка и во епрувети се користени како диференцијални тестови за одбирање на автентични култури од бактериите, пред да се вклучени во понатамошните испитувања.

### **ДНК/ДНК хибридизација**

Хибридизацијата ДНК/ДНК овозможува увид во односите што постојат помеѓу полинуклеотидните секвенци на две ДНК што произлегуваат од различни бактерии. ДНК/ДНК хибридизацијата се користи како метод во таксономијата на фитопатогените бактерии, за нивно диференцирање и до ниво на специес, на основа на структурата на нивната ДНК во хромозомите. Ова метода дава забележителни резултати во таксономијата на фитопатогените бактерии од родот *Pseudomonas*. На основа на поновите испитувања на Gardan et al. (1995) патоварите на бактеријата *Pseudomonas syringae* групирани се во девет ДНК/ДНК хомоложни групи.

Во ова испитување користен е метод на хибридизација на ДНК/ДНК со нуклеаза S1, опишана по Crosa et al. (1973), а модифициран по метод по Grimon et al. (1980). Изворната ДНК од проучуваната бактерија третирана е со нуклеотиди означени со тритиум и за хибридизацијата на ДНК е користена S1 нуклеаза-трихлорацетик процедура. Температурата на реасоцијацијата на молекулите е 70°C.

Испитувањата се извршени на два бактериски изолата во текот на 1997 година, во Институтот за растителна патологија во Анжерс, Франција, во лабораторијата на д-р Luis Gardan.

### **Климатски фактори**

За одредување на значењето на климатските услови врз патогенезата на испитуваните бактериски заболувања мерени се средно месечната температура, месечната сума на врнежи и средната релативна влажност на воздухот. Резултатите ги опфаќаат месеците мај, јуни, јули, август и септември, во текот на 1994, 1995 и 1996 година. Резултатите се однесуваат на струмичката котлина.

Од извршените изоляции во текот на неколкуте години добиени се околу 300 бактериски култури за кои се изведени основните тестови за детерминација. Од овие 300 бактериски изолати за понатамошните испитувања одбрани се 34 домашни, а за нивно споредување користени се три изолати (93-1; E-3 и 71-21) од Проф. д-р Robert Stall, при универзитетот во Флорида - САД и три изолати (P-2026; P-2090 и J-50) од Проф. д-р Момчило Арсенијевиќ, од Земјоделскиот факултет во Нови Сад - СРЈ, на кои се применети целокупните биохемиско-физиолошки, одгледувачки, патогени и серолошки тестови.

Според резултатите кои се добиени од испитувањата на карактеристиките, патогените бактерии кои се јавуваат кај пиперката се групирани во три групи. Во првата група спаѓаат изолатите кои по своите карактеристики се доближуваат до патогените бактерии од видот *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, во втората група изолатите слични со бактеријата *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* и во третата

група изолатите чии што својства се доближуваат на бактерискиот вид *Erwinia carotovora* subsp *carotovora*.

### **Прва група на изолати - *Pseudomonas syringae* pv. *syringae***

Во текот на пролетниот период, посебно во почетокот на месец мај, кај расадот од пиперката во топлите леи се јавуваат патогени промени во вид на дамки и изумирање на расадот. Дамките во почетокот се ситни, влажни, со мрсен изглед, кои покасно се прошируваат и добиваат кафеава до црна боја. Дамките во повеќето случаи се со различна форма и големина, се спојуваат помеѓу себе, опфаќајќи поголема површина од лисјата кои се деформираат и сушат. За кратко време се јавуваат дамки и по лисните дршки, стебленцето и на крај целото растение изумира. Овие промени се регистрирани во услови на зголемена влажност во топлите леи, како резултат на обилно залевање и недоволно проветрување, при температура од 25-30°C. Во повеќе локалитети во околината на Струмица по пиперката се регистрирани карактеристичните симптоми од оваа болест.

При изолациите од листовите од заболениот расад на месопептонска хранлива подлога обогатена со 5% сахароза, добиени се бројни бели, леван тип, бактериски колонии. Во понатамошните испитувања вклучени се бактериските изолати: П-150, П-151, П-152, П-153, П-154, П-155, П-156, П-221, П-222, П-223, П-224 и контролните бактерии P-1/1 и J-50. Испитаните морфолошки одлики покажаа дека бактериите имаат стапичест облик со заоблени краеве, димензии 0,6 x 1,7µm, подвижни, лофотрих распоред на една или неколку флагели и по Грам се бојат негативно.

### **Патогени карактеристики**

Кај листовите од тутунот и молоката, изолатите покажаа јасни хиперсензибилни реакции кои се манифестираа до 24 часа од инокулацијата.

Растенијата од пиперката реагираат интензивно при инокулацијата на листовите со помош на медицински шприц. Во почетокот околу убодите се јавуваше промена на бојата во потемна, покасно листовите го губеа тургорот, се повиткуваа и за четири до пет дена целосно изумираа.

Младите растенија во расадот брзо реагираа на нанесената бактериска суспензија со прскање, при што по листовите се јавуваа симптоми како и во природни услови и растенијата целосно изумираа за неколку дена.

Зелените плодови од пиперката и домотот, на нанесената бактериска суспензија реагираат брзо, манифестирајќи во почетокот промена на бојата во потемна, вдлабнување на ткивото, постепено некротирање и спојување на убодите помеѓу себе. Промената на бојата околу убодите во пречник од 1-2 см се манифестира за два до три дена, ширејќи се постепено на целиот плод и кој наредните денови потполно изумира.

Инокулираните зелени плодови од овошките: слива, вишна, цреша, крушка, за три дена од инокулацијата некротираат, манифестирајќи јасни некрози околу убодите, менувајќи ја бојата во темнокафеава до црна кои постепено се шират и целиот плод пропаѓа.

Плодовите од лимонот на нанесената бактериска суспензија, реагираат со појава на некрози околу убодите, со темнокафеава до црна боја, вдлабени, во пречник околу еден см за 2-3 дена, со тенденција на понатамошното нивно

ширење. На крајот дамките помеѓу себе се спојуваат и целата површина на плодот некротира и пропаѓа.

### **Биохемиски, физиолошки и одгледувачки одлики**

При испитувањето на биохемиско-физиолошките и одгледувачките одлики ги покажаа следните карактеристики: при LOPAT тестовите, на подлогата обогатена со 5% сахароза (NAS) создаваат леван, оксидазно се негативни и имаат негативен метаболизам на аргининот, не ги разлагаат плочките од компир и кај тутунот предизвикуваат хиперсензибилна реакција. На Кинг Б подлогата изолатите создават јасен флуоресцентен пигмент, што значи се типични преставници на флуоресцентната група Ia од родот *Pseudomonas* (+ - - - +).

Испитуваните изолати засеани на месопептонска подлога (NA), после три дена развој на 27°C, имаат бела до крем боја на колониите, со пречник од 2-3 мм, неиспупчени, сјајни, со цели и рамни ивици и правилен облик. Кај месопептонската подлога обогатена со 5% сахароза (NAS), колониите се со кремаста боја, до 5 мм во пречник, крупни, испапчени, леван тип, со правилни ивици и облик. На Кинг Б подлога колониите се расплоснати над 5 мм во пречник, во форма на лимон, бојата на подлогата ја менуваат во зеленкаста, неиспапчени се и имаат зрнеста структура. На подлогата со калциум карбонат (YDCA) колониите имаат слаб развој, со таласести ивици и малку испапчени.

Од другите карактеристики значајно е дека создаваат каталаза, фосфатаза, аминоксидидаза, не и уреаза, фенилаланиндезаминаза и лецитиназа. Не вршат редукција на нитратите, не создаваат индол и H<sub>2</sub>S, не го хидролизираат скробот и твин 80, го хидролизираат ескулинот, додека реакцијата на желатинот е варијабилна. Не се развиваат во 5% и 7% NaCl, немаат развој на 35°C и 41°C. Показуваат оксидативен метаболизам кај О/Ф тестот на гликозата (таб. 2).

Ствараат киселини без гас од следните јаглехидрати: Д(+)-гликоза, Д(-)-фруктоза, Д(+)-ксилоза, Д(+)-трехалоза, Л(+)-арабиноза, сахароза, Д(-)-тартарат, ескулин, сорбитол, еритритол, глицерол, Д(-)-манитол и ДЛ лактат, додека резултатите се негативни кај: Д(+)-галактоза, α-лактоза, Л(+)-рамноза, рафиноза, Л(+)-тартарат, Д(+)-целобиоза, метил-α-Д-глукозид, дулцит, декстрин и скроб (таб. 3).

### **Серолошки карактеристики**

Серолошките одлики на ова група од бактерии, се испитувани со добиениот антисерум од изолатот на *P.s. pv. syringae* (П-150), со титар од 1: 1280.

Добиените изолати со бела боја на колониите покажаа јасна позитивна реакција на аглутинација на микроскопска плочка и во епрувети. Реакциите се идентични со реакцијата на изолатот од кој е и произведен антисерумот. Овој тест воедно ја покажа и серолошката сродност на нашите изолати со изолатите добиени од странство.

### **ДНК/ДНК хибридизација**

Врз основа на поновите испитувања Gardan et al. (1995) патоварите од бактеријата *Pseudomonas syringae* ги групирале во девет ДНК/ДНК хомологни групи и тоа:



- 1 група: *pv. syringae*                      4 група: *pv. porri*                              7 група: *pv. tagetis*  
 2 група: *pv. savastanoi*                    5 група: *pv. tremae*                            8 група: *pv. avellanae*  
 3 група: *pv. tomato*                        6 група: *pv. viridiflava*                      9 група: *pv. cannabina*

Според добиените резултати од ДНК хибридизацијата кои се прикажани во табела 1, нашите изолати припаѓаат во првата група бактерии од патоварот *syringae*.

Таб. 1. *P.s. pv. syringae*. Резултати од извршената ДНК/ДНК хибридизација

	Изолати	Просечен % на релативно поврзување на ДНК, со маркирана ДНК од изолатот П-150, при 70°C
1.	П-150	100
2.	П-153	99
3.	1392 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. syringae</i>	75
4.	1670 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. savastanoi</i>	55
5.	2212 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. tomato</i>	45
6.	1908 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. porri</i>	39
7.	1694 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. tagetis</i>	47
8.	3204 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. caricapapaye</i>	61
9.	2007 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. viridiflava</i>	29

#### Втора група на изолати - *Xanthomonas campestris* *pv. vesicatoria*

Во текот на летниот период забележани се по листовите од пиперката патогени промени во вид на дамкавост, особено при услови на зголемена релативна влажност на воздухот и повисоки температури. Патогените промени во вид на дамкавост и различни некрози се забележувани и по плодовите од пиперката, но со значително послаб интензитет отколку кај листовите.

Во почетокот по листовите се забележуваат ситни, влажни или зеленкасто темни и маслени дамки, кои покасно стануваат покрупни, се спојуваат помеѓу себе и ја менуваат бојата до темно кафеава. Дамкавоста се јавува претежно по долните постари листови, а послабо по помладите вршни листови. Во повеќето случаи силно заболените растенија остануваат без листови. Губењето на лисната маса доведува до заостанување на целокупниот развој на растенијата, што најнеповолно се одразува на плодовите. Плодовите остануваат мали, предвремено созреваат и имаат лош квалитет. Наведените промени се манифестираат кај речиси сите одгледувани сорти пиперка како што се: куртовската капија, златениот медал, бабурите и др.

Многу малку се забележани патогени промени по плодовите од пиперката. Симптомите се манифестираат во вид на некротирани дамки и плитки пукнатини, до еден см во должина. Дамките се плутести, како красти, бојата е темно-кафеава и нема ореол околу нив. Поединечните дамки се спојуваат помеѓу себе зафаќајќи поголем дел од плодот, кој не омекнува туку се засушува и останува закржлавен.

Со изолациите извршени на месопептонска хранлива подлога (NA) од листовите и плодовите на пиперката, добиени се мноштво жолти по боја бактериски колонии, ситни, сјајни и со забавен развој.

При проучувањето на морфолошките карактеристики, бактериите ги покажаа следните особини: подвижни се, имаат стапичест облик со заоблени краеве, просечни димензии околу  $0,7 \times 1,4 \mu\text{m}$ , монотрихи и се бојат по Грам негативно.

### **Патогени карактеристики**

Испитуваните изолати предизвикуваат хиперсензибилна реакција по листовите од тутунот за 24 до 36 часа од инокулацијата.

Врз основа на реакциите по растенијата од пиперката изолатите се поделени во две подгрупи. При инокулацијата со помош на медицински шприц кај првата подгрупа од изолати (П-85; П-118; П-125; П-161; П-164; П-165 и П-168;) листовите од пиперката реагираат во текот на 4-5 дена од нанесувањето на бактериската суспензијата со промена на бојата на ткивото околу убодите во потемна, покасно појава на некрози околу 1-2 см во пречник, постепено се шират зафаќајќи поголем дел од листот кој брзо пропаѓа и отпаѓа. Додека кај другата подгрупа од изолати (П-1; П-2; П-5; П-7; П-11; П-131; П-132; П-163 и П-169;) симптомите се појавуваат во текот на 4-5 дена од нанесувањето на бактериската суспензијата, со појава на жолтило околу убодите и ситни некрози кои многу споро се шират и листовите доста бавно пропаѓаат.

При инокулацијата на лисните дршки и стебленцата на пиперката, реакциите се разликуваат помеѓу двете подгрупи на изолати. Кај првата подгрупа изолати симптомите се многу по изразени за разлика од тие кај втората подгрупа. На местото на инокулациите на стеблото, за десетина дена, ткивото некротира, има сиво-кафеава боја и појава на пукнатини кои постепено се шират. Кај лисните дршки ткивото некротира, станува сиво-кафеаво, повеќето некрози прстенесто се спојуваат и листовите се сушат и отпаѓаат.

Реакциите се слични кај двете подгрупи на изолати при нанесувањето на бактериската суспензија со прскалица по површината на неповредените листови, предизвикувајќи ситни некрози, деформации и изобличувања на листовите со различен степен. На повредените листови со убод и нанесување на бактериската суспензија со прскање нема позначајни разлики од претходниот начин на инокулација, дури во повеќето случаи симптомите се послаби или изостануваат.

Плодовите од пиперката на нанесената бактериска суспензија, реагираат за една недела, со појава на ситни некрози околу убодите, во пречник околу 1-2 мм, а бојата на плодот се менува од зелена во црвена.

Инокулираните растенија од домати реагираат слично како и растенијата од пиперката, на различните начини на нанесување на бактериската суспензија и проверување на патогеноста.

### **Одредување на расите од нашите изолати**

Расите од бактеријата *X.c. pv. vesicatoria* се одредувани врз основа на појавата на хиперсензибилна или осетлива реакција на диференцијалните растенија. Како диференцијални растенија користени се сортата пиперка ECW (рано калифорниско чудо) и нејзините линии: ECW-10R; ECW-20R и ECW-30R. Семето за растенијата и методологијата на работа се добиени од Prof. d-r Sally

Miller, од универзитетот во Охајо-САД. Досега се одредени седум раси од ова бактерија кои ја напаѓаат пиперката.

На основа на добиените резултати, може да се констатира дека изолатите добиени во Струмичко припаѓаат воглавно на две раси од бактеријата *X.c. pv. vesicatoria*, раса П0 и раса П2.

#### **Биохемиски, физиолошки и одгледувачки одлики**

Изолатите од оваа бактерија после три до четири дена од засејувањето на хранлива месопептонска подлога (NA), имаат колонии со жолта боја, 1-3 мм во пречник, незначително испапчени, сјајни, со цели и рамни ивици и правилен облик. На месопептонската подлога обогатена со 5% сахароза (NAS), имаат жолти колонии, 3-4 мм во пречник, тркалезни и правилни ивици и воедначени помеѓу себе. На Кинг Б подлога (King B), колониите по боја се жолти, 1-2 мм во пречник, тркалезни, со правилни и рамни ивици, малку провидни и воедначени помеѓу себе. На хранливата подлога со калциум карбонат (YDCA) бактериите се карактеризираат со жолта боја на колониите. Тие имаат слузеста конзистенција, поединечните до 4-5 мм во пречник, светликави, со правилни ивици и облик и малку испапчени на средината. Постои извесна разлика во слузавоста на поедините изолати, врз основа на што се разликуваа помеѓу себе.

При користење на хранлива месопептонска подлога, во која има трифенил тетразолиум хлорид (ТТС) во концентрации од 0,1% и 0,02%, развојот во целост се инхибираше на подлогата со 0,1% ТТС, додека само на некои изолати имаше многу слаб развој при 0,02% ТТС. Развојот на бактериите се инхибира на подлога со  $\text{CuSO}_4$ , додека развојот на подлога со стрептомицин сулфат се инхибира кај првата група на изолати, а кај втората група тој е слаб. При одгледување на бактериските изолати на чеповите од компир, после три дена колониите се густе и жолти, раширени а ткивото на чеповите омекнува и ивиците се малку заоблени.

Од биохемиско-физиолошките одлики значајно е дека создаваат каталаза, фосфатаза, аминоксидидаза, но не оксидаза, уреаза, лецитиназа и фенилаланиндезаминаза. Не вршат редукција на нитратите, не создават индол, создават  $\text{H}_2\text{S}$  од пептони и од цистин хидролизат, вршат хидролиза на желатинот, ескулинот и на твин 80, но не и на скробот. Изолатите се резвиваат во 5% NaCl и на 35°C, не се резвиваат во 7% NaCl, а доста слабо или не се резвиваат на 41°C. Имаат оксидативен метаболизам кај О/Ф тестот на гликозата и негативен метаболизам на аргининот. Изолатите на подлогата Кинг Б не создаваат флуоресцентен пигмент и не предизвикуваат гниење на плочките од компир (таб. 2).

Испитуваните изолати ствараат киселини од следните јаглехидрати: Д(+) гликоза, Д(-)фруктоза, Д(+)ксилоза, Д(+)галактоза, Л(+)арабиноза, сахароза и ескулин, додека не ствараат од: Д(-)манитол,  $\alpha$ -лактоза, рафиноза, Л(+)рамноза, Д(+) трехалоза, Д(+)целобиоза, метил- $\alpha$ -Д-глукозид, дулцит, декстрин и скроб (таб. 3)

#### **Серолошки карактеристики**

Добиениот антисерум од контролната бактерија *X.c.pv. vesicatoria* (93-1) има титар од 1:2560. Аглутинацијата на тестираните изолати на микроскопска плочка, покажа јасни и воедначени позитивни реакции. Кај аглутинацијата во епрувети сите изолати покажаа позитивна реакција која е идентична со реакцијата на изолатот од кој е и произведен антисерумот. Воедно овој тест ја покажа и серолошката сродност на нашите изолати со изолатите добиени од странство.

### **Трета група на изолати - *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora***

Во текот на летниот период, посебно во текот на месец август и септември, по плодовите од пиперката забележани се патогени промени во вид на влажно гниење. Во почетокот по плодовите се забележуваат ситни, влажни делови од ткивото, кои покасно се прошируваат, така да целиот плод гние и пропаѓа, одавајќи притоа непријатна миризба. При извршените изоляции на хранлива месопептонска подлога (NA) добиени се мноштво од бактериски колонии, бели до креми по боја, ситни и сјајни. Во испитувањето вклучени се бактериските изолати: П-182, П-201, П-202, П-203, П-204, П-208, П-209 и П-210.

При проучувањето на морфолошките карактеристики, бактериите ги покажаа следните особини: подвижни се, имаат стапичест облик со заоблени ивици и по Грам се бојат негативно.

### **Патогени карактеристики**

Одбраните изолати кои се вклучени во понатамошните испитувања се карактеризираат со тоа што хиперсензибилните реакции по листовите од тутунот се варијабилни или во повеќето случаи одсуствува позитивната реакција.

Инокулираните плодови од пиперка и домати на нанесената бактериска суспензија реагираат на начин што во почетокот, за 24 до 48 часа, потемнуваат околу убодите, дажките се шират постепено и стануваат влажни и гнили, а покасно целиот плод омекнува, ослободувајќи карактеристична непријатна миризба. За три до пет дена од плодовите се одвојува течност и целиот плод гние и пропаѓа.

Патогеноста на добиените бактерии е проверена и со предизвикување на влажно гниење на плочките од компир и морков. Површината околу местата на нанесената бактериска суспензија за 24-48 часа омекнува, бојата се менува и целото ткиво се дезорганизира и пропаѓа одавајќи непријатна миризба.

### **Биохемиски, физиолошки и одгледувачки одлики**

На хранливата месопептонска подлога (NA), на која после три до четири дена развој, колониите имаат тркалезен облик и бела до крем боја, 1-3мм во пречник, правилни ивици со благо испапчен профил. Кај месопептонската подлога обогатена со 5% сахароза (NAS), колониите се со крем боја, 2-3 мм во пречник, тркалезни, правилен облик и ивици, малку испапчени, светликави, слузести и изедначени помеѓу себе. На Кинг Б подлогата (**King B**), колониите имаат крем боја, не создаваат флуоресцентен пигмент, 2-4 мм во пречник, малку испапчени, слузести, светликави, тракалезни и со правилни ивици. На хранливата компир декстрозна подлога (PDA) бактериите се карактеризираат со бели до крем боја колонии, 1-3 мм во дијаметар, тракалезни, малку испапчени, светликави и со правилни ивици.

Од биохемиско-физиолошките одлики значајно е дека не создаваат редукциони субстанции од сахарозата, создават каталаза, аминопептидаза, но не оксидаза, уреаза, фенилаланиндезаминаза, лецитиназа и фосфатаза. Вршат редукција на нитратите, не создаваат NH<sub>3</sub> и индол, создават H<sub>2</sub>S од пептони и од цистин хидролизат, вршат хидролиза на ескулинот, желатинот, не на скробот и на твин 80. Имаат развој во 5%, 7% NaCl и на 37°C. Изолатите се одликуваат со ферментативен метаболизам кај О/Ф тестот на гликозата и имаат негативен метаболизам на аргининот (таб. 2).

Испитуваните изолати ствараат киселини од следните јаглехидрати: Д(+) трехалоза,  $\alpha$ -лактоза, сахароза, Д(+)гликоза, Д(-)манитол, Л(+)рамноза, рафиноза, Л(+)арабинозата, Д(+)целобиоза, Д(+)ксилоза, Д(+)галактоза, Д(-)фруктоза и ескулин. Резултатите се негативни кај: метил- $\alpha$ -Д-глукозид, дулцит, декстрин и скроб (таб. 3).

#### **Серолошки карактеристики**

Како и за претходните испитувани бактерии и за овој вид произведен е антисерум од контролната бактерија *E. c. subsp. carotovora* (P-2090), со титар од 1:1280. Тестираните изолати предизвикуваа јасни позитивни реакции на аглутинација на микроскопска плочка, како и аглутинација во епрувети, која беше идентична со реакцијата на контролниот изолат од кој е произведен антисерумот.

#### **Распространетост и економско значење**

Резултатите во ова истражување покажаа дека се присутни три вида на бактерии што ја напаѓаат пиперката во Струмичко. Според проценките од теренот најмногу се распространети бактериите *X.c. pv. vesicatoria* и *E.c. subsp. carotovora*,

Струмичкиот реон како еден од најголемите и најзначајните производни подрачја на пиперка во нашата земја, подетално е проучувано во оваа истражување, во однос на другите реони. Во сите поголеми локалитети околу Струмица, како што се селата Куклиш, Банско, Дабиле, Еднокуќево, во расадот на Институтот за земјоделство, секоја година имаше појава на бактериската дамкавост и изумирање на расадот од пиперката со различен интензитет.

Расадот од сортата пиперка куртовска капија најмногу страда од оваа бактерија во првата половина на месец мај. Симптомите поретко се среќаваат во февруари или март месец по расадот кој е наменет за раното производство во пластеници. На пиперката во поле не се среќаваше присаството на бактеријата *P.s. pv. syringae*.

За штетите од полифагната бактерија *P.s. pv. syringae* не може да се дадат точни проценки, имајќи во предвид дека расадот се произведува претежно на мали површини, во дворови и сл. Може да се каже само дека се јавува секоја година со различен интензитет, предизвикувајќи понекогаш целосно пропаѓање на расадот.

додека *P.s. pv. syringae* се среќаваше во послаб интензитет во Струмичко.

Бактеријата *X.c. pv. vesicatoria*, причинителот на дамкавоста по листовите од пиперката, распространета е во сите производни подрачја на Струмичко. Промените што се јавуваат по листовите се изразени претежно во текот на летниот период, при крајот на јули, во текот на август и септември месец. Во последните неколку години благодарение на зголемените врнежи во текот на летото и погодните температурни услови, појавата на бактериската дамкавост по листовите од пиперката е масовна.

Во текот на горе наведените месеци извршени се голем број на прегледи на растенија од различни делови во Струмичко и од заболните растенија извршени се изоляции и притоа е добиена патогената бактерија *X.c. pv. vesicatoria*.

Лисната дамкавост на пиперката предизвикана од бактеријата *X.c. pv. vesicatoria* се јавуваше на отворено, најмногу во текот на јули и август месец. Штетите кај пиперката од ова фитопатогена бактерија во просек се движат секоја година од 10-20%. Масовната појава на ова заболување во поедини години на некои површини го доведуваше во прашање и целокупниот принос на пиперката.

Ова беше случај во летото 1995 година, во сите производни реони на Струмичко, речиси кај сите сорти на пиперка. Приносот на повеќето површини под куртовска капија значително беше намален во споредба на претходните години. На некои парцели смалувањето на приносот се движеше од 40 и до 80%.

Таб. 2. Биохемиско-физиолошки и одгледувачки карактеристики на изолираните бактерии од пиперката

Карактеристики Characteristics	Бактериски изолати					
	<i>P. s. pv. syringae</i>		<i>X.c. pv. vesicatoria</i>		<i>E.c. subsp. carotovora</i>	
	Изолати Strains	Контроли Controls	Изолати Strains	Контроли Controls	Изолати Strains	Контроли Controls
ЛОПАТ тестови LOPAT tests:	(+ - - - +) Ia	(+ - - - +) Ia	/	/	/	/
Реакција по Грам Gram reaction	-	-	-	-	-	-
Редукција на нитратите Nitrate reduction	-	-	-	-	+	+
О/Ф тест на гликоза OFT on glucose	О	О	О	О	Ф	Ф
Создавање на: Production of: флуоресцентен пиг. Fluorescent pig.	+	+	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S од цистеин H <sub>2</sub> S from cysteine	-	-	+	+	+	+
H <sub>2</sub> S од пептони H <sub>2</sub> S from peptone	-	-	+	+	+	+
NH <sub>3</sub>	НТ	НТ	НТ	НТ	-	-
индол indole	-	-	-	-	-	-
ред. супстанции од сахарозата reducing compounds from sucrose	НТ	НТ	НТ	НТ	-	-
Хидролиза на Hydrolysis of: твин 80 tween 80	-	-	+	+	-	-
желатин gelatin	V	+	+	+	+	+
ескулин aeskulin	+	+	+	+	+	+
скроб starch	-	-	-	-	-	-
Развој на: 35°C Growth at 35°C	-	-	+	+	НТ	НТ
37°C Growth at 37°C	НТ	НТ	НТ	НТ	+	+
41°C Growth at 41°C	-	-	-	-	НТ	НТ
Толерантност према Tolerance of: 5% NaCl	-	-	-	-	+	+
7% NaCl	-	-	-	-	+	+
Развој на подлога со: 0,1% TTC	НТ	НТ	-	-	НТ	НТ
Growth at medium with: 0,02% TTC	НТ	НТ	-	-	НТ	НТ
Активност на Activity of: оксидаза oksidase	-	-	-	-	-	-
уреаза urease	-	-	-	-	-	-
каталаза catalase	+	+	+	+	+	+
фосфатаза phosphatase	+	+	+	+	-	-
фенилаланиндезиминоаза phenylalanindeaminase	-	-	-	-	-	-
лецитиназа lecithinase	-	-	-	-	-	-
аминопептидаза aminopeptidase	+	+	+	+	+	+
пектиназа pektinase	-	-	НТ	НТ	+	+
Осетливост на Sensitivity to: стрептомицинсулфат streptomycinsulfat	+	+	V	+	НТ	НТ
CuSO <sub>4</sub>	+	+	+	+	НТ	НТ
Метаболизам на аргининот Arginine dihydrolase activity	-	-	-	-	-	-
Развој на чепови од компир Growth at potato plugs	НТ	НТ	+	+	НТ	НТ
Гниеење на плочки: Slice rot of:						

компир potato	-	-	-	-	+	+
морков carrot	НТ	НТ	НТ	НТ	+	+

+ = позитивна реакција-**positive reaction**

- = негативна реакција-**negative reaction**

O = оксидативен метаболизам-**oxidative metabolism**

V = варијабилна реакција-**variable reaction**

НТ = не е тестирано-**not tested**

Таб. 3. Користење на јаглехидратите од страна на нашите изолати и споредени со контролните бактерии

Јаглехидрати Carbon compounds	Бактериски изолати					
	<i>P. s. pv. syringae</i>		<i>X.c. pv. vesicatoria</i>		<i>E.c. subsp. carotovora</i>	
	Изолати Strains	Контроли Controls	Изолати Strains	Контроли Controls	Изолати Strains	Контроли Controls
Д(+)-гликоза D(+)-glucose	+	+	+	+	+	+
рафиноза raffinose	-	-	-	-	+	+
Д(-)-фруктоза D(-)-fructose	+	+	+	+	+	+
Л(+)-рамноза L(+)-ramnose	-	-	-	-	+	+
сахароза sucrose	+	+	+	+	+	+
Л(+)-арабиноза L(+)-arabinose	+	+	+	+	+	+
Д(+)-ксилоза D(+)-xylose	+	+	+	+	+	+
метил- $\alpha$ -Д-гликозид methyl- $\alpha$ -D-glucosid	-	-	-	-	-	-
Д(-)-манитол D(-)-manitol	+	+	-	-	+	+
Д(+)-галактоза D(+)-galaktose	-	-	+	+	+	+
дулцит dulcīt	-	-	-	-	-	-
Д(+)-целобиоза D(+)-celobiose	-	-	-	-	+	+
Д(+)-трехалоза D(+)-trehalose	+	+	-	-	+	+
$\alpha$ -лактоза $\alpha$ -lactose	-	-	-	-	+	+
декстрин decstrin	-	-	-	-	-	-
ДЛ лактат DL lactate	+	+	НТ	НТ	НТ	НТ
Д(-)-тартарат tartarate	+	+	НТ	НТ	НТ	НТ
Л(+)-тартарат tartarate	-	V	НТ	НТ	НТ	НТ
еритритол erythritol	+	+	НТ	НТ	НТ	НТ
сорбитол sorbitol	+	+	НТ	НТ	НТ	НТ
глицерол glycerol	+	+	+	+	+	+
ескулин aesculin	+	+	+	+	+	+
скроб starch	-	-	-	-	-	-

+ = позитивна реакција-**positive reaction**

- = негативна реакција-**negative reaction**

V = варијабилна реакција-**variable reaction**

НТ = не е тестирано-**not tested**

Намалувањето на приносот во главно е индиректна последица од оштетувањето на лисната површина на растенијата. Во некои случаи имаше опаѓање на повеќе од половината од лисната маса, претежно на постарите

листови, со што им се намалува асимилационата способност на растенијата, плодовите предвремено созреваа, значително се поситни и понекалтитетни.

Од прегледот на климатските параметри може да се заклучи дека најголемо влијание во патогенезата на споменатите бактерии имаат кај *X.c. pv. vesicatoria*, додека послабо кај преостанатите две бактерии.

Детерминирана е бактеријата *E.c. subsp. carotovora* детерминирана е како главен причинител на влажното гниење на плодовите од пиперката. Нејзината застапеност е најголема во текот на август и септември месец, кога ги предизвикува карактеристичните симптоми, а посебно јак интензитет има кај созреаните меснати плодови.

Влажното гниење на плодовите од пиперката е застапено во сите производни подрачја на Струмичко. Шетите што ги предизвикува оваа бактерија се различни во поедини години и претежно се движат од 10 до 25%. Интензитетот на заболувањето зависи од оштетувањата кои настануваа по плодовите, како што се механичките повреди при бербата, повредите од невреме и од град, различните инсекти и сл.

Раното производство на пиперката во пластениците и оранжерите не е сериозно нападнато од некоја бактериоза. Проблемите со растителните болести во заштитеното производството воглавно се од појавата на различни габни (*Phytophthora capsici*) и вирусни болести (вирусот на мозаикот на краставицата кај пиперката).

## 6. РЕЗИМЕ НА ПОСТИГНАТИТЕ РЕЗУЛТАТИ ОД ИСТРАЖУВАЧКАТА РАБОТА:

### 6.1. На македонски јазик

#### ПРОУЧУВАЊЕ НА ПРИЧИНТЕЛИТЕ НА БАКТЕРИСКИТЕ ЗАБОЛУВАЊА КАЈ ПИПЕРКАТА ВО СТРУМИЧКИОТ РЕГИОН

Во оваа студија се проучувани карактеристиките на фитопатогените бактерии кои ја напаѓаат пиперката во Струмичко. На основа на превземените лабораториски испитувања може да се заклучи дека кај пиперката се присатни следните бактерии: *P.s. pv. syringae*, *X.c. pv. vesicatoria* и *E.c. subsp. carotovora*.

Штетите кои ги причинуваат бактериите во Струмичко се различни секоја година и можат да се проценат приближно од 10-20%, но некои години, на пример 1995 год. штетите беа значително поголеми. Како резултат на поволните климатски услови (топло и влажно лето) појавата на *X.c. pv. vesicatoria* беше екстремно висока така да штетите беа сигнификантно поголеми во споредба со другите години.

Морфолошките, патогените, биохемиските, физиолошките, одгледувачките и серолошките карактеристики, на 20 домашни и 7 контролни изолати од странство (добиени од САД и СРЈ) беа проучувани во нашите испитувања. Сите одлики на нашите проучувани изолати во потполност се подудараат со карактеристиките на контролните изолати, без некои позначајни разлики помеѓу себе.



Бактериските изолати од *X.c. pv. vesicatoria* припаѓаат на расите P0 и P2. Расите се одредени на основа на реакциите на линиите пиперка од сортата Рано калифорниско чудо (Early Californian Wonder-ECW: ECW-10R, ECW-20R и ECW-30R) према испитуваните изолати. Различните линии од пиперката ги содржат гените за отпорност према бактеријата *X.c. pv. vesicatoria*: bs1, Bs1, Bs2 и Bs3.

Бактериските изолати на *P.s. pv. syringae* добиени од заболениот расад на пиперката покажаа извесни разлики од контролните бактерии во поглед на користењето на Л(+)-тартаратот и желатинот. Овие разлики беа основен фактор за понатамошните превземени генетски испитувања на ДНК за потврдување на сродноста или разликата во генетската структура на нашите со контролните изолати.

Два домашни изолати (П-150 и П-153) и седум контролни изолати (*P.s. pv. syringae*, *P.s. pv. savastanoi*, *P.s. pv. tomato*, *P.s. pv. porri*, *P.s. pv. tagetis*, *P.s. pv. caricapapaye* and *P. viridiflava*) беа користени за ДНК/ДНК хибридизацијата. Нативната ДНК беше обележена со тритиум-означени нуклеотиди. Во ДНК хибридизацијата беше користена С1 нуклеаза-трихлорацетик процедура опишана по Crosa et al., 1973. Температурата на реасоцијација на молекулите изнесуваше 70°C. На основа на добиените резултати, од вкупно девете геномоспециеси одредени според Gardan et al. (1995), нашите изолати припаѓаат на геномоспециес 1 од бактеријата *P.s. pv. syringae*.

## 6.2. На англиски јазик

### PHYTOPATHOGENIC BACTERIA ON PEPPER IN MACEDONIA

The characteristics of phytopathogenic bacteria which were attacked the papper in Macedonia were examined in this study. On the basis of observed symptoms and laboratories investigations on this plant they were found followed bacteria: *P.s. pv. syringae*, *X.c. pv. vesicatoria* and *E.c. subsp. carotovora*.

The losses caused by bacteria in Macedonia are different every year, and they are estimated about 10-20%, but some year, for example the summer 1995 the damages were higher. As a result of favorable climatic conditions (warm and rainy summer) appearance of *X.c. pv. vesicatoria* was extremely high and the looses were also significant.

Morphological, pathogenical, biochemical, physiological, nutritional and serological properties of 34 domestic and 7 control strains taken from USA and SRJ were checked in our investigations. All these properties of our strains were completely same compared with characteristics of control strains, without any significant differences.

Bacterial strains of *X.c. pv. vesicatoria* belonged to races: P0 and P2. Strains were identified to race based on the response to infection of a set of near-isogenic pepper lines derived from and including Early Californian Wonder (ECW): ECW-10R, ECW-20R and ECW-30R containing the resistance genes bs1, Bs1, Bs2 and Bs3, respectively.

Strains of *P.s. pv. syringae* obtained from diseased pepper sidling appeared some differences from control strains, in the way of utility of L(+)-tartarat and gelatin. Those differences were essential for further investigations of DNA, because we wanted to confirmed genome differences or resemblance between our strains and control strains.

Two domestic strains (P-150 and P-153) and seven controls (*P.s. pv. syringae*, *P.s. pv. savastanoi*, *P.s. pv. tomato*, *P.s. pv. porri*, *P.s. pv. tagetis*, *P.s. pv. caricapapaye* and *P.*

*viridiflava*) were used for DNA/DNA hybridization. Native DNA was labeled by nick translation with tritium-labeled nucleotides. S1 nuclease-trichloroacetic acid procedure was used for the hybridization experiments (Crosa et al., 1973). The reassociation temperature was 70°C. Our strains belonged to genomospecies 1 of bacteria *P.s. pv. syringae*, from nine specific groups appointed from Gardan et al. (1995).

### 6.3. КЛУЧНИ ЗБОРОВИ

#### 6.1. На македонски јазик

**Клучни зборови:** пипер, бактерии, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, изолација, идентификација, морфолошки, патогени, биохемиско-физиолошки, одгледувачки, серолошки и генетски карактеристики.

#### 6.2. На англиски јазик

**Key words:** pepper, bacteria, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, isolation, identification, morphological, pathogenical, biochemical, physiological, nutritional, serological and genomic characteristics.

## 7. ЗНАЧАЈНИ НАУЧНИ СОЗНАНИЈА ЗДОБИЕНИ СО РЕАЛИЗАЦИЈАТА НА ПРОЕКТОТ:

Научните сознанија добиени од овој проект се од големо значење за фитобактериологијата не само во нашата земја, туку и пошироко. Вакви проучувања се сретнуват во литературата само во некои Европски земји (Италија, Унгарија, СРЈ) и тоа на поединечни бактериски видови, додека во нашето проучување паралелно и детално се испитувани три вида на бактерии.

Од посебно значење во ова испитување е одредувањето на расите кај *X.c. pv. vesicatoria*, што претставува и еден од првите вакви испитувања кај овој бактериски вид на Европскиот континент.

Исто така и започнатите генетски испитувања (ДНК/ДНК хибридизација) на бактерискиот вид *P.s. pv. syringae* се први од ваков карактер во фитопатологијата во нашата земја. Понатамошните предвидени генетски испитувања можат да потврдат за присуство на нов патовариетет од бактеријата *Pseudomonas syringae* кај расадот од пиперката, кој би бил нов патовар за прв пат одреден во Македонија.

## 8. КОРИСНИЦИ НА ИСТРАЖУВАЧКИТЕ РЕЗУЛТАТИ, НАЧИН НА ПРЕНЕСУВАЊЕ И ПРИМЕНА НА ИСТИТЕ:

Корисници на истражувачките резултати ќе бидат индиректно производители на пиперката. Посебно значење има во струмичките производни реоните каде што ова култура е од голем економски интерес.

Резултатите од ова истражување ќе бидат пренесувани до производителте преку објавување на извадоци од истражувањето во различни часописи, учество на советувања за одгледување на градинарските култури и во контакти со лица кои се заинтересирани за оваа проблематика или нивните парцели се директно загорзени од бактериите како причинители на патогени промени кај пиперката.

## **9. ТЕХНОЛОШКИ ИНОВАЦИИ И ПАТЕНТИ:**

Лабораториските фитобактериолошки испитувања кои се извршени досега претставуваат новина во Македонија. Фитопатогените бактерии како причинители на растителни болести во нашата земја досега лабораториски не се испитувани и не им се посветуваше вниманијето кое им е потребно.

На основа на лабораториска работа заснована на меѓународни стандарди во испитувањето на бактериите, извршена е точна идентификација и детерминација на бактериите, кое има големо значење за правилно поставување на дијагнозите и покасно примената на хемиските средства за заштита на растенијата.

## **10. МОЖНИ ЕКОНОМСКИ И КОМЕРЦИЈАЛНИ ЕФЕКТИ:**

Економските и комерцијалните ефекти од ова проучување можат да се согледат како резултат на правилната дијагноза на бактериските заболувања кај пиперката и примена на адекватни хемиски средства за сузбивање.

Примената на адекватни и ефикасни средства за заштита ќе допринесе за смалувањето на бројот на третирањата и зголемувањето на нивниот ефект.

## **11. МЕЃУНАРОДНА СОРАБОТКА ОСТВАРЕНА ПРИ РЕАЛИЗАЦИЈАТА НА ПРОЕКТОТ:**

Остварена е меѓународна соработка во текот на набавувањето на потребната литература претежно од земји каде оваа проблематика е исто така актуелна во нивното производство.

Набавена е литература и остварени се лични контакти со научници од САД (Stall, R.), Германија (Rudolph, K.), Франција (Samson, R.; Gardan, L.), Италија (Calzolari, A.), Југославија (Арсенијевиќ, М., Обрадовиш, А.) и др.

Во досегашните истражувања е искористено и искуството на D-р Хемс Hilti од Унервизитетот во Тенеси - САД, како волунтер на ВОКА, кој престојуваше во Струмица во текот на 1996 година.

Методологијата на работата за одредувањето на расите кај бактеријата *X.c. pv. vesicatoria* и семето за линиите пиперка "рано калифорниско чудо" се добиени од САД со помош на d-р Sahin, F. и d-р Sally Miller, од Универзитетот во Охајо.

Одредувањето на некои биохемиско-физиолошки и генетски одлики на изолатите од бактеријата *P.s. pv. syringae* се извршени во Франција, во

лабораторијата на d-r Luis Gardan, при Институтот за растителна патологија од Анжерс.

**12. ОБЈАВЕНИ РЕЗУЛТАТИ КОИ ПРОИЗЛЕГУВААТ ОД ИСТРАЖУВАЊЕТО:**

**Трудови презентирани на научни собири во:**

**земјата:**

*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* причинител на лисната дамкавост на перката од сортата куртовска капија. XXI Советување за заштита на растенијата во Охрид. 1996 год.

**странство:**

*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* the causal of the pathogenic changes by paprika seedlings. IX International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Madras, India.

**13. МАГИСТЕРСКИ, ДОКТОРСКИ СТУДИИ, СПЕЦИЈАЛИЗАЦИИ, УСОВРШУВАЊА, СТУДИСКИ ПРЕСТОИ И КОРИСТЕЊЕ НА ЕКСПЕРТИ ВО ТЕКОТ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО**

М-р Митрев Саша изработува докторска дисертација.

Инг. Душан Спасов изработува магистерска работа.

**14. ИСТРАЖУВАЧКА ОПРЕМА НАБАВЕНА ВО ТЕКОТ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО:**  
(Вид, марка, година на производство, намена, цена на чинење)

ден.	Електронска вага; Сатуриус; 1995; мерење на хемикалии;	58.000,00
	Центрифуга: 1995; центрифугирање на суспензии;	64.000,00 ден.
	Епрувети 800 ком.;	13.600,00 ден.
	Петриеви шољи 300 ком.;	20.000,00 ден.
16.000,00 ден.	Различни видови стаклени садови;	
ден.	Различни видови хемикалии за лабораториски испитувања;	90.000,00

Филтер за ламинар и изработка на ламинар	60.000,00 ден.
<b>Вкупно:</b>	----- 321.600,00

ден.

**15. РЕКАПИТУЛАЦИЈА НА ПОТРОШЕНИТЕ СРЕДСТВА ЗА РЕАЛИЗАЦИЈА НА ПРОЕКТОТ ВО ИЗВЕШТАЈНАТА ГОДИНА:  
(по намени и извори на средства)**

а) Надомест за истражувачи - пензионери:	0,00
б) Непосредни материјални трошоци:	
Потрошена енергија, материјали и суровини:	170.000,00
Патувања во земјата:	28.000,00
Патувања во странство:	55.000,00
Дневници, теренски додатоци и други надоместоци:	32.000,00
Ангажирање на експерти:	0,00
Производни и непроизводни активности: (информатички, ПТТ и сл.)	130.000,00
Одражување на научноистражувачка опрема:	54.000,00
Набавка на научноистражувачка литература:	42.000,00
Други трошоци:	40.000,00
<b>Вкупно:</b>	----- 551.000,00
а) Извори на средства:	
Сопствено учество:	317.600,00
Учество на други институции:	0,00
Учество на меѓународни институции:	0,00
Учество на Министерството за наука:	555.000,00
	----- 872.600,00

**16. ПОВАЖНИ ЗАКЉУЧУВАЊА И НАСОКИ ЗА ПОНАТАМОШНИОТ ТЕК НА ИСТРАЖУВАЊЕТО КОИ ПРОИЗЛЕГУВААТ ОД ИСТРАЖУВАЧКИТЕ РЕЗУЛТАТИ**

Од досегашните испитувања може да се заклучи дека кај испитуваните заболени растителни материјали има присуство на бактерии. Испитувањата покажаа дека се работи за фитопатогени бактерии кои припаѓаат на неколку родови: *Erwinia spp.*, *Pseudomonas spp.* и *Xanthomonas spp.*

На основа на бактериолошките испитувања на досега добиените изолати, извршено е групирање на бактериите во три групи, во кои спаѓаат: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* и *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*.

Со понатамошните испитувања ќе се одреди начинот на нивното сузбивање и примената на најефикасни хемиски средства во нашите производни услови.

Испитувањата ќе продолжат и на генетските карактеристики на *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, како посебно интересна група од добиените изолати.

#### 17. ВЕРИФИКАЦИЈА НА ЗАВРШНИОТ ИЗВЕШТАЈ:

- Одлука на научниот, наставно научниот, стручниот орган за прифаќање на годишниот извештај  
(во прилог да се достави Одлуката)

бр. \_\_\_\_\_

од \_\_\_\_\_ година

Потпис на главниот истражувач:

\_\_\_\_\_

Потпис на одговорното лице на институцијата:

\_\_\_\_\_

датум и печат:

\_\_\_\_\_