

ЗБОРНИК НА ТРУДОВИ ОД XVIII СОВЕТУВАЊЕ ЗА ЗАШТИТА
НА РАСТЕНИЈАТА, ОХРИД 9—10 XI 1993

ГОДИНА V

ТОМ V

С. Митрев

БАКТЕРИСКА ПЛАМЕНИЦА ВО МАКЕДОНИЈА

СКОПЈЕ, 1994.

UDK 632.3:634.13

БАКТЕРИСКА ПЛАМЕНИЦА НА КРУШАТА ВО МАКЕДОНИЈА**

С. Митрев*

ВОВЕД

Бактериската пламеница на јаболчестите овошки што ја предизвикува *Erwinia amylovora* (Burrill 1882) Winslow et al. 1920 е најстара, најзначајна и една од најопасните бактериски болести на овие растенија. Првпат е забележана кон крајот на 18 век во САД. Се претпоставува дека во почетокот бактеријата била присутна само на дивата популација растенија во тоа подрачје, како што се дива јаболка, глог и слично, а подоцна бактериите се пренесени од дивата помалку осетлива популација растенија на осетливи одгледани домаќини.

Erwinia amylovora како предизвикувач на бактериската пламеница на јаболката и крушите била распространета во почетокот единствено на територијата на САД и Канада. Долго време не е регистрирана и на друго подрачје во светот, сè до 1919 год. кога е пронајдена во Нов Зеланд, а во 1943 год. во Мексико.

Во Европа Англија е прва земја каде што во 1957 год. за првпат е забележана од страна на Grose (Grosse et al. 1958), во наредните тринаесет и пет години. *Erwinia amylovora* е регистрирана уште во двасетина земји, меѓу кои: Египет 1962, од 1966 до 1981 година Холандија, Данска, Белгија, Франција, Полска и Германија. Луксембург 1982, Кинар 1984, Израел и Турција 1985, Грција, Шведска, Норвешка и Ирска 1986 год., Чешка и Словачка 1987, Либан 1988 и Швајцарија 1989 година (Newsletter 1990). *Erwinia amylovora* може да се смета како изразен полифаг кој напаѓа мноштво различни, систематски оддалечени растенија но претежно фамилијата Rosaceae. Потврдено е дека 129 видови од 37 родови на фамилијата Rosaceae се осетливи. Од сите нив како најзначајни домаќини се покажале претставниците на родовите: *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Rubocanthia* и *Sorbus*. Освен овие родови, од најголема важност се сигурно родовите: *Pyrus*-круша (*Pyrus communis*), *Malus*-јаболка (*Malus sylvestris*) и *Cydonia* дуња (*Cydonia oblonga*) (Arsenijevic, 1988).

* М-р Саша Митрев, асистент, Зем. институт, 92400 Струмица

** Кратка верзија од магистерскиот труд на авторот.

Бактериската пламеница на јаболчестите овошки е регистрирана кон крајот на осумдесеттите години на подрачјето на Република Македонија. Болеста предизвикала голема материјална штета во подрачјето каде што била констатирана и покажувала тенденција за натамошно проширување во други незаразени реони. Паразитот е констатиран на крушите и дуњите, а во помал степен на јаболките. Вака нагласеното ширење и развој на болеста во Македонија наметна потреба за што поитно проучување на патогенот заради спречување на понатамошното ширење на бактеријата и преземање мерки за заштита.

Истражувањата се извршени во фитобактериолошката лабораторија на Земјоделскиот факултет во Нови Сад во 1991 и 1992 година.

РАСПРОСТРАНЕНОСТ И ЕКОНОМСКО ЗНАЧЕЊЕ НА *E. AMYLOVORA* ВО МАКЕДОНИЈА

Присуството на бактериите *Erwinia amylovora* во Македонија за првпат е констатирано во текот на 1989/90 год. и официјално објавено во 1991 год. Во последните години болеста зема сè поголем интензитет и штетите се катастрофални, посебно на крушите и дуњите. Вака ненадејна појава во толку силен интензитет покажува дека оваа болест веројатно била присутна на помали жаришта на територијата на Република Македонија и пред 1987 година, затоа што е познато дека е потребно барем 2-3 год. за интензивен развој на болеста од почетокот на инфекцијата.

Вкупната површина на која е регистрирана болеста во Македонија се проценува на околу 500 ха под круши и околу 60 ха под дуњи. Поголем дел од овие површини е ископачен до крајот на 1991 год. Вкупните трошоци за ископачување на околу 700.000 болни стебла и садене на нов материјал изнесуваат околу 14 германски марки на стебло, според тоа штетите во Македонија би изнесувале околу 10.000.000 ГМ.

СИМПТОМИ НА БОЛЕСТА

Erwinia amylovora ги напаѓа сите растителни делови кај јаболчестите овошки, почнувајќи од цветовите, цветните дршки, младите и постарите плодови, листовите, латорастите, едногодишните и повеќегодишните гранки, стеблото на и самиот корен.

Обично првите симптоми на пламеницата се појавуваат рано напролет, на отворените цветови. Бактериите внесени преку цветниот толичник во ткивото на растението почнува да се развива и промените на цветовите стануваат воочливи. Цветните ливчиња добиваат влажни дачки, кои понатаму стануваат темни и се сушеа, на крајот целосно да поцрнат и да одумрат. Во понатамошниот развој на болеста, бактериите преку цветните дршки се шират на соседните листови кои постепено некротираат и се сушеа.

На нападот на паразитот се осетливи и младите плодови како на крушата така и на луњата. Младите инфицирани плодови поцрнуваа и по нивната површина се јавуваа ситни капки на бактериски ексудат, потем кое напoлно пропаѓаа.

При повољни климатски услови, оптимална влажност и температура, болеста брзо се ширеше по леторастите и тоа најинтензивно кон крајот на месец мај и во текот на јуни. Во текот на летото болеста јасно се забележуваше и симптоматолошки укажуваше на присуство на *Erwinia amylovora*.

Присуството на болеста јасно се изразуваше во облик на рак-рани на постарите гранки и на стеблото. Покоричното ткиво беше испукано и влдабнато на болните места. Во случај на симнување на површинското ткиво јасно се уочуваше преминот од здраво во болното ткиво. Болното ткиво како последица на деструктивната дејност на бактериите во него, стануваше многу потемно од здравото ткиво и постепено изумираше. Кај некои гранки каде што овие промени постепено добиваа прстенесто проширување и на еден дел од нив се спојуваа, горниот дел изумираше и се сушеше.

При крајот на мај и во текот на јуни 1989 и 1990 година како последица на пообилни врнежи беше присутна силна продукција на бактериски ексудат, а особено силна ексудација беше присутна кај рак-раните на подебелите гранки и стеблото каде што ексудатот се слеваше по стеблото кон земјата.

Во текот на вегетацијата интензивно заболелите овошките во насадот лесно се воочуваа и од далечина, заради нивниот типичен изглед како да се запалени со огин.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

ОПШТА ТЕХНИКА КОРИСТЕНА ВО РАБОТАТА

Сите подготвени хранливи подлоги беа стерилизирани во автоклав на 115°C во текот на 20 минути. Чистите култури пресејувани се само на хранлива подлога со 2% глицерин (NAS-подлога) и инкубирани во термостат на 25°C во времетраење од 24 часа.

Сите хранливи подлоги се насејувани со бактериолошка еза. Целиот растителен материјал од кој се изолирани бактериите беше запален по употребата. Ист беше случајот и со леторастите на кој се проверуваше патогеноста на бактериите.

ИЗОЛИРАЊЕ НА БАКТЕРИИТЕ

За изолација на бактериите е користена мессонптонска подлога обогатена со 5% на сахароза (NAS - подлога) и селективна Crossova и Goodmanova (CIG-подлога).

Бактериите се изолирани главно од рак-рани кај подебели гранки и тоа со земање мали фрагменти од преодот на болното и здравото ткиво.

Пасеените Петри кутии се чувани 2-4 дена во термостат на 25°C. Чистите култури се прифаќани на коса хранлива подлога со 2% глицерин (NAG) со помош на бактериолошка еза и инкубирани 24^h на 25°C во термостат, потем кое се чувани во фрижидер на 4°C.

Сите добиени изолати како чисти култури се испитувани со помош на 5 диференцијални тестови: хиперсензибилна реакција на листовите од тутунот, аглутинација на микроскопска плочка, бојење по грам, појава на флуоресцентност на Кингова подлога Б и инокулација на млади плодови круша. Овие тестови беа прелиминарни за одбирање само на патогените соеви за понатамошно испитување.

ПАТОГЕНИ ОДЛИКИ НА ИСПИТУВАНИТЕ СОЕВИ

За испитување на патогените карактеристики на добиените соеви е користена суспензија на бактерии со концентрација од 5 x 10 клетки/мл. Користени се по три повторувања кај секој тест

- проверка на патогеноста на листови од тутун и *Pelargonium* sp.;
- проверка на патогеноста на цветовите од круша;
- проверка на патогеноста на зелени плодови од круша, кајсија, вишна и слива,
- проверка на патогеноста на летораста од круша, јаболка, дуња и *Ruta-cantha*.

ОДГЛЕДУВАЧКИ ОДЛИКИ НА ИСПИТУВАНИТЕ СОЕВИ

Одгледувачките одлики на испитуваните соеви се проучувани на следниве хранливи подлоги:

- 1) Стандардна месопептонска (MPP) подлога,
- 2) Месопептонска подлога обогатена со 5% сахароза (NAS),
- 3) Кингова подлога Б (King B-подлога) и
- 4) Селективна подлога (CG подлога).

Од одгледувачките карактеристики посматрани се: обликот на колоните, бојата, конзистенцијата, провидноста, изгледот на рабовите, големината, присуството или отсуството на темен центар, слузавост и слично.

5) Испитувани се и следниве одгледувачки одлики: бојење по Gram, создавање левац, флуоресцентен пигмент, црвеникав пигмент, развој на 34°C и 36°C, толерантност кон 5% и 7% NaCl, хидролиза на скроб, разлагање на желатин, создавање анонијак, создавање H₂S од пептоните, создавање индол, редукција на нитратите, хидролиза на ескулинот и хидролиза на твин 80.

БИОХЕМИСКО-ФИЗИОЛОШКИ ОДЛИКИ НА СОЕВИТЕ

1) Кај биохемиско-физиолошките одлики на соевите се користени следниве тестови: нектолитичка активност на плочки од компир, активност на окси-

лазата, каталаза, фосфатазата, лецитиназата, уреазата, оксидативно ферментативен (O/F) тест на подлога со гликоза, метаболизмот на аргининот, метил-црвен тест, редукциони супстанции од сахароза и создавање фенилаланиндезаминаза.

2) Испитувани се и одликите на користење на јаглените хидрати кај: галактоза, D(-) фруктоза, рафиноза, метил- α -D-глюкозид, D(+) галактоза, D(+) глюкоза, D(+) ксилоза, D(+) рамноза, салицин, D(+) арабиноза, D(-) манитол, D(+) трехајлоза, ескулин, декстрин, дулцитол, глицерол и скроб.

3) Органските киселини исто така беа користени за испитување на биохемиско-физиолошките одлики и тоа на: мравска, малеинска, оксална, лимонска, бензолна, оцетна и D(+) винска киселина.

СЕРОЛОШКИ ОДЛИКИ НА ИСПИТУВАНИТЕ СОЕВИ

За добивање антисерум се користени два домашни соја Ду-39 и Киш-89 и еден идентификуван сој *Erwinia amylovora* 1430 со потекло од Франција, добиен од колекцијата на бактерии на проф. д-р М. Арсениевик.

Антисерумот е добиен по стандардна метода која се користи во оваа намена, а кои се опишани од страна на повеќе автори како што се Elliott и Stead, 1987 и Klement et al., 1990.

За поништување на серолошките одлики е применувана аглутинација во епрувети (Klement et al., 1990), и аглутинација на микроскопска плочка како диференцијален тест.

РЕЗУЛТАТИ

ИЗОЛИРАЊЕ НА БАКТЕРИИТЕ И ОИПТИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ДОБИЕНИТЕ СОЕВИ

Поголем број од изолатите од заболените овошки е извршен на подлога со 5% сахароза (NAS), од која беа прифатени чистите култури на испитуваните соеви. Колониите на оваа подлога имаат карактеристични одлики што не се сретнуваат кај други бактерии, а е карактеристично за *Erwinia amylovora* и тоа: специфично зголемени - леван тип, извалкано бело до крем боја, со рамни рабови и темен центар во средината. Вакви колонии беа прифатени на подлога со 2% глицерин (NAG-подлога) во епрувети и беа вклучени во понатамошните испитувања.

Изолатите беа извршени и на селективна подлога, која први ја опишале Cross и Goodman, 1973 (CG-подлога). Најбрзо се развиваа колонииите на *Erwinia amylovora* и добиени се за неа карактеристични влбнувања на врвот, светла периферија и темен центар на колонииите. Присуството на атипичните соеви при оваа изолација беа послабо изразени во однос на подлога со 5% сахароза (NAS-подлога), на која атипичните бактерии брзо се развиваа.

Изолатите кои се извршени во текот на мирувањето на вегетацијата на овошките беа послабо успешни во однос на изолатите кои се направени во текот на вегетацијата каде што симптомите беа јасно изразени.

Изолатите кои беа чувани на подлога со 5% глицерин во епрувети, ја задржуваа својата виталност до 5 месеци на 4°C.

Добиели се вкупно 157 изолати. Изолатите кои покажаа позитивни резултати кај петте диференцијални тестови, укажуваат на карактеристиките на бактеријата *Erwinia amylovora*. Од сиве овие изолати како позитивни се покажаа 47 изолати од круша и 36 изолати од дуња. Добиели се и 34 некарактеристични, меѓу кои 17 укажуваат на карактеристиките на апатогените форми на *Erwinia amylovora*, 11 изолати покажуваат карактеристики на бактериите *Pseudomonas syringae* v. *syringae*.

За понатамошните биохемиско-физиолошки и серолошки испитувања одбрани се 8 изолати и 2 реизолата како претставници на одредени локалитети во Македонија и еден автентичен изолат на бактеријата *Erwinia amylovora* со потекло од Франција.

Таб. 1

BR.	IZOLAT	LOKALITET NA IZOLACIJATA	GODINA
1*	Ду-39	Гевгелија	1990
2	РДу-550/1	Виница	1991
3	Ду-554	Штип	1991
4	Ду-568	Росоман	1991
5*	J-60	Битола	1990
6*	Кш-89	Битола	1990
7	Кш-550	Кавдарци	1991
8	Кш-559	Т. Велес	1991
9	РКш-560/1	Радовиш	1991
10	Кш-570	Скопје	1991
11	1430	Франција	/

* Соєви од колекцијата на бактерии на проф. д-р. М. Арсениевик која се чува на Земјоделскиот факултет во Нови Сад.

ПАТОГЕНИ ОДЛИКИ НА ИСПИТУВАНИТЕ СОЄВИ

- Проверка на патогеноста на листовите од тутун и од *Pelargonium* spp. Сите патогени соєви на *Erwinia amylovora* предизвикуваа хиперсензитивна реакција на тутунот и на *Pelargonium* spp. во текот на 24 часа. Немаше разлика помеѓу овие две растенија во поглед на хиперсензитивноста кон оваа бактерија. И други автори (Арсениевик et al. 1991) наведуваат дека листовите на *Pelargonium* spp. се доста погодни за појава на хиперсензитивни реакции.
- Проверка на патогеноста на цветовите од круша.

Вештачките инокулации покажаа дека цветовите од круша се многу осетливи на присуството на бактеријата *Erwinia amylovora*. Промените на инокулираните цветови се уочливи по 2-3 дена држење во влажна комора. Цветовите на местото на убојот стануваат потемни и со влажен изглед и таа

промена се шири по целата површина на цветната чашка, цветните листови, дршката и на зелениот дел при основата на цветот. Бојата станува темнокафеава до црна. Цветовите не отпаѓаат туку стојат на гранките и висат.

По 5-10 дена од инокулацијата на цветовите, бактериите навлегуваат до листовите, кои постепено се менуваат, добиваат темнокафеава боја до црна и не отпаѓаат туку висат исушени по гранките. По десетина денови од инокулацијата бактериите се шират низ ткивото на гранките, така што сите места околу инокулацијата се спојуваат меѓу себе и целата гранка изумира, најдоцна до 20 дена. Бојата на покоричното ткиво се менува, станува поцрна, наборана и се суши. При засекот на ткивото со скалпер, се воочува промена како во кората така и во дрвенестиот дел на инокулираните гранчиња.

Соевите *Erwinia amylovora* добиени од дуња и јаболка подеднакво можеа да предизвикуваат промени на цветовите од крушата како и изолатите од крушата.

- проверка на патогеноста на зелените плодови од круша и други овошки. Вештачката инокулација на зелените плодови од круша, вишна, кајсија, слива, покажа дека оваа бактерија подеднакво ги напаѓа независно од кој домаќин е изолирана.

Плодовите од круша, сорта *Williamka*, по 3-4 дена од инокулацијата, добиваа прстени околу убодот и појава на ситни капки бактериски ексудат. Наредните неколку дена продукцијата на бактерискиот ексудат со крем боја беше пообилна и кој подоцна стануваше многу потемн и целиот плод за една недела некротираше.

Сите изолати независно од кој домаќин се изолирани, се однесуваа изедначено на младите плодови од круша.

Плодовите од кајсија, сорта *Madžarka*, реагираа на инокулацијата така што се создаваше некроза околу убодот во ткивото на плодот. Сите изолати не се однесуваа изедначено и појавата на бактериски ексудат изостануваше.

Плодовите од вишна сорта *Нанманова konzervna*, реагираа на вештачката инокулација побавно од плодовите на сливата и крушата. По 4-5 дена се добиени некротични промени околу убодот, без капки на бактериски ексудат. Наредните неколку дена плодовите стануваа целосно опфатени со некроза без ексудат.

Веќе 48 часови од инокулацијата плодот од слива сорта *Stenlej*, манифестира појава на влажни дамки околу убодот и ситни капки од бак. ексудат. По три дена горната површина станува потемна, влажна, со присуство на многубројни капки од бак. ексудат. Изразита погодност на плодовите од сортата *Stenlej* како тест на патогеност со појава на бактериски ексудат истакнуваат и Арсениевик и соработниците (1991).

- Проверка на патогеноста на леторастите

Кај сите испитувани леторастни реакцијата беше позитивна. Независно од кое растение потекнуваше бактеријата, подеднакво се однесува на испитуваните леторастни од круша, дуња, јаболка и *Rugosantha* spp.

Испитуваните леторасты од круша, дуња и јаболка, првите симптоми се јавуваа 3-4 дена околу местото на уредот во вид на некроза. Наредните денови некротираше целиот летораст со тенденција за понатамошно ширење кон основата.

Промените кај *Rugosantha* spp. беа многу побавни отколку кај преостанатите растенија домаќини на кои беше испитувана патогеноста. За целосна некроза на леторастите беше потребно повеќе од 10-15 дена.

ОДГЛЕДУВАЧКИ ОДЛИКИ НА ИСПИТУВАНИТЕ СОЕВИ

1) Колониите на месопентонската (МРР) подлога беа издначени кај сите испитувани патогени соеви *Erwinia amylovora*. По три дена развој се одликуваа со мали димензии, големина околу 1 мм, тркалести, светликави, белузлави, не се испупчени и се со рамни рабови.

2) Колониите на месопентонска подлога обогатена со 5% сахароза (NAS-подлога) по 3 дена развој во термостат беа тркалести, 3-4 мм во пречник, со рамни рабови, испупчени, сјајни, бели до крем боја. Беше присутна темна точка во средината на колониите и со посветла периферија. Наредните неколку дена развој колониите ја губат конзистенцијата и стануваат слузести и се спојуваат преку целата површина на хранливата подлога. Не е констатиран друг тип колони.

3) На King B подлогата колониите се ситни, тркалести, со пречник околу 1-2 мм, со рамни рабови и со мало испупчување, со бела боја, не се флуоресцентни, и гледано кон светло не се матни туку се светликави и со радијални пруги.

4) Кај селективната Crosse-Goodman-ова подлога (CG-подлога) колониите се по 4 дена развој крупни, испупчени, 2-3 мм во пречник, со рамни рабови помалите колони и малку брановидни рабови кај поголемите колони, чии пречник е 3-4 мм. Присутни се и помали и поголеми вдабнатини по површината на колониите, слични на кратери. Периферијата е посветла и има потемн центар.

Контролниот сој од Франција 1430, исто се однесувале со одгледувачките одлики како и домашните соеви, само кај King B подлогата гледано кон светло колониите се матни и немаат радијални пруги.

Таб. 2. - Одгледувачки и биохемиско-физиолошки одлики на соевите *Erwinia amylovora*.

Карактеристика	Соеви од Македонија	Изолат 1430	Податоци од литературата
1	2	3	4
Боене според Gram	-	-	-
Создавање:			
флуоресцентен пигмент	-	-	-
розе пигмент	-	-	-
жолт пигмент	-	-	-

1	2	3	4
H ₂ S од пептоните	-	-	-
NH ₃	-	-	-
индол	-	-	-
леван	+	+	+ или д
Хидролиза на			
твин 80	-	-	-
желатин	+	+	+
ескулин	д	-	-или д
сакроб	-	-	-
Редукција на нитратите	-	-	-
Развој на:			
34°C	-	-	д
36°C	-	-	-
Толерантност спрема:			
5% NaCl	+	+	+
7% NaCl	-	-	-
Метил-црвен тест	-	-	-
Редукциски супстанции			
од сахарозата	+	+	+ или д
ОФ тест на гликоза			
- аеробни услови	+	+	+
- анаеробни услови	+	+	+
Метаболизам на аргининот	-	-	-
Активност на:			
урсазата	-	-	-
каталазата	+	+	+
оксидазата	-	-	-
фосфатазата	-	-	нт
лецитиназата	-	-	-
фенилаланиндезиминазата	-	-	-
Плочки од компир	-	-	-

Таб. 3. - Користење на јаглените хидрати од страна на проучуваните соеви *Erwinia amylovora*.

Карактеристика	Сојеви од Македонија	Сој 1430	Податоци од литературата
1	2	3	4
Д(+) Глукоза	+	+	+
рафиноза	-	-	д
фруктоза	+	+	+
Д(+) Рамноза	д	д	-или д
сахароза	+	+	+
Д(+) Арабиноза	+	+	+
Д(+) Ксилоза	+	+	+
метил- α -D-глюкозид	-	-	-
малтоза	-	-	-
Д(-) Манитол	+	+	+
Д(+) Галактоза	+	+	+
душитол	-	-	-
Д(+) Трехалоза	+	+	+
глицерол	+	+	+
лактоза	-	-	-
декстрин	-	-	-
ескулин	-	-	-

1	2	3	4
скроб	-	-	-
салицин	-	-	- или д
мравска киселина	+	+	+
малеинска киселина	+	+	+
оксална киселина	+	+	+
лимонска киселина	+	+	+
D(+) тартаратна киселина	-	-	-
бензолна киселина	-	-	-
ацетатна киселина	+	+	+

+ = 80 - 100% од соевите се позитивни

- = 0 - 20% од соевите се позитивни

д = 21 - 79% од соевите се позитивни

Соевите на кои се испитувани биохемиско-физиолошките и одгледувачките одлики покажаа голема хомогеност меѓу себе во нивните реакции. Не е забележана разлика во ниелен тест, освен кај хидролизата на ескулиноот, каде што реакцијата беше неизедначена. Од 10 соеви 3 беа позитивни, а преостанатите вклучувајќи го и контролниот сој од Франција (1430), беа со негативна до слабо позитивна реакција. Овие резултати во целост се совпаѓаат со резултатите кои се извршени во други земји (Panlin et al., 1973; Dye, 1969; Vantomе et al., 1982; Shaad, 1980; Psallidas и Dimova, 1986; van der Zwet и Keil, 1979), како и со резултатите кои ги даде контролниот изолат 1430 од Франција. Изолатите ги исполнија следниве одгледувачки и биохемискофизиолошки одлики кои можат да се видат во табелите бр. 2 и 3.

СЕРОЛОШКИ ОДЛИКИ НА ИСПИТУВАНИТЕ СОЕВИ *ERWINIA AMYLOVORA*

Титарот на произведените антисеруми беше следниов.

- а) кај сојот со потекло од Франција 1430 1/320
 б) и кај домашните соеви Ју-39 1/5120 и Кш-89 1/2560

Серолошките одлики се испитувани на микроскопска плоча кај тестовите за диференцирање на соевите. Користен е антисерумот 1430 и кај сите соеви е добиена позитивна аглутинација.

За да се испита серолошката сродност кај овие три изолати од кои се добиени антисерумите, испитувана е вкрстената аглутинација во епрувети. Кај двата случаи каде што е користен нативен и загреан антиген, добиена е висока серолошка сродност меѓу нив.

Во понатамошните вкрстени реакции на аглутинација во епрувети се употребени преостанатите испитувани соеви од кои не беше произведен антисерум.

Врз основа на постигнатите резултати во текот на серолошките реакции може да се заклучи дека постои висока серолошка сродност меѓу изолатите што

имаат аглутинирано со антисерумот 1430. Висока серолошка сродност постои во овој случај и кај термолабилните и кај термостабилните антигени. Овие изолати различно се однесуваат при аглутинации со антисерумите добиени од домашните изолати: Ду-39 и Кш-89. При употреба на нативен антиген овие изолати имаат висока серолошка сродност, освен изолатите Ду-554 и реизолатот РКш-560/1, кои имаат средна серолошка сродност. При употреба на загреан антиген на 100°C во текот на 1 час, разликата помеѓу термостабилните антигени е поголема. Врз основа на термостабилните соматски антигени сите серолошки проучувани изолати можат да се групираат во три серолошки типови: а, б и ц.

ЗАКЛУЧОК

Врз основа на добиените резултати во текот на испитувањето може да се заклучи следново:

Бактеријата *Erwinia amylovora* е предизвикувач на патогените промени на крушата, дуњата и јаболката во Македонија. Се претпоставува дека паразитот беше присутен и пред 1988 година во овие подрачја.

Како резултат на деструктивното влијание на овој патоген, ископачени се околу 500 ха под круша и 60 ха под дуња, кои се главно во општествено сопственост. Површините сигурно се и поголеми ако се вклучат и овоштарниците во приватна сопственост за кои нема точна евиденција. Материјалните штети како резултат на дејството на овие бактерии достигна во 1990 година во противредност од колу 10.000.000,00 германски марки.

Патогеноста на проучаваните соеви е испитувана на различни тестови и тоа: на плодовите од круша, слива, кајсија и вишна; на леторастите од круша, јаболка, дуња и *Rygosantha* spp., хиперсензибилна реакција на листовите од тутун и *Pelargonium* spp. и на цветовите од круша.

Резултатите покажаа дека соевите меѓу себе воедначено се однесуваат и разликите се незначителни. Независно од кој домаќин е добиен сојот, подеднакво реагираа на инокулираните плодови.

Одгледувачките и биохемиско-физиолошките одлики на испитуваните соеви во целост се совпаѓаат со податоците од литературата и контролниот изолат *E. amylovora* од Франција. Патогените соеви покажуваат голема хомогеност во сиве овие одлики.

Серолошките проучувања на *E. amylovora* покажаа дека соевите можат да се групираат врз основа на соматскиот состав на термостабилните антигени во три серолошки групи и тоа: а, б и ц. Не е потврдена законитост во распространетоста на одредени серолошки групи во поединечните подрачја.

Покрај патогените, типични соеви, можат да се добијат и атипични непатогени соеви бактерии, кои се редовни во изолатите на овие бактерии. Меѓу овие придружни соеви редовно се јавуваат и бактериите: *Erwinia herbicola* и *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arsenijevic, M. 1988. Bakteriozce biljaka. Naučna knjiga, Beograd.
2. Arsenijevic, M. i Panic, M. 1992a. First appearance of Fire Blight, Caused by *Erwinia amylovora*, on Quince and Pear in Yugoslavia. *Plant Disease*, December/1992; 1283.
3. Arsenijevic, M., Panic, M. i Antonijevic, D. 1991. Fire blight of Pomaceous fruit trees in Yugoslavia. *Plant protection*, Vol. 42 (1991/92), No 196, pp 87-97.
4. Crosse, J. E. i Goodman, R. N. 1973. A Selective Medium for a Definitive Colony Characteristic of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 63 1425-1426.
5. Dye, D.N. 1968. A Taxonomic Study of the Genus *Erwinia*-I. The „*Amylovora*” group. *New Zeal. Jour. Sci.* 11 590-607.
6. Goodman, N. R. 1975. *Phylobacteriology* (Third Edition). University of Missouri, Columbia, Mo. 1975.
7. International Working Group on Fire Blight Research 1990. NEWSLETTER U. S. Department of Agriculture, Appalachian Fruit Research Station Kearneysville, West Virginia, USA.
8. Klement, Z., Rudolph, K. i Sands, D. C. 1990. *Methods in Phylobacteriology*. Akademiai Kiado, Budapest.
9. Lelliott, R. A. i Stead, D. E. 1987. *Methods for the Diagnosis of Bacterial Disease of Plants*. William Clowes Limited, Baccles and London.
10. Miller, T. D. i Schroth, M. N. 1972. Monitoring the Epiphytic Population of *Erwinia amylovora* on Pear with a Selective Medium. *Phytopathology* 62 1175-1182.
11. Panic, M. i Arsenijevic, M. 1991. *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. - Pojava rasprostranjenost i štetnost u svetu i Jugoslaviji. *Glasnik zaštite bilja*, God. XIV, br. 6 : 191-197, Zagreb.
12. Panic, M. i Arsenijevic, M. 1992. Outbreak, Spread and Economic Importance of Fire Blight Pathogen (*Erwinia amylovora*) in Yugoslavia. Sixth Inter. Workshop on Fire Blight, October, 10-12, 1992, Athens, Greece.
13. Paulin, J. P. i Samson, R. 1973. Le feu bacterien en France. II. Caracteres des souches D'*Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al., 1920, isolees du foyer Franco-Belge. *Ann. Phytopathol.* 5(4), 389-397.
14. Psallidas, P. G. i Dimova, M. 1986. Occurrence of the disease Fireblight of Pomaceous trees in Cyprus. Characteristics of the pathogen *Erwinia amylovora*. *Annls. Inst. Phytopath. Benaki*, 15 : 61-70.
15. Ritchie, D. F. i Klos, E. J. 1978. Differential Medium for Isolation of *Erwinia amylovora*. *Plant Disease Reporter* vol. 62, No. 2, 167-169.
16. Samson, R. (1972) : Heterogeneite des antigenes thermostabiles de surface chez *Erwinia amylovora*. *Ann. Phytopath.* 4 157-163.
17. Schaad, N. W. 1980. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Department of Plant Pathology University of Georgia.
18. Šutic, D., i Panic, M. 1969. Metode pronicanja fitopatogenih bakterija. *Zavod za zaštitu bilja Poljoprivrednog fakulteta i Sekretarijata za poljoprivredu, šumarstvo i vodoprivredu SR Srbije*.
19. Vanthome, R., Swings, J., Goor, M., Kersters, K. i de Ley, J. 1982. Phytopathological, Serological, Biochemical and Protein Electrophoretic Characterization of *Erwinia amylovora* Strains Isolated in Belgium. *Phytopath. Z.*, 103, 349-360.
20. Van der Zwet, T. i Keil, J. L. 1979. *Fire Blight - A Bacterial Disease of Rosaceous Plants*. U. S. Government Printing Office, Washington, D. C., 1-200.