

**УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ” – ШТИП
ЗЕМЈОДЕЛСКИ ФАКУЛТЕТ**

UDC 63(058)

ISSN 1409-987X



**ГОДИШЕН ЗБОРНИК
2010
YEARBOOK**

ГОДИНА 10

VOLUME X

**GOCE DELCEV UNIVERSITY - STIP
FACULTY OF AGRICULTURE**



**ГОДИШЕН ЗБОРНИК
УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП, ЗЕМЈОДЕЛСКИ ФАКУЛТЕТ
YEARBOOK**

GOCE DELCEV UNIVERSITY - STIP, FACULTY OF AGRICULTURE

Издавачки совет

Проф. д-р Саша Митрев
Проф. д-р Илија Каров
Проф. д-р Блажо Боев
Проф. д-р Лилјана Колева-Гудева
Проф. д-р Рубин Гулабоски
М-р Ристо Костуранов

Editorial board

Prof. Sasa Mitrev, Ph.D
Prof. Ilija Karov, Ph.D
Prof. Blazo Boev, Ph.D
Prof. Liljana Koleva-Gudeva, Ph.D
Prof. Rubin Gulaboski
Risto Kosturanov, M.Sc

Редакциски одбор

Проф. д-р Саша Митрев
Проф. д-р Илија Каров
Проф. д-р Блажо Боев
Проф. д-р Лилјана Колева-Гудева
Проф. д-р Верица Илиева
Проф. д-р Љупчо Михајлов
Проф. д-р Рубин Гулабоски
Доц. д-р Душан Спасов

Editorial staff

Prof. Sasa Mitrev, Ph.D
Prof. Ilija Karov, Ph.D
Prof. Blazo Boev, Ph.D
Prof. Liljana Koleva-Gudeva, Ph.D
Prof. Verica Ilieva, Ph.D
Prof. Ljupco Mihajlov, Ph.D
Prof. Rubin Gulaboski, Ph.D
Ass. Prof. Dusan Spasov, Ph.D

Одговорен уредник

Проф. д-р Саша Митрев

Editor in chief

Prof. Sasa Mitrev, Ph.D

Главен уредник

Проф. д-р Лилјана Колева-Гудева

Managing editor

Prof. Liljana Koleva-Gudeva, Ph.D

Јазично уредување

Даница Гавриловска-Атанасовска
(македонски јазик)
Центар за странски јазици
Филолошки факултет, УГД
(англиски јазик)

Language editor

Danica Gavrilovska-Atanasova
(Macedonian)
Center for foreign languages
Faculty of Philology, GDU
(English)

Техничко уредување

Славе Димитров
Благој Михов

Technical editor

Slave Dimitrov
Blagoj Mihov

Редакција и администрација

Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип
Земјоделски факултет
Бул „Крсте Мисирков“ бб
п.фах 201, 2000 Штип, Македонија

Address of editorial office

Goce Delcev University
Faculty of Agriculture
Krste Misirkov b.b., PO box 201
2000 Stip, R of Macedonia



СОДРЖИНА
CONTENT

Саша Митрев, Душан Спасов, Илија Каров, Емилија Костадиновска, Билјана Ковачевиќ Идентификација на причинителот на стеблената некроза кај домотот во Република Македонија Sasa Mitrev, Ilija Karov, Dusan Spasov, Emilija Kostadinovska and Biljana Kovacevik Identification of the causer of tomato pith necrosis in the Republic of Macedonia	9
Илија Каров, Саша Митрев, Билјана Ковачевиќ Појава и идентификација на причинителот на болеста „бела мувла“ кај сончогледот во Република Македонија Ilija Karov, Sasa Mitrev, Biljana Kovacevik Appearance and identification of the causer of “white mold” at sunflower plants in the Republic of Macedonia	25
Лилјана Колева-Гудева, Фиданка Трајкова Производствени карактеристики на црешовиден домот <i>Lycopersicon</i> <i>esculentum</i> Mill. var. <i>cerasiforme</i> (Dunal) во струмичкиот реон Liljana Koleva-Gudeva, Fidanka Trajkova Production characteristics of cherry tomato <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. var. <i>cerasiforme</i> (Dunal) in the Strumica region	35
Виолета Иванова, Виолета Димовска Определување на вкупни флаван-3-оли во вино Violeta Ivanova, Violeta Dimovska Determination of total flavan-3-ols in wine	45
Ацо Кузелов, Митре Стојановски, Дијана Насева Учество на основните делови и ткива во труповите од крстоски добиеени помеѓу <i>буша</i> и <i>сементалец</i> Aco Kuzelov, Mitre Stojanovski, Dijana Naseva Participation of main components and tissues in carcasses of scruss received between and Bushy Simental	59



Лилјана Колева-Гудева, Фиданка Трајкова, Мите Илиевски Содржина на некои биогени елементи и други физиолошки карактеристики кај пиперка (<i>Capsicum annuum L.</i>) добиени во <i>In vivo</i> и <i>In vitro</i> услови Liljana Koleva-Gudeva, Fidanka Trajkova, Mite Ilievski The content of some biogene elements and other physiological characteristics of pepper (<i>Capsicum annuum L.</i>) obtained <i>In vivo</i> and <i>In vitro</i> conditions	69
Зоран Димитровски Опасности и несреќи при експлоатација на тракторите во земјоделското производство Zoran Dimitrovski Hazards and accidents with tractors in the agricultural production	81
Мите Илиевски, Далибор Јованов, Весна Зајкова-Панова Некои хемиски својства на смолниците распространети во штипскиот, пробиштипскиот и светиниколскиот регион Mite Ilievski, Dalibor Jovanov, Vesna Zajkova Paneva Some chemical properties of the vertisols in the region of Stip, Probistip and St. Nikole	91
Тамара Јованов-Марјанова, Еленица Софијанова, Виолета Димовска, Виолета Иванова Преку интегрирани маркетинг комуникации до подобро пазарно позиционирање на македонското вино Tamara Jovanov Marjanova, Elenica Sofijanov, Violeta Dimovska, Violeta Ivanova Through integrated marketing communications to better market positioning for the Macedonian wine	103
Иван Пачев, Свилен Рајков, Иван Димитров, Драгица Спасова Influence of sowing duration of wintering <i>fodder pea</i> on tuber-formation and plant residues content for improving soil fertility Иван Пачев, Свилен Рајков, Иван Димитров, Драгица Спасова Влијание на рокот на сеидба кај зимскиот фуражен грашок врз формирањето грутки и содржина на растителните остатоци за подобрување на плодноста на почвата	119



Ivelina Nikolova, Svilen Raykov, Dusan Spasov Study the efficacy of regent 800 ВГ against pea granivore <i>Bruchus Pisi</i> <i>L. (Coleoptera, Bruchidae)</i>	
Ивелина Николова, Свилен Рајков, Душан Спасов Проучување на ефикасноста на препаратот Регент 800 ВГ против грашковиот жижок <i>Bruchus Pisi L. (Coleoptera, Bruchidae)</i>	127
Трајко Мицески, Петар Клетникоски Динамика и моментална состојба на производството на тутун во Република Македонија	
Trajce Miceski, Petar Kletnikoski Dynamics and real situation of tobacco production in the Republic of Macedonia	137
Верица Илиева, Саша Митрев, Илија Каров, Наталија Маркова, Емилија Костадиновска, Билјана Ковачевиќ Квалитетни својства на семето од пченица произведено и доработено во „Унисервис агро“ – Штип во периодот 2008-2010 година	
Verica Ilieva, Sasa Mitrev, Ilija Karov, Natalija Markova, Emilija Kostadinovska, Biljana Kovacevik Quality characteristics of wheat seed produced and processed in „Uniservis agro” - Stip between 2008 and 2010.....	147
Критериуми за објавување во Зборникот	157



ПРЕДГОВОР

Излегувањето од печат на десеттото издание на Годишниот зборник 2010 на Земјоделскиот факултет при Универзитетот „Гоце Делчев“ – Штип е уште еден од плејадата докази за нашата посветеност на науката и нејзината апликација во земјоделството. Десет години континуирано вложување во сопствените знаења и можности значи исто така и активно учество во планирањето и спроведувањето на севкупното земјоделското производство. Вклучувањето во современите текови на земјоделието, придонесот во подигање на нивото на производството во земјава, следењето на новите достигнувања во светот и нивна успешна примена во соодветната земјоделска практика се наши приоритети и секојдневни обврски.

Науката е примарен фактор за конструктивен развојот на секоја област од современото општество, особено за развојот на општество кое е базирано на знаење. Како плод од стручно-апликативната и научноистражувачката дејност на Земјоделскиот факултет произлегуваат и десетте изданија на годишен зборник. Почнувајќи од 2001 година со првото издание на Годишниот зборник на ЈНУ Институт за јужни земјоделски култури, па продолжувајќи од 2006 година со изданијата на Земјоделскиот факултет ја обелоденуваме нашата продуктивна мисла. Инволвирањето на науката во аграрот е еден од нашите водечки приоритети. Со тоа го унапредуваме производството на здрава храна по квалитет и по квантитет, придонесуваме за развојот на индустријата за преработка на земјоделските производи, влијаеме во управувањето на македонските природни ресурси, а со тоа непосредно и во развојот на руралната и урбаната средина.

Целокупниот спој на традицијата во земјоделското производство, науката и апликацијата се темел за унапредување на аграрот во земјава. Земјоделскиот факултет при Универзитетот „Гоце Делчев“ – Штип се определи да ја негува и штити таа богата и вековна традиција на земјоделско производство, да ја надополнува и надградува со современи научни достигнувања и да ја развива и унапредува креирајќи соодветни студиски програми за додипломски студии и студии за втор и трет циклус од високото образование.

Нашето практично искуство и научната мисла несебично ги споделуваме со македонската стручна и научна јавност. Искуствата и знаењата стекнати од имплементацијата на многу домашни, меѓународни, апликативни и стручни проекти ги пренесуваме и споделуваме со јавноста, а доказ за сето тоа е една деценија на публикување на Годишен зборник на Земјоделскиот факултет.

Издавачки одбор
Штип, март 2011 год.

Одговорен уредник
Ректор, проф. д-р Саша Митрев



FOREWORD

The appearance in print of the tenth edition of the Yearbook 2010 of the Faculty of Agriculture at Goce Delcev University – Stip is another proof of our dedication to science and its application in agriculture. Ten years of continuous investment in knowledge and opportunities means active involvement in the planning and implementation of the overall agricultural production. Keeping pace with the modern trends in agriculture, contributing to the increase of production in our country, following the new achievements in the world and applying them successfully in agricultural practices are our priorities and everyday obligations.

Science is a primary factor for the constructive development of every area of modern society, especially for the development of a society founded on knowledge. The ten editions of the Yearbook are a result of the research and applicative activities at the Faculty of Agriculture. Beginning with the first edition of the Yearbook of the Institute for Southern Agricultural Crops in 2001, and continuing with the editions of the Faculty of Agriculture in 2006, we have been sharing our productive thought. The involvement of science in agriculture is one of our leading priorities. In this way we give our contribution to the advancement of the production of healthy food both qualitatively and quantitatively, the development of the industry for processing of agricultural products, the management of Macedonian natural resources, which in turn leads to the development of the rural and urban areas.

The combination of tradition in agricultural production, science and application are the foundation for the development of agriculture in our country. The Faculty of Agriculture at Goce Delcev University – Stip has set out to foster and protect the rich century-old tradition in agricultural production, to supplement and enrich it with modern scientific achievements, and to develop and promote it by creating relevant study programmes for undergraduate, post-graduate and doctoral studies.

We generously share our practical experience and scientific thought with the Macedonian professional and scientific public. We make public our experience and knowledge acquired as a result of the implementation of numerous national and international applicative and professional projects, a proof of which is a decade of publishing the Yearbook of the Faculty of Agriculture.

Editorial board
Stip, March, 2011

Editor in chief
Rector, Prof. Dr. Sasa Mitrev



УДК: 632.35:579.11]:635.64(497.742)“2005/09”
635.64-235:579.841.11(497.742)“2005/09”

Оригинален научен труд
Original research paper

ИДЕНТИФИКАЦИЈА НА ПРИЧИНТЕЛОТ НА СТЕБЛЕНАТА НЕКРОЗА КАЈ ДОМАТОТ ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

Митрев С., Спасов Д., Каров И., Емилија Костадиновска, Билјана
Ковачевиќ

*Катедра за заштита на растенијата и животната средина,
Земјоделски факултет, УГД - Штип

Кратка содржина

Во периодот од 2005 до 2009 год. е испитувана појавата на некроза на стеблената срж на домотот во околината на Струмица. Испитувани се вкупно 12 бактериски изолати и како причинител за прв пат во Република Македонија е идентификувана бактеријата *Pseudomonas mediterranea* (Catara et al., 2002). Физиолошките испитувања покажаа дека оваа бактерија произведува колонии со набрана површина и сино-зелен пигмент. Сите испитувани изолати во *in vitro* услови покажаа реакција на хиперсензибилност на листови од тутун и патогени промени при вештачка инокулација на растенија од домот и пиперка. Испитуваните биохемиски карактеристики покажаа дека изолатите се Грам-негативни произведуваат леван и поседуваат активност на каталаза, уреаза и оксидаза и можат да извршат дехидролиза на аргинин. Не поседуваат пектолитичка активност, не флуоресцираат на подлога Кинг Б, не произведуваат индол и H_2S и не предизвикуваат хидролиза на ескулин. Останатите испитувани карактеристики покажаа дека изолатите можат да ги редуцираат нитратите во нитрити, да акумулираат РНВ (Poly- β -hydroksibuturate), да растат на 4 и 37°C, но не можат да растат на 41°C. Можноста за користење на различни јаглени хидрати и некои киселини е потврдена со помош на БИОЛОГ тест. Видот на бактеријата е идентификуван со помош на PCR (Polymerase chain reaction) амплификаја.

Клучни зборови: *Pseudomonas mediterranea*, биохемиски карактеристики, БИОЛОГ, PCR.



IDENTIFICATION OF THE CAUSER OF TOMATO PITH NECROSIS IN THE REPUBLIC OF MACEDONIA

Mitrev S, Karov I., Spasov D., Emilija Kostadinovska and Biljana Kovacevik

***Department for plant and environmental protection, Faculty of Agriculture, UGD – Shtip**

Abstract

In the period from 2005 to 2009 the occurrence of tomato pith necrosis is investigated in the Strumica region. A total number of 24 isolates are investigated in in vitro conditions and for the first time in the Republic of Macedonia the presence of the plant pathogen bacteria *Pseudomonas mediterranea* (Cattara et al., 2002), causer of tomato pith necrosis, is identified. Physiological investigations show that the colonies of *Pseudomonas mediterranea* have corrugated surface and produce blue-green pigment. Isolates investigated in in vitro conditions show hypersensitive reaction on tobacco leaves, and pathogenic changes during artificial inoculation of tomato and pepper plants. Biochemical characteristics show that the isolates are Gram negative, produce levan and are positive for catalase, urease and oxidase. All investigated isolates show ability to dehydrolize arginine but they do not have pectolitic activity, do not fluoresce on medium King B, and do not produce indol, H₂S or hydrolize esculine. Other investigated characteristics show that the isolates can reduce nitrates to nitrites, accumulate PHB (Poly- β - hydroksibuturate), grow at 4 and 37°C, but not at 41°C. The use of different carbohydrates and acid compounds is investigated with BIOLOG test. The variety of the bacteria is identified with PCR (Polymerase chain reaction).

Key words: *Pseudomonas mediterranea*, biochemical characteristics, BIOLOG, PCR.

1. Вовед

Доматот (*Lycopersicum esculentum*) заедно со пиперката (*Capsicum annuum*) и краставицата (*Cucumis sativus*) е една од најзначајните градинарски култури во Република Македонија. Според статистичките податоци од 2009 година, домотот бил одгледуван на површина од 5.800 ha со просечен принос од 25.370 kg/ha, најмногу во Струмица (689 ha) и во Скопје (551ha), а помалку во Кавадарци (234 ha), Куманово (190 ha), Тетово (166 ha) итн. Најголем принос е забележан во струмичкиот



регион од 56.787 kg/ha (извор?). Доматот го напаѓаат голем број на патогени микроорганизми кои ги намалуваат квалитетот и приносот. Во 2005 година за прв пат е забележана појава на некроза на стеблената срж кај домотот во пластеничкото производство на домот во околината на Струмица (извор). Во Република Македонија досега не се среќаваат податоци за присуството на ваков вид на заболување, но во светски рамки постојат многу исцрпни податоци. Оваа појава се среќава речиси на сите континенти и може да биде предизвикана од повеќе различни фитопатогени бактерии: *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* (Marte, 1980), *Pseudomonas corrugata* (Scarlet et al., 1978), *Pseudomonas mediterranea* (Cattara et al., 2002, Basim et al., 2005), *Pseudomonas viridiflava* (Goumas et al., 1987; Alipii et al., 1993), *Pseudomonas fluorescens* (Iacobellis et al., 2002), *Pseudomonas cichorii* (Wilkie and Dye, 1974; Aliviziatos, 1984; Bradbury, 1981), како и некои флуоресцентни *Pseudomonas* spp. блиски до *Pseudomonas corrugata* (Cattara et al., 1997; Sutra et al., 1997; Aliviazartos, 1984; и Dhvanthari, 1990).

Првичните биохемиски и физиолошки испитувања покажаа дека станува збор за бактеријата *P. corrugata*. Но, имајќи предвид дека *P. mediterranea* е многу слична на *P. corrugata* и дека врз основа на симптомите, морфологијата и стандардните биохемиски испитувања овие две бактерии не можат да се разграничат, целта на овие испитувања беше да се направат дополнителни тестирања со PCR амплификација и да се испита способноста на изолатите да користат хистамин, 2-кетоглуконат и месо-тартарат (Catarra et al., 2002), со што би се извршила точна таксономска позиција на изолатите.

2. Материјал и методи на работа

Заболени растенија од домот со симптоми на некроза на стеблената срж се земени од пластениците во струмичкиот регион. Изолацијата е направена од преминот на болното кон здравото ткиво на стандардна месопептонска подлога NA (Klement et al., 1990). Испитувани се вкупно 24 изолати, од кои во овој труд се прикажани резултатите за 12 од нив. Девет изолати со потекло од Македонија, два контролни изолата со потекло од Италија и еден контролен изолат од Турција (табела 1). На изолатите најпрво им е испитано боенето според Грам, реакцијата на хиберсензибилност и им е проверена патогеноста, а потоа се испитувани одгледувачките, биохемиските и некои молекуларни карактеристики. На крајот од добиените резултати е направена статистичка обработка на податоците.



2.1. Одгледувачки карактеристики

Од одгледувачките карактеристики е испитуван развојот на колониите на подлога NA, YDCA и King B. Потоа е испитувано создавањето на Леван на подлога NAS. Развојот на соодветна температура на подлога YS, толерантноста спрема 5 и 7% NaCl, хидролиза на скроб, разлагање на желатин, создавање на амонијак, создавање на H₂S од пептони, создавање на индол, редукација на нитратите, хидролиза на ескулин и акумулација на poly-β-hydroxybutyrate (Schaad et al., 2001).

2.2. Биохемиско-физиолошки карактеристики

Испитувани се следниве биохемиско-физиолошки карактеристики: пектолитичка активност на плочки од компир, активност на оксидаза, активност на каталаза, оксидативно ферментативна активност на изолатите, дехидролиза на аргинин и активност на уреаза. Испитувана е и способноста на изолатите да користат различни јаглени хидрати за својот развој: ескулин и скроб, како и хистамин, 2-кето глуконат и *meso* - тартарат. Како основна подлога за испитување на способноста на бактериите за користење на одредени јаглени хидрати е користена C-подлога, според Дуге (1968).

2.3. БИОЛОГ тест

Со БИОЛОГ тестот е испитувана способноста на бактериите да користат различни јаглени хидрати и врз основа на добиените резултати е извршена идентификација на видот на бактеријата со помош на софтвер. Испитувана е способноста на бактериите да користат вкупно 95 соединенија, извори на јаглени хидрати, киселини и азотни соединенија: α-cyclodextrin, dextrin, glycogen, tween 40, tween 80, N-acetyl-D-glucosamine, N-acetyl-galactosamine, adonitol, L-arabinose, D-arabitol, D-cellobiose, D-erythritol, D-fructose, L-fucose, D-Galactose, Gentiobiose, α-D-glucose, m-inositol, α-D-lactose, lactulose, maltose, D-mannitol, D-mannose, D-melibiose, β-methyl-D-glucoside, D-psicose, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, sucrose, D-trehalose, turanose, xilitol, Pyruvic acid methyl ester, Succinic acid mono-methyl-ester, acetic acid, Cis- aconitic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-glucosaminic acid, D-glucuronic acid, α-hydroxybutyric acid, γ-hydroxybutyric acid, p-hydroxy phenylacetic acid, itaconic acid, α-keto butyric acid, α-keto glutaric acid, α-keto valeric acid, D,L – lactic acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, d-saccharic acid, sebacic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, succinamic acid, glucuronamid, L-alaninamid, D-alanin, L-alanin, L-alanyl glycine, L-asparagine, L-aspartic acid, L-glutamic acid,



Glycyl-L-asparatic acid, Glycyl-L-glutamic acid, L-histidine, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-ornithine, L-phenylalanin, L-proline, L-proglutamic acid, D-serine, L-threonine, D,L-carnitine, γ -amino buturic acid, urocanic acid, inosine, uridine, thymidine, phenyethyl amine, putrescine, 2-aminoethanol, 2,3-butanediol, glycerol, D,L- α -glycerol phosphate, α -D-glucose-1-phosphate, D-glucose-6-phosphate.

2.4. Изолирање на ДНК

Екстракцијата на геномската ДНК е извршена со китови (purelink Genomic DNA Kits, Invitrogen), според пропишаниот протокол од производителот. Во секоја микротубичка со по 23,5 μ л микс се додава 1 μ л од екстрахираната ДНК.

2.5. PCR

Направена е мултиплекс PCR амплификација (Cattara et al., 2000), која овозможува идентификација на бактериите *P. corrugata* и *P. mediterranea* со употреба на следниве прајмери:

PC 1/1	5' - GGATATGAGCCAGGTCTTCG - 3'
PC 1/2	5' - CGCTCAAGCGCGACTTCAG - 3'
PC 5/1	5' - CCACAGGACAACATGTCCAC - 3'
PC 5/2	5' - CAGGCGCTTTCTGGAACATG - 3'

2.5.1. Подготовка на микс

Миксот за еден примерок е приготвен од следниве компоненти: дестилирана вода 16,5 μ л, 10 x Buffer 2,5 μ л, $MgCl_2$ 0,75 μ л, dNTPs 1 μ л, по 1 μ л од сите четири прајмери и 0,25 μ л Tag Polimerase. Миксот добро се меша на електронска мешалка и потоа по 23,5 μ л се додавани во тубички од 2 ml.

Според овој протокол (Cattara et al., 2000), PCR асимплификацијата може да се изврши и без изолација на ДНК од бактериската клетка со директен PCR со земање на мало количество од бактериската колонија.

2.5.2. PCR протокол

1. Иницијална денатурација на 94°C за време од 5 минути;
2. Денатурација на 94°C за време од 30 секунди;
3. Анилирање на 62°C за време од 30 секунди;
4. Елонгација на 72°C за време од 1 минута;
5. Финална елонгација на 72°C за време од 5 минути.

Повторување на вториот, третиот и четвртиот чекор 30 пати, така што вкупниот број на циклуси изнесува 31.



2.5.3. Анализирање на примероците

Анализирањето на примероците е извршено во 1% агарозна гел електрофореза со напон од 100 V за време од 20 минути.

Гелот за лодирање на примероците е приготвен како 1% агарозен гел (TBE пуфер и агар/Agarose electrophoresis grade - Invitrogen) и е ставен да отстои во етидиум бромид околу 5 минути, по што е извршено отчитување на гелот со помош на UV светлина.

2.6. Статистичка обработка на податоците

Статистичката обработка на податоците е направена со програмата NTSYSpc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), со модулот SAHN. Анализата на податоците е направена со методата на UPGMA и Dice коефициент, а резултатот е прикажан во вид на Филогенетско дрво на сличност.

3. Резултати и дискусија

3.1. Симптоми

Првите симптоми се забележуваат во вид на венење на долните гранки, на кои листовите полака го губат тургорот и хлорофилот и започнуваат да се сушат свиткувајќи се кон внатрешноста на лиската. Сувите извиткани листови не паѓаат од гранките, туку остануваат да висат на нив. Откако листовите ќе се исушат, почнуваат да се сушат и гранките, така што растението на прв поглед изгледа како да е заболено од некоја трахеобактериоза.

Плодовите на почетокот се развиваат нормално, но подоцна заостануваат во својот развој и губат на квалитет (слика 1). Во подоцнежниот развој на болеста, стеблото се цепа и се појавуваат кафеави лезии, низ кои многу често може да се види внатрешноста која е некротирана. Кај некои растенија можеше да се забележи здебелување и омекнување на стеблото поради деструктурираната внатрешност. Многу често по должината на стеблото се забележува појава на адвентивни коренчиња. При напречен пресек на стеблото се забележува појава на некроза на сржта која добива кафеава боја (слика 2). Кореновиот систем кај заболените растенија се развива нормално и не покажува никакви симптоми на заболување.

3.2. Одгледувачки карактеристики

Колониите кои ги формира бактеријата на подлога NA имаат крем-бела боја со нерамна површина и потемна пигментација во централниот дел од колонијата. На подлога YDCA колониите формираат многу изразен зелено-син пигмент (слика 3). Површината на колонијата е рапава, а



рабовите се назабени. Дијаметарот на колониите и на двете подлоги е околу 2,5-3 mm. На подлога King B не флуоресцира и не создава Леван на подлога NAS. Развојот на 5% NaCl е слаб, а во 7% NaCl воопшто не се развиваат. Сите испитувани изолати покажаа дека го разлагаат желатинот, создаваат амонијак, вршат редукција на нитрати и акумулираат poly- β -hydroxybutyrate. Не создаваат H₂S од пептони и индол (табела 3).

3.3. Биохемиско-физиолошки карактеристики

Испитуваните биохемиско-физиолошки карактеристики покажаа дека изолатите не поседуваат пектолитичка активност, но поседуваат активност на каталаза, оксидаза и уреаза, вршат редукција на аргинин, можат да го разлагаат скробот, имаат оксидативна но немаат ферментативна активност и не можат на извршат хидролиза на ескулин (табела 3). Сите изолати освен IPVCT 10.3 користат хистамин, 2-кето глуконат и *meso* - тартарат.

3.4. БИОЛОГ тест

БИОЛОГ тестот покажа дека сите испитувани изолати припаѓаат на видот *Pseudomonas corrugate*, но со различен индекс на сличност и индекс на оддалеченост (табела 4). Овие вредност за изолатите Ds-4, Ds-4/1 и Ds-4/2 изнесуваат 0,593 и 5,84 соодветно.

Изолатите Ds-12, Ds-12/1 и Ds-12/2 имаат индекс на сличност 0,692 и индекс на оддалеченост од 4,67, а изолатите Ds-13, Ds-13/1 и Ds-13/2 покажаа дека припаѓаат на *P.corrugata* со индекс на сличност од 0.600 и индекс на оддалеченост од 5,67.

Резултатите од БИОЛОГ тестот покажаа дека сите изолати користат tween 80, tween 40, L-arabinose, D-arabitol, D-fructose, D-galactose, α -D-glucose, m-inositol, D-mannitol, D-mannose, D-psicose, sucrose, glycogen, D-trehalose, pyruvic acid methyl ester, succinic acid mono-methyl-ester, acetic acid, cis-aconic acid, citric acid, formic acid, D-galactonic acid lactone, D-gluconic acid, D-glucosaminic acid, α -hydroxybutyric acid, β -hydroxybutyric acid, p-hydroxy phenylacetic acid, α -keto glutaric acid, D,L-lactic acid, malonic acid, propionic acid, D-saccharic acid, succinic acid, bromosuccinic acid, D-alanin, L-alalnin, L-alanyl glycine, L-asparagine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, glycil-L-glutamic acid, L-histidine, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-proline, L-pyroglutamic acid, L-serine, L-threonine, γ -aminobutyric acid, urocanic acid, inosine, 2-aminoethanol, glycerol и D,L- α -glycerol phosphate. Не можат да ги користат соединенијата: α -cyclodextrin, α -D-lactose, lactulose, maltose, D-mellibiose, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, turanose, xylitol, γ -hydroxybutyric acid, sebacic



acid, glucil-L-aspartic acid, phenylethylamine, α -D-glucose-1-phosphate. Реакцијата со dextrin е варијабилна. Контролите IPVCT 10.3, IPVCT 9.1 and P.m се позитивни, Ds-13, Ds-13/1, Ds-13/2 покажаа дека послабо го користат, додека пак изолатите Ds-4, Ds-4/1, Ds-4/2, Ds-12, Ds-12/1, Ds-12/2 се негативни во однос на можноста да користат dextrin. N-acetyl-D-galactosamine, adonitol, gentibiose и thymidine се негативни за сите изолати, освен за IPVCT 10.3, кој покажа многу слаба реакција. Реакциите со N-acetyl-D-glucosamine и glucuronamid се негативни за изолатите од Македонија, а позитивни за контролите IPVCT 10.3, IPVCT 9.1 и P.m. Реакцијата со D-glucuronic acid е позитивна само за изолатите, контролните изолати IPVCT 10.3, IPVCT 9.1 и P.m. Соединението i-erythritol можат да го користат само контролите од Италија и изолатите Ds-13, Ds-13/1 и Ds-13/2. β -methyl-d-glucoside го користат само Ds-12, Ds-12/1 и Ds-12/2, а *itaconic acid* само IPVCT 9.1, додека Ds-13, Ds-13/1 и Ds-13/2 покажаа слаба реакција. Различна беше и реакцијата во однос на користењето на *succinamic acid*, што го користат контролите и Ds-12, Ds-12/1 и Ds-12/2. Ниту еден изолат не покажа силна реакција со L-phenylalanine; Ds-4, Ds-4/1, Ds-4/2, IPVCT 10.3 и P.m се негативни, додека останатите изолати покажаа слаба реакција. D-serine го користат сите изолати, освен IPVCT 10.3. Uridin користат сите изолати, со тоа Ds-4, Ds-4/1, Ds-4/2 и IPVCT 10.3 го користат послабо од останатите. Ds-4, Ds-4/1 и Ds-4/2 не можат да користат *putrescin*. 2,3-Butanediol користат само IPVCT 10.3, IPVCT 9.1, а послабо P.m. Само изолатот IPVCT 10.3 покажа дека користи D-glucose-6-phosphat.

3.5. PCR

PCR амплификацијата покажа дека само контролниот изолат IPVCT 10.3 покажа присуство на банд на 1.100 bp. Останатите испитувани изолати Ds-4, Ds-4/1, Ds-4/2, Ds-12, Ds-12/1, Ds-12/2, Ds-13, Ds-13/1 и Ds-13/2 покажуваат присуство на банд на 600 bp, како што покажуваат и контролните изолати P.m и IPVCT 9 од видот *P. mediterranea* (слика 4). Со ова можеме да заклучиме дека сите испитувани изолати со потекло од Македонија му припаѓаат на видот *Pseudomonas mediterranea* (Cattara et al.).

3.6. Статистичка обработка на податоците

Резултатите од статистичката обработка се прикажани во вид на филогенетско дрво на сличност (слика 5). Сите испитувани изолати се со коефициент на сличност од 0,90. Изолатите од Македонија покажаа дека имаат коефициент на сличност од 0,969. Од нив најсродни се изолатите



Ds-12, Ds-12/1, Ds-12/2, Ds-13, Ds-13/1 и Ds-13/2 со коефициент на сличност од 0,977. Изолатите Ds-4, Ds-4/1 и Ds-4/2 најмногу отстапуваат по сличност од останатите изолати од регионот и се поблиски до изолатите од Турција и од Италија, отколку останата група на изолати од Македонија. Изолатите IPVCT 10.3, IPVCT 9.1 и Pm со потекло од Италија и Турција се посродни меѓу себе, отколку со останатите испитувани изолати.

4. Користена литература

- Alippi A. M., Ronco B. L., Alippi H.E. (1993): Tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas corrugata* in Argentina. *Plant Disease* 77: 428.
- Alivaziatos, A.S. (1984). Aetiology of tomato pith necrosis in Greece. *Proceedings of the Second Working Group on Pseudomonas syringae pathovars*. Greece: Sounion, 55-57.
- Basim, H., E. Basim., S. Yilmaz, M. Ilkucan (2005): First report of pith necrosis of tomato caused by *Pseudomonas mediteranea* in Turkey. *Plant Pathology* 54: 240.
- Bradbury, J.F. (1981). *Pseudomonas cichorii*. C.M.I. Description of Pathogenic fungi and bacteria. No 696, Comm. Mycol. Instit., Kew.
- Cattara V., Sutra L., Morineau A., Achouak W., Christen R. and Gardan L (2002): Phenotypic and genomic evidence for the revision of *Pseudomonas corrugata* and proposal of *Pseudomonas mediterranea* sp.nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52, 1749-1758.
- Cattara V., Dawn A., G. Cirvilleri and Vivian A. (2000): Specific oligonucleotide primers for the rapid identification and detection of the agent of tomato pith necrosis, *Pseudomonas corrugata*, by PCR amplification: evidence for two diostinct genomic groups. *EJPP* 106: 753-762.
- Cattara V., L. Gardan and M.M. Lopez (1997): Phenotypic heterogeneity of *Pseudomonas corrugata* strains from southern Italy. *Journal of Applied Microbiology* 83, 576-586.
- Dhanvantari, B.N. (1990). Stem necrosis of greenhouse tomato caused by a novel *Pseudomonas* sp. *Plant Disease*, 74 (2): 124-127.
- Klement Z, Rudolph K., Sands D.C. (1990): *Methods in Phytobacteriology*. Budapest, Hungary: Akademiai Kaido.
- Lelliot R. A., Billing E., Hayward A.C. (1966): Adeterminative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads.
- Marte, M. (1980): Histological and histochemical observations on tomato stems naturally infected by *Corynebacterium michiganense*. *Phytopathologische Zeitschrift* 97, 252 – 271.
- Pietro Lo Cantore and Nicola Sante Iacobellis (2002): Necrosi corticale e del midollo del pomodoro causata da *Pseudomonas fluorescense* in Puglia. *Informatore Phytopathologico* 2002: 54 – 57.



- Scarlett, C.M., Fletcher, J.T., Roberts, P. and Lelliott, R.A., (1978). Tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas corrugata* n.sp. *Ann. Appl. Biol.* 88: 105-114.
- Shaad N. W., Jones J.B., Chun W. (2001): *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, 3rd edn. St Paul, M.N., USA: APS Press, 1-16.
- Sutra, L., Siverio, F., Lopez, M.M., Hunault, G., Bollet, C. and Gardan, L. (1997). Taxonomy of *Pseudomonas* strains isolated from Tomato Pith Necrosis: emended Description of *Pseudomonas corrugata* and proposal of three unnamed fluorescent *Pseudomonas* genomospecies.
- Wilkie, J. P., Dye, D.W. (1974). *Pseudomonas cichorii* causing tomato and celery diseases in New Zealand. *N. Z. Journal of Agric.Research*, 17, 123-130.



ПРИЛОГ

Табела 1. Преглед на истражуваните локалитети
Table 1. Review of the investigated area

Место	Култура	Сорта	Година
Просениково	<i>Lucopersicon esculentum</i>	беле	јуни 2005
Моноспитово	<i>Lucopersicon esculentum</i>	беле	мај 2006
Куклиш	<i>Lucopersicon esculentum</i>	магнус	мај 2006
Просениково	<i>Lucopersicon esculentum</i>	беле	мај 2006
Пиперево	<i>Lucopersicon esculentum</i>	магнус	април 2007
Моноспитово	<i>Lucopersicon esculentum</i>	беле	април 2007
Куклиш	<i>Lucopersicon esculentum</i>	магнус	април 2007
Просениково	<i>Lucopersicon esculentum</i>	беле	април 2007
Ерџелија	<i>Lucopersicon esculentum</i>	пунк рајн	септември 2007
Куклиш	<i>Lucopersicon esculentum</i>	магнус	март 2008
Просениково	<i>Lucopersicon esculentum</i>	беле	март 2008
Пиперево	<i>Lucopersicon esculentum</i>	магнус	март 2008
Моноспитово	<i>Lucopersicon esculentum</i>	беле	март 2008

Табела 2. Преглед на испитуваните изолати
Table 2. Review of the investigated isolates

Шифра Code	Вид Variety	Домаќин Host	Потекло Country	Година Year
Ds - 4	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Р.Македонија	2005
Ds – 4/1	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Р.Македонија	2005
Ds – 4/2	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Р.Македонија	2005
Ds - 12	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Р.Македонија	2005
Ds – 12/1	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Р.Македонија	2005
Ds – 12/2	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Р.Македонија	2005
Ds - 13	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Р.Македонија	2005
Ds – 13/1	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Р.Македонија	2005
Ds – 13/2	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Р.Македонија	2005
IPVCT 10.3	<i>P. corrugata</i>	<i>L. esculentum</i>	Италија	-
IPVCT 9.1	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Италија	-
P.m	<i>P. mediterranea</i>	<i>L. esculentum</i>	Турција	2004



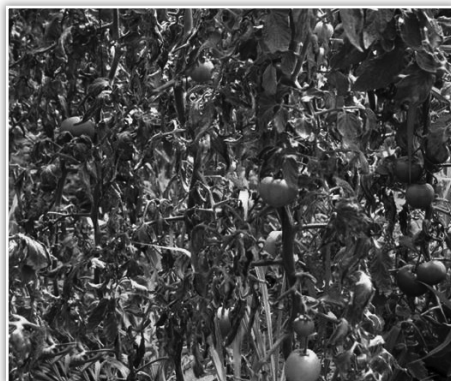
Табела 3. Патогени, биохемиско-физиолошки и одгледувачки карактеристики на испитуваните изолати, изолирани од симптоматични растенија и контролните изолати.

Table 3. Pathogenic, biochemical-phylogenetic and growth characteristics of the investigated isolates from tomato plants showing symptoms of TPN and the controls.

	Ds-4	Ds-4/1	Ds-4/2	Ds-12	Ds-12/1	Ds-12/2	Ds-13	Ds-13/1	Ds-13/2	IPVCT 10.3	IPVCT 9.1	P.m
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fluorescence	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Levan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pectolitic activity	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F test	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Gelatine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Starch	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5% NaCl	nd	nd	nd	+	+	+	nd	nd	nd	+	nd	+
7% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ammonium	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H₂S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aesculine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urease	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PHB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
41 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
meso-tartrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
2ketogluconate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Histamine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+



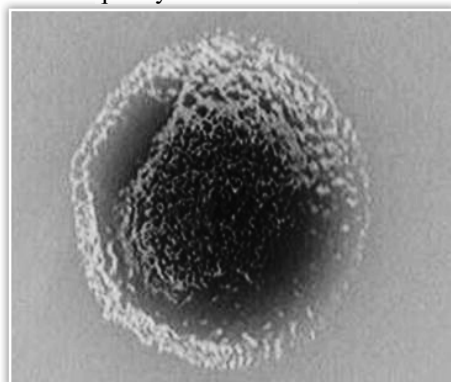
PCR	Biolog test
P.mediterranea	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata
P.corrugata	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata
P.mediterranea	P.corrugata



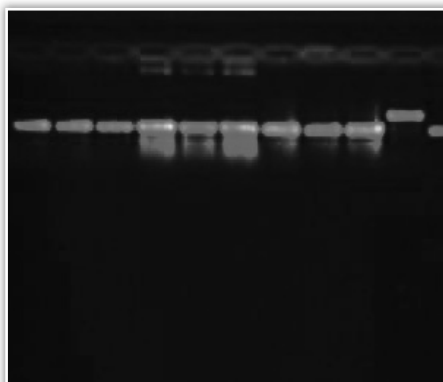
Слика 1. Плодови од домот кои заостануваат во раст кај растенија заболени од некроза на стеблената срж
Figure 1. Tomato fruits with lower quality dueto the disease



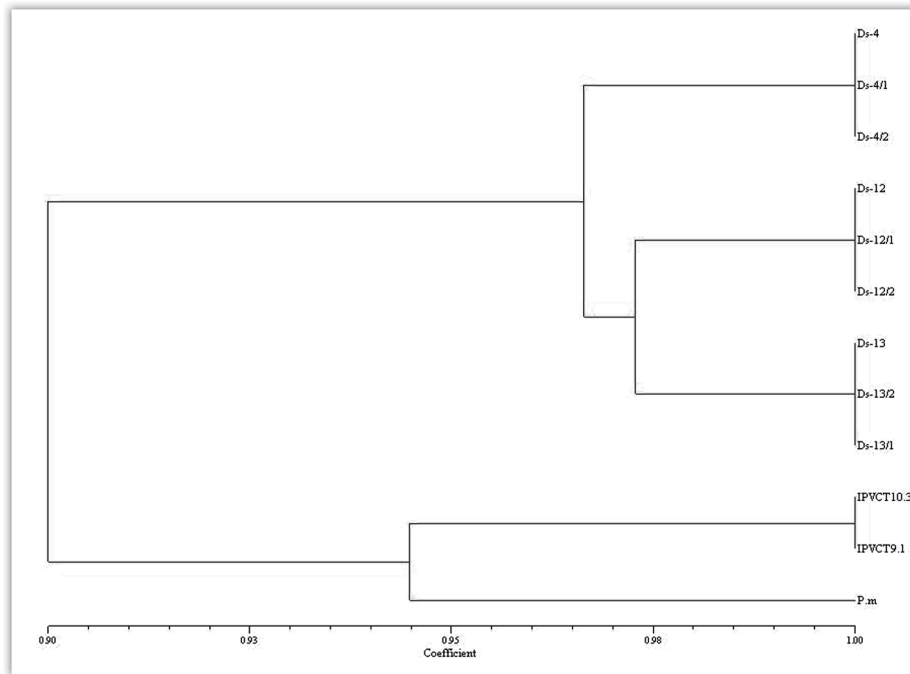
Слика 2. Симптом на некроза на стеблената срж кај стебло од домот
Figure 2. Symptom of tomato pith necrosis



Слика 3. Изглед на колонија од изолатот Ds-12 на подлога YDCA
Figure 3. Colony of isolate Ds-4 on medium YDCA



Слика 4. PCR амплификација. Линија 1: 1kb лидер, линија 2: бланко, линија 3: Ds-4, линија 4: Ds-4/1, линија 5: Ds-4/2, линија 6: Ds-12, линија 7: Ds-12/1, линија 8: Ds-12/2, линија 9: Ds-13, линија 10: Ds-13/1, линија 11: Ds-13/2, линија 12: IPVCT 10.3, линија 13: IPVCT 9.1, линија 14: Pm
Figure. 4 PCR amplification. Line 1: 1Kb DNA ladder; Line 2: Negative control without DNA; Line 3: Ds-4; Line 4: Ds-4/1; Line 5: Ds-4/2, Line 6: Ds-12; Line 7: Ds-12/1; Line 8: Ds-12/2; Line 9: Ds-13; Line 10: Ds-13/1; Line 11: Ds-13/2; Line 12: IPVCT 10.3; Line 13: IPVCT 9.1; Line 14: P.m.



Слика 5. Филогенетско стебло на сличност на испитуваните изолати, според методата на UPGM и Dice коефициент
Figure 5. Phylogenetic tree for similarity of the investigated isolates according to UPGM method and coefficient of Dice