

**УНИВЕРЗИТЕТ “СВ КИРИЛ И МЕТОДИЈ” - СКОПЈЕ
ИНСТИТУТ ЗА ЈУЖНИ ЗЕМЈОДЕЛСКИ КУЛТУРИ
СТРУМИЦА**

UDC 63(058)

ISSN 1409-987X

**ГОДИШЕН ЗБОРНИК
2001
YEARBOOK**

GODINA 1

VOLUME 1

**UNIVERSITY “ST CYRIL AND METODIJ” SKOPJE
INSTITUTE OF SOUTHERN CROPS - STRUMICA**

ГОДИШЕН ЗБОРНИК
ЈНУ ИНСТИТУТ ЗА ЈУЖНИ ЗЕМЈОДЕЛСКИ КУЛТУРИ - СТРУМИЦА
YEARBOOK
INSTITUTE OF SOUTHERN CROPS - STRUMICA

Издавачки Совет

Д-р Саша Митрев
Д-р Васил Коцевски
Д-р Ристо Кукутанов
Д-р Илија Каров
Д-р Македонка Даутова
Д-р Добре Јакимов
Д-р Милан Ѓеорѓиевски

Editorial board

Dr. Sasa Mitrev
Dr. Vasil Kocovski
Dr. Risto Kukutanov
Dr. Ilija Karov
Dr. Makedonka Dautova
Dr. Dobre Jakimov
Dr. Milan Gjeorgjievski

Редакциски одбор

Д-р Саша Митрев
Д-р Васил Коцевски
Д-р Ристо Кукутанов
Д-р Илија Каров
Д-р Македонка Даутова
Д-р Добре Јакимов
Д-р Милан Ѓеорѓиевски
М-р Душан Спасов
М-р Драгица Сапсова
М-р Љупчо Михајлов
М-р Микица Чавдарова
М-р Лилјана Колева-Гудева
М-р Ленче Ананиева

Editorial staff

Dr. Sasa Mitrev
Dr. Vasil Kocovski
Dr. Risto Kukutanov
Dr. Ilija Karov
Dr. Makedonka Dautova
Dr. Dobre Jakimov
Dr. Milan Gjeorgjievski
M. Sc. Dusan Spasov
M. Sc. Dragica Sapsova
M. Sc. Ljupco Mihajlov
M. Sc. Mikica Cavdarova
M. Sc. Liljana Koleva-Gudeva
M. Sc. Lence Ananieva

Одговорен уредник

Д-р Саша Митрев

Responsible editor

Dr. Sasa Mitrev

Главен уредник

Д-р Васил Коцевски

Editor in chif

Dr. Vasil Kocovski

Технички уредник

М-р Лилјана Колева-Гудева

Technical editor

M.Sc. Liljana Koleva-Gudeva

Компјутерска подготовка

М-р Лилјана Колева-Гудева

Computer adaptation

M.Sc. Liljana Koleva-Gudeva

Редакција и администрација

ЈНУ Институт за јужни
земјоделски култури - Струмица
Гоце Делчев б.б.
2000 Струмица, Р Македонија
тел/факс: 034 345-096

Address of the editorship

Institute of Southern Crops
Strumica
Goce Delcev b.b.
2000 Strumica, R Macedonia
phone/fax: ++ 389 34 345-096

IN MEMMORIAM
Dr Vasil Kocovski 1950-2001

ВО СПОМЕН НА
Др Васил Коцевски 1950-2001



**На нашиот незаборавен,
Почитуван научен работник, колега, соработник,
Драг другар и пријател - Васил Коцевски.**

ЈНУ ИНСТИТУТ ЗА ЈУЖНИ ЗЕМЈОДЕЛСКИ КУЛТУРИ - СТРУМИЦА

**To our unforgettable,
Respectful, scientific worker, colleague, collaborator,
Dear companion and friend -Vasil Kocovski.**

INSTITUTE OF SOUTHEREN CROPS - STRUMICA

СОДРЖИНА CONTENTS

Одделение за агротехника

Department for agrrotechnology

- Коцевски В., Митрев С., Ѓеорѓиевски М., Спасов Д. и Спасова Драгица.
Влијание на НПК ѓубрињата, Mn и Zn врз приносот на индустриските домати-----8-14
- Kocevski V., Mitrev S., Gjeorgjievski M., Spasov D. and Spasova Dragica.
The influence of NPKfertilizations, Mn and Zn on the yeald of industrial tomatoes -----8-14
- Коцевски В., Митрев С., Спасов Д. и Спасова Драгица.
Влијание на ѓубрењетои надворешните фактори, врз морфолошките својства на индустриските домати -----15-21
- Kocevski V., Mitrev S., Spasov D. and Spasova Dragica.
The effect of fertalization and climate conditions on the morphological characteristics on industrial thomatoes-----15-21

Одделение за биотехнологија на растенијата

Department of biotechnology

- Koleva-Gudeva Liljana and Spasenoski M.
The effect of some cytokinines on pepper organogenesis (*Capsicum anuum L.* cv. Kurtovska kapija and Zlaten medal) cultured in vitro -----23-26
- Колева-Гудева Лилјана и Спасеноски М.
Ефектот на некои цитикинини врз органогенезата на пиперка (*Capsicum annuum L.* сорти Куртовска капија и Златен медал) во услови in vitro -----23-26
- Колева-Гудева Лилјана, Митерв С. и Спасеноски М.
Можности за примена на некои нови методи за производство на безвирусен посадочен материјал-----27-34
- Koleva-Gudeva Liljana, Mitrev S. and Spasenoski M.
Possibilityes of uses of some new methods for free of viruses production of plants-----27-34

Одделение за генетика и селекција на растенијата

Department for genetics and selection of plants

- Јакимов Д., Чавдарова Микица, Ѓеорѓиевски М. и Илиевски М.
Улога и функција на банката на рестителни гени во зачувување на генофондот од градинарски и индустриски видови -----35-38
- Jakimov D., Cavdarova Mikica, Gjeorgjievski M. and Ilievski M.
Meaning and function of genbank of plant genes in ceeping of genofond of vegetable and industrial crops-----35-38
- Чавдарова Микица, Јакимов Д., Ѓеорѓиевски М. и Илиевски М.
Испитување динамиката на хемискиот состав во плодовите од пиперката тип Капија *Capsicum annuum L.* произведена во струмичко - -----39-42
- Cavdarova Mikica, Jakimov D., Gjeorgjievski M. and Ilievski M.
Examination of chemical characteristics in the fruits of pepper type Kapija *Capsicum annuum L.* produced at the region of Strumica -----39-42

- Чавдарова Микица, Јакимов Д., Ѓеорѓиевски М. и Илиевски М.
Резултати од извршено испитување на отпадокот при конзервирање
на домотот и пиперката-----43-46
Cavdarova Mikica, Jakimov D., Gjeorgjievski M. and Ilievski M.
Results of examination of the refuse in conservation of tomatoes and pepper---
-----43-46
- Ѓеорѓиевски М., Јакимов Д., Коцевски В. и Чавдарова Микица.
Влијанието на подфазите од развојот на цветот врз опрашувањето и
оплодувањето кај домотот (*L. esculentum*) од аспект на хетерозисно
семенпроизводство -----47-52
Gjeorgjievski M., Jakimov D., Kocovski V. and Cavdarova Mikica.
The effect of flowering development stages on the flowering and fertalization
at tomatoes (*L. esculentum*) from the aspect of heterosis seed production-47-52
- Спасова Драгица, Спасов Д., Коцевски В. и Илиевски М.
Испитување на некои домашни и интродуирани сорти памук во
агроеколошките услови на Струмица -----53-57
Spasova Dragica, Spasov D., Kocovski V. and Ilievski M.
Examination of some domestic and introduced varieties of cotton in the
agroecological conditions at Strumica-----53-57
- Василевски Г., Бошев Д. и Михајлов Љ.,
Состојби и можности за производство на соја во Република
Македонија-----58-64
Vasilevski G., Bosev D. and Mihajlov Lj.
Situations and possibilities for production of soybean in Macedonia ----58-64

Одделение за заштита на растенијата од болести штетници и плевели

Department of protection of the plants from diseases, pests and weeds

- Mitrev S., Karov I., and Spasov D.
Races of *Xantomonas vesicatoria* isolated from pepper in Macedonia ----66-71
- Митрев С., Каров И. и Спасов Д.
Раси на бактеријата *Xantomonas vesicatoria* изолирана од пиперка во
Македонија-----66-71
- Mitrev S., Gardan L. and Samson R.
Characterization of bacterial strains of *Pseudomonas syringae pv. syringae*
isolated from pepper leaf spot in Macedonia -----72-78
- Митрев С., Gardan L. and Samson R.
Бактериски карактеристики на расите од *Pseudomonas syringae pv.*
syringae изолирани од лисната дамкавост кај пиперката во
Македонија -----72-78
- Митрев С., Пејчиновски Ф., Козина Б. и Мојсовски Т.
Појава на некои нови патогени промени кај виновата лоза во
регионот-----79-88
- Спасов Д., Митрев С., Спасова Драгица, Ѓеорѓиевски М., Каров И.,
Коцевски В., и Јакимов Д.
Состојбата со болести, штетници и плевели кај семенската пченица
во периодот од 1996-2000 година -----89-94
Spasov D., Mitrev S., Spasova Dragica, Gjeorgjievski M., Karov I., Kocovski V., and
Jakimov D.
The condition of diseases, pest and weeds on the seed wheat in the period of
1996-2000 year-----89-94

Dautova Makedonka, Marie-Noelle Rosso, Abad P., Gommers F., Bakker J. and Smant G.

Single pass cDNA sequencing – a powerful tool to analyse gene expression in preparasitic juveniles stage of the southern root knot nematode *Meloidogine incognita* -----95-110

Даутова Македонка, Marie-Noelle Rosso, Abad P., Gommers F., Bakker J. и Smant G.

Единечно cDNA секвенционирање - моќен метод за анализирање на гени изразени во препаразитски ларви од јужната галова нематода *Meloidogine incognita* -----95-110

Каров И., Митрев С., Спасов Д., Спасова Драгица, Колева-Гудева Лилјана
Butomus umbellatus нов плевел на оризовите површини во Македонија-----111-113

Karov I., Mitrev S., Spasov D., Spasova Dragica, Koleva-Gudeva Liljana
Butomus umbellatus new weed at the rise fields in Macedonia -----111-113

Каров И., Митрев С., Спасов Д., Спасова Драгица, Колева-Гудева Лилјана, Коцевски В.,

Каров И., Бисерка Наумоба и Елизабета Манова
Генетика на отпорноста на оризот кон *Pyricularia oryzae* Cav.--114-123

Karov I., Biserka Naumoba and Elizabeta Manova
Genetics of resistance on rice towards *Pyricularia oryzae* Cav.-----114-125

Спасов Д.
Лисни вошки кај пиперката во струмичкиот регион -----126-131

Spasov D.
Aphids of pepper in Strumica Region -----126-131

Митрев С. и Спасов Д.
Здравствена состојба на пиперката во југоисточниот регион на Република Македонија во 2001 година-----132-138

Mitrev S. and Spasov D.
The health condition of pepper plants in 2001 in Strumica District ----132-138

Упатство за печате на трудови во зборникот на ЈНУ Институт за јужни земјоделски култури-----139-140

ОДДЕЛЕНИЕ ЗА АГРОТЕХНИКА
DEPARTMENT FOR AGROTECHNOLOGY

ВЛИЈАНИЕ НА NPK ЃУБРИЊАТА, Mn И Zn ВРЗ ПРИНОСОТ НА ИНДУСТРИСКИТЕ ДОМАТИ

Коцевски В., Митрев С., Ѓеорѓиевски М., Спасов Д. и Спасова Драгица

Краток извадок

Цел на оваа испитување беше да се согледа влијанието на средните дози на NPK ѓубрењата, обогатени со Mn и Zn, врз приносот на индустриските домати на алувијален тип почви во регионот на Струмица.

Експериментот беше поставен на рандомизиран блок во четири повторувања. Беше користена и италијанска сорта на индустриски домати "АТ - 7- 14". Минералните ѓубриња се користени во средна доза од 810 kg/ha или N₁₀₀P₁₀₀K₁₅₀ и го зголемија приносот од 5 до 9 тони по хектар, споредено со контролата. Од петте варијанти кои беа користени, се добија различни приноси кои директно зависат од комбинацијата на минералните ѓубриња и годишните климатски услови. Интересна е споредбата на вариантите со ѓубрење (2,3,4, и 5) со контролата неѓубрено (варијанта1). Варијанта 5 се покажа како најдобра со просечен принос за 1998 од 95 600 kg/ha, или 24,64% повеќе од контролата која даде принос од 76 700 kg/ha домати. Во 1999 година варијанта 5 даде 98 500 kg/ha или 68,80% повеќе од контролата, која даде принос 72 000 kg/ha домати. Резултатите од испитувањата се исти и за 2000 година каде и овде варијанта 5 имаше најголем принос 96 500 kg/ha, или 11,88% повеќе од контролата која даде 85 850 kg/ha домати. Употребете на Mn и Zn во минерални NPK ѓубрења покажаа многу добри резултати, особено варијантата во која беа и двата елементи (варијанта 5 NPK + Mn + Zn) покажа најдобри резултати.

Клучни зборови: домати, минерални ѓубриња, манган, цинк, принос.

THE INFLUENCE OF NPK FERTALIZATIONS, Mn AND Zn ON THE YIELD OF INDUSTRIAL TOMATOES

Kocevski V., Mitrev S., Gjeorgjievski M., Spasov D. and Spasova Dragica.

Abstract

The main aim of the investigation was to consolidate the influence of the middle dose of NPK fertilization, adequate of Mn and Zn on the yield of industrial tomatoes, on the alluvial soil in the region of Strumica.

The experiment was established on the randomized blokes in the four repetitions. In this experiment was used the Italian sort of industrial tomato "AT - 7- 14". The mineral fertilizations are used in middle dose of 810 kg/ha or N₁₀₀P₁₀₀K₁₅₀ and they increased the yields from 5 to 9 tones per hectare, comparing with the control. From the five variants wich were used in the experiment, it was obtained

Институт за јужни земјоделски култури - Струмица, Гоце Делчев б.б., Македонија
Institute of Southern Crops – Strumica, Goce Delcev b.b, 2000 Strumica, R of Macedonia
various yields who are in direct influence from the combinations of the mineral fertilization and the climatologically conditions of the year. Comparing the variant

and fertilization (variant 2,3,4 and 5) with the variant without fertilization or control (variant 1) is very interesting. The variant 5 shows as better and the average yields for 1998 of 95 600 kg/ha tomatoes, or for 24,64% more comparing with control variant which gave the yield of 76 700 kg/ha tomatoes. In 1999 the variant 5 gave 98 500 kg/ha tomatoes or 36,80% more comparing with control which gave 72 000 kg/ha tomatoes. The results of the experiment are the same for 2000, when the better variant was the variant 5 with 96 050 kg/ha or 11,88% more than the control which gave 85 850 kg/ha. tomatoes.

The use of Mn and Zn especially in the variant based on NPK fertilization showed very good results, but the variant in which are used both elements (variant 5 - NPK +Mn + Zn) shows the better results.

Key words: tomatoes, mineral fertilization, Mn, Zn, yield.

1. Вовед

Доматот (*Lycopersicon esculentum*) (Mill.) по своите квалитативни својства и вкус, спаѓа во најраширениот и најценетиот вид меѓу градинарските култури. Плодовите од домотот се користат за исхрана во ботаничка зрелост и како зелен плод (за киселење). Зрелиот плод е вкусна салата, додаток на разните јадења и суровина за различни облици на преработка. Од семето се рафинира масло за јадење, а во исхраната на животните се користат остатоците од плодот (содржи околу 38% белковини, до 12% масти и друго).

За човечка исхрана, домотот, во свежа состојба е посебно значаен, поради содржината на јаглени хидрати, органски киселини и витамин Ц, мала калорична вредност и висока содржина на калиум.

Плодот содржи значајни количини на минерални материи, посебно калиум (38%), фосфор (9%), магнезиум (9%) и железо (2%). Од витамините најзначајна е содржината на аскорбинската киселина (15 - 25%). Плодот од домотот ги содржи витамините В₁ (0,3 - 1,6 мг/кг), В₂ (1,5 - 6,0 мг/кг) и значајна количина од витамините РР (до 5 мг/кг).

Доматот има широк ареал на распространетост, во светот денес се одгледува на околу 25 милиони хектари. Најголеми производители се Кина, САД, Египет, Русија и други.

Во Р. Македонија домотот е застапен на 10000 хектари обработлива површина.

Доматот бара плодна почва, со погоден воден и воздушен режим во почвата. погодни се лесно-илести до тешко илести почви. Влажни и студени почви со кисела почвена реакција, не се погодни за одгледување домати. Тие бараат слабо кисела до неутрална почва (Рн 5,5 - 7,0).

Доматот, воопшто земено, добро ја поднесува монокултурата и во тие услови многу не ги намалува приносите. Добри пред култури за неа се луцерката, тревни смески, други легуминози, житни култури и т.н. Тој припаѓа на групата растенија со средни барања за хранливи елементи.

Во врска со сето напред речено, во оваа истражување, преземено е во текот на три години (1998 - 2000 година), да се испита влијанието на NPK минералните ѓубриња и врз нивна основа важни за растенијата микроелементите манган и цинк, како влијаат врз приносот на плодовите кај индустриските домати на алувијална почва во струмичко.

2. Материјал и метод на работа

Полскиот опит е изведен на опитното поле во Институт за јужни земјоделски култури - Струмица. Проучувањето траеше вкупно три години од 1998 - 2000. За проучување ја користевме италијанската индустриска сорта домати АТ - 70 - 14.

Полските испитувања беа поставени во опит по методот рандомизирани блокови во четири повторувања. Опитната парцелка беше со површина од 20 м². Склопот на растенијата беше 90 x 40 см, при што вегетациониот простор изнесуваше 3600 см².

Во сите години на испитувањето пред култура на домати беше пченица. Основното орање е извршено наесен, а напролет е извршено пролетно орање и фино израмнета, нагубрена и подготвена за расадување.

Во текот на полските испитувања беше применувана вообичаена технологија за полско производство на индустриски домати, при што спроведувани беа потребните мерки на нега, како : прашење, наводнување по потреба, односно, во зависност од климатските услови, редовна заштита од болести и штетници.

Во опитот беа опфатени следните варијанти :

1. К о н т р о л а (0) негубрено ,
2. $N_{50+50} P_{100} K_{150} = 625 \text{ kg/ha}$ NPK =8:16:24 + 185 kg/ha Урас 27%N (50 kg/ha N) во две прихранувања во текот на вегетацијата ,
3. $N_{50+50} P_{100} K_{150} + 1\% \text{ Mn} = 625 \text{ kg/ha}$ NPK =8:16:24 + 185 kg/ha Урас 27%N(50 kg/haN) во две прихранувања во текот на вегетацијата ,
4. $N_{50+50} P_{100} K_{150} + 1\% \text{ Zn} = 625 \text{ kg/ha}$ NPK =8:16:24 + 185 kg/ha Урас 27%N(50 kg/haN) во две прихранувања во текот на вегетацијата и
5. $N_{50+50} P_{100} K_{150} + 1\% \text{ Mn} + 1\% \text{ Zn} = 625 \text{ kg/ha}$ NPK =8:16:24 + 185 kg/ha Урас 27%N(50 kg/haN) во две прихранувања.

Значи,кај сите губрени варијанти, односот на хранливите материи N:P₂O₅: K₂O беше 1: 1: 1,5.

3. Резултати и дискусија

Податоците за приноси на плодови во ботаничка зрелост по одделни години и просек за нив, се изнесени во табелата и графиконот .

Од резултатите дадени во нив, може да се заклучи следното: приносите добиени кај варијантата контрола во 1998 година се високи; тие изнесуваат

76 700 kg/ha - 100%. Статистичката обработка на податоците покажува дека сите губрени варијанти се сињификантни.

Кај варијантата 2 при употреба на 350 kg/ha т.е. $N_{100} P_{100} K_{150}$ или N :P₂O₅ : K₂O како 1:1 :1,5 се доби принос од 81 700 kg/ha 106,5%, зголемувањето изнесува 5000 kg/ha.

Варијантата 3 со количина на губрење од 356,25 kg/ha, т.е. $N_{100} P_{100} K_{150} \text{ Mn}_{6,25}$ приносот на плодови во ботаничка зрелост изнесува 87 200 kg/ha - 113,7%, односно е добиен поголем ефект на губрењето одколку кај варијантата 2.

Кај варијантата 4 со $N_{100}P_{100}K_{150}Zn_{6,25}$, постигнат е принос од 90 800 kg/ha - 118,4%, кој е поголем одколку кај варијантата 3.

Кај варијантата 5, при вкупно 362,50 kg/ha $N + P_2O_5 + K_2O + Mn + Zn$, се покажа како најдобра варијанта на ѓубрење. Тука, вкупниот однос на $N_{100}P_{100}K_{150}Mn_{6,25}Zn_{6,25}$, даде принос од 95 600 kg/ha - 124,6% или за 18 900 kg/ha повеќе принос на плодови во ботаничка зрелост од контролата и 13 900 kg/ha принос повеќе од варијантата 3, при иста количина на NPK хранива, со плус 1% Mn и 1% Zn.

Од напред изнесеното се гледа дека во 1998 година, најефикасна беше варијантата 5, односно ѓубрење со вкупно $N_{100}P_{100}K_{150}Mn_{6,25}Zn_{6,25}$, при што е добиен ефект од 1 кг на внесено храниво, од 52,14 кг плодови во ботаничка зрелост.

Во 1998 година од 1 кг внесени хранливи материи добиено е следното зголемување на приносот (по редослед варијантите): 2 = 14,28 кг; 3 = 29,47 кг; 4 = 39,58 кг и 5 = 52,14 кг плодови во ботаничка зрелост, од индустриската сорта домати "АТ - 70-14".

За постигнатите приноси во 1999 година, податоците се изнесени исто така во табелата и графиконот. Од резултатите во неа може да се заклучи следното:

- варијантата 1 - даде средни приноси - 72 000 kg/ha - 100%, кој е помал од истата варијанта во 1998 година за 4 700 kg/ha.

- варијантите 2, 3 и 4 ги дадоа овие просечни приноси по редослед: 81 500; 89 000 и 93 500 kg/ha или 113,2; 123,6 и 129,9% или повеќе одколку кај контролата за 9 500; 17 000 и 21 500.

- варијантата 5, со вкупно 362,50 kg/ha дава поголеми приноси т.е. 98 500 kg/ha - 136,8%. Споредена со контролата, варијантата 5 го зголемува приносот за 26 500 kg/ha или за 36,8%.

Статистичката обработка на податоците покажува дека и во оваа година сите ѓубрени варијанти се сињификантни.

Во 1999 година ефикасноста на 1 кг хранлива материја изнесува (по редослед): варијанти 2, 3, 4 и 5 : 27,14; 47,72; 60,35 и 73,10 кг плодови во ботаничка зрелост од индустриската сорта домати "АТ - 70 -14". Тука варијантите 4 и 5 се скоро изедначени по ефикасноста.

Добиените податоци за приноси на плодови во ботаничка зрелост, во 2000 година, се блиски со оние во претходните две истражувачки години, односно: 1= 85 850 kg/ha - 100%; 2=86 150 kg/ha - 100,35%; 3=87 800 kg/ha - 102,27%; 4=93 700 kg/ha - 109,14% и 5=96 050 kg/ha - 111,88%. Од тоа се гледа дека и по тригодишно истражување, варијантата 5 се покажа како апсолутно најефикасна и сињификантна врз приносот. Тој однос со $N_{100}P_{100}K_{150}Mn_{6,25}Zn_{6,25}$ треба да се препорачува понатаму во практиката за индустриската домата сорта "АТ - 70-14" во струмичко на алувијална почва.

4. Заклучок

Врз основа на добиените резултати од тригодишните испитувања за влијанието на NPK ѓубрива, Mn и Zn врз приносот на индустриските домати на алувијален почвен тип во струмичко, може да се донесат следните заклучоци:

1.Опитот беше поставен на алувијален почвен тип, кој со своите водно-физички и агрохемиски својства е соодветен за одгледување на

индустриски домати, за добивање на висок принос, со примена на соодветна агротехника.

2. Во опитот беа вклучени пет варијанти, контрола и четири ѓубрени варијанти. При тоа се употребени следните количини на хранливи материи: варијанта 2 со 625 kg/ha NPK=8-16-24 + 185 kg/ha Урас (Уреа-амон сулфат 27%N); варијанта 3 со 625 kg/ha NPK=8-16-24 доби уште 1%Mn + 185 kg/ha Урас - 27% N; варијанта 4 со 625 kg/ha NPK=8-16-24 +1%Zn и 185 kg/ha Урас - 27%N и варијанта 5 исто со 625 kg/ha NPK=8-16-24 +1% Mn +1% Zn и 185 kg/ha Урас - 27%N.

3. По остварен принос по хектар на плодови во ботаничка зрелост во текот на трите години, кај варијантата контрола, се добиени следните приноси: (т/ха и %) - 76 700; 72 000; 85 850 kg/ha и просек за три години 78 180 kg/ha - 100%. Просекот за четирите ѓубрени варијанти беше: 88 825; 90 625; 90 925 kg/ha, а нивниот просек за три години - 90 127 kg/ha - 115,3%.

4. По остварен принос по хектар, највисока вредност има варијантата 5: 95 600; 98 500 и 96 720 kg/ha и просек за три години 96 720 kg/ha - 123,7%. Како што се гледа најдобар ефект, апсолутен и релативен, даде варијантата 5, просечно 96 720 kg/ha - 123,71% (контролата 100%). Просечно зголемување кај оваа варијанта за три години беше 18 540 kg/ha.

5. Потоа по остварен принос по хектар доаѓа варијантата 4, со 92 670 kg/ha - 118,53%, т.е. плус 14 490 kg/ha.

6. Ефектот на 1 кг внесена хранлива материја врз приносот беше кај варијантата 5 и 4: во свежа материја 51,14 кг, односно 40,67 кг.

Литература

1. Алаџајков Л.: Некои проблеми во земјоделското производство во НРМ, Зборник на Земјоделски институт, кн. 1, Скопје, 1952.

2. Алаџајков Л.: Специјално градинарство, Скопје, 1966.

3. Барбиерг : Фертилизациона вредност хранливих елемената комплексних ѓубрива у модерној пољопривреди са посебним освртом на калиум. Производња и рационална примена ѓубрива у интензивној пољопривреди. Хемиска индустрија, Панчево, 1971.

4. Глишић С., Сувајџић Т., Керимагић С.: Испитивање утицаја, доза, времена и начина употребе комплексног ѓубрива 10-12-26+1% Mg на принос и квалитет кромпира, Агрехемија, 11-12, Београд, 1981.

5. Демировска В., Трпески В., Огненовски В., Стојанова М., Агић Р. и Симонов Д.: Утицај различитих количина азота на квалитет и принос код неких сорти паприке, Савремена пољопривреда вол. 40, бр. 1-2 (1992), Нови Сад.

6. Иљовски И., Стојанов Б., Чукалиев О.: Ефекти од наводнувањето капка по капка кај некои сорти и хибриди индустриски домати. Јубилеен годишен зборник на Земјоделскиот факултет - Скопје, год. 42, pp. 90-93, 1997.

7. Јекић М., Коцевски В., Јакимов Д.: Упоредно дејство ураса и кана на основи NPK на принос и неке морфолошке одлике паприке. Југ. симпозиум "Интензивно гајење поврћа и производња у заштићеном простору", Зборник радова. Охрид, 1990.

8. Коцевски В. и сор.: Влијание на течното минерално ѓубре "ФЛОРА-МК 2" врз приносот, морфолошките и квалитетните

својства на индустриските домати. XIX советување за заштита на растенијата, Охрид 1994.

9. Муртазов Т., Христов: Агротехника за получаване на високи добиви домати, пипер и патлаждани. Земиздат, Софија, 1953.

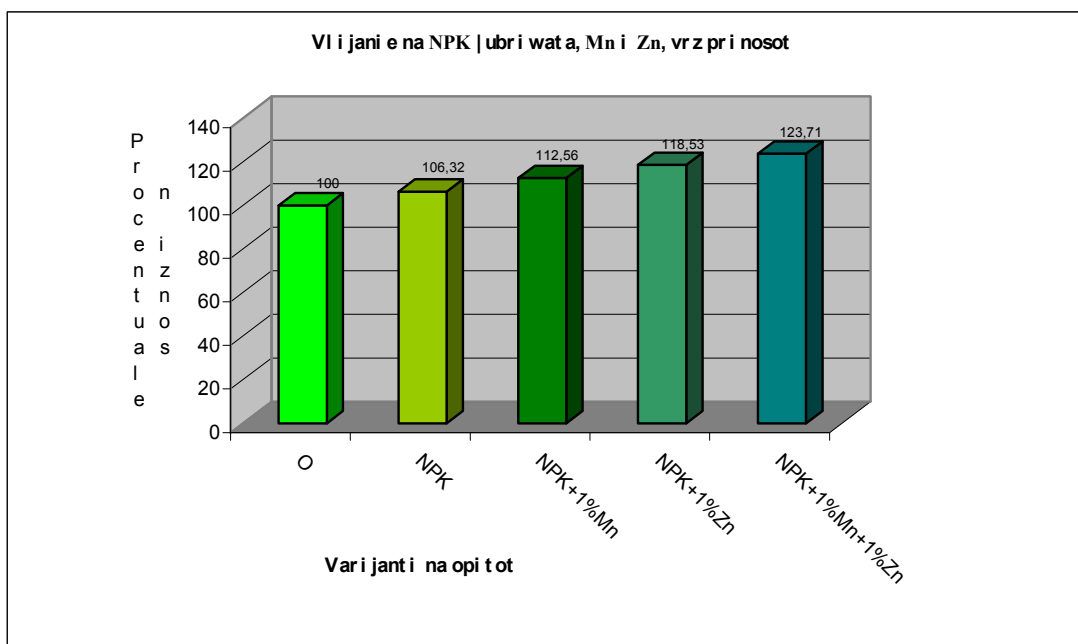
10. Петревска К.Ј.: Одгледување на домати (*Lycopersicon esculentum* Mill) врз инертни супстрати во заштитен простор. Докторска дисертација, Скопје, 1999.

11. Стојковска А., Трпески В., Војановски Б.: Влијание на хелатите од Fe, Zn, Cu и Mn врз ожилувањето на резниците од црната рибизла. Јубилеен год. зборник книга XXI, Скопје, 1974.

Влијание на NPK ѓубрињата, Mn и Zn врз приносот на плодот (кг/ха),
 1998-2000 г

Ред. бр.	Варијанта	Г о д и н а			X̄	%
		1 9 9 8	1 9 9 9	2 0 0 0		
1	Контрола	76 700	72 000	85 850	78 180	100,00
2	N P K	81 700	81 500	86 150	83 120	106,32
3	N P K + 1% Mn	87 200	89 000	87 800	88 000	112,56
4	N P K + 1% Zn	90 800	93 500	93 700	92 670	118,53
5	NPK+1%Mn+1%Zn	95 600	98 500	96 050	96 720	123,71

L S D 5 % - 5420 kg/ ha
 1 % - 7887 kg / ha
 01 % - 11849 kg / ha



ВЛИЈАНИЕ НА ЃУБРЕЊЕТО И НАДВОРЕШНИТЕ ФАКТОРИ, ВРЗ МОРФОЛОШКИТЕ СВОЈСТВА НА ИНДУСТРИСКИТЕ ДОМАТИ

Коцевски В., Митрев С., Спасов Д. и Спасова Драгица.

Краток извадок

Во периодот од 1998-2000 година на површините на ЈНУ Институт за јужни земјоделски култури на алувијална почва со неутрално кисела реакција, слабо обогатена со хумус и азот, средно застапена со фосфор и натриум, беа изведени испитувања со ѓубрења на средни дози на НПК со Mn и Zn и нивното влијание врз морфолошките карактеристики на индустриските домати сорта AT – 14 - 70.

Резултатите покажаа дека варијантата 5 со N100P100K100 + 1% Mn + 1%Zn = 625 kg/ha NPK + 185 kg/ha Uras - 27% N, со две прихранувања има најдобар ефект врз морфолошките карактеристики на домати. Со минералните ѓубрења се зголеми масата на плодот во просек за трите години од 102,82% до 112,61%. Варијантите со ѓубрење даваа плодови од 166,50 г - 179,00 г тежина во подобрите години, а во лоши климатски услови тежината на плодот беше 108,98 г и 120,38 г (1998) или во просек 145,62 г. На другите морфолошки карактеристики ѓубрењето воглавно не влијае директно кај индустриските домати AT – 14 – 70.

Клучни зборови: домати, минерални ѓубриња, манган, цинк, морфолошки карактеристики.

THE EFFECT OF FERTILIZATION AND CLIMATE CONDITIONS ON THE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS ON INDUSTRIAL TOMATOES

Kocevski V., Mirev S., Spasov D. and Spasova Dragica.

Abstract

Since 1998 - 2000 year, on the field of Institute of Southern crops - Strumica, on alluvial soil with neutral soil reaction, needy reserve with humus and nitrogenous, middle reserve with phosphorus and potassium, has been investigated the middle dose of NPK fertilization, adequate quantities of Mn and Zn, and their effect on the morphological characteristics of industrial tomatoes, variety AT - 14-70.

The results have been showed that the variant 5 with N₁₀₀P₁₀₀K₁₀₀ + 1% Mn + 1%Zn = 625 kg/ha NPK + 185 kg/ha Uras - 27% N, in two feedings, had the best effect on morphological traits. The mineral fertilizers have increased the mass of the fruit on the average of three years - 102,82% to 112,61%. The fertilized variants gave fruits with 166,50 g - 179,00 g weight in better years, but in the worst climatic conditions the weight of the fruit was between 108,98 g and 120,38 g (1998) or on the average of 145,62 g. The fertilization mainly, did not have attached sufficient to other morphological characteristics on industrial tomatoes, variety AT - 14-70.

Key words: tomatoes, fertilization, Mn, Zn, yield, morphological characteristics

1. Вовед

Во светот, домотот е во групата на најзастапени градинарски култури, односно тој е во групата на незаменливи зеленчуци, кој денеска се одгледува насекаде во светот. Ова е сосема разбирливо бидејќи неговите плодови, заради кои и се одгледува, спаѓаат во редот на најценетите зеленчуци. Доматот се одгледува, пред сè, поради неговиот плод кој се консумира кој се консумира во свежа состојба, како и во разноврсни преработки. Од семето се рафинира масло за јадење, а во исхраната на животните се користат остатоците од плодот (содржи околу 38% белковини, до 12% масти и др.).

Доматот (*Lycopersicon esculentum*) (Mill.) има широк ареал на распространетост. Во светот денес се одгледува на околу 2,5 милиони хектари. Во Р. Македонија домотот е застапен на 10 000 ха обработлива површина.

Поаѓајќи од овие околности, во оваа истражување во текот на три години, преземено е испитување на влијанието на NPK минералните ѓубриња и врз нивна основа важни за растенијата микроелементите манган и цинк, како влијаат врз морфолошките својства кај индустриските домати на алувијална почва во струмичко.

2. Материјал и метод на работа

Испитувањата се спроведени 1998, 1999 и 2000 година, на алувијален почвен тип, на опитното поле од ЈНУ Институт за јужни земјоделски култури - Струмица.

Полските испитувања беа поставени во опит по методот рандомизирани блокови во четири повторувања. Опитната парцелка беше со површина од 20 м². Растојанието на расадување помеѓу редовите е 90 см, а помеѓу растенијата 40 см, при што вегетациониот простор изнесуваше 3600 см². Во сите три години на истражување е користена италијанската индустриска домата АТ - 70 - 14.

Во текот на испитувањата вршени се следните набљудувања и мерења:

1. Производни својства:

- постигнати приноси на плодови во ботаничка зрелост (т/ха и %)

За утврдување морфолошките карактеристики на плодот вршени се следните мерења и некои пресметувања: маса на плодот (г), должина на плодот (см), широчина на плодот (см), индекс на плодот, дебелина на перикарпот (мм).

Во опитот беа опфатени следните варијанти :

1. К о н т р о л а (0) неѓубрено ,
2. $N_{50+50} P_{100} K_{150} = 625 \text{ kg/ha}$ NPK =8:16:24 + 185 kg/ha Урас 27%N (50 kg/ha N) во две прихранувања во текот на вегетацијата ,
3. $N_{50+50} P_{100} K_{150} + 1\% \text{ Mn} = 625 \text{ kg/ha}$ NPK =8:16:24 + 185 kg/ha Урас 27%N(50 kg/haN) во две прихранувања во текот на вегетацијата ,

4. $N_{50+50} P_{100} K_{150} + 1\% Zn = 625 \text{ kg/ha}$ $NPK = 8:16:24 + 185 \text{ kg/ha}$ Урас 27%N(50 kg/haN) во две прихранувања во текот на вегетацијата и
5. $N_{50+50} P_{100} K_{150} + 1\% Mn + 1\% Zn = 625 \text{ kg/ha}$ $NPK = 8:16:24 + 185 \text{ kg/ha}$ Урас 27%N(50 kg/haN) во две прихранувања.

Значи, кај сите ѓубрени варијанти, односот на хранливите материи $N:P_2O_5:K_2O$ беше 1: 1: 1,5.

3. Резултати и дискусија

3.1. Маса на плодот

Морфолошките својства на домотот се сортови одлики (генетски особини), но тие сепак варираат во одредени граници во зависност од надворешните фактори (температура, вода и т.н.) во одделните години. Врз истите натаму делуваат почвените карактеристики, услови на исхрана, односно, ѓубрењето, заштитата на културата од болести и штетници и т.н., значи цел комплекс на фактори. Поради сето тоа, често пати тешко е некое отстапување да се објасни.

За влијанието на минералната исхрана врз масата на плодот кај индустрискиот домот сорта "АТ-70-14", за просек три години, податоците се изнесени во табела 1. Од која се гледа следното:

Земено по години масата на плодот во просек беше најголема во третата, 2000 година, со 171,50 г и втората, 1999, со 150,72 г. Пониски вредности добини се во 1998 година, со максимум 120,38 г кај варијантата 5.

Во просек од три години, масата на плодот во сите пет варијанти многу е поизедначена, одколку кога се гледа за поодделни години. Така разликата изнесува од 136,68 г до 153,91 г, кај контролата (100%) и варијантата 5, (112,61%), како најповолна. Варијантата 5, во просек за три години, се покажа како најефикасна со потежок плод од контролата за 17,23 г или за 12,61%.

Добиените просечни податоци за три години ни потврдуваат дека во поволни години ѓубрените варијанти даваат плодови од 166,50-179,00 г (во 2000 година) и во полоши климатски услови од 108,98-120,38 г (во 1998 година), или во просек за три години 145,62 г.

3.2. Должина на плодот

За влијанието на минералните ѓубриња на должината на плодот, за просек од три години, податоците се изнесени во табела 2. Од податоците во табелата може да се констатира дека контролата даде плод од 5,37 см-100%. Зголемување има кај сите ѓубрени варијанти, кај варијантата 2, со 5,40 см-100,56%, кај варијантата 3, со вредност од 5,47 см-101,80%, иста е вредноста и кај варијантата 4 ($NPK+1\%Zn$) и кај варијантата 5, со вредност од 5,58 см-103,97%. Значи во просек за три години, ѓубрењето врз оваа својство на домотот нема некој изразен ефект.

3.3. Широчина на плодот

Како должината и широчината на плодот е сортна карактеристика, но сепак таа делумно зависи и од климатските услови, ѓубрењето и другите агротехнички и заштитни мерки.

Податоците за влијанието на минералната исхрана врз широчината на плодот, во просек од три години, изнесени се во табела 3. Најдобри резултати се добиени кај варијантата 5, со 6,57 см-107,41%, а потоа доаѓа

варијантата 4, со 6,54 см-106,86%. Контролата во просек од три години изнесува 6,12 см-100%.

Во текот на испитуваните години, широчината на плодот се движеше во границите од 5,7-6,9 см, сметано за сите испитувани варијанти. Кај контролата, тие вредности се движеа од 5,7-6,5 см, а кај најповолната варијанта 5, граничните вредности за широчината на плодот беа уште потесни, односно, од 6,1-6,9 см. Тоа зборува дека испитуваната сорта домати, по однос на широчината на плодот, има стандардна вредност, која малку се менува и при неповолни климатски услови.

3.4. Индекс на плод

Индекс на плодот претставува однос на должината спрема ширината.

Во табелата 4 се дадени податоците за индексот на плодот во одделни години и кај разни варијанти на ѓубрење. Тие вредности се движат од 0,81-0,97, но во просек за три години, таа вредност е во границите на 0,84 до 0,87. Кај ѓубрените варијанти, (2-5), тие варирања во текот на три години беа кај одделни комбинации на опитот од 0,81-0,97, а кај контролата од 0,84-0,93, што се значајни варирања, како резултат на неповолните климатски услови.

Меѓутоа, ако се земат само просечните резултати, за трите години, разликите се многу мали, односно, кај контролата индексот на плодот е 0,87-100%, а кај ѓубрените варијанти, (2-5), 0,85 - 97,70%.

3.5. Дебелина на перикарпот

Податоците за оваа морфолошко својство, во поодделни години и просек за три години, дадени се во табелата 8. Од табелата се гледа дека најголем ефект има кај варијантата 5, со 0,46-104,54%, спрема контролата 0,44 см-100%. На второ место доаѓаат варијантите, 3 и 4, со 0,45 см- 102,27%, а варијантата 2, има иста вредност за дебелина на перикарпот како контролата, од 0,44 см-100%.

4. Заклучоци

Врз основа на добиените резултати од тригодишните испитувања за влијанието на ѓубрењето и надворешните фактори врз морфолошките својства на индустриските домати, АТ - 14 - 70 на алувијален почвен тип во струмичко, може да се донесат следните заклучоци:

1. Масата на плодот по одделни години ги има овие вредности: во 1998 година - 115,92 г-106,4%, во 1999 година - 154,76 г - 115,00% и во 2000 година - 172,87 г - 103,82%. Во просек за три години масата на плодот кај контролата изнесува 136,68 г - 100%, кај четирите ѓубрени варијанти 147,86 г, а кај најповолната варијанта 5, таа е 153,91 г-112,61%. Според оваа варијанта, секоја година се добиват најкрупни плодови.

2. Должината на плодот кај контролата изнесуваше од 5,50 до 5,77 см и просек за три години 5,37 см-100%. Најповолната варијанта 5, имаше 5,80 до 6,95 см, или просек од три години 5,58 см -103,97%. Според тоа, најповолната варијанта на ѓубрење ја зголеми должината на плодот во просек за 0,43 см.

3. Широчината на плодот по одделни години се движи од 5,7 до 6,9 см, просечните вредности во 1998 година - 6,0 см -100%, во 1999 година - 6,8 см - 113,3% и во 2000 година - 6,7 см - 111,7% т.е. доста изедначени вредности за широчина на плод. Во просек за три години варијантата контролата е со

6,12 см-100%, најмала широчина на плод - 6,40 см - 104,6% има варијантата со NPK, 6,46 см - 105,5% кај варијантата NPK+1% Mn, кај варијантата NPK+1% Zn - 6,54 см - 106,9% и 6,57 см - 107,3% при варијантата NPK+1% Mn + 1% Zn. .

4. Индексот на плодот (односот меѓу должината и широчината), кај контролата изнесува 0,85 - 0,93, или во просек 0,87 -100%. Кај варијантата 5, тие вредности се 0,84 до 0,88, или во просек за три години 0,85-97,70%.

Според тоа, минералните ѓубриња, немале ефект врз индексот на плодот.

5. Дебелината на перикарпот кај варијантата контрола се движи од 0,4 до 0,5 см, или во просек од три години 0,44 см-100%. Кај најповолната варијанта 5, тие вредности се 0,48 до 0,50 см, или во просек 0,46 см-104,5%. Во просек најповолната варијанта 5, ја зголемила вредноста на перикарпот за 0,02 см или релативно 4,54%.

Литература

1. Алаџајков Л.: Специјално градинарство, Скопје, 1966.
2. Иљовски И., Стојанов Б., Чукалиев О.: Ефекти од наводнувањето капка по капка кај некои сорти и хибриди индустриски домати. Јубилеен год. зборник на Земјоделскиот факултет - Скопје, год. 42, pp. 90-93, 1997.
3. Трпевски В., Аврамовски Т., Стојанова М.: Резултати од испитувањата на плодноста на почвата со N, P₂O₅ и K₂O во некои оранжерии во Македонија и висината на приносите кај доматиите и краставиците. Југословенски симпозиум “Интензивно гајење поврћа и производња у заштићеном простору“, Охрид, pp, 313 - 319, 1990.
4. Филиповски Ѓ.: Почвите на струмичко поле (услови за почвообразување, почви и мелиорација на струмичко поле). Год. зборник на ЗШФ, книга II, год. 1948/49. Скопје 1974.

Таб. 1 Влијание на ѓубрењето и надворешните фактори, врз масата на плодот(г), 1998-2000 г

Ред. Бр.	Варијанта	г о д и н а			X -	%
		1 9 9 8	1 9 9 9	2 0 0 0		
1	Контрола	108,98	134,57	166,50	136,68	100,00
2	NPK	110,16	143,45	168,00	140,54	102,82
3	NPK + 1% Mn	114,23	155,55	170,00	146,59	107,25
4	NPK + 1% Zn	118,99	157,68	174,50	150,39	110,03
5	NPK+1% Mn+1%Zn	120,38	162,36	179,00	153,91	112,61

LSD за 5% - 7,73 г; за 1% - 11,25 г

Таб. 2 Влијание на ѓубрењето и надворешните фактори, врз должината на плодот (cm), 1998-2000 г

Ред. бр.	Варијанта	Г о д и н а			X -	%
		1 9 9 8	1 9 9 9	2 0 0 0		
1	Контрола	4,8	5,5	5,77	5,37	100,00
2	НПК	4,8	5,6	5,80	5,40	100,56
3	НПК + 1% Mn	4,9	5,7	5,80	5,47	101,80
4	НПК + 1% Zn	4,9	5,7	5,82	5,47	101,80
5	НПК+1%Mn+1% Zn	5,0	5,8	5,95	5,58	103,97

Таб. 3 Влијание на ѓубрењето и надворешните фактори, врз ширината на плодот(cm),1998-2000 г

Ред. бр.	Варијанта	Г о д и н а			X -	%
		1 9 9 8	1 9 9 9	2 0 0 0		
1	Контрола	5,7	6,5	6,17	6,12	100,00
2	НПК	5,9	6,7	6,60	6,40	104,57
3	НПК + 1% Mn	5,9	6,8	6,69	6,46	105,61
4	НПК + 1% Zn	6,0	6,9	6,72	6,54	106,86
5	НПК+1% Mn+1%Zn	6,1	6,9	6,72	6,57	107,41

Таб. 4 Влијание на ѓубрењето и надворешните фактори, врз индексот на плодот, 1998-2000 г

Ред. бр.	Варијанта	Г о д и н а			X ⁻	%
		1 9 9 8	1 9 9 9	2 0 0 0		
1	Контрола	0,84	0,85	0,93	0,87	100,00
2	НПК	0,81	0,83	0,88	0,84	96,55
3	НПК + 1% Mn	0,83	0,84	0,97	0,85	97,70
4	НПК + 1% Zn	0,82	0,83	0,87	0,84	96,55
5	НПК+1%Mn+1% Zn	0,82	0,84	0,88	0,85	97,70

Таб. 5 Влијание на ѓубрењето и надворешните фактори, врз дебелината на перикарпот на плодот(см), 1998-2000 г

Ред. бр.	Варијанта	Г о д и н а			X ⁻	%
		1 9 9 8	1 9 9 9	2 0 0 0		
1	Контрола	0,4	0,5	0,42	0,44	100,00
2	НПК	0,4	0,5	0,42	0,44	100,00
3	НПК + 1% Mn	0,4	0,5	0,44	0,45	102,27
4	НПК + 1% Zn	0,4	0,5	0,46	0,45	102,27
5	НПК+1% Mn+1%Zn	0,4	0,5	0,48	0,46	104,54

ОДДЕЛЕНИЕ ЗА БИОТЕНХОЛОГИЈА
НА РАСТНИЈАТА

DEPARTMENT FOR PLANT

BIOTECHNOLOGY

**THE EFFECT OF SOME CYTOKININS ON PEPPER ORGANOGENESIS
(*Capsicum annuum* L. c.v. KURTOVSKA KAPIJA AND ZLATEN MEDAL)
CULTURED IN VITRO**

Koleva-Gudeva Liljana¹ and Spasenoski M.²

2001, Sani-Halkidiki, Greece, 1st International Symposium on `Acclimatization and Establishment of Micropropagated Plants. (p. 119 Abstract)

Abstract

In this paper are summarized some experimental results concerning the effect of some cytokinins on organogenesis and regeneration of pepper explants (apical buds) cultured in vitro. Two cultivars of pepper (*Capsicum annuum* L.) were used as experimental material cv. Kurtovska kapija, a red sweet and c.v. Zlaten medal, red sweet type. The both types are highly popular in the R. of Macedonia, c.v. Kurtovska kapija is extensively grown in the southeaster region, while Zlaten medal is also present in the northeaster part in Macedonia. The meristematic explants were isolated from aseptically grown seedlings, than they were cultivated on MS medium (Murashige and Skoog 1962). The effect of cytokinines KIN, BAP and ZEA applied in medium alone or with combination of auxins IAA and NAA was examined. After 40 days we measured the percentage of callus formation, leaf rosettes formation and root formation. Depending on the concentration of cytokines and their combination with auxins, the percentage of callus formation, leaf rosettes formation and root formation, was different for different combinations. The best results for organogenesis and regeneration on the both types of pepper were shown on the mediums with ZEA. For all examined mediums there was noticed a slight difference between sorts Kurtovska kapija and Zlaten medal, on the organogenesis and regeneration effect.

Key words: **organogenesis, shoot culture, ZEA, BAP, KIN, IAA, and NAA.**

**ЕФЕКТОТ НА НЕКОИ ЦИТОКИНИНИ ВРЗ ОРГАНОГЕНЕЗАТА НА
ПИПЕРКА (*Capsicum annuum* L. сорти КУРТОВСКА КАПИЈА И ЗЛАТЕН
МЕДАЛ) ВО УСЛОВИ IN VITRO**

Koleva-Gudeva Liljana¹ i Spasenoski M.²

**2001, Сани-Халкидики, Грција, 1 Меѓународен симпозиум за
Акклиматизација и Постапување на Микропропагирани растенија (стр. 119)**

Краток извадок

Во овој труд даден е краток преглед на експерименталните резултати од ефектот на некои цитокинини врз органогенезата и регенерацијата на

¹Institute of Southern crops - Strumica, Goce Delcev b.b., 2 000 Strumica, Macedonia

²Faculty of Natural Science and Mathematics, Gazi Baba bb, PO Box 162, Skopje, Macedonia

¹Институт за јужни земјоделски култури - Струмица, Гоце Делчев б.б., Македонија

²Природно-математички Факултет, Гази Баба б.б. П фах. 162, Скопје, Македонија

експлантати од пиперка во *in vitro* услови.

Како експериментален материјал беа користени две сорти на пипека (*Capsicum annum L.*) Куртовска капија црвена слатка и Златен медал исто така црвена слатка. И двете сорти се одгеледуваат во Р. Македонија, Куртовската капија е посебно популарна во југоисточниот а Златниот медал е присутна и во североисточниот дел на Р. Македонија. Меристемски експлантати беа изолитани од асептички исклиени семиња од пиперка, а потоа беа култивирани на MS медиум (Murashige and Skoog 1962). Беше испитуван ефектот на цитокинините KIN, BAP и ZEA во медиумот, со и без присуство на ауксините IAA и NAA. По 40 дена беа извршени мерења за процентот на формирање на лисни розети, калус и корени.

Во зависност од концентрацијата и комбинацијата на ауксините, процентот на формирањето на лисни розети, калус и корени беше различен за различни хормонски комбинации и концентрации. Најдобри резултати врз органогенезата и регенерацијата и кај двете сори дадоа медиуми со присуство на ZEA. За сите испитувани медиуми беше забележана сосема мала разлика меѓу сортите Куртовска капија и Златен медал за ефектот на органогенезата и регенерацијата во услови *in vitro*.

Клучни зборови: органогенеза, култура на изданоци, ZEA, BAP, KIN, IAA, и NAA.

1. Introduction

The region of Strumica is mainly agricultural oriented, so our interest for *in vitro* culture is on the vegetable crops, especially pepper. The target cultivars are pepper c.v. Kurtovska Kapija and c.v. Zlaten medal which as genetically unstable, and our aim is to produce more uniform population. The both types are highly popular in R. of Macedonia, c.v. Kurtovska kapija is extensively grown in the southeaster region, while Zlaten medal is also present in the northeaster part in Macedonia.

In pepper, based on organogenesis of different explants, several tissue culture protocols have been described (Phillips and Husbstenberger 1985; Agrawal et al. 1989; Ochoa-Alejo and Ireta-Moreno 1990; Arroyo and Revilla 1991; Valeria-Montero and Ochoa-Alejo 1992; Ebidia and Hu 1993; Hari and Andrasfalvy 1994).

In these study parameters such as percentage of callus formation, leaf rosettes formation and root formation were studied in order to find the effect of some cytokinines on the organogenesis on pepper shoots.

2. Material and Methods

Apical buds of pepper were isolated from aseptically grown seedlings. The seeds were washed 15 sec in 70% alcohol, stirred 10 min in 1% Izosan, then stirred 15 min in Na-hipochloride and rinsed twice in sterilized distilled water.

Apical buds were trimmed to 0,3 cm in length and were cultivated in a modified Murashige - Skoog medium containing ZEA, BAP, KIN, IAA, NAA in different combinations and concentrations. The medium also contained 200 mg/l casein hydrolysate, 100 mg/l inositol and 7g/l agar (pH 5,8).

Cultures were held at primary growth room under illumination of 2 000 - 3 000 Lux, photoperiod 16/8 light/dark, 25±1°C temperature and relative humidity of 80%.

3. Results and discussion

On the MS medium with cytokinines BAP or KIN and presence of auksin IAA it was noticed leaf rosettes formation on the both sorts Kurtovska kapija and Zlaten medal. On the medium 0,5 mg/l IAA + 1,0 mg/l BAP (Table 1) leaf rosettes formation on Zlaten Medal is 47,08% while on the same medium on the sort Kurtovska kapija is only 9,52%.

At the other exanimate mediums the presence of leaf rosetes formation is biggest on Zlaten medal, which is confirmation that the ability for organogenesis and regeneration is less on the Kurtovska kapija than on the Zlaten medal. Increasing the concentration on BAP on the medium, with the constant presence of NAA 0,5 mg/l, is followed by increasing of the presence of forming the leaf rosettes.

Comparing the effect of cytokinines BAP and KIN, on the organogenesis of apical bud of pepper, is remarkable that BAP has the bigger effect than the KIN. On the both exanimate sorts it is noticed that on the medium only with cytokinines the presence of leaf rosettes formation is largest. Callus formation decreasing and the leaf rosettes formation is even 100% for the very small concentrations on cytokinines, for example on the MS + 0,5% ZEA.

From the all exanimate cytokinines, KIN showed the lowest effect (Table 2). On the MS + 0,5 mg/l KIN and MS + 1,0 mg/l KIN the leaf rosettes formation is absent.

4. Concluding remarks

The effect of ZEA (Figure 1) on organogenesis and regeneration of pepper explants, for both cultivars Kurtovska kapija and Zlaten medal, was the most efficient of the other used cytokinines in the medium. The less was the effect of BAP and even less of the KIN for the both sorts of pepper.

On the all exanimate mediums, the sort Zlaten medal shows slightly bigger effect for organogenesis and regeneration than the sort Kurtovska kapija.

Reference

- Phillips G.S., 1985. Organogenesis in pepper tissue culture, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 4. p-p 261-269.
- Aqraval S., 1989. Plant regeneration in tissue culture of pepper (*Capsicum annuum L. c.v. Mathania*), *Plant cell, tissue an organ culture*, 16 (1) p-p: 47-55.
- Ochoa-Alljo N., 1990. Cultural difference in shoot formation capacity of hypocotyls tissue culture of chilli pepper (*Capsicum annuum L*) cultured in vitro, *Scienta Horticulturae*, Vol. 42 p-p: 21-28.
- Garcija R.A., 1990. Tissue and cell culture of pepper (*Capsicum annuum L*) c.v. Pico and Piqullio, *APHF/SECH*, p-p: 249-254.
- Conjeo B., Palma A., Zuniga T., 1992. In vitro micropropagation of pepper nigrum, *Technologya en Marcha* 11 (3) p-p: 23-30.

Figure 1. The effect of cytokinines on the leaf rosettes formation on pepper explants.

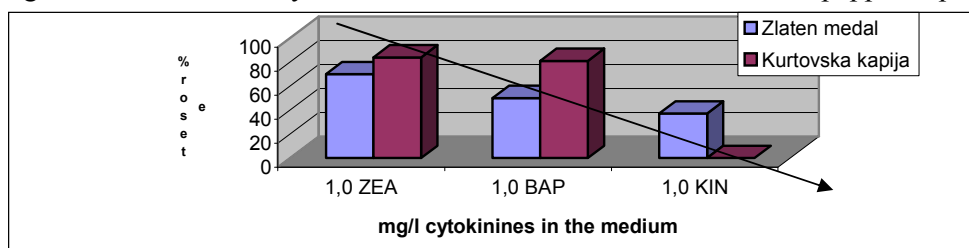


Table 1. Isolated apical buds from pepper on MS medium, including: BAP, KIN, IAA and NAA, after 40 days.

ZLATEN MEDAL		
MS medium mg/l	Leaf rosettes %	Callus %
0,5 IAA + 1,0 BAP	47,08	88,23
0,5 IAA + 1,0 KIN	11,76	64,70
1,0 IAA + 1,0 KIN	6,66	20,00
0,5 NAA + 1,0 BAP	42,85	50,00
0,5 NAA + 2,5 BAP	48,50	42,85
0,5 NAA + 5,0 BAP	50,00	44,44
0,5 IAA + 10,0 BAP	55,55	33,33
KURTOVSKA KAPIJA		
MS medium mg/l	Leaf rosettes %	Callus %
0,5 IAA + 1,0 BAP	9,52	66,60
0,1 IAA + 2,0 BAP	9,70	16,33
0,1 IAA + 1,0 KIN	2,27	84,00
1,0 IAA + 5,0 KIN	2,40	2,40

Table 2. Isolated apical buds from pepper on MS medium including only cytokinines: ZEA, BAP and KIN, after 40 days.

ZLATEN MEDAL		
MS medium mg/l	Leaf rosettes %	Callus %
1,0 ZEA	70,62	23,33
0,5 ZEA	52,74	22,22
1,0 BAP	50,75	26,51
1,0 ZEA	70,62	23,33
0,5 KIN	30,76	55,38
1,0 KIN	37,50	45,83
2,5 KIN	55,05	52,01
5,0 KIN	64,28	28,57
KURTOVSKA KAPIJA		
MS medium mg/l	Leaf rosettes %	Callus %
1,0 ZEA	84,16	7,69
0,5 ZEA	100,00	23,07
1,0 BAP	81,25	18,75
0,5 KIN	/	39,39
1,0 KIN	/	42,85
2,5 KIN	33,33	20,00

МОЖНОСТИ ЗА ПРИМЕНА НА НЕКОИ НОВИ МЕТОДИ ЗА ДОБИВАЊЕ НА БЕЗВИРУСЕН ПОСАДОЧЕН МАТЕРИЈАЛ

Колева-Гудева Лилјана¹, Митрев С.,¹ Спасеноски М.²

Краток извадок

Познати се околу 600 растителни вируси, од кои најмалку 80 може да се пренесат во семето, а скоро секогаш се пренесуваат со вегетативно размножување. Поради тоа за вегетативното размножување кај некои растителни видови битно е да се започне со производство на безвирусен посадочен материјал.

Во ЈНУ Институт за јужни земјоделски култури - Струмица, беше поставена култура на меристеми од две сорти на пиперка и тоа Куртовска капија и Златен медал. И девте испитувани сорти успешно се регенерираа во услови *in vitro* а потоа се адаптираа во надворешни услови. Присуството или отсуството на вируси кај регенерантите беше испитано со изведување на тестови за докажување на вируси, со употреба на методот на "тестирање на растенија".

Експерименталното добивање на безвирусен посадочен материјал беше докажано и кај двете испитувани сорти на пиперка.

Клучни зборови: култура на меристем, вирусна елиминација, *in vitro*.

POSSIBILITIES OF USES OF SOME NEW METHODS FOR FREE OF VIRUSES PRODUCTION OF PLANTS

Koleva-Gudeva Liljana¹, Mitrev S.,¹ Spasenoski M.²

Abstract

About 600 plant viruses are known of which at least 80 can be transferred in the seed; viruses can also be transferred during generative propagation. Therefore for the vegetative propagation on some plant species production of free of virus started material is very important.

Meristem tissue culture of two cultivars of pepper, Kurtovska kapija and Zlaten medal, was established at the Institute of Southern Crops. Both exanimate sorts were successfully regenerated in *in vitro* conditions and after that were adapted at outside conditions. The regenerated plants were examined with using of "plants testing" method were done the tests for virus identifications.

It was experimental proved obtaining of free of viruses seedlings of the both exanimate sorts of pepper.

Key words: culture of meristems, free of viruses, *in vitro*.

¹Institute of Southern crops - Strumica, Goce Delcev b.b., 2 000 Strumica, Macedonia

²Faculty of Natural Science and Mathematics, Gazi Baba bb, PO Box 162, Skopje, Macedonia

¹Институт за јужни земјоделски култури - Струмица, Гоце Делчев б.б., Македонија

²Природно-математички Факултет, Гази Баба б.б. П фах. 162, Скопје, Македонија

1. Вовед

Познати се повеќе методи на производство на безвирусни растенија, од кој елиминацијата на вируси со култура на меристемски врвови е една од најинтересните апликации на култура на ткива во услови *in vitro*. Производството и одржувањето на растенијата со култура на ткива денес масовно се користи, заради тоа што со оваа постапка за кратко време и на мал простор од едно растение може да се добијат, условно, неограничен број на генетски идентични единки. Со овој метод сосема реална е можноста за добивање на безвирусен посадочен материјал, а со тоа се подобрува не само генетичката стабилност на регенерирените растенија, туку и морфолошките и биолошките карактеристики на испитуваните култури.

Заразните инфекции предизвикани од вируси, микоплазми, бактерии и габи многу тешко се сузбиваат. Скоро и невозможно е тие да се елиминираат со употреба на комерцијални хемиски средства. Понекогаш е можно да се спречи вирусната мултипликација со употреба на релативно скапи хемиски соединенија, меѓутоа за вирусна елиминација тешко може да се гарантира.

Со употреба на култура на меристеми не само што се врши вирусна елиминација туку се елиминираат и бактерии и габи. Најважните родови (соєви) од бактерии како: *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* и *Bacillus*, како и најважните родови (соєви) од габи: *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora* и *Rhizoctonia* се елиминираат само во култура на меристеми.

Кога се работи за добивање на безвирусен материјал особено е важна големината на меристемското ткиво кое ќе се користи какао почетен експлантат. Меристемот е без присуство на вируси, кога е изолиран со 1-2 лисни примордии (обично тоа е врвната купа) и веднаш се пренесува во хранлива средина. Меристемот со една лисна примордија е многу мал со 0,1 mm дијаметар и 0,2-0,4 mm должина. Најголеми шанси за добивање на безвирусен материјал има кога се изолира само меристемот, а од друга страна пак, шансите на меристемот без лисни примордии за опстанок во култура се доста мали. Според тоа колку е поголем меристемот, со повеќе лисни примордии, толку шансите за добивање на безвирусен материјал се намалуваат. Во принцип, сите врвни меристеми се погодни како почетен материјал а шансите за опстанок во култура ќе зависат до видот на апикалната пупка, неговата поставеност, од составот на хранливата средина, фотопериодизмот, температурата.....и.т.н.

Според вообичаената постапка за добивање на безвирусен материјал, вирусна идентификација (отсуство на познатите вируси) т.е. потврда дека материјалот е навистина елиминиран од присуство на вируси, неминовно е да се изврши повеќепати во текот на целата постапка. Најчесто за таа цел се спроведуваат методите:

- Тесрирање на растенијата: Растителен сок од едно од растенијата добиено со култура на меристеми, се инокулира врз листот од друго растение, - тест растение за одредување на присуството на вируси. Ако вирусот е присутен во растителниот сок, по извесно време ќе се развијат карактеристичните симптоми на површината на листот.

- **Електронска микроскопија:** Многу е мала употребата на овој метод со оглед на тоа што значително мал е бројот на тие лаборатории што може да ја извршат оваа идентификација.

- **Серологија:** Една од најчесто користените и екстремно сензитивна серолошка метода е ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

Со тестирање на растенија или со некоја од серолошките методи најчесто се докажува добивањето на безвирусен материјал.

Откако е извршена првата успешна елиминација на вирус (Morel & Martin 1952), голем број на растителни видови се прочистија од нивните вирусни заболувања со примена на култура на врвни меристеми.

Денес вегетативното размножување во услови *in vitro* наоѓа голема примена во хортикултурата, градинарството, овоштарството, лозарството и цвеќарството со што се овозможува интензивирање на производство на посадочен материјал и добивање на здрави растенија (М. Спасеноски, 1993)

Оваа постапка многу е значајна, како за научно-истражувачки цели така и за директно комерцијално производство.

2. Матријал и методи на работа

Основна цел на истражувањето беше да се постави култура од повеќе меристемски и немеристемски експлантати од пиперка, да се запознаат својствата на ткивата во услови *in vitro* и да се согледат можностите за добивање на здрав безвирусен материјал.

Во нашите истражувања како почетен материјал за работа беа користени меристемски експлантате со големина 0,5 мм, соодветни за добивање на безвирусен материјал, и тоа од две сорти на пиперка Куртовска капија и Златен медал. Почетните експлантатите се изолира од семиња на пиперка, кои се изртени во асептички услови. Семето се стерилизираше 15 секунди во 70% алкохол, 15 минути во 5% натриум хипохлорид, 10 минути во 1% Изосан - G, а потоа се засева на 1/2 MS (Murashige & Skoog 1962) минерален раствор, (Слика 2).

Експлантатите се култивираа на MS минерален раствор (Слика 3) со 3% сахароза, 0,7% агар, 100 mg/L инозитол, 200 mg/L казеин хидролизат, од витамините се користат вит. B₁ (тиамин) 0,1 mg/L, B₆ (пиридоксин) 1,0 mg/L и никотинска каиселина 0,5 mg/L. Од фитохормоните се користеа:

-IAA (индол-3-оцетна киселина), NAA (1-нафталеноцетна киселина), GA₃ (гиберелинска киселина), BAP (N₆-бензиламинопурин), KIN (6-фурфурил аминокпурин) и ZEA (зеатин).

Горенаведените фитохормони ги користевме во MS медиумот во различни комбинации и концентрации за добивање на органогенеза и регенерација на изданоци во цело растение.

После секое извршено пасажирање културите ги чуваме во стерилни услови: на температура од 25 ± 2°C, фотопериодизам од 16/8 часа светло/темно, и интензитет на осветлување од 2000 - 3000 Lux. (Слика 4).

Идентификацијата на вируси се вршеше повеќепати во текот на испитувањето. Ние је користевме методата тестирање на растенија која се состои од следната постапка: растителниот сок, добиен со филтрирање од мацерирани регенеранти, го инокулиравме врз листот од друго тест растение. Доколку се јават симптоми на листот од тест растението станува

збор за присуство на вируси. Тестовите ги изведувавме и на изданоците во култура и на регенерантите кога се пренесуваа во надворешни услови. Меѓутоа постојат и други методи како што се електронска микроскопија и серологија. Електронска микроскопија е се уште во мала употреба, бидејќи е мал бројот на лаборатории во кои е можна идентификација на вирусите. Една од најчесто користените серолошки методи е ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Целата постапка (изолација на меристеми, нивно култивирање на медиум и пасажирање, како и тестовите за висусна идентификација) се изведуваше во стерилни услови, во ламинарна комора.

3. Резултати и дискусија

Вирусите ги причинуваат најголемите загуби во растителното производство, одразени и на квалитетот и на квантитетот на производството. Затоа создавање на безвирусен семенски и посадочен материјал е гаранција за успешно производство.

Експериментално поставивме култури на меристеми од пиперка, и преку регенерација и органогенеза во услови *in vitro*, добивме безвирусен материјал од пиперка. Беше испитувано и влијанието на различни комбинации и концентрации на ауксини и цитокинини на MS медиум врз органогенезата и регенерацијата на пиперка. За ефектот на фитохормоните врз развојот на изданоците од пиперка во култура веќе имаме соодветни податоци, кои се реферирани од Колева-Гудева Лилјана и М. Спасеноски (1994, 1995, 2001).

Во текот на постапката се контролирше присуството или отсуството на познатите вируси, со вообичаените вирус тестови, за да на крај можеме да тврдиме дали материјалот е навистина прочистен или не. По инокулацијата на растителниот сок врз листот на тест растенијата, не беа забележани симптоми на присуство на вируси.

Од текот на истражувањето, се покажа дека регенерација на пиперка од меристемските експлантати е сосема реална и за двете испитувани сорти. Од изолираните апикални пупки, меристемски ткива, се формираа изданоци во култура на MS медиумот (Слика 5) а со што добивме и докажавме директна регенерација на пиперка (Слика 6 и 7).

За разлика од меристемските, немаристемските експлантати имаат значително помала способност за органогенеза (Gunai, L. & Rao; Garcia, R; A Fisher; M. Fagi, M., Szako) која во тој случај оди претежно во правец на калусогенеза. (Слика 1). Индиректната регенерација т.е. добивање на изданок во култура преку регенеративен калус, и тоа и за двете испитувани сорти, не беше забележана.

Според Спасеноски М. (1993), за да се елиминира присуство на одделни патогени организми кои ги заразуваат семето и растенијата треба да се изврши претходна стерилизација на семенскиот и растителниот материјал. Воедно со изолирање на меристеми или врвни пупки се врши обезвирусување на почетните експлантати. Тоа значи дека регенерираните растенија во услови *in vitro* се здрави и можат да служат како здрав посадочен материјал што е од посебно стопанско значење.

Добивањето на безвирусен посадочен материјал со примена на овој метод сосема е оправдано (Шема 1). Во прашање е само одговорот на времето

кога таа постапка ќе се комерцијализира, а во најблиска иднина овој недостаток итно ќе се наметне како неопходност

4. Заклучок

Основната и единствена цел на експерименталното добивање на безвирусен материјал го докажавме кај пиперката. Безвирусен материјал значи елиминација на оние вируси кои биле идентификувани во стартните растенија и оние чие присуство би можело да се очекува. Вирусите се пренесуваат и со семе, а меристемите (со 1-3 лисни примордии) не содржат или ги содржат во незначителен број. Со употреба на култура на меристеми не само што се врши вирусна елиминација туку се елиминираат и бактерии и габи. Меѓутоа со пропација на меристеми во услови *in vitro* и добивање на безвирусен материјал не значи дека се добива и вирусно резистентен материјал. Стартниот материјал е вирусно прочистен, што е голема предност за разлика од употреба на посадочен и семенски материјал кој е контаминиран на било кој начин.

Оваа е доста значаен чекор, во користењето и употребата на современата научна практика во подобрувањето и по квалитет и по квантитет на земјоделското производство.

Литература:

Agraval S., (1989): Plant regeneration in tissue culture of pepper (*Capsicum annuum L. c.v. Mathania*), Plant cell, tissue and organ culture, 16 (1) p-p: 47-55.

Fari, M., Czako, M. (1981): Relationship between position and morphogenetic response of pepper hypocotyl explants cultured *in vitro*, Sc.Horticulturae, 5:205-213.

Fischer, M. (1990): Establishment of *Pepper nigrum* *in vitro*, Acta Horticulturae, 275: 285 - 291.

Garcia, R. A.(1990): Tissue and cell culture of pepper (*Capsicum annuum L. c.v. Pico and Piquilio*), APHF/SECH, Jun 1990, p. 249 - 254.

Gunai, L. & Rao, P.S. (1978): *In vitro* plant regeneration from hypocotyl and cotyledon explants of red pepper (*Capsicum*), Plant Science Letters, 11: 365 - 372.

Kaparakis, G. (1999): *In vitro* culture of pepper (*Capsicum annuum L.*), PhD of Kaparakis Georgis Aristotel Univ. Hellas, submitted od Univ of Nottingham UK.

Колева Лилјана, Спасеноски М., (1995): Одледување на врвни пупки од пиперка (*Capsicum annuum L.*) сорта Куртовска капија во култура *in vitro*, Годишен зборник за заштита на растенија, Вол 6: 237 - 242.

Liljana Koleva-Gudeva, M. Spasenovski (2001): The effect of some cytokinines on pepper organogenesis (*Capsicum annuum L. cv. Kurtovska kapija* and Zlaten medal) cultured *in vitro*. Acta Horticulturae in press.

Phillips G.S., (1985). Organogenesis in pepper tissue culture, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 4. p-p 261-269.

R.L.M. Pieric (1998): *In vitro* culture of higher plants, Dep. of Horticultura Wageningen Agricultural University, The Netherlands.

S.S. Bhojwani (1990): Plant Tissue Culture, Dep. of Botany, Univ. of Delhi, India

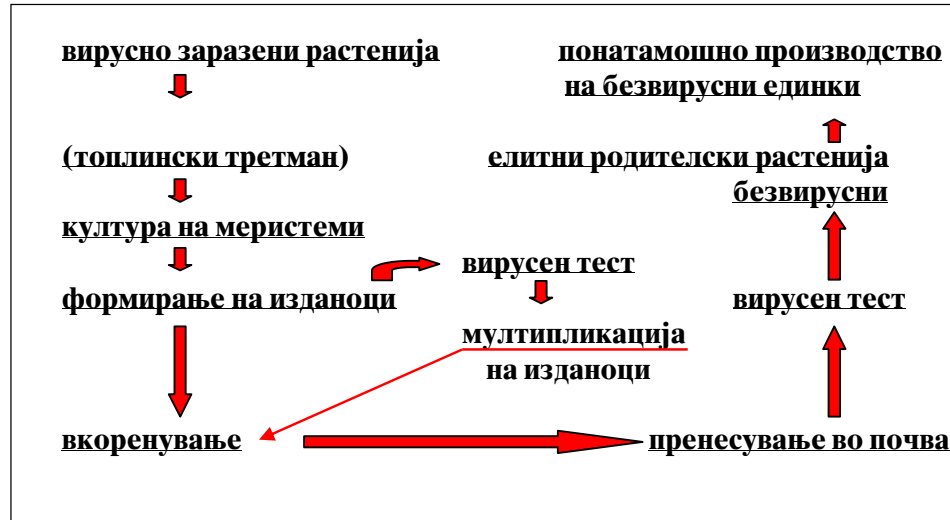
Спасеноски, М. (1993): Вегетативно размножување кај некои растителни видови во услови *in vitro* и можност за добивање на здрав растителен материјал, Год. Збор.за заштита на растенијата 1993, 5: 145 - 148.

Спасеноски М., Лилјана Колева (1994): Регенерација на пиперката (*Capsicum annuum L.*) од апикални пупки во услови “*in vitro*“, Симпозиум со

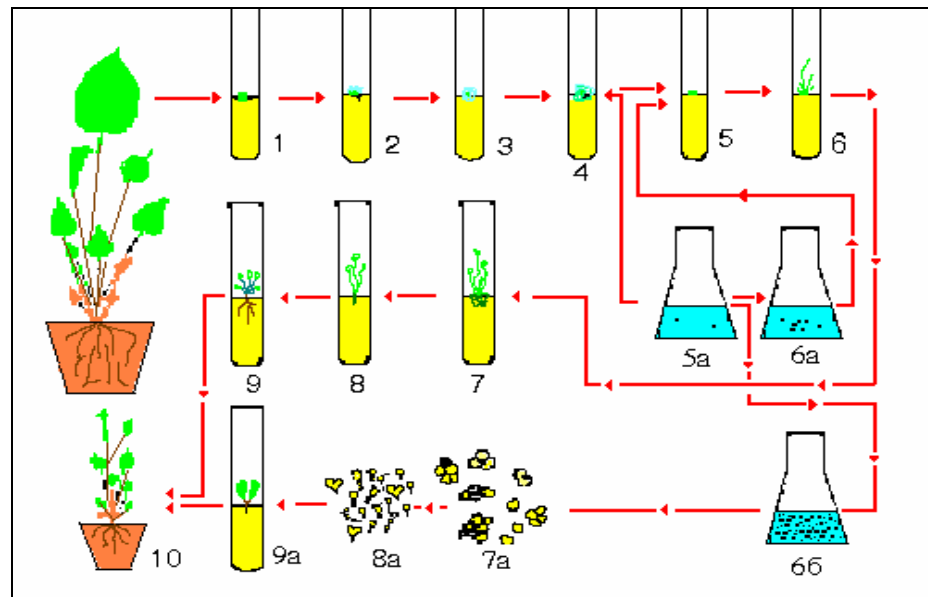
меѓународно учество “Нови технологии во градинарството и цвеќарството,
 Охрид, април 1994, Зборник на трудови, Книга I: 203 - 209.

Шема 1. Шематски приказ добивање на безвирусен материјал

ПРОИЗВОДСТВО НА БЕЗВИРУСЕН МАТЕРИЈАЛ



Слика 1. Шематски приказ за култура на растителни ткива (меристеми) и органи, како еден од можните патиишта за регенерација на цело растение во услови ин витро: (R.L.M. Pierik 1998)



Слика 2. Семе од пиперка 'ртено во асептички услови на 1/2MS минерален раствор,



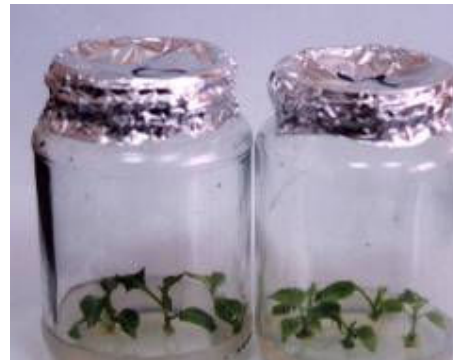
Слика 3. Изолација на меристем од пиперка како почетни експлантати.



Слика 4. Чување на културите во контролирани услови, во клима комора.



Слика 5. Изданоци од пиперка на MS медиум, по 40 дена.



Слика 6. Култура на изданоци од пиперка Куртовска капија и Златен медал на MS медиум, по 40 дена



Слика 7. Адаптирани растенија добиени во услови ин витро и контролни растенија.



**ОДДЕЛЕНИЕ ЗА ГЕНЕТИКА И
СЕЛЕКЦИЈА НА РАСТЕНИЈАТА**

**DEPARTMENT FOR GENETICS
AND SELECTION OF PLANTS**

УЛОГА И ФУНКЦИЈА НА БАНКАТА НА РАСТИТЕЛНИ ГЕНИ ВО ЗАЧУВУВАЊЕ НА ГЕНОФОНДОТ ОД ГРАДИНАРСКИ И ИНДУСТРИЈСКИ ВИДОВИ

Јаќимов Д., Чавдарова Микица, Ѓеорѓевски М. и Илиевски М.

Краток извадок

Од многу причини значењето на банка на гени во чувањето и планската употреба на генофондовите е се по акуелна во светот и кај нас. Со зголемувањето на човековата популација како и на стандардот на живеење, создавањето на високо приносни, поквалитетни, поотпорни и хомогенетски сорти, е особено важно.

Создавањето на нови сорти е можно само ако во растителниот вид постои генетска вариабилност. За да се зачува и зголеми генетската вариабилност на е така лесна и едноставна работа, бидејќи секој вид има свој сопствени специфичности кои треба да се познаваат многу добро. Чувањето на генофонди во банка на растителни гени има големо значење за варијабилноста на растителните видови. Ако чувањето не е соодветно, размножувањето не научно извршено, можно е намалување на генетската варијабилност на видовите.

Клучни зборови: чување, генофонд, варијабилност, банка на гени.

MEANING AND FUNKTION OF GENBANK OF PLANT GENES IN CEEPING OF GENOFOND OF VEGETABLE AND INDUSTRIAL CROPS

Jakimov D., Cavdarova Mikica, Gjeorgjevski M. and Ilievski M.

Abstract

From main reasons the importance of the gene bank at storing and planning uses of genofondesis more important and actual in the world, as well as in our state. With the increasing of population of the mankind and the standard of leaving, creating a high yields, more quality, more resistant and homogeny sorts it is necessary.

Creating new sorts is possible only if in the plant kind there is a genetic variability's keep and to increase the genetic variability is not so easy and simple work to do, because each kind has it own specifics witch has to be known very well. Keeping the geophones in the bank of plant genes has a very important influence on the variability of the plant kinds. If the keepings not proper and the propagations not scientific done decreasing of variability of the genofond will be very possible.

Key words: keeping, gene fond, variability, genes bank.

1. Вовед

Прибирањето, колекционирањето, чувањето проучувањето и

размножувањето на генофондот е задача и обврска на сите, а организирано најуспешно се стави во банка на растителни гени.

Република Македонија иако по површина е мала, поради влијанието на изменето медитеранската, континенталната и планинска клима, високите планински масиви, затворените котлини и многу речни долини допринесуваат да представува природен центар на многу градинарски и индустриски видови.

Меѓутоа, во изминатиот период како последица на недоволно водената грижа, постојаното создавање нови сорти, нарушувањето на рамнотежата на економските и другите фактори, доведе до брзо губење на генетската варијабилност кај месните популации, или губење цели популации од градинарски и индустриски видови.

Според Wilkes г.(1) никогаш порано во историјата на човекот не е забележано толку брзо да исчезнуваат месните сорти од многу значајни земјоделски култури.

Институтот за јужни земјоделски култури, имајќи ја предвид состојбата на исчезнување на генофондот од нашите простори, во последните шест години пристапи организирано по пат на банка на растителни гени да го зачува преостанатиот генофонд од градинарските и индустриските видови.

2. Материјал и метод на работа

Теренски, лабораториски и полски истражувања на собраниот, автохтон и интродуиран материјал во повеќе фази на основа критериумите на Меѓународната организација за растителни генетски ресурси (IBPGR). Евидентирање, лабораториско испитување чистота, 'ртливост, влага, здравствена состојба, сушење и пакување.

Карактеризација (по дескриптор) при што се опфатени пасошките податоци кои даваат општа слика за мострите, податоци за морфолошките и биолошките својства и др. својства мерени по (SI системот).

Колекционирање, испитување во опитно поле и умножување на расположливиот материјал.

Чување на семето во константни услови (пасивна ген банка) во зависност од должината на периодот на +6°C среден рок и конзервирање на - 20°C на подолг рок. Евиденцијата и податоците за генофондот се припремаат за компјутерска обработка со што се овозможува комуникација и размена со други центри и земји.

3. Резултати и дискусија

Во периодот од 1996 година па се до денес Институтот во Струмица, во чиј состав е банката на растителни гени работи на проект "Зачувување на генофондот од градинарски и индустриски видови".

Растителната банка има значајна улога во зачувувањето на генофондот, преку создавање услови за широка генетска основа за селекција на растенијата, да ја зачува генетската варијабилност, да создаде услови за научна интродукција на нови сорти и да послужи како резервар за предупредување дека постои еризидна во генетската дивергентност.

Основните функции по кои работи банката на гени и се: теренски испитувања, колекционирање, карактеризација, еволуација, документација и размена на генетските ресурси.

Имајќи во предвид улогата и функцијата која ја извршува растителната банка истражувањето се врши во повеќе етапи.

Првата етапа во зачувување на генофондот се состои во теренски и лабораториски истражувања, прибирање, евидентирање, испитување на позначајните својства, на секоја мостра земена од различни локалитети во републиката.

Во следната етапа на научна основа а врз база на критериумите и упатствата издадено од IBPGR (Меѓународен одбор за растителни ресурси) извршени се сите испитувања и мерења. Во активна ген банка, колекциониран е расположливиот автохтон и интродуиран материјал. Извршени се сите предвидени истражувања по дескриптор во полски и лабораториски услови. Извршено е умножување и еволуација во ладна комора за краткорочно чување, со цел истражувањата да можат да продолжат.

Знаејќи дека овој процес на истражувања е долгорочен и покрај целосното почитување и применување на пропишаните критериуми, можни се грешки како што се: механичко мешање кога се работи со голем број на мостри, уништување на слабо отпорните (неадаптираните) мостри, промени во генетската структура ако популацијата е мала и друго.

Поради оваа да се избегнат можните грешки а со тоа и губење на генофондот се пристапи кон чување-конзервирање на константна температура од -20°C на подолг рок.

Во изминатиот период работејќи на зачувување на генофондот прибран е поголем број на автохтон и интродуиран материјал од повеќе локалитети од повеќе градинарски и индустриски видови (табела 1 и 2). На овој материјал извршени се сите проучувања и мерења предвидени во проектот.

Од повеќе годишните истражувања добиени се резултати кои укажуваат дека и покрај тоа што на генофондот, се уште постојат и може да се најдат видови кои во поглед на повеќе значајни својства имаат во себе доста високи дивергентност Овие видови се од посебен интерес како генетски ресурси за корисни цели и заслужуваат да бидат проучувани и чувани во банка на гени на подолг рок.

4. Заклучок

Најважната улога во зачувувањето на генофондот покрај другите, ја има банката на растителни гени и благодареније на неа генетската дивергентност се зачувува. Меѓутоа, поради самата природа на работа, колекционирање, конзервација и ракување со генетските ресурси,можен е ризик при зачувувањето на генетската варијабилност.

Можноста од ризик може да биде сведена на минимум до колку учесниците во овој процес на зачувување на генофондот располага со висок степен на знаење од оваа област.

Литература

Wilekes G., 1983. Current status of crop plant germplasm. Plant Science. V.I. Issue 2 London.

Hawkes J.G; 1976. Mannual for field collectors (9seed crops), AGPE, Mise. 17. FAO, Rome.

Penčić M., Genetički izvori za selekcija gajenih biljaka. U monografiji Jugoslavija u razvoju. II knjiga "Hrana i razvoj" Beograd.

Мартиновски Ѓ., со соработници, 1994. Резултати од регистрацијата на генофондот од градинарски видови во Република Македонија, зборник на трудови Кг. I. Охрид.

Табела 1. Автохтони популации во банка на растителни гени.

Вид	Тип	популации	локации
Пиперка	Капија	35	12
	јадроплодни	21	8
	ситноплодни	12	6
	бабура	3	2
	букетен	8	6
Домати	индустријски	11	6
Диња	овална	13	6
Праз	долг	1	1
Грав	ситно семен	3	2
Тикви	овална	3	2
Кикирики	Валенција	10	8
	верџинија	2	1
Памук	Хирзитум	13	4
Сусам	ситносемен	5	3

Табела 2. Интродуирани линии и сорти во банка на растителни гени

Вид	Тип	Линии	сорти	држави
Пиперка	Капија	22	16	8
	Јадроплодни	12	4	6
	ситноплодни	-	8	4
	Букетен	1	3	3
	Бабура	-	4	2
Домати	индустријски	2	12	4
Краставици	Корнишони	-	2	1
Модар патлиџан	Долг	-	2	1
Лобеница	Овална	-	4	1
Салата	Лисната	-	3	1
Тикви	Овална	-	6	2
Кикирики	Валенција	-	3	5
	Верџинија	-	3	2
	Шпански	-	2	1
Памук	Хирзитум	8	10	6
	Барбадензе	-	4	2
Лен	Маслодаен	-	3	2

ИСПИТУВАЊЕ ДИНАМИКАТА НА ХЕМИСКИОТ СОСТАВ ВО ПЛОДОВИТЕ ОД ПИПЕРКАТА ТИП КАПИЈА (*Capsicum annuum L.*) ПРОИЗВЕДЕНА ВО СТРУМИЧКО

Чавдарова Микица, Јакимов Д., Ѓеорѓиевски М. и Илиевски М.

Краток извадок

Следена е динамиката на хемискиот состав на популации од пиперка како и физиолошките особености. Според добиените резултати би можело да се заклучи дека постојат значајни разлики во содржината на хемиските компоненти, кои се високи во споредба со контролата, во различни состојби на зрелоста.

Клучни зборови: пиперка, хемиски состав, зрелост физиолошка, ботаничка.

EXAMINATION OF CHEMICAL CHARACTERISTICS IN THE FRUITS OF PEPPER TYPE KAPIJA (*Capsicum annuum L.*) PRODUCED AT THE REGION OF STRUMICA

Cavdarova Mikica, Jakimov D., Gjeorgjievski M. and Ilievski M.

Abstract

Has been followed the dinamik of the chemical composition of peppers the populations peppers and physiological ripeness. According to attained result could be concluded that, there are considerable differences into the content of chemical substances which are higher in comparison to the control peppers at different stage of the ripeness.

Key words: pepper, chemical composition, and ripeness physiological, botanical.

1. Вовед

Пиперката (*Capsicum annuum L.*) е една од основните градинарски култури во реонот со потопа клима, и е синоним на македонското градинарско производство.

Поради големото стопанско значење на оваа култура, од седумдесетите години па наваму бележи брз подем на ширење, како резултат на повољните климатски и почвени услови во нашата Република.

Во Р.Македонија скоро и да не постои реон каде не се одгледува пиперката, а во некои реони покрај повољните агроклиматски услови, постои и долгогодишна традиција на одгледување на оваа култура.

Во исхраната на населението пиперката завзема значајно место, а како прехранбен производ со висока хранлива вредност се почесто за извоз на странските пазари. Ваквото значење на пиперката произлегува пред сè

што нејзините плодови имаат голема содржина и хармоничен однос на шеќери, витамини киселини, минерални соли, масти, протеини и други соединенија кои ја чинат пиперката биолошки вредна како храна.

2. Материал и метод на работа

Во текот на производната 2000 година при вообичаена агротехника за производство на Куртовска капија, беше поставен опит по методот случаен блок систем.

За испитување ни послужија 9 (девет) месни популации земени од различни локалитети во Р. Македонија, а како стандард е земена интродуирана сорта од Р. Бугарија.

Анализите на хемиските компоненти се вршени во ботаничка зрелост на плодовите. Испитувани се следните компоненти на хемискиот состав: витамин С, Бета каротин, вкупни шеќери, вкупно растворливи киселини, сурови протеини, суви материи, сурова пепел, органски материи, сурово влакно, влага и друго.

Витамин С е испитуван по Леви-евата модификација на Тиллмансонс - овата метода.

Каротин бета е испитува и одредуван спектрофотометриски.

Вкупните шеќери се одредувани по Берtrand - овата метода.

Суровите протеини се определени по пресметковен пат од вредноста на вкупниот азот.

Анализата на сувата материја и влага се одредувани со сушење во сушница на 105° С до константна маса

Пепелта е утврдена со жарене во печка на висока температура до константна маса.

3. Резултати и дискусија

Содржината на оделните хемиски состојки во плодот од Куртовската капија и нивниот сооднос, ја сочинуваат бкусовите и хранливите својства на плодот.

Квантитативната застапеност на оделните хемиски компоненти е сортова одлика, но во голема мера зависи од условите на одгледување а пред се од режимот на исхраната.

Врз основа на извршените испитувања и мерења на динамиката на хемискиот состав на плодовите од Куртовска капија, резултатите од добиените вредности се изнесени во табела 1.

Од добиените резултати за сува материја кај испитуваните варијанти, може да се забележи дека тие се доста високи, и се движат од 7.315 кај популацијата Р1, па се до 10,945 кај популацијата С1. Во споредба со стандардот (8.90% суви материи) популацијата С1 има за 18.65% повеќе суви материи.

Анализите на резултатите за вкупните шеќери исто така укажува дека се движат од 0.30% кај популацијата 1 до 0.62% кај популација 2. Процентот на шеќери кај контролата изнесува 0.50% што значи дека P2 има за 19.36% повеќе шеќери во однос на контролата.

Протеините како основни хранливи состојка во плодот на пиперката учествува со 16 - 17%. Кај испитуваните варијанти изнесува 1.53% кај C1, кај C2 од 0.94% кај P2, а кај контролата изнесува 1.26%. Иако содржината на истите не е голема, сепак тие имаат голема биолошка вредност. Според Шомов 1984, протеините во плодот се застапени различно.

Содржината на киселините во плодот кај испитуваните популации, зависи од степенот на зрелост и варира од 0.15 до 0.17%. Тие имаат важна улога при конзервирање на плодовите и заштита на витаминот C.

Минералните материи се од големо значење, особено ако се консумираат свежи плодови. Нај застапени се: калиум, натриум, фосфор, магнезиум, калциум, железо и друго. Содржината на минералните материи во плодот кај проучуваните популации е различна и изнесува најмногу 0.66% кај C1 популацијата, 0.56% кај контролата до најмногу 0.37% кај P2 популација.

Витамините се значајни и неопходни состојки во исхраната на човекот. Во плодот од пиперката посебно е застапен витаминот C, чија содржина кај испитуваните популации е прилично висок и изнесува 139.2мг % кај контролата, 129.2мг% кај P2, до 95.7мг%, кај GT1 популација.

Каротинот исто така значајно е присутен во плодот на пиперката. Испитуваните популации имаат присуство на каротин во плодот 574мг% кај контролата, до 685мг% кај P2 популација.

Од добиените шодатоци произлегува дека испитуваните популации се погодни како суровина во ботаничка зрелост за потребите на преработувачката индустрија.

4. Залучок

Скоро сите проучувани популации покажуваат високи вредности во поглед на повеќе испитувани компоненти на хемискиот состав на плодовите од Куртовска капија.

Во споредба со контролата, со најдобри резултати се издвојува C1.

Оваа популација има 18.65% повеќе суви материи, 19.365 повеќе шеќери, највисок процент на протеини и друго. Многу блиско до C1, по добиените резултати се C2 и C3.

Плодовите од испитуваните популации претставуваат суровина за прехранбената индустрија со висока хранлива вредност.

Литература

1. Bertrand, H (1960), Bull, Soc. Chem. 35, 1235.
2. Levy E, (1943), Biochem J, 37, 714.

3. Михов, А. Јорданов, М и др. (1975). Качества на промишлените зеленчукови сортове, Пловдив, 63.
4. Мишковиќ П. (1968). Зборник радова Југословенски симпозиум интензивна производња поврча за здрава исхрана, Факултет пољопривредни знаности свеучилишта у Загреб.
5. Петербурски А. (1968), Практикум по агрономическој хемији, Москва
6. Scharrer, M. Kürschner, A. (1961). Sbl. B. Tierernahrung, 3. 302.
7. Tillmans, J. (1927), Z, Unters, Lebensm, 53, 54.

Табела 1. Хемиски состав на плодовите во ботаничка зрелост.

Параметри%	Ø	C1	C2	C3	C4	C5	P1	P2	ГТ1	ГТ2
Влага	1.10	89.06	89.80	89.80	89.85	91.84	92.63	92.44	90.47	90.98
Суви матери	8.90	10.94	10.20	10.20	10.15	8.16	7.37	7.56	9.53	9.02
Вкупни шеќери	0.50	0.62	0.57	0.57	0.56	0.53	0.30	0.32	0.58	0.54
Суров пепел	0.56	0.66	0.56	0.56	0.59	0.47	0.41	0.37	0.54	0.46
Органски матери	8.34	10.28	9.64	9.64	9.56	7.69	6.96	7.19	8.99	8.56
Сурови протеини	1.26	1.53	1.33	1.33	1.26	1.12	0.97	0.94	1.22	1.20
Сурови масти	0.18	0.23	0.20	0.20	0.16	0.16	0.15	0.15	0.18	0.17
Сурово влакно	1.38	1.49	1.12	1.12	1.03	0.97	0.97	0.99	1.32	1.16
БЕМ	5.52	7.03	6.99	6.99	7.11	5.44	4.87	5.11	6.27	6.03
Каротин мг/100г	574	640	662	662	642	675	590	685	663	604
Витамин С	139.2	116.8	114.3	114.3	99.4	100.6	118.0	129.2	95.7	124.3
Киселост	0.17	0.16	0.17	0.17	0.17	0.16	0.15	0.15	0.15	0.15

РЕЗУЛТАТИ ОД ИЗВРШЕНО ИСПИТУВАЊЕ НА ОТПАДОКОТ ПРИ КОНЗЕРВИРАЊЕ НА ДОМАТОТ И ПИПЕРКАТА

Чавдарова Микица, Јакимов Д., Ѓеоргиевски М. и Илиевски М

Краток извадок

Доминантно место во Р. Македонија има производството на пиперки и домати и е околу 8 милиони кг. Од оваа на конзервација на индустриска пиперка отпаѓаат преку 4,5 милиони кг годишно, додека домати учествуваат со преку 3 милиони кг годишно. Со вакво производство настанува проблем со деловите од отпадот. Така од целосната маса на плодот кај пиперката 15-18 % е отпадок: дршка, плацента и сема. Оваа органска маса содржи материи кои наоѓаат примена во компонентите на крмната семеска за исхрана на добитокот. Анализирани се вода пепел, масти, и протеини и сурово влакно. Кај капијата и бабурата иако се одредувани содржините на посебните делови, но вкупно во сувата материја има масти 17,2%, протеини 10,77%, пепел 4,84% и сурово влакно 29,01% во 100 гр воздушно сува маса. Иста таква анализа е направена и кај вариететот бабура и доматиот. Добиени се одредени резултати.

Испитувањата се вршени по соодветни методи и вариационо - биометриски докажани.

Клучни зборови: домати, пиперка, отпадок, хемиски компоненти.

RESULTS OF EXAMINATION OF THE REFUSE IN CONSERVATION OF TOMATOES AND PEPPER

Cavdarova Mikica, Jakimov D., Gjeorgjievski M. and Ilievski M.

Abstract

The dominant theme at the production on pepper and tomato in Republic of Macedonia is about 8 million kg. From this on the varieties for the conservation or for the industrial pepper belong over 4,5 million kg a year, while tomato participate with over 3 million kg. This production has problems with the refuse parts from the fruits. So, from the whole mass of the fruit of pepper, 15 – 18% is refuse: stem, placenta and seed. This organic mass contents materials which have use in the components of the fooder. We also analyzed the water, the ashes, the oils, the proteins and the fibers. Although are determined the contents of the particular parts at kapija and babura, in 100 g dry matter there is: 17,2% oils, 10,77% proteins, 4,84% ashes and 29,01% fiber. This method is done also at the variety babura and tomato. There are some specific results. The examinations are done by confirming methods and biometrical are proved.

Key words: tomatoes, pepper, refuse, chemical components.

1. Вовед

Доматот (*Lycopersicon esculentum L.*) и пиперката (*Capsicum annuum L.*) се едни од најшироко распространети градинарски култури, низ Европа, Азија, Америка, Африка. Со својата застапеност тие го завземаат првите места во Р. Македонија. Од нив на варијететите за конзервирање или индустриската пиперка е преку 4,5 милиони кг. годишно производство, додека индустрискиот домати учествува со преку 3 милјони кг.

Така од вкупната маса на плодот од пиперката, 15-18% оди на отпад и тоа дршка, плацентата и семе, и околу 6-10% отпад од домати претежно на семе и лушпа.

Со цел да се даде одговор на прашањето за искористување на отпадоците од градинарските култури, како споредни компоненти во крмните смески во исхраната на домашните животни, извршена е хемиска анализа на отпадокот од пиперката капија, бабура и домати.

2. Материал и метод на работа

Во текот на 1988 година вршени се хемиски испитувања на отпадокот кај останува при индустриската преработка на домати и на два типа пиперка (капија и бабура). Анализите се извршени на воздушно сува материја, при што од домати е користено семето, и од пиперката отпадокот е анализиран како вкупен и поодделно: семе, плацентата и дршка.

Во сите примероци извршено е квантитативно определување на протеини, сурово влакно, масти, пепел и друго. Протеините се добиени и пресметани по методот на Kjeldahl-овата микро метода, мастите се испитувани по Serber, влагата е одредувана со сушење во сушница на 105°C до константна маса и пепелта е добиена со жарење во печка на висока температура.

3. Резултати и дискусија

Резултатите од испитувањата на содржината на поважните хемиски состојки во отпадокот по конзервирањето на плодовите од домати и пиперката се изразени во мг% и % на воздушно сува материја, а се презентирани во табела 1 и 2.

Семето како отпадок при индустриската преработка на домати и пиперката, врз основа на добиените резултати од хемиската анализа, може да се констатира дека е богато со протеини, сурово влакно и масти. Во семето од домати има 18.85 сурови протеини, 20.2% сурово влакно, 24.75 масти.

Семето од двата испитувани типа на пиперка (капија и бабура), исто така е богата со најважните компоненти за квалитетна крмна смеска. Таа во себе има просечно 10.8% сурови протеини, 29.1% сурово влакно, 17.2% масти и друго. Во споредба со семето од домати, побогато е со протеини и масти.

Плацентата како отпадок од пиперката, на основа хемиската анализа може да биде употребена во крмните смески бидејќи содржи 18.8% протеини еднакви на протеините во семето од домати, повеќе пепел (12.3%) и нешто помалку (15.6%) сурово влакно.

Резултатите од анализата на дршката од пиперката како отпадок, укажуваат дека и овој дел може корисно да се употреби како супстанца во

крмните смески, поради тоа што содржи многу висок 5 на сурово влакно 38.8% протеини 13.2% и пепел 11.8%.

При споредба на добиените резултати со литературните табела 3., произлегува дека денеска најмногу користените производи (пченка, јачмен) како компоненти во смеските по својата хранлива вредност, присуство на (протеини и сурово влакно) од домати и пиперката, ако биде употребен како крмна смеска.

Отпадокот од домати и пиперката во споредба луцерката има приближно исто протеини, а помалку од сојата, која има 44.0% протеини. Во поглед на присуството на суровите влакна состојбата е сосема поинаква, го има многу повеќе (29.6%) кај отпадокот од домати и пиперката, а само 7% кај сојата и до 25% кај луцерката.

4. Заклучок

Отпадокот при индустриската преработка на домати и пиперката по својата количина и хранлива вредност, и тоа само по содржина на најважните состојки (протеини, сурово влакно) по кои се цени квалитетот на крмните смески, може да ги замени некои досега користени компоненти (пченка, јачмен) во крмните смески, бидејќи во себе има просечно 16.4% сурови протеини, 29.5% сурово влакно, 12.6% масти и друго.

Во споредба до колку овој отпадок не биде употребен како органско ѓубриво, претставува проблем и извор за загадување на околината околу преработувачките објекти.

Литература

Malanz I. Lazič B., 1993 godina. Zaštita životne sredine i poloprivreda. Savremena poloprivreda XLI 1 - 2. Novi Sad.

Niketič G. Verež D., 1997. Priručnik za industriski preradu voća i povrća, Beograd.

Popović M., 1989. Povrtarstvo, četvrto preradjena i dopunjeno izdanje, Nolit, Beograd.

Табела 1. Хемиски состав на поедини делови (одпадок) од домати и пиперка.

Хемиски состав	Примероци								
	семе од			плацента		дршка од		мешавина	
	домат	капија	бабура	капија	бабура	капија	бабура	капија	бабура
Сурови протеина	18.75	10.93	10.62	18.93	18.75	13.31	13.12	16.62	16.25
Сурово влакно	20.20	28.29	29.73	15.07	16.09	38.20	39.34	29.39	29.70
Сурови масти	24.74	23.15	11.24	4.75	2.27	2.48	2.54	13.46	11.83
Пепел	4.17	4.01	5.67	13.63	10.94	12.72	10.85	9.20	8.93
Влага	6.07	3.36	6.92	1.45	9.18	8.24	7.56	6.90	7.05

Табела 2. Средни вредности на хемискиот состав на делови од домати и пиперка.

Хемиски состојки	Примероци - делови				
	семе од		плацента	рачка од	мешавина
	домат	Капија-бабура	Капија-бабура	Капија-бабура	Капија-бабура
Протеини	18.75	10.77	18.84	13.21	16.44
Влакно	20.20	29.09	15.58	38.77	29.55
Масти	24.74	17.20	3.51	2.51	12.65
Пепел	4.17	4.84	12.28	11.78	9.06
Влага	6.07	10.55	10.31	7.91	6.97

Табела 3. Хемиски состав на некои крмни компоненти

Компоненти	Сурови протеини	Сурово влакно	масти	пепел	Влага
пченка	7.5	2.6	3.5	1.2	13
јачмен	11.7	4.0	1.9	2.0	13
соја	44.0	7.0	-/-	3.0	13
луцерка	18.0	25.0	-/-	13.0	12

ВЛИЈАНИЕТО НА ПОДФАЗИТЕ ОД РАЗВОЈОТ НА ЦВЕТОТ ВРЗ ОПРАШУВАЊЕТО И ОПЛОДУВАЊЕТО КАЈ ДОМАТОТ (*L. Esculentum*) ОД АСПЕКТ НА ХЕТЕРОЗИСНО СЕМЕПРОИЗВОДСТВО

Ѓеорѓиевски М., Јакимов Д., Коцевски В. и Чавдарова Микица.

Краток извадок

Изведена е хибридизација по методот на парцијален дијалел на 12 сорти и линии домати. Испитано е влијанието на подфазите од развојот на цветот врз број опрашени и број оплодни цветови. Резултатите покажуваат дека кастрирањето и опрашувањето е најуспешно во почетокот на третата подфаза од развојот на цветот, во раните утрински часови, со напомене опрашувањето да се повтори следниот ден. Кастрирањето и опрашувањето на цветовите во четвртата подфаза треба да се избегнува, бидејќи тогаш настанува пукање на поленовите кеси и одлевање на поленовиот прав во неговата внатрешност што резултира со самоопрашување-самооплодување.

Клучни зборови: *L. esculentum*, цветање, опрашување, оплодување, подфазии.

THE EFFECT OF FLOWERING DEVELOPMENT STAGES ON THE FLOWERING AND FERTILIZATION AT TOMATOES (*L. Esculentum*) FROM THE ASPECT OF HETOROSIS SEEDPRODUCTION

Gjeorgjievski M., Jakimov D., Kocevski V. and Cavdarova Mikica

Abstract

Hybridization of 12 tomato varieties and lines has been done by partial diallel method. The influence of pollination in different flowering stages over the fertilized flowers has been analyzed. The results showed that flowering stage and castration are the most successful in the beginning of the third stage, early in the morning, with recommendation this stage to be repeated next day.

The castration and flowering in the fourth stage should be avoided, because the pollen bags have been broken and the pollen fly away which resulted in self-flowering - self-fertilization.

Key words: *L. esculentum*, flowering, fertilization, stages.

1. Вовед

Со нараснувањето на хетерозисното семепроизводство, со усовршувањето на методите на опрашување, голема актуелност за праксата доби и значењето, во која од подфазите од развојот на цветот ќе се изврши кастрирањето и опрашувањето на истиот.

Сpreма тоа испитувањата за влијанието на подфазите од развојот на

цветот врз бројот на опрашени и оплодени цветови се во голема зависност, како од надворешните услови, така и од примената во која од подфазите на развојот на цветот да се изврши кастрирањето и опрашувањето на истиот.

Праксата и теоријата во хибридикацијата се од голема важност за самото влијание на возраста на поленовите елементи врз биолошката состојба на семето во F₁ генерација.

2. Материјал и метод на работа

По повеќегодишните испитувања за вкрстување во различни подфази од развојот на цветот се одбрани 12 родителски компоненти (8 линии и 4 сорти), кои според своите карактеристики се интересни за селекционата работа и се дивергентни во своите особини (ТБ, Н-35, Н-150, Н-100, А-14, Н-20, МБ, Пиерсол, Рани 83, Н-43, ВВ -63, К-363).

Полските испитувања се изведени на поврќините на Институтот за јужни земјоделски култури - Струмица. Вкрстувањето на родителските компоненти е извршено по методот на парцијален дијалел (Sing и Chandhary, 1976) модел s-5. По овој модел секој од родителите е вклучен во по 5 комбинации независно од тоа дали е мајка или татко.

Испитувањата беа насочени кон утврдување на влијанието на опраќувањето во различни подфази од развојот на доматовиот цвет врз број на оплодени цветови, а се со цел да се установи кога столбчето со неговото устенце може да прима полен, на по 10 растенија од секоја комбинација и од секоја подфаза во времетраење од 20 дена, се маркирани и кастрирани по 20 цветови на растение за опрашување во различни подфази од развојот на цветот или вкупно по 200 цветови по комбинација и варијанта.

I варијанта -	опрашување кон крајот на втората подфаза
II варијанта -	опрашување во почетокот на третата подфаза
III варијанта -	опрашување во третата подфаза
IV варијанта -	опрашување во почетокот на четвртата подфаза од развојот на цветот

3. Резултати и дискусија

Бројот на опрашени цветови во различните подфази од развојот на цветот, кај различни комбинации е варијабилен (табела 1).

Од оваа табела се гледа дека бројот на опрашени цветови по комбинации е најмал во првата варијанта и се движи од 124 (ТБ x Н - 43), до 151 (Н - 150 x МБ). Во втората и третата варијанта бројот на кастрирани и опрашени цветови расте од 170 (Н - 35 x Н - 43, А - 14 x К - 363 и Н - 20 x К - 363), до 192 (ТБ x Н - 20, ТБ x МБ и ТБ x Пиерсол) во втората варијанта, односно од 183 (МБ x Пиерсол) до 193 (ТБ x Н - 20, ТБ x МБ, ТБ x Пиерсол, Н - 35 x ВВ'63 и Н - 150 x МБ) во третата варијанта. Во четвртата варијанта кај сите комбинации бројот на кастрирани и опрашени цветови се изедначува со бројот на самоопрашени цветови кај родителите. Тоа значи дека во првата варијанта цветовите се млади и нежни за разлика од другите варијанти, па затоа во таа варијанта имаме и најмал број опрашени цветови. Столбчето со неговото устенце може да прима полен уште при крајот на втората фаза од развојот на цветот (I - варијанта), независно од тоа што во оваа фаза

процентот на оплодени цветови е доста мал - 65,67 (просек од сите комбинации). Малиот процент на оплодени цветови во оваа фаза се должи на тоа што во тој момент бројот на созреани семе папки да бидат оплодени е доста мал.

При опрашување во втората односно третата варијанта процентот на оплодени цветови се зголемува од 86,69 во втората на 95,08% (просек од сите комбинации) во третата варијанта.

Во четвртата варијанта кај сите комбинации бројот на оплодени цветови се изедначува со бројот на самооплодени цветови на родителите (тоа не значи дека IV варијанта е и најдобра).

Добиените резултати се нешто повисоки од резултатите што ги објавил Џорданов кој докажува дека оплодувањето при опрашување на крајот од втората фаза од развојот на цветот е 25%, почетокот на третата 72%, крајот на третата 87% и почетокот на четвртата фаза 96% (истражувањата се вршени на комбинацијата X^o - 10 ц Бизон).

4. Заклучок

Во овие истражувања добиени се резултати од кои можат да се изведат следниве заклучоци:

1. Кастрирањето и опрашувањето е најуспешно во почетокот на третата подфаза од развојот на цветот, во раните утрински часови со напомена опрашувањето да се повтори следниот ден.

2. Кастрирањето и опрашувањето на цветовите во четвртата подфаза треба да са избегнува бидејќи тогаш настанува пукање на поленовите кеси и одлевање на поленовиот прав во неговата внатрешност што резултира со самоопрашување.

3. Покрај тоа што просечниот број опрашени и оплодени цветови во четвртата варијанта е најголем, истражувањата врз појавите на хетерозисниот ефект во Φ_1 покажуваат дека ефектот може да биде зависен и од факторите кои дејствуваат за време на опрашувањето и оплодувањето. Резултатите даваат основа да се претпостави дека покрај јадрените и цитоплазматските фактори, хетерозисниот ефект зависи и од биохемискиот систем, кој како појава во онтогенетскиот развој на организмот, зависи и од условите во кои тоа се формира.

Литература

1. Даскалов Х. (1974): Хетерозисът и ползуването му в зеленчукопроизводството. Пловдив, 54.
2. Џорданов М. (1963): Проучване влињнието на полена и близанцето върху силата на хетерозисни ефект при доматиите. Изв. на ВИ та по зем. култура "Марица" 3.
3. Џорданов М. (1963): Проучване биологијата на цветането, опрашуването и оплождането на домата във врска с хетерозисното семепроизводство. Пловдив.
4. Sing R.K., Chandhary B.D. (1963) : Biomertical techniques in genetics and

breeding - Partial diallel. 118-132 Hissar - India.

Табела 1 Број на опрашени и оплодени цветови

Родители и комбинации	Варијанта на орашување	Број опрашени цветови	Број оплодени цветови	% на оплодени цветови
1	2	3	4	5
	I	141	81	57,44
ТБ x Н - 20	II	192	149	77,60
	III	193	183	94,82
	IV	200	196	98,00
	I	139	79	56,83
ТБ x МБ	II	192	149	77,60
	III	193	181	93,78
	IV	200	195	97,50
	I	140	80	57,14
ТБ x Пиерсол	II	192	150	78,12
	III	193	182	94,30
	IV	200	196	98,00
	I	130	87	66,92
ТБ x Рани 83	II	184	152	82,60
	III	187	180	96,25
	IV	200	188	94,00
	I	124	89	71,77
ТБ x Н - 43	II	184	150	81,52
	III	186	177	95,16
	IV	200	188	94,00
	I	127	88	69,29
Н - 35 x Пиерсол	II	184	151	82,06
	III	186	178	95,69
	IV	200	188	94,00
	I	140	95	67,85
Н - 35 x Рани 83	II	172	160	93,02
	III	186	180	96,77
	IV	200	193	96,50
	I	141	93	65,95
Н - 35 x Н - 43	II	170	161	94,70
	III	189	183	96,82
	IV	200	194	97,00
	I	142	94	66,19
Н - 35 x ВВ-63	II	171	162	94,18
	III	193	187	96,89
	IV	200	195	97,50
	I	147	96	65,30
Н - 35 x К - 363	II	175	166	94,85
	III	190	181	95,26
	IV	200	197	98,50

1	2	3	4	5
	I	151	96	63,57
Н - 150 x МБ	II	171	150	87,71
	III	193	182	94,30
	IV	200	196	98,00
	I	148	94	63,51
Н- 150 x Пиерсол	II	175	164	93,71
	III	192	179	93,22
	IV	200	197	98,50
	I	145	95	65,61
Н - 150 x Рани 83	II	172	157	91,27
	III	191	185	96,85
	IV	200	198	99,00
	I	147	96	65,30
Н - 150 x Н - 43	II	174	153	87,93
	III	190	187	98,42
	IV	200	198	99,00
	I	129	96	75,00
Н - 150 x ВВ '63	II	174	150	96,20
	III	189	186	98,41
	IV	200	198	99,00
	I	140	82	58,57
Н - 100 x Рани 83	II	182	150	82,41
	III	187	181	96,79
	IV	200	197	98,50
	I	129	89	68,99
Н - 100 x Н - 43	II	186	152	81,72
	III	190	183	96,31
	IV	200	189	94,50
	I	129	90	69,76
Н - 100 x ВВ '63	II	180	169	93,88
	III	187	180	96,25
	IV	199	197	98,99
	I	126	91	72,72
Н - 100 x К - 363	II	179	165	92,17
	III	186	170	91,39
	IV	200	194	97,00
	I	132	78	59,09
Н - 100 x А - 14	II	172	143	83,13
	III	188	180	95,74
	IV	200	195	97,50
	I	128	79	61,71
А - 14 x Н - 43	II	174	142	81,60
	III	184	175	95,10
	IV	200	199	99,50

1	2	3	4	5
	I	127	83	65,35
A – 14 x BB '63	II	173	144	83,23
	III	185	170	91,89
	IV	200	199	99,50
	I	132	86	65,15
A – 14 x K – 363	II	170	150	88,23
	III	185	180	97,29
	IV	200	200	100,00
	I	129	84	65,11
A - 14 x H – 20	II	171	145	84,79
	III	186	180	96,77
	IV	200	197	98,50
	I	128	87	67,96
H – 20 x BB '63	II	175	153	87,42
	III	186	180	96,77
	IV	200	200	100,00
	I	130	94	72,30
H – 20 x K – 363	II	170	151	88,82
	III	186	169	90,86
	IV	200	200	100,00
	I	131	100	76,33
H – 20 x MB	II	171	149	87,13
	III	184	170	92,39
	IV	200	200	100,00
	I	132	79	59,84
MB x K - 363	II	172	149	86,62
	III	187	171	91,44
	IV	200	195	97,50
	I	132	87	65,90
MB x Пиерсол	II	171	154	90,05
	III	183	170	92,89
	IV	200	193	96,50
	I	139	95	68,34
Пиерсол x Рани 83	II	178	160	89,88
	III	186	174	93,54
	IV	200	198	99,00
Родители	Контрола	200	200	100,00

ИСПИТУВАЊЕ НА НЕКОИ ДОМАШНИ И ИНТРОДУИРАНИ СОРТИ ПАМУК ВО АГРОЕКОЛОШКИТЕ УСЛОВИ НА СТРУМИЦА

Спасова Драгица, Спасов Д., Коцевски В. и Илиевски М.

Крайнок извадок

Во периодот од 1997-1998 година во агроеколошките услови на Струмица беа изведени експерименти со 10 сорти на памук (5137, 5138, 5139, 5140 и 5141 - создадени во Институтот во Струмица и 539, 432, 603 644 и 425 – создадени во Бугарија), а целта беше да се проучат биолошките и стопанските карактеристики на памукот.

Испитувањата се извршени во четири повторувања во случаен блок систем со големина на експерименталната парцела до 10м². Сите спитувани сорти во агроеколошките услови во Струмица спаќаат во средно раностасни сорти со вегетационен период од 125-130 дена. Приносот на суровиот памук во годините на испитување се движи од 2.200 кг/ха кај бугарската сорта 425 до 3.408 кг/ха кај сортата 432. Највисок рандман од домашните сорти има кај 5138 и 5141, и од бугарските сорти кај 644 и 539.

Клучни зборови: памук, должина на влакно, рандман, принос.

EXAMINATION OF SOME DOMESTIC AND INTRODUCED VARIETIES OF COTTON IN THE AGRO ECOLOGICAL CONDITIONS AT STRUMICA

Spasova Dragica, Spasov D., Kocovski V. and Ilievski M.

Abstract

In the period of 1997-1998 in the agro ecological conditions at Strumica there were done the examinations with 10 sorts of cotton (5137, 5138, 5139, 5140 and 5141 – created at the Institute of Strumica and 539, 432, 603 644 and 425 - created in Bulgaria), and the aim was estimation of biological and agricultural characteristics of cotton.

The experiments were done with four repetitions in accidental block system and with size of experimental field parcel of 10 m². All examined sorts grown in the agro ecological conditions at Strumica are classified in the group of middle early ripe, with vegetation period from 125 to 130 days. The yields of the dry cotton at the investigation years are from 2.200 kg/ha at the Bulgarian sort 425 to 3.408 kg/ha at the sort 432. With high randman from the domestic sorts are 5138 and 5141, and from the Bulgarian sort 644 and 539.

Key words: cotton, length of the fiber, randman yield.

1. Вовед

За унапредување на памукопроизводството, зголемување на приносот по единица површина и подобрување на квалитетните својства на влакното од памук, многу важно е да се изберат најдобрите сорти за одгледување во одреден реон.

Многубројните сортни испитувања во различни климатски реони го потврдуваат значењето на сортата, а добиените резултати покажуваат дека, исти сорти во одреден реон дават многу добри резултати, а во други реони не можат да ги реализираат своите производни и квалитетни својства.

Резултатите од одгледувањето на една сорта силно се менуваат и зависат од почвените и климатските фактори кои се различни не само во одредени реони, туку и во ист реон во различни години.

Во последните години се внесени најновите и перспективни сорти памук создадени во Чирпан - Бугарија. Проучувањето на овие сорти заедно со некои домашни сорти во агроэколошките услови на Струмица, а со цел да се испитат можностите за директно проширување во производство или искористување во селекционата работа на памукот е предмет на овој труд.

2. Материјал и метод на работа

Во периодот од 1997 - 1999 година во агроэколошките услови на Струмица, беа изведени испитувања на 10 перспективни сорти памук и тоа: 5137, 5138, 5139 5140 и 5141 создадени во Институтот за земјоделство во Струмица- Македонија и 539, 432, 603, 644 и 425 создадени во Институт по памука и тврдата пшеница - Чирпан- Бугарија.

Опитите беа поставени во четири повторувања по случаен блок систем при што секоја опитна парцелка зафаќаше површина од 10 м². Сеидбата е изведена рачно со 4-5 семки во гнездо, на растојание од: 70 см ред од ред и 20 см. во редот, со оставање по две растенија во гнездо.

Во текот на вегетацијата се вршени набљудувања и биометриски мерења за растењето, развитокот и родноста на растенијата. Пред берба на памукот беа земени проби од по 30 чушки од секоја сорта во сите повторувања, односно по 120 чушки од секоја сорта, при што во лабораторија беа одредени: масата на една чушка, рандманот на влакно и должината на влакно.

2.1. Почвено-климатски услови на објектот на испитувањата

Типот на почвата во реонот на испитување е алувијален, слабо обезбеден со хумус и азот, слабо обезбеден со физиолошки активен фосфор и добро обезбеден со активен калиум.

Временските услови во годините на испитување беа различни како по температурата на воздухот така и по количеството на врнежи (таб.1).

Тоа овозможи растењето и развитокот на растенијата да се набљудува во различни услови, да се направи поцелосно оценување и да се дојде до пореални заклучоци корисни за практиката. Од таб. 1. се гледа дека во 1999 год. температурните услови беа најпогодни за одгледување на памук во Струмица. Од врнежите паднати во јуни, јули и август се акумулира доволно влага во почвата. И покрај високите температури во јуни и јули,

голем број од вкупно формираните плодни елементи се задржаа на растенијата.

3. Резултати и дискусија

Податоците за растењето и развитокот на растенијата се изнесени во табела 2. Сеидбата на памукот во годините на испитување е изведена од 7-10 мај. Поникнувањето во сите години е од 19-20 мај. Фазата на бутонизација на сите испитувани сорти настани во втората половина на месец јуни. Понатамошниот развој на растенијата е различен. Од домашните сорти најрано цветат растенијата од сортата 5140, а од бугарските сорти најрано цветат 603 и 425, што е за 1 ден порано од другите испитувани сорти. Масовното пукање на чупките е во третата декада на септември. Најрано пукат чупките од сортата 5140 што е за 5-7 дена порано од другите домашни сорти и 3-7 дена порано од бугарските сорти.

Според брзината на поминување на одделните фази од својот развој сите испитувани сорти во наши услови на одгледување спаѓаат во групата на средно ранозрели сорти со вегетационен период од 125-130 дена.

Brojot na plodni elementi na edno rastenie se dađeni vo tabela 3. Od tabelata se gleda deka ispitivanite sorti se razlikuvaat pomeѓu sebe kako po vkupniot broj mladi zavrzoci (butoni, cvetovi, ~u[ki), taka i po brojot odnosno % na neopadnati ~u[ki na rastenijata. Kaj doma[nite sorti brojot na mladi zavrzoci se dvi`i od 16,2 kaj 5141 do 18,1 kaj 5139. Kaj bugarskite sorti brojot na mladi zavrzoci se dvi`i od 14,7 kaj 425 do 16,8 kaj 644. Brojot i % na neopadnati ~u[ki e vo sklad so vkupniot broj na mladi zavrzoci.

3.1. Производни карактеристики на сортите.

Резултатите за производните карактеристики на испитуваните сорти се изнесени во табела 4.

Од табелата се гледа дека приносот се движи од 2.200 кг/ха кај 425 до 3.408 кг/ха кај 432. Не постои некоја разлика во приносот помеѓу домашните и бугарските сорти памук. Масата на една чупка кај испитуваните сорти е во сооднос со приносот и се движи од 5,0 гр кај 425 до 6,3 гр. кај 432.

Рандманот на влакно се движи од 35,0% кај 5140 до 38,2% кај 539. Должината на влакното е различна и се движи од 26,4 мм кај 5140 до 27,7 мм кај 5137 и 432. Не постои некоја разлика во должината на влакно помеѓу домашните и бугарските сорти.

4. Заклучок

Во агроколошките услови на Струмица сите испитувани сорти во периодот од 1997/99 година по ранозрелост спаѓаат во групата на средно ранозрели сорти со вегетационен период средно од 125-130 дена.

Вкупниот принос суров памук во периодот на испитување се движи од 2.200 кг/ха кај бугарската сорта 425 до 3.408 кг/ха кај 432.

Масата на една чупка се движи од 5,0 гр. кај 425 до 6,3 гр. кај 432. Кај домашните сорти масата на една чупка се движи од 5,6 гр. кај 5138 и 5141 до 6,0 гр. кај 5140.

Со висок рандман од домашните сорти се издвојуваат 5138 (36,5%) и 5141 (36,6%), а од бугарските сорти 644 (37,3) и 539 (38,2%) кои имаат и релативно добра должина на влакното.

Литература

Божинов М., Лиљана Димитрова., 1987. Растениевџдни науки. Софија № 9.2.

Божинов М., 1968. Биологически и стопански квалитета на нови сортове памук -4521 И 4959. Растениевџдни науки, 27-37.

Ѓоргеvски Ј., 1976. За некои производствени одлики на македонскиот памук. Зборник на научни трудови книга 1, Институт за памук Струмица, 103-122.

Закиров З., 1968. Температура и развитие хлопчатника. Москва 1968.

Табела 1. Метеоролошки податоци во периодот на испитување

Година	Месеци						Сума V-X
	V	VI	VII	VIII	IX	X	
Средно месечни температури °C							
1997	17,0	22,8	23,6	21,3	10,4	11,3	3264,7
1998	19,1	22,1	23,7	23,0	15,8	11,6	3539,0
1999	19,0	23,2	23,8	21,3	17,7	9,8	3520,7
77/96	17,2	21,7	23,7	24,4	19,7	13,8	3694,1
Сума на месечни врнежи во мм							
1997	69,9	33,6	178,3	51,1	72,2	2,4	407,5
1998	51,7	31,5	38,6	62,3	126,0	15,6	325,7
1999	18,6	31,9	39,9	70,9	1,5	106,8	269,6
77/96	41,4	32,5	26,2	12,3	13,8	51,2	177,4

Табела 3. Број на плодни елементи на едно растение - 1997/99 година

Сорта	Млади заврзоци Број	Неопаднати	
		број	%
5137	17,6	9,6	54,5
5138	17,8	11,0	61,7
5139	18,1	11,3	62,4
5140	17,0	9,7	57,0
5141	16,2	9,8	60,5
539	16,2	8,8	54,3
432	14,9	9,0	60,4
603	16,3	9,0	55,2
644	16,8	10,0	59,5
425	14,7	6,8	46,2

Табела 4. Производни и квалитетни особини на сортите - 1997/99 година

Сорта	Принос суров памук кг/ха	Маса на една чушка во гр.	Рандман на влакно во %	Должина на влакно во мм
5137	2.954	5,9	35,6	27,7
5138	3.227	5,6	36,5	27,5
5139	2.990	5,7	35,1	26,8
5140	3.254	6,0	35,0	26,4
5141	2.905	5,6	36,6	26,6
539	2.666	5,8	38,2	27,0
432	3.408	6,3	37,2	27,7
603	2.961	5,7	36,7	27,0
644	2.977	5,9	37,3	27,2
425	2.200	5,0	37,1	26,9

Табела 2. Фенолошки набјудувања, меѓузфазен период во денови и висина на растенијата - 1997/99 година

сорта	Датум на				Меѓузфазен период				Висина на растенија мерена во фаза на:			
	пони-кнув.	буто-низ.	цветање	пукање	пони-к. бутон-низ.	бутон. цветање	цветање пукање	пони-к. пукање	буто-низ.	цветање	пукање	висина до 1 плод. грапка
5137	19.05	22.06	17.07	26.09	34	25	71	130	24,4	58,1	79,6	13,4
5138	20.05	22.06	17.07	26.09	33	25	71	129	24,1	61,9	81,0	13,6
5139	20.05	22.06	17.07	28.09	33	25	73	131	23,5	58,9	89,4	13,4
5140	19.05	22.06	16.07	21.09	34	24	67	125	24,5	62,0	99,7	13,4
5141	20.05	22.06	17.07	26.09	33	25	71	129	24,1	58,9	83,2	12,5
539	19.05	22.06	17.07	28.09	34	25	73	132	23,4	57,6	80,2	12,6
432	20.05	22.06	17.07	26.09	33	25	71	129	24,2	60,2	78,5	13,5
603	20.05	22.06	16.07	25.09	33	24	71	128	23,2	55,6	80,1	13,5
644	19.05	22.06	17.07	24.09	34	25	69	128	23,6	62,4	79,2	13,0
425	19.05	22.06	16.07	26.09	34	24	72	130	23,2	63,1	70,5	12,8

СОСТОЈБИ И МОЖНОСТИ ЗА ПРОИЗВОДСТВО НА СОЈА ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

Василевски Г.¹, Бошев Д.² и Михајлов Јб.³

Крајшок извадок

Со оваа испитување дадена е актуелната состојба и можностите за производство на соја во Р Македонија. Дадени се и информации за сортите на соја со висок принос, кои можат да се одгедуваат во нашата држава. Затоа што во литература се среќаваат различни информации за условите за растење на сојата, направивме испитување на два различни региони со повеќе различни сорти. Приносот е помеѓу 1963 и 6500 кг/ха, а апсолутната маса на семето е меѓу 103 и 218 г.

Клучни зборови : соја, производство, можности, услови, принос, сорти.

SITUATIONS AND POSSIBILITIES FOR PRODUCTION OF SOYBEAN IN MACEDONIA

Vasilevski G.¹, Bosev D.² and Mihajlov L.³

Abstract

In these investigations is given the actual situation and possibilities for production of soybean in Macedonia. It is also given the information about the varieties of soybean with high yields, which can be grown, in our country. Because from the now known literature there are some different information about the condition for growing of soybean, we made the investigations in two different regions and menu varieties. The yields are between 1963 and 6500 kg per hectare, and absolute mass of the seed is between 103 and 218 g.

Key words: sojabean, production, possibilities, conditions, yield, varieties.

1. Вовед

Сојата, како поделска култура, овозможува стопанска и економска стабилизација, како и напредок на секоја земја која е нејзин производител. Не постои друга култура, која има толку голема употребна вредност во човечката исхрана, во сточарството и во прехранбената индустрија.

Во исхраната на човекот, таа доаѓа како зрно, полупреработки или во вид на идустриски производи, а е незаменлива во развојот на сточарството.

Семето на соја содржи околу 14-27 % масла, 24-55 % белковини, шеќери, минерали и витамини.

^{1,2} Земјоделски факултет, Скопје, Р. Македонија
Faculty of Agriculture, Skopje, R Macedonia

³ АД "Ерџелија", Св. Николе, Р.Македонија
AD Erdzelija, Sv Nikole, R Macedonia

Поради големиот процент на белковини, чиј квалитет е близок до оние од животинско потекло, со производство на соја може да се намали, или дури и потполно да се реши недостигот од белковини во прехранбената индустрија. Исто така, со нејзино производство и преработка, во светски размери се задоволуваат 2/3 од потребите на населението од масла и околу 1/3 од масти.

Во Кина, преку 400 години сојата претставува главен извор на производството на белковини во индустријата, а нејзиното искористување во Европа започнало кон почетокот на XX век и тоа, најпрво за производство на масло, а потоа и за производство на белковини.

Индустријата за производство на производи на база на белковините од сојата, започнува интензивно да се развива кон крајот од шеесеттите години. Денес од вкупните преработки од сојата околу 50 % отпаѓаат на индустриското производство на САД, со вкупно производство од околу 454 илјади тони или 1,8 до 2,3 кг по човек годишно.

За преработка обично се користат сортите соја кои содржат најмалку 38 % белковини. Во зависност од содржината на белковини, производите од сојата се разделени во три основни групи во кои процентот на белковини е од 40-90 %.

Најзначајни производи од сојата се: соино брашно (полномасно или обезмастено), гриз, масло, белковини, концентрати и изолати.

Брашното и гризот се користат во пекарската индустрија, а лецитинот произведен од сојата се користи во фармакологијата и кондиторската индустрија.

Сојата, исто така претставува природен извор на целулозни влакна, кои со одвојување и преработка на семената обвивка се употребуваат во пекарската или другите прехранбени индустрии.

Покрај тоа, во зрното на сојата се наоѓаат осум есенцијални аминокиселини кои се неопходни во исхраната на човекот, бидејќи тие по природен пат не се создаваат во организмот.

При исхраната на животните, сојата може да се користи како зрно, или како додаток во концентратите.

Во развиените земји, се повеќе се дава предност на исхраната со цело зрно, но по предходно отстранувањето на маслото и дезактивирање на штетното влијание на некои материи. Отстранувањето на влијанието на штетните материи, се врши со термичка обработка, или со третирање на семето со инфрацрвена светлина.

Сојата е култура и со многу големо агротехничко значење. Како култура азотофиксатор, по жетвата остава огромно количество на азот во почвата, ја подобрува нејзината структура и овозможува постигнување на повисок принос кај следните култури. Според научни сознанија само со вклучување на сојата како преткултура на пченицата се зголемува нејзиниот принос за преку 20 %.

Но сепак, и покрај сите овие докажани квалитети на оваа култура, сојата скоро и да не е застапена во Р. Македонија.

Ова, пред се, се должи на недоволната истраженост на реоните и непостоењето на податоци за високоприносни сорти, кои се погодни за одгледување во нашата Република.

2. Влијание на надворешните услови

Сојата е култура која поседува доволна отпорност на ниски и високи температури. Се смета дека е поотпорна од пченката. Во фазата „ртење и никнење, сојата издржува ниски температури до $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$, а младите растенија од -2 до $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. На пониски температури страдаат лисјата и доколку не се измрзнати котиледоните, растението продолжува со својот раст и развој.

Во колку температурата падне под $14\text{ }^{\circ}\text{C}$ во фазата на формирање на цветните пупки, растењето престанува, а доколку случајно падне на $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$, мрзнат цветовите. Есенските мразеви од -3 до $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, вообичаено не ја оштетуваат сојата и не предизвикуваат намалување на приносот.

Високите температури, исто така вршат оштетување на културата. Според Emerson и Minora (1979), сојата на температура од $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ сеуште 'рти, додека на $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 'ртењето прекинува. Појавата на температури од 36 до $37,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ во периодот од никнење до цветење, макар и за кусо време, предизвикуваат негативни последици на растот и развојот. Особено значајни се високите температури (над $32\text{ }^{\circ}\text{C}$), проследени со ниска релативна влажност на воздухот, кои предизвикуваат паѓање на пупките, цветовите и малите мешунки, со што се намалува и приносот.

Светлината како еколошки фактор за сојата, не претставува само извор на енергија за извршување на фотосинтезата, но од неа зависат и многу процеси од нејзиниот развој. Таа спаѓа во групата на култури на кус ден и е многу чувствителна на промените на должината на денот.

Должината на денот силно влијае на сите промени во осветлувањето, од никнењето до цветењето. За поголем број сорти оптимална должина на денот изнесува $13 - 16$ часа, што зависи од генетската специфичност и потеклото на сортата. Но, во секој случај, врз ареалот на распространетост на одделен генотип, светлосниот ден нема да има значајно влијание на растојание од 150 до 225 км. Северно од ова растојание, соодветната сорта ќе зрее подоцна, додека јужно вегетацијата се скратува.

Неспорен факт е дека сојата бара силно осветлување. При послабо осветлување страничните и долните гранки се сушат. Мякушко и Баранова (1984), наведуваат дека со намалување на интензитетот на сончевата светлина за 50% , се намалува и бројот на коленцата на стеблото, гранките и мешунките. Оттука, особено треба да се внимава и на густината на посевот. Јачината на светлоста, исто така влијае и на формирањето и големината на грутките на коренот, односно на активноста на азотофиксаторите.

Потребите од вода кај сојата се големи. Недостигот од вода е основна причина за ниските приноси, дури и во подрачја каде другите услови се погодни. Во зависност од должината на вегетацијата ($100-190$ дена) потребно е околу 450 до 825 мм врнежи или $5\,000 - 6\,000\text{ m}^3$ вода.

Потребите од вода по одделни фази се различни. Најголема потреба е во фазата на репродуктивен развој, односно во време на формирањето на мешунките и зрната. Врнежите, или наводнувањето во јули и август, се од пресудно значење за производството на соја. При нивно отсуство се намалува активноста на азотофиксаторите во коренот, бројот на зрната во мешунка и апсолутната маса на зрната, а со тоа и вкупниот принос.

Меѓутоа, според Huck et al. (1983), сојата поседува и отпорност на сушата, бидејќи во такви услови се зголемува развојот на коренот во

длабочина и во маса. Освен тоа, Van Volkenburg и Davies (1977), укажуваат на способноста на листовите да го менуваат аголот на поставеност и поголемата рефлексивност на светлината, со помош на влакненцата и создавањето на восочна превлака по површината на лисјата.

По однос на почвата, постои мислење дека сојата успешно може да се одгледува на различни типови, доколку тие се длабоки, структурни, со добра аерација и неутрална реакција и соодветни водно - воздушни карактеристики. Во принцип сите почви на кои се одгледува пченката се погодни и за сојата.

Кај почвата многу битни се рН и отцедноста. Оптимална рН е од 6,4 - 7,0. Помалата вредност доведува до токсичност од Ал, додека многу поголемата рН доведува до недостиг на Mn или Fe. При рН околу 5 се уништуваат бактериите азотофиксатори. Сојата бара отцедна почва, бидејќи во спротивност доаѓа до скапување на растението и затоа постои изреката: “Сојата не сака нозете да и се мокри“.

3. Состојби и можности за производство на соја во Република Македонија

Сојата за поширокото поделско производство, на просторите на Република Македонија е непозната култура, иако првите почетоци за нејзино производство се забележуваат далечните триесетти години на XIX век. Во тоа време, оваа култура, претежно е одгледувана на мали површини и тоа во бавчите на некои производители, чие зрно е користено како сурогат за кафето.

Потребите на соино зрно во Македонија, кои денес се увезуваат, се движат околу 50 000 тони годишно. За покривање на овие потреби со претпоставен просечен принос од 2.000 кг/ха, потребно е околу 25.000 хектари сеидбена површина. Но, факт е дека денес потребите од соја од ден на ден растат, поради нејзиното се помасовно вклучување во исхраната, развојот на месната индустрија, како и поради задоволување на потребите во сточарството, за чиј развој амбициозно се залагаме. Неспорен е фактот, дека во Македонија се вршени одредени истражувања за воведување на сојата во производство, но и од оскудните пишани податоци, тешко е да се заклучи дека таа е перспективна култура и дека може да биде застапена на поголеми површини. Секако дека за ова допринесле околностите: мала ангажираност на научни кадри, производители, па во крајна линија и политиката во земјоделството кон оваа култура.

Во Македонија, барем до сега, нема научна определеност со сериозна државна финансиска поддршка, за научни истражувања за воведување на сојата во производство. При недостиг на стратешки истражувачки потфат во селекцијата и агротехниката на сојата, вршени се повремени напори за воведување на сорти од различни светски истражувачки центри, но факт е дека резултатите не биле доволно убедливи за пошироката практика. Проблемите во правилниот избор на сортите за нашево поднебје, изборот на соодветни опитни и производни реони, често резултирале со добивање на ниски приноси по единица површина, кои производството го правеле нерентабилно.

Не дека денес тој однос кон сојата битно е изменет, но еден тим од ентузијастички (научници, соработници и производители) во соработка со

научници од околните држави, пошироко од Европа и САД, се зафати со истражувања за воведување на оваа култура во производство.

Според изнесените потреби на сојата и почвено-климатските услови во Република Македонија, може да се констатира дека постојат услови за нејзино производство. Меѓутоа, при производството мора да се има во вид задоволувањето на единствено ограничувачкиот фактор - водата.

Реоните со ниски количества на врнежи и без услови за наводнување, нема да овозможат високо и профитабилно производство.

4. Резултати и дискусија

Во последниве 5-6 години, поставувани се опити со сорти соја од различно потекло (С.Р. Југославија, Холандија, САД) и со различна должина на вегетацијата. Опити беа поставени во Кочанско, како реон со најголемо производство на ориз, со повисока релативна влажност на воздухот и во услови на наводнување и во Овче Поле, еден од најсушните реони во Македонија, во услови за наводнување.

Опитите беа водени при стандардна агротехника за сојата, на парцелки од 10 м², во три повторувања. Добиените резултати се охрабрувачки, што ни дава можност за барање на сериозна финансиска поддршка за поцелосен пристап за реализација на овој проект.

Застапените 15 сорти во истражувањата во Кочанско, се со должина на вегетацијата од 144 до 151 ден. Со најкус вегетационен период е новосадската линија Л-80053, додека со најдолг америчката сорта Паркер. Приноситите кај овие сорти се различни, но во секој случај, високи.

Најнизок принос е постигнат кај сортата Springfield (3253 кг/ха), додека највисок кај Star A (6500 кг/ха). Апсолутната маса на зрната се движат од 103, кај земунполската линија ЗПС-09 до 218 г кај америчката сорта Parker.

Вака високите приноси кај испитуваните сорти во Кочанско, се смета дека се резултат на генетскиот потенцијал на сортите и поволните надворешни услови.

Кочанско, како што е познато, е реон со најголемо производство на ориз во Македонија, во кој постојат идеални услови за наводнување.

Поради големата распространетост на оризот, кој се одгледува под постојан слој вода, Кочанскиот реон се одликува и со поголема релативна влажност на воздухот, што е од особено значење за производството на соја.

Исто така, сите сорти се одликуваат со должина на вегетационот период од II група на зреење (од 144 до 151 ден), која им овозможува на сортите повисока родност.

Општа констатација е дека сите сорти можат да се вклучат во производството на овој реон, но со дополнителни истражувања за нивна реонизација во одделни микрореони. На таков начин максимално ќе се искористи генетскиот и производниот потенцијал на сортите.

Во испитувањата на производниот потенцијал на сојата во реонот Овче Поле, беа застапени помалку сорти, но со покус вегетација. Иако, во овој реон почвено - климатските услови не се погодни за нејзино производство, се сметаше дека, ако во такви услови таа успее, тогаш нема реон во Македонија во кој не ќе успее.

Сојата е значајна поледелска култура на која мораме да и посветиме големо внимание, како во научно-истражувачката работа, така и во производната практика.

Задоволувањето на потребите од соино зрно од сопствено производство, ќе има голем придонес за стопанската и економската стабилизација на земјава, а воедно ќе овозможи, ослободување од зависноста за увоз на оваа култура, како и зголемување на економската моќ на производителите.

Резултатите од досегашните научни истражувања и практиката, овозможуваат гаранција, дека сојата ќе биде профитабилна култура.

Производството на сојата, ќе овозможи нејзино вклучување во плодоред со останатите стопански значајни култури, како и зголемување на нивните приноси.

Литература

Василевски, Г.,(1994): Зрнести и клубенести култури. Практикум, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Скопје 1994.

Василевски, Г.(1999): Преработка на поледелски производи. Универзитетски учебник, Земјоделски факултет, Скопје 1999.

Василевски, Г.(****): Зрнести и клубенести култури, Универзитетски учебник (ракопис).

Volkenburg, V.E., Davies, W.J. (1977): Leaf anatomy and water relations of plants grown in controlled environments and in the field, *Crop. Sci.* 17, 353-358.

Emerson, B.N., Minor, H.C.(1979): Response of soybeans to high temperature during germinations. *Crop. Sci.*, 19, 553.

Мякушко, Ј.П., Баранова, В.Ф.(1984): *Соя, Колос*, Москва 1984.

Nenadic, N., at al.(1995) *Соја-производња и прерада*, Полјопривредни факултет, Београд 1995.

Таб. 1 - Приносот на сојата во Кочанскиот реон (кг/ха)
 Tab. 1 - The yield of soybean in Kocani region (kg/hect)

Име на сортата Name of the varieties	Вегетација (денови) Vegetation (days)	Принос (kg/ха) Yield (kg/hect)	Апсолутна маса (g) Absolute mass (g)
Мома	145	4 011	146
Спрингфиелд	146	3 253	119
Боса	148	4 997	175
Худсон	145	4 020	149
Л-80053	144	5 502	151
Star A	145	6 500	163
Л-ЗПС-09	146	3 999	103
Партнер	145	5 520	175
Cortland	150	4 503	125
Chapman	149	4 500	140
Kenwood	149	5 601	121
Archer	149	4 550	165
Л-2007	149	5 653	153
Marcus	150	3 785	177
Parker	151	5 730	218

Таб. 2 - Приносот на сојата во реонот Овче Поле (кг/ха)
 Tab.2 – The yield of soybean in Ovce Pole region (kg/hect)

Име на сортата Name of the varieties	Вегетација (денови) Vegetation (days)	Принос (kg/ха) Yield (kg/hect)	Апсолутна маса (g) Absolute mass (g)
Балкан	125	3 192	213
ЗПС-111	130	3 683	204
Л-8	115	1 963	217
ЗПС-015	110	2 120	212

**ОДДЕЛЕНИЕ ЗА ЗАШТИТА НА
РАСТЕНИЈАТА ОД БОЛЕСТИ,
ШТЕТНИЦИ И ПЛЕВЕЛИ**

**DEPARTMENT OF PROTECTION OF THE
PLANTS FROM DISEASES,
PESTS AND WEEDS**

RACES OF XANTHOMONAS VESICATORIA ISOLATED FROM PEPPER IN MACEDONIA

MITREV S., KAROV I. AND SPASOV D.

2001, Opatija, Croatia, 37th Croatian Symposium on Agriculture. Summary

Summary

From 1994 till 1997, few hundreds of strains were isolated from different samples of pepper (*Capsicum annuum* L.) collected from commercial fields and home gardens throughout Rep. of Macedonia. Bacteria were isolated on semi selective medium from infected plants and identified by a combination of morphological, pathological, biochemical, nutritional and physiological tests. In this study 50 domestic and 3 control strains (races: E-3; 93-1; 71-21 from Florida, USA) were used. All these properties of Macedonian strains were completely same with characteristics of compared control strains, without any significant differences. Additional characterization of strains showed that all were negative for amylolytic activity and ability to utilize dextrin. Those strains belong to type A of *X. vesicatoria* and none of them belong to type B.

Strains of *X. vesicatoria* 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. The majority of the strains were identified as race P0 - 40%, race P2 - 40%, and the remaining 20% could not be identified to race using these differential pepper lines.

All of investigated strains were sensitive to copper sulfate (200µg/ml) and streptomycin sulfate (100µg/ml).

Key words: pepper, bacteria, *Xanthomonas*, races, characteristics, pathogenicity.

РАСИ НА БАКТЕРИЈАТА XANTHOMONAS VESICATORIA ИЗОЛИРАНА ОД ПИПЕРКА ВО МАКЕДОНИЈА

Митрев С., Каров И. и Спасов Д.

2001, ОПАТИЈА, ХРВАТСКА, 37 ХРВАТСКИ СИМПОЗИУМ НА АГРОНОМИТЕ, СТР. 348 SUMMARY

Краток извадок

Од 1994 до 1997 година неколку стотини изолати се добиени од повеќе различни примероци на заболена пиперка (*Цајсицум аннуум* Л.) добиена од различни делови во Република Македонија. Бактериите беа изолирани на полуселективни вештачки подлоги и нивната идентификација

Institute of Southern Crops, Goce Delcev bb, 2400 Strumica, Rep. of Macedonia.

Phone:+389 34 345 096; Fax:+389 34 345 096/124; E-mail: mitrevsasa@isc.ukim.edu.mk

Институт за јужни земјоделски култури-Струмица, Гоце Делчев б.б., Македонија

беше извршена со помош на различни морфолошки, патогени, биохемиски, одгледувачки и физиолошки тестови.

Во оваа студија беа користени 50 домашни изолати и 3 контролни изолати од Флорида-САД (раси: Е-3; 93-1; 71-21). Сите испитувани карактеристики на домашните изолати во потполност се идентични со контролните изолати од странство, без некоја сигнификантна разлика. Испитувањата покажаа дека нашите изолати се негативни при амилитичката активност и способноста да користат декстрин. Изолатите припаѓаат на типот А од бактериите *X. vesicatoria* и ниедна од нив не припаѓаше на типот Б.

Изолатите на бактеријата *X. vesicatoria* се идентификувани во раси на база на манифестираните реакции кај пиперката од сортата калифорниско чудо (ECW) и блиските изогени линии добиени од неа (ECW-10R, ECW-20R и ECW-30R) кои ги содржат гените за отпорност: bs1, Bs1, Bs2 и Bs3.

Поголемиот дел од испитуваните изолати се идентификувани како раса П0-40%, П2-40% и преостанатите 20% не се детерминирани како некој од познатите раси.

Сите испитувани раси се осетливи на бакар сулфат (200µg/ml) и стрептомицин сулфат (100µg/ml).

1. Introduction

Xanthomonas vesicatoria is a causal agent of bacterial spot of pepper (*Capsicum annuum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) in many countries around the world. This bacterium present in all regions where these plants are grown, especially under conditions of high temperature and abundant rainfall. The disease reduces plant growth, fruit yield, and quality, bacterial spot of pepper is typically initiated in the field under hot and humid conditions, after infested soil and plant debris are splashed by wind or rain into plants. Bacterium is capable of surviving in artificially infested field soil for at least 18 months in the absence of host plants. Several soil borne xanthomonads, including *X. vesicatoria*, have been implicated in the occurrence of plant disease (O'Garro et al., 1997)

In Macedonia, pepper (*Capsicum annuum* L.) is traditional crop cultivated on about 9.000 ha of open field, plastic tunnels and greenhouses. Bacterial spot was an important pepper disease in many production areas in the country and cause a significant losses in the field (Mitrev et al., 1998). The severity of occurrence of the bacterial spot depends of "pathogen free" seeds and transplants, sanitation, crop rotation, resistant cultivars, and chemical applications (Sahin et al., 1996).

The losses caused by this bacterium in Macedonia were different every year. There was estimated about 10-20%, but some year (July and August of 1995), the damages were extremely higher as a result of favorable climatic conditions, warm and rainy summer (Mitrev et al., 1998).

The strains of *Xanthomonas vesicatoria* (sin. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Young et al., 1996) used in this work were isolated from pepper plants (*Capsicum annuum* L.) were identified and characterized according to race, sensitivity to copper sulfate and streptomycin sulfate, pathogenical, morphological, biochemical, and physiological characteristics.

2. Materials and methods

2.1. Isolation of the pathogen

The bacteria were isolated from the spots of pepper plants, surveys in open-field, performed during June - September of 1994-1997 from different production areas in Macedonia. Collected leaves were surface-disinfected, cut small pieces of leaf tissue from margins of spots with sterilized razor blade and comminuted in sterile deionized water (SDW). Suspension was streaked on plate's surface of nutrient agar (NA) medium or yeast dextrose carbonate (YDC) medium (Schaad, 1994). Plates were incubated at 26°C for 48 h. Representative round, convex, mucoid, yellow colonies on YDC, or small, yellow colonies on NA were selected and purified by repeated restreaking on YDC. These pure cultures were preserved in tube on YDC slope medium on 4°C for short-term storage and under oil for long-term storage (Schaad, 1994).

2.2. Identification of the strains

Identification of 50 bacterial strains was performed according to the following biochemical and nutritional tests described by Lelliot et al., 1987; Bouzar et al. (1994), Schaad (1994) and Klement et al. (1990): Potassium hydroxide solubility test (3%), Gram's stain; oxidative/fermentative metabolism; sodium chloride tolerance (1%); catalase, oxidase, aminopeptidase and urease activities; nitrate reduction; hydrogen sulfide production from cysteine; tween 80, aesculin, starch, and gelatin hydrolysis; growth at 35°C; triphenyl tetrazolium chloride tolerance (0,1% and 0,02%); and acid production from arabinose, cellobiose, trehalose, sucrose, glucose, lactose, mannose, ramnose, raffinose, fructose, galactose, xylose, dextrin, dulcitol and manitol. The tests were repeated at least twice with three replications per test.

2.3. Race determination

X. vesicatoria races were differentiated using the pepper cultivar Early Californian Wonder (ECW) and 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 (Minsavage et al., 1990). Pepper race 1 (strain 71-21), race 2 (strain E-3), and race 3 (strain 93-1) of *X. vesicatoria* were used as reference cultures.

Investigated strains were suspended in sterile, distilled water, adjusted to a concentration of approximately 10^8 CFU/ml, and infiltrated into fully expanded leaves of the pepper lines. Plants were incubated for 48 h under greenhouse conditions and HR was recorded within 24 to 48 h. Each strain was tested three times (Sahin et al., 1996).

2.4. Physiological characterization

Sensitivity of strains to copper and streptomycin were assayed in sucrose peptone agar (SPA) medium amended with either $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (200µg/ml) or streptomycin sulfate (100µg/ml) as described by Buonauro et al., (1994). Plates were incubated at 26°C for 48 h and the presence or absence of growth was recorded. Bacterial strains that grew on SPA medium, amended with either copper sulfate or streptomycin sulfate at the concentrations reported above, were considered resistant to copper or streptomycin, respectively.

3. Results

3.1. Field survey and identification of the pathogen

Symptoms of bacterial spot were present on pepper leaves on all of the places were visited in different regions in Macedonia. Disease incidence ranging from 20 to 80% depending of pepper cultivar. Disease symptoms on pepper fruits were found

only in fields located in production area of Kumanovo. Few hundred strains were isolated from more than hundred pepper samples collected in 10 different regions in Macedonia.

Biochemical and nutritional tests presented that all investigated bacterial strains grew on YDC medium and produced round, convex, mucoid, yellow colonies, and they were Gram-negative, aerobic, catalase- and aminopeptidase-positive, oxidase- and urease-negative. They were hydrolyzed aesculin, gelatin, tween 80 but did not starch. Grew at 35°C, produce hydrogen sulfide from cysteine and did not reduce nitrates; produced acid from arabinose, glucose, mannose, sucrose, fructose, galactose and xylose, but did not produced acid from cellobiose, trehalose, lactose, ramnose, raffinose, dextrin, dulcitol and manitol. They did not showed tolerance of 1% NaCl, 0,1 and 0,02% TTC.

All bacterial strains were induced a HR on tobacco plants after 24 h and they were pathogenic on pepper cultivar ECW.

On the bases of biochemical, nutritional, and pathogenicity tests, it was confirmed that all bacterial strains belonged to *Xanthomonas vesicatoria*.

3.2. Race, copper and streptomycin sensitivity determination

Strains of *X. vesicatoria* 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. The majority of the strains were identified as race P0 - 40%, race P2 - 40%, and the remaining 20% could not be identified to race using these differential pepper lines.

All investigated bacterial strains did not presented growth on SPA medium amended with 200µg/ml copper sulfate and were therefore considered not resistant to copper sulfate. Also, none of the strains grew on SPA medium containing 100µg/ml of the streptomycin sulfate and were therefore considered not resistant to the antibiotic.

4. Discussion

Pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivation has a significant economic meaning in Rep. of Macedonia. Pepper plants were attacked by a great number of pathogens of various nature. Besides of the viruses diseases, which have the greatest meaning, fungi and phytopathogenic bacteria like *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas vesicatoria* and *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* attacked the pepper plants, characteristically about this region. From all bacteria, which attacked pepper plants in the open field, *X. vesicatoria* had the greatest meaning (Mitrev, 1998).

Recently this pathogen was mentioned in important pepper production arias in Balkan region, it was noted as very significant parasite and significant factor on ruin the pepper plants (Arsenijević, 1980; Balaž Jelica, 1994; Bogatzevska et al., 1996).

The characteristic symptoms that were appeared in the field on the older plant leaves were suspected to have a bacterial origin. In favorable climate condition, rainy and hot days, the disease was spread very fast and all the date obtained in this study proven that our strains isolated from pepper belonged to *X. vesicatoria*.

A lot of authors cited the bacterium *X. vesicatoria* as a causal agent for pepper plants in the field and on pepper seedlings, but we found less date in our region about the pathogenic changes of pepper seedlings. The most susceptible cultivar in Macedonia on this bacterial disease was *kurtovska kapija* (*Capsicum annuum*).

The morphological, pathological, biochemical and physiological tests were confirmed that the characteristics of our strains were similar with the characteristics of control strains of bacteria *X. vesicatoria* 71-21, E-3 and 93-1. Additional characterization of 50 strains showed that all were negative for amylolytic suggesting and ability to utilize dextrin. Those strains belong to type A of *X. vesicatoria* and none of them belong to type B (Bouzar, et al., 1994; Schaad, 1994; Sahin, et al. 1996; Lelliott et al., 1987; Jones et al., 1986; Arsenijević, 1988).

In this study the bacterial strains of *X. vesicatoria* obtained from diseased pepper plants showed that pepper races P0 and P2 were dominant in Rep. of Macedonia. The predominant pepper races in the world were P1, P2, and P3. The races P0, P2 and P4 are unusual pepper races, which had previously been found only in USA (North Carolina and Mexico and Florida), Australia, Caribbean and Central America (Bouzar, et al., 1994). In Europe the pepper races were determined only in Italy (central and southern part of Italy), and there were found races 1 (39%), 2 (16%) and 3(45%) (Buonario et al., 1994). Previously, there was not any indication for proving the pepper races of *X. vesicatoria* in Rep. of Macedonia.

Streptomycin sulfate and copper sulfate resistant strains were not detected in this study. Two plausible explanations for streptomycin sensitive strains are that the use of them is not permitted in Macedonia, or that the pathogen was introduced on seed, which had been produced in countries where the antibiotics are not used or they are permitted.

The use and deployment of resistant cultivars to the races of *X. vesicatoria* may provide the best disease-management strategy.

References

- Arsenijević, M. (1980): Bakterioze paprike. Glasnik zaštite bilja, 1980-2: 42-47.
- Arsenijević, M. (1988): Bakterioze biljaka. Naučna knjiga, Beograd.
- Balaz Jelica (1994): Pegavost lišca paprike prouzrokovana bakterijom *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Savremena poljoprivreda. Vol. 42. Vanredni broj, 341-345.
- Bogatzevska, N.S. and Deneva, S. (1996): Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and pv. *vesicatoria* in seed of weeds. IX International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Madras, 1996.
- Buonaurio, R., V.M. Stravato and M. Scortichini (1994): Characterisation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from *Capsicum annuum* L. in Italy. Plant Disease, Vol. 78 No. 3, 296-299.
- Bouzar, H., Jones, J.B., Stall, R.E., Hodge, N.C., Minsavage, G.V., Benedict, A.A., & A.M. Alvarez, (1994): Physiological, chemical, serological, and Pathogenic Analyses of a Worldwide Collection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* strains. Phytopathology, Vol.84 No. 7: 663-671.
- Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D.C. (1990): Methods in Phytobacteriology. Akademiai Kiado, Budapest 1990.
- Lelliott, R.A. and Stead, D.E. (1987). Methods for the Diagnosis of Bacterial Disease of Plants. William Clowes Limited, Baccles and London.
- O'Garro, L.W., Gibbs, H. and Newton, A. (1997): Mutation in the *avrBs1* Avirulence Gene of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Influences Survival of the Bacterium in Soil and Detached Leaf Tissue. Phytopathology, Vol. 87: 960-966.

- Minsavage G.V., D. Dahlbeck, M.C. Whalen, U. Bonas, B.J. Staskawicz and R.E. Stall*, (1990): Gene-for-gene relationship specifying disease resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* - pepper interactions. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 3, 41-47.
- Mitrev, S. and Pejčinovski, F.* (1998): *Xanthomonas vesicatoria* causal agent of bacterial spot of pepper, cv. kurtovska kapija. *Yearbook for Plant Protection*, Vol. X, Skopje.
- Sahin, F. and Miller, S.A.* (1996): Characterization of Ohio Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Causal Agent of Bacterial Spot of Pepper. *Plant Disease*, Vol. 80: 773-778.
- Schaad, N.W.* (1994): *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 2nd edition. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- Young, J.M., Saddler, G.S., Takikawa, Y., Boer, S.H., Vauterin, L., Gardan, L., Gvozdyak, R.I. and Stead, D.E.* (1996): Names of plant pathogenic bacteria. *Review of Plant Pathology*. Vol. 75, No 9. 721- 763.

CHARACTERIZATION OF BACTERIAL STRAINS OF PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. SYRINGAE ISOLATED FROM PEPPER LEAF SPOT IN MACEDONIA

Mitrev S.,¹ Gardan L.² and Samson R.²

2000, Italy, Journal of Plant Pathology (2000), 82 (3), 227-231.

Summary

A new bacterial leaf spot disease on pepper seedlings (*Capsicum annuum* cv. 'Kurtovska kapija') was observed in 1995 in Macedonia. *Pseudomonas* bacteria were isolated, belonging to LOPAT group Ia. Symptoms similar to natural symptoms were reproduced following inoculation on pepper seedlings. Some isolates produced syringomycin and none of them were pathogenic to lilac. In a numerical taxonomic study of five pepper isolates in comparison with 58 pathovars of *P. syringae* and 10 related species, the five pepper isolates clustered in one phenon. Considering phenotypic characteristics, serology, DNA relatedness and pathogenicity tests, it was concluded that the pepper strains belong to *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

Key words: *Pseudomonas syringae*, phenotypy, serology, DNA-DNA hybridization, pathogenicity, numerical taxonomy.

BAKTERISKI KARAKTERISTIKI NA RASITE OD PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. SYRINGAE IZOLIRANI OD LISNATA DAMKAVOST KAJ PIPERKATA VO MAKEDONIJA

Митрев С.,¹ Gardan L.² and Samson R.²

2000, Italija, @urnal za Rastitelna Patologija (2000), 82(3), 227-231

Kratok izvadok

Novo bakterisko zaboluvawe vo vid na listna damkavost kaj rasadot na piperkata (*Capsicum annuum* sorta Kurtovska kapija) be[e zabele`ano vo 1995 godina vo Makedonija. Izolirana e bakterija od rodot *Pseudomonas* koja po LOPAT-testot pripa\`a na grupa Ia. Simpomite kaj ve[ta~ki inokuliraniot rasad se sli~ni na prirodnite simptomi od rasadot na piperkata. Neki izolati sozdavaa siringomicin, a nieden od niv ne be[e patogen na jorgovanot. Vo numeri~koto taksonomsko ispituvawe na pet izolati od piperka, vo sporedba so 58 patovari od *P. syringae* i 10 srodni vidovi, pette izolati od piperkata grupirani se vo eden fenon. Imaj]i gi vo predvid fenolo[kite karakteristiki, serologijata, DNA srodnosta i testovite za patogenosta, be[e zaklu~eno deka rasite od piperkata pripa\`aat na bakterijata *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

Klu~ni zborovi: *Pseudomonas syringae*, fenotip, serologija, DNA-DNA hibridizacija, patogenost, numeri~ka taksonomija.

¹ Institute of Southern Crops-Strumica, Goce Delcev bb, 2400 Strumica, R macedonia

¹ Институт за јужни земјоделски култури - Струмица, Гоце Делцев б.б. Македонија

² Station de Pathologie Végétale, Institut National de Recherche d'Agronomie, 49071 Beaucouzé, France.

Pseudomonas syringae van Hall 1902, originally isolated from lilac (*Syringa vulgaris* L.), has subsequently been isolated from many plant species belonging to many genera and families (Young, 1991). *P. syringae* is a group comprising more than 50 plant pathogens classified as pathovars on the basis of host specificity (Young *et al.*, 1996). From pepper plants (*Capsicum annuum* L. and *Capsicum spp.*) bacteria have been isolated which belong to the following pathovars of *P. syringae*: pv. *aptata*, pv. *syringae* and pv. *tomato*, (Morton and Ratcliffe, 1964; Bradbury, 1986). Person (1964) first reported isolation of *P. syringae* from leaf spots of naturally infected pepper in 1962.

In Macedonia, symptoms of a new bacterial disease on pepper were observed in 1995, around Strumica city. During spring, especially at the beginning of May, leaf spots were observed on pepper seedlings (cv. 'Kurtovska kapija'). The disease was seen under high relative humidity in plastic tunnels, as a result of the intensive irrigation, poor aeration and average temperatures of 22°C. Initial spots were small, water-soaked, and dark green, later becoming larger and black. Characteristically, this disease begins with the above-mentioned symptoms and the plants become necrotic. Similar symptoms were found in different areas of the Strumica district, and in some years, the disease had great economic impact.

The bacteria were isolated from leaf spots on pepper seedlings on King's medium B. Fourteen representative isolates were chosen from the Strumica area during 1995 and 1996: 1050 (CFBP 11835); 1051 (CFBP 11836); 1051 (CFBP 11837); 1053 (CFBP 11844); 1054 (CFBP 11838); 1152 (CFBP 11839); 1153 (CFBP 11840); 1154 (CFBP 11841); 1155 (CFBP 11842); 1156 (CFBP 11843); P-221 (CFBP 11923); P-222 (CFBP 11924); P-223 (CFBP 11925) and P-224 (CFBP 11926). The other pathotype strains of *P. syringae* used for numerical taxonomy were listed in previous paper (Gardan *et al.*, 1999). Twenty classical biochemical and physiological tests and assimilation of carbon sources using Biotype 100 strips (BioMerieux, La Balme-Les Grottes, France) were performed according to Gardan *et al.*, (1999). The 14 isolates from pepper produced a fluorescent pigment on King's medium B and belonged to LOPAT group Ia (+ - - - +) of Lelliot *et al.* (1966). The isolates utilized sucrose, erythritol, mannitol and sorbitol, DL-lactate, D(-)-tartrate, and hydrolysed esculin. The isolates gave negative reactions for utilization of L(+)-tartrate, liquefaction of gelatin, hydrolysis of Tween 80, hydrolysis of polypectate at pH 5.0 and pH and 8.3, reduction of nitrate and presence of DNase.

A numerical taxonomy analysis, using the Jaccard coefficient and cluster analysis by the unweighted pair group method of average with arithmetic mean (UPGMA), was performed according to Gardan *et al.*, (1999). The dendrogram displaying the relationships amongs the 74 strains is shown in Fig. 1. Cutting at a distance of 0.13 gathered the five pepper strains studied and the reference strain of *P. s. pv. syringae* CFBP 1543 in the same phenon 1. Eight other phenona clustering two to four strains and 47 isolated strains were observed. By calculating the diagnostic ability coefficient (DAC), the biochemical and physiological characteristics that differentiate phenon 1 strains from the others were deduced (Table 1). The type strain of *P. syringae* CFBP 1392^T was distantly clustered from pepper strains and CFBP 1543; CFBP 1392^T was already considered as atypical and not truly representative of *P. s. pv. syringae* (Gardan *et al.*, 1991).

Syngomycin production was tested using a bioassay with strain CFBP 3389 of *Rhodotorula pilimanae* (Gross and De Vay, 1977). Two pepper isolates, CFBP 11923, 11925 and the type strain of *P. syringae* CFBP 1392^T produced syngomycin,

while three other pepper isolates CFBP 11835, 11839, 11844 and *P. s. pv. syringae* CFBP 1543 did not.

Antisera were produced in rabbits using whole bacterial cells as antigens, and O-serogroups were determined by Ouchterlony double-diffusion (Saunier *et al.*, 1996). The pepper isolates belonged to two distinct O-serogroups: PHA for the strains CFBP 11835, 11836, 11837, 11838, 11839, 11840, 11841, 11842, 11843, 11844, and APTPIS for the strains CFBP 11923, 11924, 11925 and 11926. The isolates were not distributed at random within the known O-serogroups as could be expected in the case of *P. s. pv. syringae* strains forming part of the normal plant epiphytic flora (Grondeau *et al.*, 1992). Pepper isolates reacted either as PHA or APTPIS. The O-serogroup PHA occurs mainly in *P. syringae* pv. *phaseolicola* but it has already been noticed amongst some *P. syringae* pv. *syringae* isolates (R. Samson, personal communication). The LPS corresponding to O-serogroup APTPIS is present in several pathovars of the genomospecies 1 (pv. *aptata*, pv. *pisi*, pv. *atrofaciens*) and in *P. savastanoi* pv. *glycinea* (genomospecies 2). Such double serotyping, already reported for *P. syringae* pv. *atrofaciens* and *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*, would remain compatible with the hypothesis of a single new pathovar (Saunier *et al.*, 1996). Serotyping was therefore considered a useful complement for identification of Macedonian pepper isolates.

Bacterial suspensions in sterile de-ionized water (1×10^7 cfu mL⁻¹) obtained from 24-48 h NA cultures, were used to inoculate leaves of the young pepper plants (cv. 'Kurtovska kapija') by injection with a needle and by gentle spraying. The young pepper plants reacted intensely by giving, after 2-4 days, characteristic spots which appeared around the needle wound and turned darker. Necrosis progressively spread and whole leaves were destroyed. Spraying of bacterial suspension on the leaf surface of young plants led to similar symptoms. Pepper fruits, as well as the green fruits of cherry, sour cherry, lemon, pear, plum, and tomato, reacted very quickly with the appearance of a dark brown discoloration of 1 to 2 cm after two days, gradually become necrotic and, after a few days, fell off.

Young seedlings of lilac (*Syringa vulgaris*, Vilmorin n. 47 82 800) were inoculated by placing a bacterial suspension at ca. 1×10^8 cfu mL⁻¹ on a main vein cut with a razor-blade. Plants were maintained in an illuminated incubator at 22°C. The five pepper strains inoculated (CFBP 11835, 11839, 11844, 11923 and 11925) produced no symptoms on lilac, whereas the strains of *P. syringae* pv. *syringae* CFBP 1392^T and 1543 caused development of black necrotic lesions.

DNA-DNA hybridization tests were carried out by using labeled DNA from pepper strain CFBP 11835 and unlabeled DNA of *P. syringae* pv. *syringae* CFBP 1392^T, *P. savastanoi* pv. *savastanoi* CFBP 1670^T, *P. syringae* pv. *tomato* CFBP 2212, *P. syringae* pv. *porri* CFBP 1908, *P. syringae* pv. *tagetis* CFBP 1694, *P. caricapapayae* CFBP 3204^T and *P. viridiflava* CFBP 2107^T, according to Gardan *et al.*, (1999). The pepper isolate CFBP 11844 and the type strain of *P. syringae* pv. *syringae* CFBP 1392^T were 99 and 75% respectively related to the strain CFBP 11835, thus corresponding to the same genomospecies 1, *P. syringae* (Table 2). The seven other reference strains (*Pseudomonas* spp. and pathovars of *P. syringae*) were only 29 to 61% related to the strain CFBP 11835.

In conclusion, although the pepper strains isolated in Macedonia were not pathogenic to lilac, there was insufficient evidence to recognize these pepper strains as delineating a new pathovar. From the overall results of phenotypic characteristics,

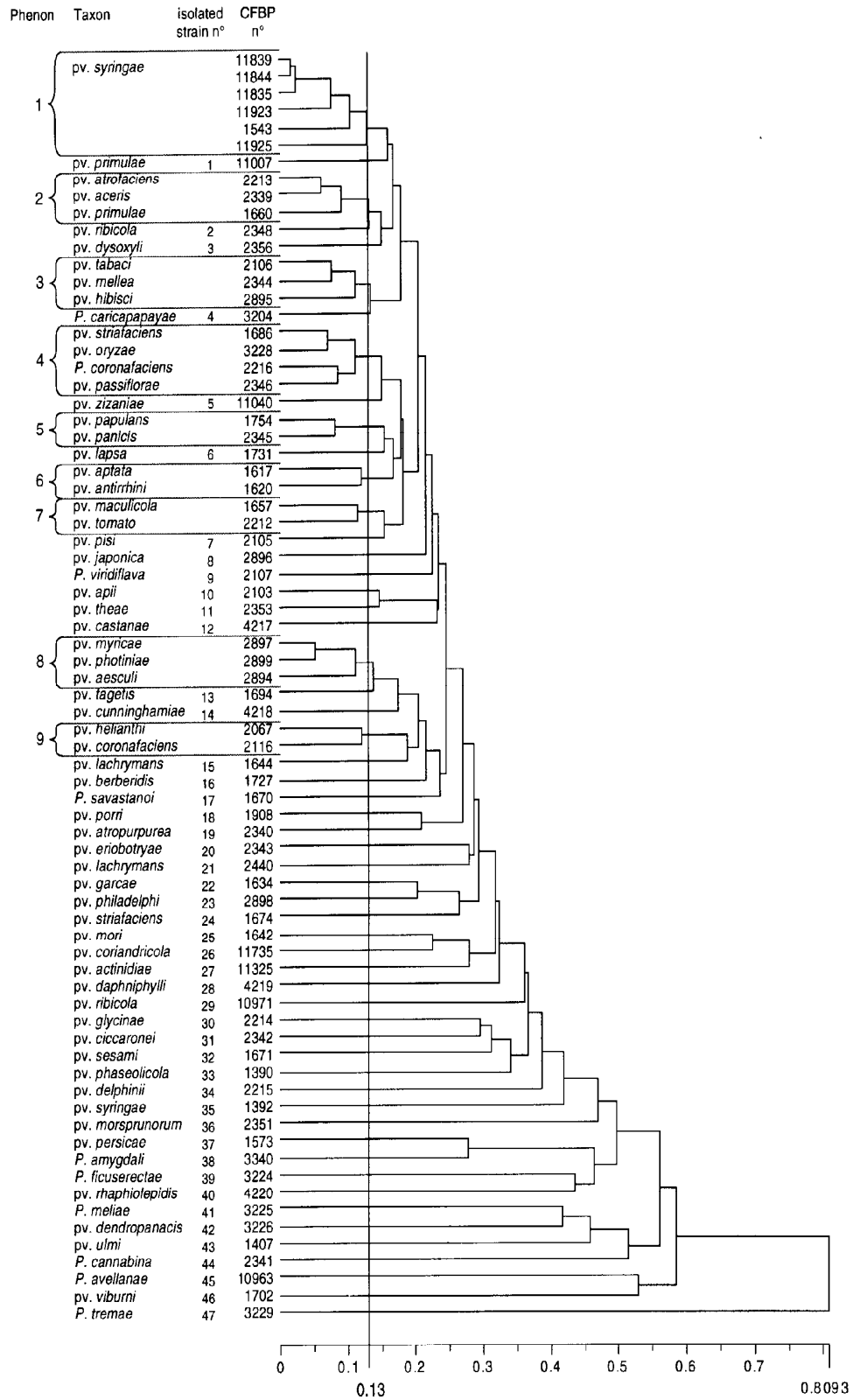
serology, DNA relatedness and pathogenicity tests, it was concluded that pepper strains belong to *P. syringae* pv. *syringae*.

P. syringae pv. *syringae* was reported for the first time in the former Yugoslavia (Vojvodina, Serbia, and Croatia) on pepper fruits in the field and later on seedlings (Arsenijević and Balaz, 1978). More recently, this pathogen has been observed in important pepper production areas in the Balkan region where it has caused significant losses (Obradović *et al.*, 1995). This is the first report of bacterial leaf-spot of pepper in Macedonia. According to previous investigations, applications of copper-based preparations and combination of copper and zineb could help to control the disease.

References

- Arsenijević M., Balaz J., 1978. (An etiological study of bacterial spot on pepper leaves). *Savremena Poljopr.* 7-8: 75-86.
- Bradbury J.F. 1986. *Pseudomonas*. In: Bradbury J.F. (ed.). *Guide to plant pathogenic bacteria*, pp. 110-185. CAB International Mycological Institute, Kew, U.K.
- Gardan L., Cotin S., Bollet C., Hunault G., 1991. Phenotypic heterogeneity of *Pseudomonas syringae*. *Van Hall. Research in Microbiology* 142, 995-1003.
- Gardan L., Shafik H., Belouin S., Broch R., Grimont F., Grimont P.A.D., 1999. DNA relatedness among the pathovars of *Pseudomonas syringae* and description of *Pseudomonas tremae* sp.nov. and *P.cannabina* sp.nov. (Sutic and Dowson 1959). *International Journal of Systemic Bacteriology* 49: 1-10.
- Grondeau C., Saunier., Poutier., 1992. Evaluation of physiological and serological profiles of *Pseudomonas syringae* pv. *pisii* for pea blight identification. *Plant Pathology* 41: 495-505.
- Gross D.C., De Vay J.E., 1977. Population dynamics and pathogenesis of *Pseudomonas syringae* in maize and cowpea in relation to the *in vitro* production of syringomycin. *Phytopathology* 67: 457-483.
- Leliott R. A., Billing E., Hayward A.C., 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. *Journal of Applied Bacteriology* 29: 470-489.
- Morton D.J., Ratcliffe T.J., 1964. A recently discovered unidentified foliar disease of pepper seedlings in Georgia. *Plant Disease Reporter* 48: 89.
- Obradović A., Arsenijević M., Mijatović M., Marinković N., 1995. Bacterial spot of pepper seedlings. *Zastita Bilja, Belgrade* 46 (213): 215-220, Beograd.
- Person L.H., 1964. A bacterial leaf spot of pepper caused by *Pseudomonas syringae*. *Plant Disease Reporter*, 48: 750-753.
- Saunier M., Malandrin L., Samson R., 1996. Distribution of *Pseudomonas syringae* pathovars into twenty-three O Serogroups. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 2360-2374.
- Young J.M., 1991. Pathogenicity and identification of the lilac pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall 1902. *Annals of Applied Biology* 118: 283-298.
- Young J.M., Saddler G.S., Takikawa Y., De Boer S.H., Vauterin L., Gardan L., Gvozdyak R.I., Stead D.E., 1996. Names of plant pathogenic bacteria. *Review of Plant Pathology* 75: 721- 762.

Fig. 1. Dendrogram obtained by comparison of 119 phenotypic characteristics of five pepper strains, the reference strain of *P. syringae* pv. *syringae* CFBP 1543, pathotype strains of *P. syringae*, and related species. Legend of figure.



	Esculin	L- Erythritol	Trigonelline	L- Histidine	Betain	D- Galacturonate	Caprate	Malonate	Propionate	Glutarate	D(-) Tartrate	trans-Aconitate	L(+) Tartrate	Caprylate	D-L-β- OH butyrate	myo- Inositol	DL- Lactate	D- Glucuronate	p- OH benzoate	D(+) Xylose	meso- Tartrate	D- Sorbitol	(-) Quinate	D- Xylose
Phenons ^a																								
1	+	+	+	-	+	+	+	+	-	83	83	+	-	+	83	+	+	+	+	+	+	+	+	83
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	66	66	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	33
3	+	+	+	+	+	+	+	66	33	+	66	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	-	+	+	+	75	75	75	50	-	+	-	75	25	+	-	+	+	+	+	+	+	-
5	+	+	50	+	50	+	+	+	-	-	-	+	-	+	50	+	+	+	+	+	+	+	+	50
6	+	50	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	50	+	+	+	+	+	+	-
7	+	-	+	+	+	+	+	+	50	50	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	50
8	-	-	+	+	66	+	+	+	-	66	-	33	+	+	66	+	-	+	+	66	+	+	+	-
9	-	+	+	+	+	+	50	-	+	-	-	+	+	50	-	50	-	+	+	+	+	+	+	50
Isolated taxa																								
1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
4	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
5	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
6	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
7	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
8	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
10	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
11	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
12	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
13	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
14	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
15	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-
16	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+
17	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
18	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
19	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-
20	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
21	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
22	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
23	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
24	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
25	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-
27	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
28	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
29	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
30	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-
31	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
32	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-
33	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
34	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
35	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
36	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
41	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
43	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-
44	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 1. Biochemical characteristics of 47 isolated taxa and nine phenes delineated in Figure 1.

CFBP: Collection Française de Bactéries Phytopathogènes, INRA, Beaucouzé, France.

a : Phenon and isolated taxa are listed as ordered in the Fig.1; pepper isolates are in phenon 1.

Table 2. DNA relatedness among pepper strains and *Pseudomonas* spp.

Unlabelled DNA from		Average % of relative binding at 70°C with labeled DNA from strain CFBP 11835
pepper strain	CFBP 11835 (P-150)	100
pepper strain	CFBP 11844 (P-153)	99
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	CFBP 1392 ^T	75
<i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	CFBP 1670 ^T	55
<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	CFBP 2212	45
<i>P. syringae</i> pv. <i>porri</i>	CFBP 1908	39
<i>P. syringae</i> pv. <i>tagetis</i>	CFBP 1694	47
<i>P. caricapapaye</i>	CFBP 3204 ^T	61
<i>P. viridiflava</i>	CFBP 2107 ^T	29

ПОЈАВА НА НЕКОИ НОВИ ПАТОГЕНИ ПРОМЕНИ КАЈ ВИНОВАТА ЛОЗА ВО РЕГИОНОТ

Митрев С.,¹ Пејчиновски Ф.,² Козина Б.³ и Мојсовски Т.⁴

2001, ОХРИД, Р. МАКЕДОНИЈА, 26 СОВЕТУВАЊЕ ЗА ЗАШТИТА НА
РАСТЕНИЈАТА.

ВОВЕД

Виновата лоза е една од најраспространетите земјоделски култури во светот, зафаќајќи површина од околу 10 милијони хектари. Се развива од умерените температурни подрачја па се до тропските делови, но поголемите лозарски реони се наоѓат во умерените климатски подрачја. Секако виновата лоза е најмногу раширена и економски најзначајна во Европа, а секако и во поширокиот регион на Балканот.

Кај виновата лоза како проблем во одгледувањето се јавуваат голем број болести и штетници, кои секоја година нанесуваат сериозни загуби во приносот. Природата на повеќето болести е добро проучена и постојат проверени и успешни мерки на борба против нив, додека кај извесни патогени промени сузбивањето е тешко или пак самата природа на промените е од непознато потекло. Појавата на жолтило кај листовите на виновата лоза е позната во многу региони на Европа, но сепак кај некој од тие промени не е точно детерминиран причинителот на тие промени.

Бактеријата *Xylella fastidiosa*, која е причинител на Пирсовата болест (Pierce's Disease-PD) кај виновата лоза, неодамна за прв пат се објави информација дека е присутна во Европа, и тоа на Косово, СР Југославија (Berisha et al. 1998). Пирсовата болест (ПБ) е фактор кој го спречува развојот и одгледувањето на виновата лоза во југоисточниот дел на САД и ги елиминира постоечките профитабилни сорти од виновата лоза во некои делови од Калифорнија и југозападните делови на САД и Мексико (Hopkins, 1989). Болест кај виновата лоза предизвикува сериозни загуби во лозарството во Калифорнија и некои др. јужни држави во САД. Во Калифорнија Пирсовата болест ја уништува лозата *V. vinifera* во изолирани, одвоени области, кои се означени како "жешки дамки" (Goodwin and Purcell 1992). Во регионот близу до Гулф во Мексико, ПБ го спречува секое комерцијално одгледување на европската лоза (*V. vinifera*) (Hopkins, 1998; 1989; Hill and Purcell, 1995).

¹ЈНУ Институт за јужни земјоделски култури, Гоце Делчев бб, 2000 Струмица.
Institute of Southern Crops - Strumica, Goce Delcev bb, 2400 Strumica, R. Macedonia.

²Земјоделски факултет, 1000 Скопје, Р. Македонија.
Faculty of Agriculture, 1000 Skopje, R. Macedonia.

³Оддел за винарство и енологија, Универзитет во Загреб, ХР 10000 Хрватска.
Department of Viticulture and Enology, Faculty of Science, Univ. of Zagreb, Croatia.

⁴Управа за заштита на растенијата, 1000 Скопје, Македонија
Department for Plant Protection, 1000 Skopje, R. Macedonia

Od neobjasneti pri~ini Pirsovata bolest dosega ne e ra[iрена надвор од САД (Purcell 1997). Ograni~ена појава на bolesta be[e регистрирана и искоренета во ју`на Франција (Boubals, 1989) и neodamna be[e objavено за nejzino prisustvo во regionot на Kosovo во Jugoslavija (Berisha et al. 1998). Poradi politi~kata i voenata nestabilnost во ova podra~jeite momentalno nema podetalni informacii од ovoj region, во smisol kakva ra[iреност и [teti ima предизвикано Pirsovata bolest кај виновата лоза.

Покрај бактеријата *Xylella fastidiosa*, која е причинител на Пирсовата болест кај виновата лоза, познати се уште неколку фитоплазми кои се причинители на разни облици на жолтило кај виновата лоза, како што се: *Flavescence dorée*, *Bois noir phytoplasma* и фитоплазмата позната под името *сџолбур* кај виновата лоза.

Flavescence dorée е најпозната во Европа и најмногу проучувана фитоплазма која предизвикува жолтење кај виновата лоза. Патогенот бргу се шири со помош на инсекти-цикади (*Scaphoideus titanus*) (EPPO, 1997).

Покрај *Flavescence dorée* во Европа е познат уште неколку причинители на симптомите на жолтило кај виновата лоза и тоа под името: *Bois noir phytoplasma* и *Vergilbungskrankheit*. До neodamna овие патогени не се двоеја посебно од таканаречениот *Flavescence dorée* комплекс. Овие патогени се разликува од претходниот по тоа што неговото ширење е доста успорено и не се пренесува со цикади, како што е *Scaphoideus titanus* (Smith et al., 1988).

Во Европа и во други региони во светот постојат и други болести кои имаат слични симптоми на жолтило кај виновата лоза, со таа разлика што нивниот причинител не е точно детерминиран и има непозната природа и пренесување. Во Хрватска е потврден *сџолбуроџ* како фитоплазма причинител на жолтилото кај виновата лоза, причинувајќи големи штети, со тенденција на забрзано проширување во нови реони (Škogić et al., 1998; Šeruga et al., 2000). Во Словенија (Seljak and Osler, 1997) и во Унгарија (Kölber et al., 1997) исто така е потврден *сџолбуроџ* како фитоплазма причинител на жолтилото кај виновата лоза

Со оваа наше излагање сакаме да привлечеме внимание на научните и стручните лица за фитоплазмите како мошне значајна група на паразити кои можат да предизвикат големи штети во лозарството, кое впрочем и го прават во САД и во некои делови на Европа.

1. БАКТЕРИЈАТА *XYLELLA FASTIDIOSA* ПРИЧИНИТЕЛ НА ПИРСОВАТА БОЛЕСТ КАЈ ВИНОВАТА ЛОЗА

Од необјасниви причини пирсовата болест не беше раширена надвор од САД се до neodamka (Purcell, 1997) кога ограничена појава на оваа болест беШе регистрирана и искоренета ви јужна Франција (Boubals, 1989). Пред извесно време е одјавено за nejzino присуство во регионот на Kosovo, Југославија (Berisha et al., 1998).

Кај нас досега Пирсовата болест и другите микоплазми не се лабораториски потврдени. Имајќи го во обзир фактот дека се работи за специфична патогени организми, што се развива исклучително во спроводните садови на растенијата и nejzinoto изолирање на вештачки хранливи подлоги е многу тешко. Со примената на некои современи серолошки тестови, ELISA-tests (Nomè et al., 1980), селективни подлоги за изолација (PD3-medium) како и одредени современи тестови од

молекуларната биологија, PCR-methods (Minsavage et al., 1994; Pooler et al., 1997), може да се створи јасна слика за причинителите на патогените промени кај виновата лоза.

Ако се точни наодите и лабораториската детерминација од страна на Berisha et al. (1998) на Универзитетот во Риверсајд, дека Пирсовата болест (ПБ) е присутна во Косово и Југославија, многу значајно за Република Македонија, како и за сите други соседна земја на СР Југославија, да бидат спремни за појава на една вака опасна бактерија која во наредниот период може да биде многу штетна. ПБ може да се спореди со бактериската пламеница кај јаболките, крушите и дуњите, при што за десетина години речиси ја уништи крушата и дуњата во Македонија.

Со проверката на таквите сознанија на споменатите истражувачи, ќе биде многу важно кои понатамошни чекори ќе бидат преземени за спречување на понатамошното ширење на ПБ не само во соседните земји туку и во земјите од цела Европа кои ја одгледуваат виновата лоза. Точната детерминација на паразитот и проучување на неговата природа претставува услов за правилна примена на ефикасни хемиски средства за заштита.

1.1. Идентификација на Пирсовата болест кај виновата лоза на основа на симптомите по листовите и плодовите

1.1.1. Симптоми кај листовите

Карактеристичните симптоми на деколорација на ивиците од листовите и понатамошни некрози се јавуваат во доцно лето, односно при крајот на август месец. Листовите кај црните вариететите винова лоза од *V. vinifera*, како што е Cabernet Sauvignon, формираат црвеникаво-пурпурна боја, а подоцна и некрози по целиот лист. Кај белите вариетети како што се Chardonnay или Chenin blanc хлоризите покасно и некрозите не се секогаш континуирани по ивиците и образуваат жолтеникава зона после зоната на некроза. Заразените лисни дршки остануваат прикачени на стеблото, додека некротираното ткиво на листовите отпаѓа.

1.1.2. Симптоми кај стеблото

Карактеристично е што одредени изданоци остануваат зелени, опкружени со нормално развиени изданоци во текот на касните месеци од вегетацијата. Ваквите појави кај чокотот се наречени “зелени острови”. Заразените изданоци брзо пропаѓаат кога грозјето созрева.

1.1.3. Симптоми кај плодовите

Grozdovite kaj zarazenata vinova loza mo`at da se isu[at bilo koga od kako plodovite po~nuvat da se zgolemuvaat i sozrevaat. Isu[enite grozdovi остануваат да висат кај заболените растенија, не отпа`ajki.

1.1.4. Причинител на Пирсовата болест кај виновата лоза

Pirsovata boleest kaj vinovata loza (Pierce's Disease of grapes) ja predizvikuva bakterijata *Xylella fastidiosa*. Ima brojni soevi od ovaа bakterija koi napa`aat [irok krug na rastenija doma]ini (Purcell and Hopkins, 1996). Prisustvoto na bakterijata vo tkivoto na rastenieto ne zna~i avtomatski deka toа e zarazeno. Bakterite mo`at da bidat prisutni vo golem broj domakini, no samo kaj neкои se manifestirat simptomi na zaboluvaweto, kako [to se: vinovata loza, lucerkata, bademite, oleandrite, kukuta (hemlock) i *Paspalum dilatatum* (Dallis grass). Ovie se domakini vo SAD no ne zna~i deka ne mo`at da bidat neкои други rastitelni vidovi vo Evropa.

1.2. Осетливи култивари

Naj ra[irenite i naj komercijalizirani varieteti kaj vinovata loza *Vitis vinifera* vo svetot se voedno i naj osetlivi sprema bakterijata *X. fastidiosa*. Mnogu kultivari na *Vitis vinifera* izumiraat mo[ne brzo (za 1 do 2 god.) otkako se infecirani so pri~initelot na PB, no sepa ima razlika vo osetlivosta na kultivarite pome[u sebe (Purcell, 1997). Klimatskite faktori mo`at da odigrat zna~ajna uloga vo stepenot na osetlivosta na kultivarite kaj vinovata loza. Bakterijata se [iri mo[ne brzo vo osetlivite kultivari otkolku vo pootpornite, i toa odreduva kolku uspe[no]e se odr`i zaboluvaweto vo narednite posledovatelni zimi (Purcell, 1981). Selekcijata na otpornite kultivari e eden od na~inite za za[tita od PB vo Kalifornija (Goodwin and Purcell 1992).

1.3. Проширување на заболувањето

Bakterijata *X. fastidiosa* se pro[iruva na okolinite rastenija so pomo[na insekti-vektori koi se hranat so [mukawe na rastitelni sokovi od ksilemskoto tkivo. Kako najzna~ajni insekti se javuvaat cikadite (sharpshooter i leafhoppers) od familiite *Cicadellidae*, podfamilija *Cicadellinae* i *spittlebugs* (*Cercopidae*). Potencijalnite vektori na Pirsovata bolest vo Evropa seu[te ne se poznati, pa zatoa i primenata na insekticidi ne bi mo`elo da go dade sakaniot rezultat vo spre~uvaweto na pro[iruvaweto na zaboluvaweto. Edinstvenata cikada odoma]ineta vo Evropa koja mo`e da bide osomni~ena koko prenositel na PB e *Cicadella viridis*. Drugite cikadi koi se javuvat vo okolinata na lozovite nasadi treba da se ispitat kako mo`ni prenositeli na zaboluvaweto.

Spittlebugs (familija *Cercopidae*) se isto taka efektivni vektori na *X. fastidiosa*. Ovie insekti koi se hranat na vinovata loza mo`at da se javat koko dosta zna~ajni vo mnogu delovi na Evropa, otkolku [to se javuvaat vo Kalifornija. Sepak nivnata ulaga na vektori na PB vo Evropa i vo Makedonija treba da se prou~i. Metodite i materijalite na rabota pri testiraweto na mo`nosta za prenesuvawe na odredeni zaboluvawa ne e taka ednostavna. Principot na ispituvaweto na prenositelstvoto e vo toa da se soberat mo`nite vektori, cikadi i sl., da se odr`uvaat vo `ivot vo zagreani stakleni gradini i so pomo[na odredeni metodi da se ispita nivnata vektorska uloga, kako i sigurno potvrduvawe na *X. fastidiosa* vo rastenijata.

Vo Kalifornija i vo ju`nite delovi na SAD (Florida, Georgia) brojni rastitelni vidovi divi rastenija se potvrdeni kako doma]ini na pri~initelot na Pirsovata bolest *X. fastidiosa*. Izolati se dobieni od divata loza i od brojni pleveli kaj vinovata loza. Prou~uvawata vo severna Kalifornija potverdile deka ne e mo`no [ireweto na parazitot so pomo[na insektite-vektori od rastenie na rastenie, dodeka toa bilo slu~aj vo Teksas i Florida. Insektite-vektori na PB vo Teksas ne se to~no odredeni. Vode~kata hipoteza koja go objasnuva [ireweto na PB od loza na loza vo neкои regioni, a vo neкои ne, e vlijanieto na klimatskite uslovi. Vo uslovi na ladna prolet i ostri zimi, temperaturata e faktor pri [to novite bakteriski infekcii ostvareni so insektite-vektori]e se odra`at do narednata godina (Purcell 1989). So drugi zborovi, infekciite ostvareni posle optimalniot period se prirodno eliminirani so ponatamo[niot razvoj ili ne mo`at da ja pre`iveat zimata. Kosovskiot region i Makedonija spa`aat vo zona koja e podaleku od podra~jata so toplo zimo i dolg topol vegetacionen period, kako i povolni uslovi za ponaglasen razvoj na insektite-vektori na zaboluvaweto.

1.4. Контрола на заболувањето

Poradi toa [to ne postoi poznata terapija protiv Pirsovata bolest, odgleduvaweto na osetlivi kultivari e ekstremno rizi~no vo oblasti kade e prisutna bolest. Kontrolata na vektorite vo Kalifornija go reducira [ireweto na Pirsovata bolest vo takanare~eni "hot spot" lozovi nasadi, no ne potpolno zadovoluva~ka merka

za visoko osetlivite kultivari od vinovata loza (Purcell 1979). [ireweto na PB vo Kalifornija e sepak naj~esto od drugi lozovi nasadi. Tretiraweto so insekticidi i odstranuvaweto na zabolenite ~okoti nema neкое pogolemo zna~ewe za namaluvawe na ponatamo[noto [irewe na PB. Vo Kalifornija, a mo`ebi i vo mnogu drugi topli regioni, pre`ivuvaweto na bakterijata vo tekot na zimata vo mnogu zavisi od denot na infekcijata na rastenieto. Infekciite koi se izvvr[eni vo tekot na proleta imaat najgolemi [ansi da rezultiraat vo hroni~no zaboluvawe vo sporedba so infekciite izvvr[eni vo tekot na letoto. Ova mo`e da se objasni zo[to PB e mo[ne jako izrazena vo podra~ja kade ima blaga zima. Prou~uvaj]i gi podatocite za temperaturite vo tekot na zimata i korelacijata so pojavata na PB, mo`e da se ka`e deka prose~nata minimalna temperatura na podra~ja vo Evropa koi mo`at da bidat so visok rizik za pojava na PB se Mediteranskite zemji, od Portugalija do Turcija. Vo podra~ijata kade prose~nata temperatura vo Januari ne nadminuva pod 4,5°C. Vo regionot na "visok rizik" za pojava na PB spa\aat Portugalija, ju`na {panija, ju`na Italija, pogolem del od Grcija i cela severna Afrika. Vo ovie regioni PB mo`e da ja napravi vinovata loza celosno neprofitabilna za ponatamo[no odgleduvawe. "Sredno rizi~nite reoni" se tie vo koi PB se javuva vo izolirani lozovi nasadi, vo одредени локалитети или само одредени години, како [to se pogolemiot del od ju`na Francija, centralna Italija, pogolem del od {panija i severna Grcija.

Za bilo koj region vo Evropa sepak najva`na uloga vo rasprostranuvaweto na PB imaat insektite, dodeka nivnata aktivnosta e директно зависна од летните температури. Zatoa za da se ima pogolem uvid za mo`ното zna~ewe i serioznost na Pirovata болест кај виновата лоза во Evropa потребни се пове]е информации. Како i да е, во slu~aj на prof[iruvawe на zaboluvaweto, na[ite pretpostavki se dvi`at vo nasoka на предвидување на големи [teti од PB во Evropa koi mo`at da se проценат од пове]е милиони долари во производството на грозје i вино.

2. FLAVESCENCE DORÉE PHYTOPLASMA ПРИЧИНИТЕЛ НА ЖОЛТИЛО КАЈ ВИНОВАТА ЛОЗА

Покрај бактеријата *Xylella fastidiosa*, која е причинител на Пирсовата болест кај виновата лоза, познати се уште неколку фитоплазми кои се причинители на разни облици на жолтило кај виновата лоза, како што е *Flavescence dorée phytoplasma* или изворно позната како *maladie du Vaco 22 A*. Ова болест за прв пат беше опишана во 1956 во Гасконија, во југозападна Франција и од таму таа брзо се прошири во јужна Франција, северна Италија, а покасно и во Словенија и Романија (CABI and EPPO, 1997).

Болеста која ја предизвикува *Flavescence dorée phytoplasma* најпрво била сватена како вирус на "жолтите болести", бидејќи тој би можел да се пренесува преку калемење и преку листните цикади. Меѓутоа, ни вирусот ниту било кој друг патоген вклучувајќи ги и фитоплазмите (MLOs) не можле да се најдат во ткивата на виновата лоза, ни со помош на електронски микроскоп. И покрај сето ова, MLOs се докажани причински организми (Pearson and Goheen, 1990).

2.1. Симптоми кај виновата лоза

На пролет, растот на новоинфицираната винова лоза е обично стопиран при што цветовите се задоцнети или ги нема, интернодиите се значително скратени и некои делови од листовите атрофирани. Карактеристични симптоми се јавуваат во лето кога кај најосетливите сорти се појавува свиткување на младите изданоци, дури стануваат како гумени, одрвенувањето отсуствува, а црни бубулици се појавуваат во

лонгитудинални редови преку изданоците. Со растењето овие места забрзано покажуваат гниење (Pearson and Goheen, 1990).

Листовите стврднуваат, незначително се свиткуваат со тенденција на преклопување, давајќи им на изданоците специфичен змијулест изглед. Лесно кршливите листови прво стануваат златно-жолти кај белите сорти и црвени кај црните сорти винова лоза, и тоа на сите делови (лиската и нервите) кои се најизложени на сонце. Во текот на летото на главните лисни нерви се појавуваат “кремасти дамки“ кои подоцна гнијат. Понекогаш доаѓа до појава и на аглести дамки чие ширење е ограничено на 2 или 3 главни нерва. Овие аглести дамки се жолти кај белите сорти, а црвени кај црните сорти.

Ако симптомите се појават пред или за време на цветањето, внатрешното цветање престанува. Ако симптомите се појават покасно во сезоната, петелката се суши и потемнува, а бобинките овенуваат и се горчливи и кашасти што го прави плодот неупотреблив.

Сиптомите на *Flavescence dorée phytoplasma* и на други жолти болести на виновата лоза понекогаш се мешат со оние на вистинските вирусни болести. Главно листовите (свиткани во ролна) личат на плута, со дрвенеста кора и жолт мозаичен синдром на лепезеста дегенерација. Најкарактеристичните сиптоми од сите кај лозовите жолти болести се обликот и брзината на кремастите дамки низ нервите на листовите и аглестите дамки, пропратени со светли кругови по листовите. Листовите оболени со кругови и плута може да се виткат но никогаш не развиваат кремасти или аглести дамки; листовите заразени со лепезеста дегенерација (изрод) може да ги имаат тие дамки, но тие не се свиткани ниту кршливи. Друг карактеристичен сиптом на жолтите болести е недостатокот на одрвенување, често пратен со црни бубулици. Третиот карактеристичен сиптом е смежурени суви бобинки (Pearson and Goheen, 1990).

ПОСТОЈАТ ДВА ТИПА НА РЕАКЦИЈА НА ЗАБОЛЕНИТЕ РАСТЕНИЈА КОЈА МОЖЕ ДА СЕ РАЗВИЕ ЗА ВРЕМЕ НА НАРЕДНАТА ГОДИНА. ПРВИОТ ТИП Е NIELUSSIO И ВТОРИОТ ВАСО 22 А ТИП. КАЈ NIELUSSIO ТИПОТ, СИМПТОМИТЕ СТАНУВААТ СЕ ПОИЗРАЗЕНИ СЕКОЈА ГОДИНА СЕ ДОДЕКА РАСТЕНИЕТО НЕ УТИНЕ. МНОГУ СОРТИ (ВАСО BLANC, UGNI BLANC, GRENASHE, BAROQUE, SOLOMBARD, JURANCON, ARAMON, И ДР.) СЕ ИЗЛОЖЕНИ НА РЕАКЦИЈА НА ВАСО 22 А ТИПОТ, КОЈ ГО КАРАКТЕРИЗИРА ТОА ШТО РАСТЕНИЕТО ПОВТОРНО Е ВРАТЕНО ВО НОРМАЛНА СОСТОЈБА (ОЗДРАВЕНО). АКО НЕ СЕ РЕИНКУЛИРААТ ТАКВИТЕ РАСТЕНИЈА СЕ РАЗВИВАТ СЛЕДНАТА ПРОЛЕТ БЕЗ НЕКОИ ПОИЗРАЗЕНИ СИМПТОМИ.

2.2. Проширување на заболувањето

Во полски услови *Flavescence dorée* патогенот се пренесува преку листниот трипс *Scaphoideus littoralis* Ball (syn. *S. titanus* Ball). Патогенот може да се пренесува од виновата лоза на *Vicia faba* и на *Chrysanthemum carinatum* и од овие растенија назад на виновата лоза. MLO's лесно се откриваат во заболеното ткиво на *Vicia faba* и во заразените листни цикади, но не и во здравите растенија и здрави листни цикади. Друг цикада која може да се користи за пренос на патогенот помеѓу *Vicia faba* растенијата е *Euscelidius variegatus* (Kirschbaum).

Ова цикада веројатно потекнува од источниот дел на САД и Канада и била пренесена во Европа после Втората светска војна. *S. littoralis* има само една генерација годишно. Изведувањето јајца обично започнува во втората половина на Мај во Јужна Франција, околу една недела после цветањето на *Vaso blanc* (Васо 22 А). Должината на изведување јајца е 5 недели во југозападна Франција, 12 недели на Корзика, зависи од зимскиот студ кој е

неопходен за завршување на успорениот развој на јајцето. Има 5 нимфални етапи. Возрасните прво се појавуваат во Јули во Франција и почнуваат да ги лежат јајцата една недела подоцна. Јајцата се вметнати во фломот на дрвенестите делови на виновата лоза и во папките. Возрасните исчезнуваат рано во септември.

Патогенот преку зима е во фаза на инкубација и се наоѓа во инфизираните прачки (истите оние употребени за зимско калемење). На пролет цикадата *S. littoralis* (било возрасните или младите) се хранат со овие растенија и после 3-4 неделен инкубациски период инсектот станува заразен.

КАЈ ОСЕТЛИВИТЕ СОРТИ ВО УМЕРЕНА КЛИМА СИМПТОМИТЕ ЧЕСТО СЕ ПОЈАВУВААТ ВО ТЕКОТ НА ГОДИНАТА, СЛЕДЕЈЌИ ЈА ПРИРОДНАТА ИНОКУЛАЦИЈА ОД СТРАНА НА ВЕКТОРОТ. СИМПТОМИТЕ КАЈ РАСТЕНИЕТО МОЖАТ ДА СЕ МАНИФЕСТИРААТ КАКО ЛОКАЛНИ И СИСТЕМИЧНИ.

Flavescence doëe може да биде пренесена и преку калемите. Прачките инокулирани за време на претходното лето и кои се во фаза на инкубација за време на зимата, можат да бидат голем проблем, бидејќи повеќето од нив не покажуваат симптоми и може да бидат погрешно идентифицирани како здрави. Некои видови на *Vitis*, како американските видови *V. labrusca* и *V. rupestris*, не се осетливи на *Flavescence doëe*. Некои хибриди како Couderc 13, се осетливи само кога се млади (Pearson and Goheen, 1990).

2.3. Контрола на заболувањето

Епидемијата од страна на *Flavescence doëe* е поврзана со присуството на листната цикада *S. littoralis*. Во Европа распространетоста на овие инсекти воглавно ги надминува регионите во кои болеста е потврдена, како и не е присутна во региони каде се очекува овие инсекти да се размножуваат. Спрема тоа, некои региони се соочени со две опасности: увозот на инсектите и на патогенот. Со присуството на двете опасности болеста многу бргу напредува. Со помош на ветерот цикадите можат да се распространат и до 30 км растојание од првичниот лозов насад. Бројот на инфизираните лози може да се зголеми за седумпати за една година.

Многу е важно да се спречи увозот на заразен материјал на кој има јајца од векторот, кои можат да бидат присутни во кората на садниците. Во регионите каде инсектот веќе постои потребно е дополнителна предострожност при што увезените садници би требало да се задржат во карантински расадници заштитивајќи ги од инсекти за една или две недели. Како погодна мерка која може да го елиминира патогенот препорачливо е да се користи топлиот воден третман во текот на 3 часа на 45°C или 40 до 60 минути на 50°C. Еднаш внесената болеста во некоја област веќе станува ендемична и претставува постојан ризик за околните насади со винова лоза.

За контрола на болеста со инсектицидни третмани, препорачливо е инсектицидите да се аплицираат за време на полегнувањето на јајцата. Во практиката тоа би значело прв пат да се третира со инсектицид после три недели од првото полегнување на јајца, бидејќи инсектите не се инфизираны за време на инкубацискиот период. Во зависност од должината на периодот на изведувањето на јајцата и инсектицидното делување, потребни се од 3 (во југозападна Франција) до 6 третмани (Корзика) (Pearson and Goheen, 1990).

3. *BOIS NOIR PHYTOPLASMA* И *VERGILBUNGSKRANKHEIT* ПРИЧИНИТЕЛИ НА ЖОЛТИЛО КАЈ ВИНОВАТА ЛОЗА

Bois noir е еден од причинителите на жолтилото кај виновата лоза опишана во североисточна Франција (Бургундија, Јура и Шампањ) и во Швајцарија. *Vergilbungskrankheit* беше опишана во долините Мосел и Рин во Германија. Овие болести се случуваат и во соседните држави во регионот и тие би можеле да бидат од истите болести. Извештаите кои ги опишуваат жолтите болести на виновата лоза во северна Италија изгледаат идентични и на двете болести и на *Bois noir* и на *Flavescence dorée* кои се случуваат во овој реон. Причините за *Bois noir* и *Vergilbungskrankheit* се фитоплазми.

Симптомите на *Bois noir* и *Vergilbungskrankheit* се идентични со оние на *Flavescence dorée*, но болеста се разликува во повеќе аспекти. Прво, сортите осетливи на *Flavescence dorée* се разликуваат од оние осетливи на *Bois noir* и *Vergilbungskrankheit*; на пример, Pinot noir е осетлив на *Flavescence dorée*, но не и на *bois noir*. Второ, *Scaphoideus littoralis* векторот на *Flavescence dorée*, не ги пренесува *bois noir* или *Vergilbungskrankheit*. И трето, епидемиологијата на болестите се разликува. *Flavescence dorée* воглавно се појавува со доследна јачина и се шири од југозападна Франција на другите региони, додека со *Bois noir* и *Vergilbungskrankheit* можат да бидат заразени неколку насади или индивидуално заразени лози и не е забележано поинтензивно ширење (Pearson and Goheen, 1990).

4. *СТОЛБУР PHYTOPLASMA* ПРИЧИНИТЕЛ НА ЖОЛТИЛО КАЈ ВИНОВАТА ЛОЗА

Покрај наведените и проучени фитоплазми како причинители на жолтило кај виновата лоза, познати се уште неколку причинители на разни облици на жолтило кај виновата лоза, меѓу кој се позначајно место во последно време завзема фитоплазмата позната под името *сџолбур*. Во Хрватска е потврден *сџолбуриџ* како фитоплазма причинител на жолтилото кај виновата лоза, причинувајќи големи штети, со тенденција на забрзано проширување во нови реони (Škorić et al., 1998; Šeruga et al., 2000). Во Словенија (Seljak and Osler, 1997) и во Унгарија (Kölber et al., 1997) исто така е потврден *сџолбуриџ* како фитоплазма причинител на жолтилото кај виновата лоза.

КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

- Berisha, B., Y. D. Chen, G. Y. Zhang, B. Y. Xu and T. A. Chen 1998. Isolation of Pierce's disease bacteria from grapevines in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 104(5): 427-433.
- Boubals, D. 1989. La maladie de Pierce arrive dans les vignobles d'Europe. *Progress Agricole et Viticole* 106: 85-87.
- SABI and EPPO, 1997: Quarantine Pests for Europe, Second Edition, pg. 1013-1030.
- Goodwin, P. and A. H. Purcell 1992. Pierce's disease. In: *Grape Pest Management, 2nd Edition* 76-84. Univ. of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland.
- Hill, B. L. and A. H. Purcell 1995. Acquisition and retention of *Xylella fastidiosa* by an efficient vector. *Phytopathology* 85: 209-212.

- Hopkins, D. L. 1988. *Xylella fastidiosa* and other fastidious bacteria of uncertain affiliation. In: *Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria* N. W. Schaad 95-103. APS Press, St. Paul, MN.
- Hopkins, D. L. 1989. *Xylella fastidiosa*: a xylem-limited bacterial pathogen of plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 27: 271-290.
- Kölber, M., Lázár, J., Davis, R.E., Dally, E., Tökes, G., Szendrey, G., Mikulás, J., Krizbai and Papp, E. (1997): Occurrence of grapevine yellows disease in grapevine growing regions of Hungary. Extended Abstracts 12th Meeting ICVG, Lisbon, Portugal, 29 September-2 October 1997, pp 77-78.
- Minsavage, G. V., C. M. Thompson, D. L. Hopkins, R. M. V. B. C. Leite and R. E. Stall 1994. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. *Phytopathology* 84: 456-461.
- Nomé, S. F., B. C. Raju, A. C. Goheen, G. Nyland and D. Docampo 1980. Enzyme-linked immunosorbent assay for Pierce's disease bacteria in plant tissues. *Phytopathology* 70: 746-749.
- Pearson, R.C. and Goheen, A.C. (1990): *Compendium of Grape Diseases*. APS Press, pg. 44-47.
- Pooler, M. R., Myung, I. S., Bentz, J., Sherald, J., Hartung, J. S. 1997. Detection of *Xylella fastidiosa* in potential insect vectors by immunomagnetic separation and nested polymerase chain reaction. *Lett. Appl. Microbiol.* 25:123-126.
- Purcell, A. H. 1979. Control of the blue-green sharpshooter and effects on the spread of Pierce's disease of grapevines. *J. Econ. Entomol.* 72: 887-892.
- Purcell, A. H. 1981. Vector preference and inoculation efficiency as components of resistance to Pierce's disease in European grape cultivars. *Phytopathology* 71: 429-435.
- Purcell, A. H. 1989. Homopteran transmission of xylem-inhabiting bacteria. In: *Advances in Disease Vector Research, Vol. 6* K. F. Harris 243-266. Springer-Verlag, New York.
- Purcell, A. H. 1997. *Xylella fastidiosa*, a regional problem or global threat? *Journal of Plant Pathology* 79(2): 99-105.
- Purcell, A. H. and D. L. Hopkins 1996. Fastidious xylem-limited bacterial plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 34: 131-151.
- Seljak, G. and Osler, R. (1997): Evidence of stolbur type 'bois noir' grapevine yellows disease in Primorska region (Slovenia). *Proc. Slovenian Symposium on plant protection, Portorož, Slovenia March 1997*, pp 5.
- Šeruga, M., Ćurković, P., Škorić, D., Kozina, B., Mirošević, N., Šarić, A., Bertachini, A. and Krajačić, M. (2000): Geographical Distribution of Bois Noir Phytoplasmas Infecting Grapevines in Croatia. *J. Phytopathology* 148, 239-242 (2000).
- Škorić, D., Šarić, A., Vibio, M., Murrari, E., Krajačić, M. and Bertachini, A. (1998): Molecular identification and seasonal monitoring of phytoplasmas infecting Croatian Grapevines. *Vitis* 37, 171-175.
- Smith, I.M., Dunez, J., Lelliott, R.A., Phillips, D.H. and Archer, S.A. (1988): *European Handbook of Plant Diseases*. Blackwell Scientific publications. Pg. 125-127. Oxford.

СОСТОЈБАТА СО БОЛЕСТИ, ШТЕТНИЦИ И ПЛЕВЕЛИ КАЈ СЕМЕНСКАТА ПЧЕНИЦА ВО ПЕРИОДОТ ОД 1996-2000 ГОДИНА

Спасов Д., Митрев С., Спасова Драгица., Ѓеоргиевски М., Каров И., Коцевски В., и Јакимов Д.

2001, Годишен зборник за заштита на растенијата, Скопје 2001 година.

Абстракт

Голем е бројот на болести, штетни инсекти и плевели кои редовно се среќаваат на семенската пченица во Македонија. Сепак економско значање за семенската пченица имаат помал број видови. Во овој прегледен труд е регистрирано присуството на позначајните болести, штетници и плевели. Од овие испитувања може да се заклучи дека во текот на прегледите од 1996-2000 год. од болестите најголема застапеност имаат: *Erysiphe graminis*, *Puccinia graminis* и *Helmitosporium sativum*, од штетните инсекти најголема застапеност имаат: *Eurygaster* spp., *Haplotrips tritici* и *Lema melanopus*, а од плевелите како најзастапени се: *Avena* spp., *Bifora radians*, *Anthemis* spp., *Bromu* spp. и *Lolium* spp.

Клучни зборови: пченица, болести, штетници, плевели, Република Македонија

THE CONDITION OF DISEASES, PEST AND WEEDS ON THE SEED WHEAT IN THE PERIOD OF 1996-2000 YEAR

Spasov D., Mitrev S., Spasova Dragica, Gjeorgievski M., Karov I., Kocovski V., and Jakimov D.

2001, Yearbook for plant protection, Skopje 2001 year.

Abstract

Large is the number of diseases, pest and weeds witch continuously are present on the seed wheat in Macedonia. However, in the economic importance of the seed wheat there is little number influence on. In these paper it is registered the presence of the most important diseases, pest and weeds. From these examinations was concluded that during the period of 1996-2000 from the diseases the biggest percent have: *Erysiphe graminis*, *Puccinia graminis* and *Helmitosporium sativum*, from the pests biggest present have: *Eurygaster* spp., *Haplotrips tritici* and *Lema melanopus*, and from the weed as more present are: *Avena* spp., *Bifora radians*, *Bromus* spp., and *Lolium* spp.

Key words: wheat, diseases, pest, weeds, Republic of Macedonia.

1. Вовед

Квалитетот на семенскиот материјал го карактеризираат неколку компоненти, како што се: чистотата, енергијата и вкупната ртливост, апсолутната маса, влага, присуството на семе од плевели, здравствената состојба и сл.

Меѓу наведените квалитетни својства, здравствената состојба на семето е еден од позначајните показатели според кој се оценува неговиот квалитет.

Пченицата ја напаѓаат голем број болести, штетни инсекти и плевели кои секоја година го намалуваат приносот и квалитетните својства на семенскиот материјал. Имајќи го ова во предвид, наша цел беше да дадеме еден општ преглед на појавата и интензитетот на нападот на позначајните болести, штетни инсекти и плевели кај посевите од семенската пченица.

2. Материјал и метод на работа

Прегледите се извршени во период од 5 години, 1996 - 2000 година. Во овие прегледи се опфатени реоните на Струмица, Радовиш, Овче поле, Велешко, Скопско, Кумановско, Тиквешко и Прилепско.

Вкупно во сите 5 години е прегледано површина од 17617 ха. Во 1996 година се прегледани 4864 ха, во 1997 година - 3424 ха, во 1998 година - 3372 ха, во 1999 година - 3098 ха и во 2000 година - 3059 ха. (tab. 1)

Секоја година се извршени по два прегледа, првиот преглед е во фаза класање, а вториот преглед во фаза восочна зрелост, односно за време на стручната и здравствената контрола на семенските посеви.

Интензитетот на нападот на болести, штетни инсекти и плевели е оценувано спрема единствените методи за вршење на стручна и здравствена контрола над производството на семе од стрни жита.

3. Резултати со дискусија

Од болестите кај пченицата што се изнесени во табела 2, најзастапени во сите години и на најмногу површини е пепелницата *Erysiphe graminis*, вкупно 2264 ха или 12,85% од вкупно прегледаната површина. Во сите години пепелницата е застапена со слаб интензитет, 10 - 20% заразени растенија од прегледаната проба. Според литературни податоци секоја година пепелницата го смалува приносот од 5 - 10%, овие загуби не се занемарливи ако се има во предвид постојаноста на појавата на болеста. Од болестите важно е да се споменат и тие што се пренесуваат со семето а тоа се: *Helminthosporium sativum*, *Fusarium spp.* *Ustilago tritici*, сите овие болести се со слаб интензитет 2-5% нападнати растенија од прегледаната проба.

Вкупно заразена површина од трите болести е 564 ха или 3,2% од вкупно прегледаните површини.

Во табела 3 се дадени најзастапените штетни инсекти што се забележани при прегледите на семенската пченица. Од штетниците со најмногу нападната површина се житните стеници, на 3211 ха или 18,2% од вкупно прегледаната површина. Според литературни податоци кај нас најмногу застапени се *Eurygaster maura* и *Eurygaster austriaca*. Житните стеници во сите години се појавија со слаб до умерен интензитет. Според Стаменковиќ (1993) во нападнатите класови од стеници општетувањата на зрното се движи од 4 - 82% или во просек околу 29%, ртливоста на таквото

семе се намалува за 56 - 79% и енергијата на ртење е значително намалена, апсолутната маса се смалува до 25%. Ако се имат во предвид овие показатели штетите од овие инсекти не треба да се занемарат поради постојаната присутност во посевиите.

Според нападната површина житниот трипс *Haplothrips tritici* е застапен на вкупно 1731 ха или 9,8% од вкупно прегледаната површина. Во сите години при прегледите трипсот се јави со слаб до умерен интензитет. При општетувањата од овој штетник се јавуваат штети зрна при што се намалува ртливоста на семето. Танасијевиќ и Илиќ (1968) изнесуваат податоци во Русија, загубите во тежината на зрното се движеле до 20% ако во класот се присутни само 4 ларви од трипсот.

Житната пијавица *Lema melanopus* која е застапена на 1300 ха од вкупно прегледаната површина или 7,4%, во сите години при прегледите се јавува со слаб, умерен до јак интензитет. Загубите од овој штетник кај пченицата може да достигнат до 30%. Поради големите загуби од житната пијавица секогаш при нејзината појава е потребно хемиско третирање за нејзино сузбивање. Лисните вошки се исто така значајни штетници, со застапеност од 639 ха се јавија со слаб до умерен интензитет. Во 1996 година на дел од површините беше потребно хемиско третирање за нивно сузбивање. Лисните вошки се значајни и како индиректни штетници, голем број од нив се јавуваат како вектори на вирусните заболувања. Од останатите штетници важно е да се спомне житната стеблова оса *Cerpus rigmeus* која во 1996 година на дел од површините направи значителни штети.

Плевелите се дадени во табела 4 се подредени спрема вкупната населена површина. Во табелата е даден дивниот овес *Avena spp.*, како најмногу застапен плевел. Овој плевел е карантински и при прегледите и најмалото негово присуство во посевиите е забележано, што не значи дека и бројчано е најмногу застапен. Но сепак загрижува фактот што од година во година се шири дивниот овес, посебно во последните три години и во реони каде порано не бил застапен. Останатите видови плевели при прегледите се евидентирани со застапеност од умерен до јак напад. Општата заплевеленост на семенските посеви со останатите плевели во сите години е вообичаена и без некои посебни отстапувања, тие се јавуваат од слаб, умерен до јак интензитет.

Присуството на плевели не треба да се разгледува само како општа заплевеленост, бидејќи во плевелите се одржуваат голем број причинители на габни, бактериски, вирусни болести и штетници, па затоа се неопходни пошироки мерки за нивно сузбивање.

4. Заклучок

Во сите прегледани површини од болестите како најзастапени се: пепелницата *Erysiphe graminis* на 2264 ха, *Puccinia graminis* и *Helminthosporium sativum*. Против пепелницата како и за останатите болести во полски услови не се изведува третирање со хемиските средства за заштита, освен што се врши дезинфекција на семето што како мерка ја задоволува заштитата на пченицата, бидејќи сите болести во сите реони и сите години на испитувања беа застапени со слаб интензитет.

Од штетниците како најзастапени се житните стеници на 3211 ха,

трипсот 1731 ха и житната пијавица 1300 ха, лисните вошки на 634 ха како позначајни штетници. Од овие штетници житните стеници секоја година се јавуваат со умерен интензитет, житната пијавица редовно секоја година се јавува на одделни места со умерен до јак интензитет, житниот трипс секоја година е присутен на семенските посеви со умерен до јак интензитет и лисните вошки со слаб до умерен интензитет, останатите инсекти се јавуваат со слаб интензитет. Како најголем причинител на штети кај семенската пченица е житната пијавица. Затоа при самата појава на овој штетник се врши третирање со хемиски средства за заштита.

Заплевеленоста во сите години е вообичаена, освен појавата на дивиот овес на места каде што досега не бил застапен. Причината за ширење на овој плевел е воглавно во одгледување на пченицата во тесен плодоред (двополен) и поради високите цени на хербицидите производителите не вршат третирање против дивиот овес.

Литература

Стојановиќ С., Јевтиќ Р., (1995) Пепелница стрних пшита. Билјни лекар, Полјопривредни факултет, Институт за заштиту билја, Нови Сад, 537-539.

Стаменковиќ С., (1993): Проуцавање отпорности озиме пшенице према житној средини стеници (Еугастер аустријаца Сцхрк. Пентатомиде, Хетероптера), Заштита билја, Београд, Вол 44. (1), 203-31-.

Танисевиќ Н., Илиќ Б., (1986): Посебна Ентомологија, Београд 1-399.

Šinzar B., Janjić V., (1995) Korovske biljke, Napredak, Beograd, 1-216.

Таб.1 Прегледани површини по години

Tab.1 The examined surfaces per years

Година Year	Површина во ха. Surfaces in ha
1996	4864
1997	3424
1998	3372
1999	3098
2000	3059
Вкупно Total	17617

Табела 2. Болести кај семенската пченица 1996-2000 година

Table 2 Diseases at seeds wheat 1996-2000 year

Година на Прегледот Year of examination	1996	1997	1998	1999	2000	1996-2000
Вид на болест The of disease	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха
Erysiphe graminis	734	162	413	575	380	2264
Puccinia graminis	288	38	48	18	81	473
Helmithosporium sativum	195	70	145	35	20	465
Ophiobolus graminis	-	-	75	136	-	211
Puccinia striiformis	-	-	-	117	-	117
Fusarium spp	-	-	-	68	-	68
Ustilago tritici	31	-	-	-	-	31

Табела 3. Штетници кај семенската пченица 1996-2000 година

Table 3. Pest insects at seeds wheat

Година на прегледот Year of examination	1996	1997	1998	1999	2000	1996-2000
Вид на штетникот The variety of pest	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха
Eurygaster spp.	640	498	670	711	692	3211
Haplotrips tritici	350	376	323	365	317	1731
Lema melanopus	312	273	303	234	178	1300
Aphididae	214	107	112	98	108	639
Anisoplia spp.	93	63	72	37	47	312
Cephus pigmaeus	58	47	60	47	71	283

Табела 4. Плевели кај семенската пченица 1996-2000 година

Табле 4. Тхе њеедс ай сеедс њхеаџ

Година на прегледот Year of examination	1996	1997	1998	1999	2000	1996- 2000
Вид на плевелот The variety of weed	surfa.in ha површ во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха	surfa.in ha површ. во ха
Avena spp.	141	147	303	292	293	1176
Bifora radians	192	201	180	210	181	964
Anthemis spp.	318	64	202	97	151	832
Bromus spp.	234	35	196	174	76	715
Lolium spp.	216	97	185	57	138	693
Delphinium spp.	97	111	106	85	141	540
Alopecurus myosuroides	55	108	57	63	34	317
Galium spp	42	51	39	63	48	243
Vicia spp.	43	62	37	50	26	218
Cirsium arvense	38	49	60	28	17	192
Apera spica- venti	34	32	38	28	33	165
Lithospermum arvense	20	24	37	14	7	102
Matriharia chomomila	20	19	13	27	19	98
Centaurea cyanus	13	11	23	19	1	67
Papaver rheas	17	6	11	16	8	58
Sinapis arvensis	9	13	11	6	8	47

SINGLE PASS cDNA SEQUENCING – A POWERFUL TOOL TO ANALYSE GENE EXPRESSION IN PREPARASITIC JUVENILES OF THE SOUTHERN ROOT KNOT NEMATODE *MELOIDOGYNE INCOGNITA*

Dautova Makedonka¹, Marie-Noelle Rosso², AbadP.,² Gommers F.,¹ Bakker J.¹ and Smant G.¹

2001, Nematology 3(2): 129 – 139.

Key words - chitinase, parasitism gene, plant parasitic nematode, random sequencing, secretion.

Abstract - Expressed sequence tags (EST) have been widely used to assist in gene discovery in various organisms (*e.g.*, *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans*, *Mus musculus*, and *Homo sapiens*). In this paper we describe an EST project, which aims to investigate gene expression in *Meloidogyne incognita* at the onset of parasitism. Approximately 1 000 5'-end sequence tags were produced from a cDNA library made of freshly hatched preparasitic second stage juveniles (J2). The EST were identified in the primary transformants of the cDNA library, and clustered into nine functional groups including (candidate) parasitism genes. A large fraction of the EST (45%) did not have a significant homologue in public databases and could not be clustered in a functional group. Sixty five percent of the EST that could be clustered into a functional group had homologues in other nematode species. EST were for virtually all parasitism related genes that have been cloned from *M. incognita* to date. In addition, several novel genes were tagged, including a xylanase and a chitinase gene. The efficiency of EST projects, which produce sequence data for thousands of genes in months time without any difficult pre-selections of mRNA pools, makes random sequencing of good quality cDNA libraries a superior method to identify candidates for parasitism related genes in plant-parasitic nematodes. The sequences in this paper are retrievable from Genbank with the accession numbers BE191640 to BE191741, BE217592 to BE217720, BE225324 to BE225598, BE238852 to BE239221, and BE240829 to BE240865.

ЕДИНЕЧНО КДНК СЕКВЕНЦИОНИРАЊЕ - МОЌЕН МЕТОД ЗА АНАЛИЗИРАЊЕ НА ГЕНИТЕ ИЗРАЗЕНИ ВО ПРЕПАРАЗИТСКИ ЛАРВИ ОД ЈУЖНАТА ГАЛОВА НЕМАТОДА *MELOIDOGYNE INCOGNITA*

Даутова Македонка¹, Marie-Noelle Rosso², AbadP.,² Gommers F.,¹ Bakker J.¹ и Smant G.¹

2001, Nematologija 3(2): 129 - 139.

¹Laboratory of Nematology, Wageningen University and Research Center, Binnenhaven 10, 6709 PD Wageningen, The Netherlands;

²INRA, Laboratoire de Biologie des Invertébrés, 123 bd F. Meilland, 06600 Antibes, France

Краток извадок

“Expressed sequence tags” (EST) се широко употребувани за откривање на гени во различни организми (на пример *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans*, *Mus musculus*, и *Homo sapiens*). Во овој труд опишан е EST проект, со цел да се испитуваат гени експресирани во *Meloidogyne incognita* во почетокот на паразитирање. Приближно 1000 5'-end секвенци беа добиени од кДНК банка конструирана од свежи препаразитни втор ларвен стадиум (L₂).

ESTs беа идентификувани во примарни трансформанти од кДНК банката, и беа категоризирани во 9 функционални групи, вклучувајќи ги кандидати за паразитизам гените. Голем дел од ESTs (45%) не покажаа сличност со гените од светската банка. Шесет и пет проценти ESTs кои можеа да се класифицираат во функционална група имаа хомолог со гени од други нематодни видови. ESTs за сите гени вклучени во паразитизам кои се клонирани од *M. incognita* до денес, беа детектирани. Неколку нови гени беа пронајдени, како на пример генот за ксалиназа и хитиназа. Ефикасноста на EST проектот, кој произведе секвенциони податоци за илјада гени за период од еден месец без било каква пре-селекција на мРНК, го прави рандомното секвенционирање на кДНК банките супериорен метод за идентификација на кандидати гени вклучени во паразитирањето на растително-паразитните нематоди. Секвенците од овој труд може да се пронајдат во светската ген банка (GenBank) под следните акцесии: BE191640 до BE191741, BE217592 до BE217720, BE225324 до BE225598, BE238852 до BE239221, и BE240829 до BE240865.

1. INTRODUCTION

ROOT KNOT NEMATODES (*MELOIDOGYNE* spp.) ARE POLYPHAGOUS ENDOPARASITES, RESPONSIBLE FOR BILLIONS OF DOLLARS IN ANNUAL CROP LOSSES. THE MAJORITY OF THE PLANT SPECIES THAT ACCOUNT FOR THE WORLD'S FOOD SUPPLY ARE SUSCEPTIBLE TO ROOT KNOT NEMATODE INFECTION. THE HALLMARK OF THE COMPLEX NEMATODE-PLANT INTERACTION IS THE FEEDING CELL STRUCTURE THAT IS INDUCED BY THE NEMATODE IN THE HOST PLANT. THE FEEDING CELL STRUCTURE – THE GIANT CELL – FACILITATES A PERMANENT FLOW OF PLANT NUTRIENTS FROM THE VASCULAR TISSUE TO THE FEEDING NEMATODE. INADEQUATE FEEDING CELLS RESULT IN POOR DEVELOPMENT AND REDUCED FECUNDITY OF THE NEMATODES. KNOWLEDGE OF NEMATODE GENES THAT ARE INVOLVED IN HOST PENETRATION, MIGRATION AND FEEDING MAY HELP TO DESIGN RESISTANCE STRATEGIES FOR PEST CONTROL (WILLIAMSON & HUSSEY, 1996).

The haploid genome size of *Meloidogyne* is estimated to be 51 Mb (Pableo & Triantaphyllou, 1989) and it seems reasonable to expect that the gene number is in the same order of magnitude as in *Caenorhabditis elegans* (~19,000). To date various approaches have been applied to investigate gene expression in plant parasitic nematodes in order to identify candidate parasitism genes. In summary, these approaches include screening of cDNA libraries either with monoclonal antibodies specific for nematode secretions (Hussey *et al.*, 1990; Davis *et al.*, 1992, 1994) or with homologous plaque hybridization (Koltai *et al.*, 1997), PCR based cloning using degenerate primers (Smant *et al.*, 1998), RNA fingerprinting (Ding *et al.*, 1998), and differential screening of cDNA libraries (Rosso *et al.*, 1999; Lambert *et al.*, 1999). Although these methods have proven to be successful for a limited number of genes, all require prior knowledge of candidate genes or technically advanced pre-selections in mRNA pools.

Random sequencing of cDNA libraries of various developmental stages has been applied to animal parasitic nematodes such as the filarial nematodes *Brugia malayi* and *Onchocerca volvulus* in order to identify expressed sequence tags (ESTs)

of nematode genes (<http://helios.bto.ed.ac.uk/mbx/fgn/net/librarylist.html> and <http://math.smith.edu/~sawlab/fgn/net/librarylist.html>). In the *Brugia* genome project, a combination of expressed sequence tag sequencing from multiple cDNA libraries representing the complete filarial nematode lifecycle, and comparative analysis of the sequence dataset has proven to be very effective in gene discovery. With the advent of high throughput sequencing facilities, the affordable prices of a single sequence run make similar EST projects feasible for plant parasitic nematodes too. Hence, approximately 1000 ESTs were recently produced from the potato cyst nematodes, *Globodera pallida* and *G. rostochiensis*, and proved to be efficient tools for identifying novel parasitism genes (Popeijus *et al.*, 2000a, b).

This paper describes an EST project to investigate gene expression in *Meloidogyne incognita* at the onset of parasitism. We have chosen to start with pre-parasitic second stage juveniles to cover the initial phases of the parasitic cycle, plant penetration and intercellular migration. Single-pass sequences were obtained from the 5' end of the cDNA library inserts, because the encoded N-terminal sequences are usually more informative in terms of homology. The EST were identified in the primary transformants of the cDNA library, and grouped into 9 functional groups, including (candidate) parasitism genes.

2. Material and methods

2.1. Nematodes

Meloidogyne incognita, line 48, was propagated in greenhouse cultures on tomato cultivar Moneymaker at 20-25°C. Eggs were harvested approximately 12 weeks after inoculation and isolated using 0.5% NaOCl-solution (Hussey & Barker, 1973). Second stage juveniles (J₂) were collected from eggs in water on a cotton wool filter, purified using 70% sucrose, and stored at -80°C until further processing.

2.2. RNA isolation

Total RNA was extracted from 100 000 frozen pre-parasitic J₂ using Trizol Reagent (Life Technologies, Grand Island). Following a chloroform extraction, the RNA was precipitated in isopropyl alcohol. The pellet was subsequently washed in 75% ethanol, and the remaining RNA was dissolved in an appropriate volume of sterile dimethyl pyrocarbonate-treated water. Analysis of the total RNA on denaturing agarose gel resulted in a smear from 50 to 3000 bp.

2.3. cDNA synthesis

The cDNA for the library was prepared using the Smart cDNA library construction system (Clontech, Palo Alto, CA, USA) with a few modifications. Briefly, 3 µl containing 50ng total RNA was transcribed into single strand cDNA using a Smart oligonucleotide, a modified oligo d(T)₃₀ anchor primer, and Superscript II reverse transcriptase (Life Technologies). The single strand cDNA was amplified in 23 cycles (long-distance) of PCR according to the manufacture's protocol (Clontech). The amplified cDNA was digested with *Sfi* I restriction enzyme, and fractionated in a Chroma-Spin-400 column (Clontech). Only the size fractions including cDNA ranging from 700 to 1500 bp were pooled, and subsequently ligated into the vector plasmid pMAK1.

2.4. Construction of library into plasmid pMAK I

The plasmid pMAK1 was derived from the plasmid pcDNA II (Invitrogen, San Diego, CA, USA). The *Eco* RI – *Bam* HI element in the multiple cloning site of

pcDNA II was replaced by a fragment, which includes two *Sfi* I restriction sites that allow for directionally cloning (Fig. 1). Briefly, two oligonucleotides 5'-AATTCGCTAGGCCATTATTGGCCGCTAGGCC GCCTCGGCCGCTAG – 3' and 5'-GATCCTAGCGGCCGAGGCGGCCTAGCGGCCATA ATGGCCTAGCGA- 3' were annealed to construct a fragment that would produce two different overhangs (underlined) upon digestion with *Sfi* I restriction enzyme. Following propagation of the plasmid in *E. coli*, pMAK1 was digested with *Sfi* I, dephosphorylated using alkaline phosphatase (Life Technologies), and purified from Sea Plaque agarose gel using Glass MAX DNA Isolation Matrix System (Life Technologies). To construct a library the fractionated cDNA was directionally ligated in the *Sfi* IA restriction site at the 5' end (ATTAT) and *Sfi* IB restriction site at the 3' end (GCCTC) of pMAK I. The ligation mix was introduced into *E. coli* TOPO10 cells (Invitrogen) using electroporation, which resulted in 2.2×10^6 primary transformants on Luria-Bertani (LB) medium including ampicillin.

2.5. 5'- End cDNA sequencing

Approximately one thousand colonies directly following ligation and transformation were randomly picked from the plates for single pass sequencing at the 5' end of the library inserts (Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA, USA). Either the T7 promoter primer (5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3') or the Universe M13 forward primer (5'-GTAAAACGACGGCCAG-3') was used for sequencing using the dye terminator chemistry.

2.6. Sequence analysis / EST characterisation

Vector sequences were automatically trimmed from the raw DNA sequences. Batches of EST sequences were analysed using Basic Local Alignment Search Tool (BLAST; Altschul *et al.*, 1994) of the 'BLAST client' (blastcl3) server at the National Centre of Biotechnology Information (NCBI). Initially, each sequence was translated in six reading frames, and all reading frames were compared with published sequences using the BLASTX algorithm at Genbank. Sequences that produced no significant or poor homology were also compared with nucleotide databases at Genbank (February, 2000) using the BLASTN. To evaluate the redundancy of each EST sequence to all other isolated sequences we analysed our local *M. incognita* EST database with a 'Stand-alone BLAST' search engine (Blastall) downloaded from NCBI.

3. Results and Discussion

3.1. Quality of the library

The average insert size of the cDNA library that is used in this paper was 1.1 kb (range of 300 bp to 3.0 kb). The average length of the 1096 single read sequences was 650 bp. Only 2.5% of the library plasmids did not contain an insert and 14% of the sequences failed to meet our quality criteria. For the evaluation of redundancy in our local EST database two nucleotide sequences were considered to be similar or highly homologous if the bit score S' in the BlastN algorithm was larger than 200 ($\sim E\text{-value} < 1 * e^{-50}$). According to this stringent threshold the percentage of clones appearing only once or without highly conserved homologues in the data set was 78.0 %.

3.2. Global analysis of the sequence results

Single pass sequencing of randomly chosen colonies resulted in nucleotide sequences of 914 primary transcripts of *M. incognita* that were used to search

databases for homologues. Similarities were determined using BLAST algorithms, and ESTs were subsequently annotated and grouped by putative function (Table 1). The grouping is based on the top 'hit'. A similarity was considered as a 'hit' when the obtained BLAST score had an E-value less than 1×10^{-5} , which means that 37.4% of predicted proteins had significant similarity to known sequences deposited in various databases. Out of these, approximately 7.8% of the predicted proteins – so called undefined homologues – have significant similarity to sequences with poor definitions only.

A substantial number of ESTs resulted in E-values higher than 1×10^{-1} , and those are considered to encode novel translation products (33.9%), unique to this data set. A total of 398 ESTs resulted in a hit (E-value $\leq 1 \times 10^{-1}$) with deposited sequences from nematode origins, which is 65.8% of all the significant similarities.

3.3. Parasitism related genes

Our main focus is aimed at cDNAs encoding proteins that are involved in the plant-nematode interaction. For many ESTs that are either poorly characterized ($10^{-5} \leq$ E-value $\leq 10^{-1}$) or produce open reading frames without significant matches in databases (E-value $> 10^{-1}$) it is more difficult to determine whether the corresponding gene is involved in parasitism. These genes require additional information regarding their function. For others the function of homologues may be indicative for a role in plant parasitism.

Products of two genes, *mSP-1* (*Meloidogyne secretory protein 1* in Ding *et al.*, 2000) and a *gp-sec2* homologue (*G. pallida secretory protein 2* in Prior *et al.*, 1998), are secreted by plant-parasitic nematodes at relatively high levels. We found three ESTs (*MD0906*, *MD0676*, and *MD0432*) similar to the *mSP-1* gene of *M. incognita*. Homologues of *mSP-1* have previously been described as venom allergen antigens in other nematodes (Hawdon *et al.*, 1999; Schallig *et al.*, 1997). Despite its presence in parasitic stages of *M. incognita* a function in plant-parasitism is not evident (Ding *et al.*, 2000).

ESTs (*MD0814*, *MD0596*, *MD0421*, *MD0351*, *MD0254*, and *MD0298*) showing significant homology with *gp-sec2* in *G. pallida* (Prior *et al.*, 1998) also appeared at a relatively high abundance in the dataset. Homologues of this transcript are characterized in several other animal-parasitic nematodes (Trenholme *et al.*, 1994; Tree *et al.*, 1995). Moreover, a high similarity of these ESTs with an ABA-1 allergen of *Ascaris lumbricoides* (McSharry *et al.*, 1999) and *Ov-20* in *O. volvulus* (Tree *et al.*, 1995) suggests retinol- and fatty acid- binding activities for this gene. Retinol deficiency in animals results in an impaired immune response to parasitic nematodes (Carman *et al.*, 1992) and similarly vitamin A deficiency contributes to the pathogenesis of animal-parasitic nematodes (Rodger, 1962).

Several ESTs showed homology with genes encoding cell wall degrading enzymes produced in the oesophageal glands of nematodes. A large gene family encoding β -1,4-endoglucanases appears to be present in *M. incognita* (M. Rosso, Pers. Comm.). This observation is confirmed by four distinct ESTs (*MD0118*, *MD0139*, *MD0340*, and *MD0369*) with homology (59 to 98% identity) to *eng-1* (Genbank accession number AF100549) previously cloned from *M. incognita* (Rosso *et al.*, 1999). Furthermore, *MD0915* identifies a novel gene encoding a β -1,4-endoxyranase (unpublished), which is another type of cell wall degrading enzyme. *MD0790* is homologous to the *cbp-1* from *M. incognita*. *Cbp-1* is characterized by a cellulose binding-domain and despite the absence of any enzyme activity it is expected to play a role in parasitism of root knot nematodes (Ding *et al.*, 1998).

A novel chitinase gene is tagged by *MD0774* (Fig. 2). Chitinases (EC 3.2.1.14) have been characterised in bacteria, fungi and animal-parasitic nematodes such as *B. malayi* (Fuhrman *et al.*, 1992), *Acanthocheilonema viteae* (Adam *et al.*, 1996), and *O. volvulus* (Harrison *et al.*, 1999). Studies showing a reaction of murine antibody with the cuticle of post-infective L3 of *O. volvulus* (Harrison *et al.*, 1999) implies that it is secreted via the hypodermis. Wu *et al.* (1996) concluded that chitinases expressed in infective stages of filarial nematodes may play a role in moulting during post-infective development. In plant parasitic nematodes chitin is present in the eggshell only (Bird & Self, 1995), therefore it is anticipated that chitinase in *M. incognita* is involved in hatching of the juveniles. However, derivatives of chitin may a function as signal molecules in plants-microbe interactions (Mathesius *et al.*, 1998). The chitinase fragment tagged by *MD0774* contains the conserved glutamic acid of class II chitinases (glycosyl hydrolase family 18), which acts as proton donor in the active site of the enzyme (Fig. 2).

Hydroxyl-3-methylglutaryl CoA reductase activity (HMGR; *MD0756*) has been localized in oesophageal glands of *M. incognita* and is believed to be the key enzyme for sterol synthesis (Bleve-Zacheo & Melillo, 1997). It is suggested that HMGR activity in giant cells is related to the high rate of sterol biosynthesis required to sustain the active demand of sterols for nematodes (Chitwood & Lusby, 1991; Sijmons *et al.*, 1994). HMGR secreted by the nematode may regulate the de-alkylation of phytosterol into sterols to satisfy the extensive feeding requirements of the developing nematode (Bleve-Zacheo & Melillo, 1997).

Diverse antioxidant proteins as peroxiredoxin (*MD0522* and *MD0716*), catalase (*MD0897*, *MD0884*, and *MD0672*), glutathione peroxidase (*MD0641*, *MD0352*, and *MD0334*), and thioredoxin peroxidase (*MD0127* and *MD0137*) were tagged by several ESTs. Antioxidant enzymes have been identified in many helminths (Nathan *et al.*, 1979; Callahan *et al.*, 1988), and were shown to be one of the major surface-associated molecules that may shield the parasites by inactivating toxic products produced by host phagocytes. Recently, thioredoxin peroxidases (TPx) are described as a new class of anti-oxidant enzymes (Lu *et al.*, 1998) and it is strongly suggested that this is probably the major H₂O₂-metabolizing system in filarial nematodes that enhance defence against the host immune response or limit damage from host inflammatory cells. A similar protective function could be envisioned for plant-parasitic nematodes to counteract the active oxidants released by host-plants. TPx genes have been found in vertebrates, fungi, plants, bacteria (Rhee *et al.*, 1994) and also were cloned and characterized from the nematodes *Diriofilaria immitis* (Klimowski *et al.*, 1997), *O. volvulus* (Lu *et al.*, 1998; Chandrashekar *et al.* 1998), *B. malayi* (Ghosh *et al.*, 1998) and *G. rostochiensis* (Robertson *et al.*, 2000).

MD0736 identifies a cysteine proteinase with homology to a *Haemonchus contortus* proteinase (Skuce *et al.*, 1999). Cysteine proteinase has been intensively studied in animal parasitic nematodes as *Ostertagia ostertagi* (Pratt *et al.*, 1992) and *Ancylostoma caninum* (Harrop *et al.*, 1995). They are also abundantly expressed in the intestine of *C. elegans* (Ray & McKerrow, 1992). Similarly, two cysteine proteinase genes (*hgcp-I* and *hgcp-II*) have been cloned from the plant parasitic nematode *Heterodera glycines* (Urwin *et al.*, 1997). Specific protease inhibitors expressed as transgenes in hairy roots of host plants resulted in a reduced fecundity of feeding soybean cyst nematodes (Urwin *et al.*, 1995).

3.4. Discussion

The success of an EST project largely depends on the quality of the cDNA library that is used for random sequencing, which is determined by the average insert

size, the percentage of full-length clones, the redundancy in the library, and the number of plasmids that carry no insert. The average transcript size in *C. elegans* is predicted to be 1.33 kb. If the same holds true for *M. incognita* then this cDNA library is in favour of a good representation of its genes. For reasons of large differences in cloning efficiencies most of the small transcripts have been excluded from the library (see Material and methods).

The 5' end of mRNA is usually more informative as compared to the 3' end, because sequences are generally more conserved at the 5' end. In addition, the signal sequences that target proteins to be secreted into the plant are generally also located at the 5' end, which is a crucial feature of candidate parasitism genes (Davis *et al.*, 2000; Qin *et al.*, 2000). In conventional methods reverse-transcriptase frequently terminates before transcribing the complete mRNA sequence rendering many clones in a cDNA library incomplete. This is particularly true with long mRNAs primed with oligo-dT or if the mRNA molecule contains abundant secondary structures. To improve the percentage of full-length clones in cDNA libraries oligonucleotide primers based on a spliced-leader (SL) sequence have been used to amplify full-length cDNA only from the first-strand synthesis products (Williams *et al.*, 1999). The number of mRNA species preceded by a spliced-leader (SL) sequence is estimated to be 70 percent for *C. elegans* (Blumenthal *et al.*, 1997) and more than 80 percent for *Ascaris lumbricoides* (Nilsen, 1993). Messenger RNAs carrying a SL sequence have been isolated from *M. incognita* too, however, it is unclear if this counts for the majority of the transcripts. Some of the parasitism related genes that have been cloned to date are not preceded by a SL sequence (Rosso *et al.*, 1999). Therefore, we have used the SMART-oligonucleotide system to essentially obtain the same effect as libraries made of SL amplified cDNA, a higher percentage of full-length clones, without any possible bias (Barnes, 1994; Chenchik *et al.*, 1998).

These percentages The percentage of the EST with significant or no similarity with the known sequences deposited in various databases are in accordance with previous reports on other nematode EST projects (Williams *et al.*, 1999). ESTs with $1 \times 10^{-5} \leq E\text{-value} \leq 1 \times 10^{-1}$ were considered to have less significant homologies (28.7%), and require further sequence analysis using more sophisticated algorithms (*e.g.*, PSI-BLAST). This percentage includes 3.8% of the predicted proteins that align to some extent with undefined homologues and a subset of 11.4% that have some sequence similarity with other database accessions that have poor descriptions.

According to their the putative functions all sequences with BLAST-score probabilities of 1×10^{-1} and less were categorized in 9 groups (Table 1) leaving 45% of the ESTs ungrouped. ESTs encoding proteins involved in the categories 'Metabolic processes' (12.6%), 'Gene expression' (9.8%), and 'Structure and muscle' (7.3%) are most abundantly represented in the cDNA library. These three categories contain many house keeping genes that have conserved homologues in many unrelated organisms and for which high expression levels, and therefore many ESTs, can be expected. These three categories are the main sources of redundancy of the cDNA library. Although our clustering method may be considered as arbitrary, as the same EST may be assigned to more than one group, the catalogue still reveals relatively reliable proportions of the genes expressed in pre-parasitic second stage juveniles of *M. incognita*.

3.5. Pioneering' sequences

The most challenging ESTs (33.9 %) are the ones for which no homologues were found in the public databases. Based on our experience with the potato cyst

nematode *Globodera rostochiensis* many genes potentially related to parasitism are pioneering sequences. A number of analytical steps may help to assign a function to pioneering gene sequences.

First, it is most likely that the majority of parasitism related genes encode secreted proteins (Williamson & Hussey, 1996). Single-pass 5' sequences may include the N-terminus of the encoded proteins, which allows for prediction of a signal peptide for secretion. The latest release of Signal-P at <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-2.0/> has improved capabilities to discriminate between signal peptides and uncleaved signal anchors. Combined with computer software that searches for transmembrane domains a good overall prediction for a protein to be secreted is possible. A small number of secretory proteins lack a typical hydrophobic signal peptide for translocation via the classical secretory pathway. In these cases secreted proteins require the interaction with a helper-protein - usually ATP-binding-cassette (ABC)-transport proteins (Kuchler & Thorner, 1992). Examples of this mechanism of secretion have been found in both prokaryotic and eukaryotic organisms. Several secreted proteins of *O. volvulus* infective larvae, reported initially as a host protective antigen, lack a classical N-terminal signal peptide (Abdel-Wahab *et al.*, 1996).

Secondly, large scale *in situ* hybridisation procedures would provide valuable data on unique EST sequences. A large scale *in situ* hybridisation procedure was developed for *C. elegans* by Tabara *et al.* (1996). Similar high-throughput methods to obtain spatial expression patterns are being developed in our laboratories at the moment.

Thirdly, a novel high-throughput RNA fingerprinting based strategy named cDNA-AFLP has been recently applied to obtain temporal expression data for unknown genes of the plant parasitic nematode *G. rostochiensis* (Qin *et al.*, 2000). The biology of the potato cyst nematode especially during hatching lends itself perfectly to a differential display procedure like cDNA-AFLP. Despite more experimental difficulties a similar succession of distinct phases in the transition from preparasitic to parasitic juveniles of *M. incognita* should be amenable to analysis with cDNA-AFLP too.

Alternatively, introducing double-strand RNA to disrupt gene activity may be an ideal contribute to assess the function of genes in plant parasitic nematodes. This strategy has been shown to be useful for RNA interference in *C. elegans* (Fire *et al.*, 1998) and the effects have persisted well into the next generation. No RNA interference mutants of plant parasitic nematodes have been reported yet, which may be the consequence of their more complex mode of reproduction and obligatory parasitic nature.

4. Concluding remarks

In conclusion, this small pilot EST sequencing project has produced EST tags for virtually all parasitism related genes that have been cloned from *M. incognita* at present. The efficiency of EST projects, which produce sequence data for thousands of genes in months time without any difficult pre-selections of mRNA pools, makes random sequencing of good quality cDNA libraries a superior method to identify candidates for parasitism related genes. Hence, this approach can be successfully applied to other economically important nematode species. For each of the candidates with interesting homologies herein further expression analysis or biological tests will have to demonstrate their role in parasitism. At the time this paper was prepared an EST sequencing project dealing with various parasitic nematode species was initiated

by the St. Louis Genome Sequencing Centre and Hinxton Sanger Centre (McCarter *et al.*, 2000). This promising initiative will reveal the presence of thousands of interesting genes in nematodes for which nematologists will have to provide a biological understanding to assess their relative importance in the plant-nematode interaction.

References

- Abdel-Wahab N., Kuo Y-M., Wu Y., Tuan RS. & Bianco AE. (1996): OvB20, an *Onchocerca volvulus* cDNA selected by differential immunoscreening with vaccination serum in a cattle model of onchocerciasis. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 76, 187-199.
- Adam R., Kaltman B., Rudin W., Friedrich T., Marti T. & Lucius R. (1996): Identification of chitinase as the immunodominant filarial antigen recognized by sera of vaccinated rodents. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 3, 1441-1447.
- Altschul SF., Madden TL., Schäffer AA., Zhang J., Zhang Z., Miller W. & Lipman DJ. (1997): Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25, 3389-3402.
- Barnes WM. (1994): PCR amplification of up to 35-kb DNA with high fidelity and high yield from λ bacteriophage templates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 91, 2216-2220.
- Bird AF. & Self PG. (1995): Chitin in *Meloidogyne javanica*. *Fundamental and Applied Nematology*, 18, 235-239.
- Bleve-Zacheo T. & Melillo M.T. (1997): The biology of giant cells. In: Fenoll, C., Grundler, F.M.W. & Ohl, S.A. (Eds). *Cellular and molecular aspects of plant-nematode interactions*. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic Publishers. pp. 65-79.
- Blumenthal T. & Steward K. (1997): RNA processing and Gene Structure, In: Riddle, D.L., Blumenthal, T., Meyer, B. J. & Priess, J.R. (Eds). *C. elegans II*, Plainview, NY, USA, Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 117-145.
- Callahan HL., Crouch RK. & James ER. (1988): Helminth anti-oxidant enzymes: a protective mechanism against host oxidants? *Parasitology Today*, 4, 218-225.
- Carman JA., Pond L., Nashold F., Wassom DL. & Hayes CE. (1992): Immunity to *Trichinella spiralis* infection in vitamin A-deficient mice. *Journal of Experimental Medicine*, 175, 1, 111-120.
- Chandrashekar R., Curtis KC., Lu W. & Weil GJ. (1998): Molecular cloning of an enzymatically active thioredoxin peroxidase from *Onchocerca volvulus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 93, 309-312.
- Chenchik A., Zhu YY., Diatchenko L., Li R., Hill J. & Siebert PD. (1998): Generation and use of high-quality cDNA from small amounts of total RNA by SMART PCR. In: *Gene Cloning and Analysis by RT-PCR*, MA, USA, BioTechniques Books, pp. 305-319.
- Chitwood DJ. & Lusby WR. (1991): Metabolism of plant sterols by nematodes, *Lipids*, 26, 619-627.
- Davis EL., Aron LM., Pratt LH. & Hussey RS. (1992): Novel Immunization Procedures Used to Develop Monoclonal Antibodies that Bind to Specific Structures in *Meloidogyne* spp. *Phytopathology*, 82, 1244-1250.
- Davis EL., Allen R. & Hussey RS. (1994): Developmental expression of esophageal gland antigens and their detection in stylet secretions of *Meloidogyne incognita*. *Fundamental and Applied Nematology*, 17, 255-262.

- Davis EL., Hussey RS., Baum TJ., Bakker J., Schots A., Rosso M-N. & Abad P. (2000): Nematode Parasitism Genes. Annual Review of Phytopathology, 38, 341-372.
- Ding X., Shields R., Allen R. & Hussey RS. (1998). A Secretary cellulose-Binding Protein cDNA Cloned from the Root-Knot nematode (*Meloidogyne incognita*). Molecular Plant-Microbe Interactions, 11, 952-959.
- Ding X., Shields R., Allen R. & Hussey RS. (2000): Molecular cloning and characterisation of a venom allergen AG5-like cDNA from *Meloidogyne incognita*. International Journal of Parasitology, 30, 77-81.
- Fire A., Xu S., Montgomery MK., Kostas SA., Driver SE. & Mello CC. (1998): Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature, 391, 806-811.
- Fuhrman JA., Lane WS., Smith RF., Piessens WF. & Perler FB. (1992): Transmission-blocking antibodies recognize microfilarial chitinase in brugian lymphatic filariasis. Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America, 89, 1548-1552.
- Ghosh I., Eisinger SW., Raghavan N. & Acott AL. (1998): Thiredoxin peroxidases from *Brugia malayi*. Molecular and Biochemical Parasitology, 91, 207-220.
- Harrison RA., Wu Y., Egerton G. & Bianco AE. (1999): DNA immunisation with *Onchocerca volvulus* chitinase induces partial protection against challenge infection with L3 larvae in mice. Vaccine, 18, 647-655.
- Harrop SA., Sawangjaroen N., Prociv P. & Brindley PJ. (1995): Characterization and localization of chatepsin B proteinases expressed by adult *Ancylostoma caninum* hookworms. Molecular and Biochemical Parasitology, 71, 163-171.
- Hawdon JM., Narasimhan S. & Hotez PJ. (1999): *Ancylostoma* secreted protein 2: cloning and characterization of a second member of a family of nematode secreted proteins from *Ancylostoma caninum*. Molecular and Biochemical Parasitology, 99, 149-166.
- Hussey RS. & Barker KR. (1973): A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter, 57, 1025-1028.
- Hussey RS., Paguio OR. & Seabury F. (1990): Localization and Purification of a secretory Protein from the Esophageal Glands of *Meloidogyne incognita* with a Monoclonal Antibody. Phytopathology, 80, 709-714.
- Klimowski L., Chandrashekar R. & Tripp CA. (1997): Molecular cloning, expression and enzymatic activity of a thioredoxin peroxidase from *Dirofilaria immitis*. Molecular and Biochemical Parasitology, 90, 297-306.
- Koltai H., Chejanovsky N., Raccach B. & Spiegel Y. (1997): The first isolated collagen gene of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* is developmentally regulated. Gene 196, 191-199.
- Kuchler K. & Thorner J. (1992): Secretions of peptides and proteins lacking hydrophobic signal sequences: the role of adenosine triphosphate-driven membrane translocators. Endocrine Reviews, 13, 499-514.
- Lambert KN., Allen KD. & Sussex M. (1999): Cloning and Characterization of an esophageal-gland-specific chorismate mutase from the phytoparasitic nematode *Meloidogyne javanica*. Molecular Plant-Microbe Interactions, 12, 328-336.
- Lu W., Egerton GL., Bianco A. & Williams SA. (1998): Thioredoxin peroxidase from *Onchocerca volvulus*: a major hydrogen peroxide detoxifying enzyme in filarial parasites. Molecular and Biochemical Parasitology, 91, 221-235.

- Mathesius U., Schlaman HRM., Spaik HP., Sautter C., Rolfe BG., Djordjevic MA. (1998): Auxin transport inhibition precedes root nodule formation in white clover roots and is regulated by flavonoids and derivatives of chitin oligosaccharides. *Plant Journal*, 14, 23–34.
- McCarter J., Bird DMcK., Rao U., Kloek A., Clifton S., Pape D., Martin J., Wylie T., Eddy S., Waterston R. & The Washington University GSC EST Team. (2000): Progress Towards High Throughput Gene Discovery In Parasitic Nematodes; Initial Findings From *Meloidogyne incognita* EST Sequencing. 39th Annual Meeting Of Society of Nematologists, Quebec, Canada, June 24-28, 2000. Pg 93. [Abstr.]
- McSharry C., Xia Y., Holland CV. & Kennedy MW. (1999): Natural Immunity to *Ascaris lumbricoides* Associated with Immunoglobulin E Antibody to ABA-1 Allergen and Inflammation Indicators in Children. *Infection and Immunity*, 67, 484-489.
- Nathan C., Nogueira N., Juangbhanich C., Ellis J. & Cohn Z. (1979): Activation of macrophages in vivo and in vitro. Correlation between hydrogen peroxide release and killing of *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Experimental Medicine*, 149, 1056-1068.
- Nilsen, T.W. (1993). *Trans*-Splicing of Nematode Premessenger RNA. *Annual Review of Microbiology*, 47, 413-440.
- Pableo EC. & Triantaphyllou AC. (1989): DNA complexity of the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) genome. *Journal of Nematology*, 21, 260-263.
- Popeijus H., Blok VC., Cardle L., Bakker E., Philips MS., Helder J., Smant G. & Jones, JT. (2000a): Analysis of genes expressed in the second stage juveniles of the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* using the expressed sequence tag approach. *Nematology*, (2).
- Popeijus H., Overmars H., Jones J., Blok VC., Goverse A., Helder J., Schots A., Bakker J. & Smant G. (2000b): Degradation of plant cells walls by a nematode. *Nature*, 406, 36 – 37.
- Pratt D., Armes LG., Hageman R., Reynolds V., Boisvenue RJ. & Cox GN. (1992): Cloning and sequence comparisons of four distinct cysteine proteases expressed in *Haemonchus contortus* adult worms. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 51, 209-218.
- Prior AE., Kennedy MW., Blok VC., Robertson WM. & Jones JT. (1998): Functional characterisation of a secreted protein from the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Nematologica*, 44, 514 [Abstr].
- Qin L., Overmars H., Popeijus H., Rouppe van der Voort J., Groenink W., van Koert P., Schots A., Bakker J., Helder J. & Smant G. (2000): An efficient cDNA-AFLP-based strategy for the identification of putative pathogenicity factors from the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 13, 830-836.
- Ray C. & McKerrow JH. (1992): Gut-specific and developmental expression of a *Caenorhabditis elegans* cysteine protease gene. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 51, 239-250.
- Rhee SG. & Chae HZ. (1994): Thioredoxin peroxidase and the peroxiredoxin family. *Mol Cell*, 4, 137-142.
- Robertson L, Robertson WM., Sobczak M., Helder J., Tetaud E., Ariyanayagam MR., Ferguson MAJ., Fairlamb A. & Jones JT. (2000): Cloning, expression and functional characterisation of a peroxiredoxin from the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, (in press).

- Rodger FC. (1962): A review of recent advances in scientific knowledge of the symptomatology, pathology and pathogenesis of oncocercal interactions. Bulletin W.H.O., 27, 429-448.
- Rosso MN., Favery B., Piotte C., Arthaud L., De Boer JM., Hussey RS., Bakker J., Baum TJ. & Abad P. (1999): Isolation of a cDNA Encoding β -1,4-endoglucanase in the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* and Expression Analysis During Plant Parasitism. Molecular Plant-Microbe Interactions, 12, 585-591.
- Schallig HDFH., van Leeuwen MAW., Verstepen BE. & Cornelissen AWCA. (1997): Molecular characterization and expression of two putative protective excretory secretory proteins of *Haemonchus contortus*. Molecular and Biochemical Parasitology, 88, 203-213.
- Sijmons PC., Atkinson HJ. & Wyss U. (1994): Parasitic strategies of root nematodes and associated host cell responses. Annual Review of Phytopathology, 32, 235-259.
- Skuce PJ., Redmond DL., Riddell S., Stewart EM., Newlands GF., Smith WD. & Knox DP. (1999): Molecular cloning and characterization of gut-derived cysteine proteinases associated with a host protective extract from *Haemonchus contortus*. Parasitology, 119, 405-412.
- Smant G., Stokkermans JPWG., Yan Y., De Boer JM., Baum T., Wang X., Hussey RS., Gommers FJ., Henrissat B., Davis EL., Helder J., Schots A. & Bakker J. (1998): Endogenous cellulases in animals: Isolation of β -1,4-endoglucanase genes from two species of plant parasitic nematodes. Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America, 95, 4906-4911.
- Tabara H., Motohashi T. & Kohara Y. (1996): A multi-well version of in situ hybridisation on whole mount embryos of *Caenorhabditis elegans*. Nucleic Acids Research, 24, 2119-2124.
- Thompson JD., Higgins DG. & Gibson TJ. (1994): CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research, 22, 4673-4680.
- Tree TI., Gillespie AJ., Shepley KJ., Blaxter ML., Tuan RS. & Bradley JE. (1995): Characterization of an immunodominant glycoprotein antigen of *Onchocerca volvulus* with homologues in other filarial nematodes and *Caenorhabditis elegans*. Molecular and Biochemical Parasitology, 69, 185-195.
- Trenholme KR., Tree TI., Gillespie AJ., Guderian R., Maizels RM. & Bradley JE. (1994): Heterogeneity of IgG antibody responses to cloned *Onchocerca volvulus* antigens in microfilaridemia positive individuals from Esmeraldas Province, Ecuador. Parasite Immunology, 16, 201-209.
- Urwin PE., Atkinson HJ. Waller DA. & McPherson MJ. (1995): Engineered oryzacystatin-I expressed in transgenic hairy roots confers resistance to *Globodera pallida*. Plant Journal, 8, 121-131.
- Urwin PE., Lilley CJ., McPherson MJ. & Atkinson HJ. (1997): Characterization of two cDNAs encoding cysteine proteinases from the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*. Parasitology, 114, 6, 605-613.
- Williams SA., The filarial genome project, and Johnston, D.A. (1999): Helminth genome analysis: the current status of the filarial and schistome genome projects. Parasitology, 118, S19-S38.
- Williamson VM. & Hussey RS. (1996): Nematode pathogenesis and resistance in plants. Plant Cell, 18, 1735-1745.

- Wu Y., Adam R., Williams SA. & Bianco AE. (1996): Chitinase genes expressed by infective larvae of the filarial nematodes: *Acanthocheilonema viteae* and *Onchocerca volvulus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 75, 207-219.
- Yamamoto K & Sasaki T. (1997): Large-scale EST sequencing in rice. *Plant Molecular Biology*, 35, 135-144.

Table 1. A subdivision of the conceptual translations of 914 EST sequences of *M. incognita* preparasitic J2. The subdivision is based on the most significant homologues according to the BLASTX E-values. The total 'number of ESTs' is broken down into two fractions – the number of ESTs ('high') that have E-values < 1×10^{-1} , and the number of ESTs ('low') that resulted in E-values between 1×10^{-5} and 1×10^{-1} . Percentages between brackets indicate the relative numbers of ESTs as a ratio of the total number of 914 ESTs.

Category	Description and examples	Number of ESTs	Similarity	
			high	low
1	Structural and muscle Cytoskeletal and muscle proteins (e. g. myosin, actin, calponin)	67 (7.35%)	52 (5.7%)	15 (1.6%)
2	Enzymes and Metabolic Proteins involved in diverse metabolic processes (e. g. GAPDH, GPD, fatty CoA ligase, catalase)	115 (12.6%)	86 (9.4%)	29 (3.2%)
3	Gene expression And protein synthesis Proteins involved in transcription and translation (e.g. transcription factor, translation elongation factor, ribosomal proteins)	90 (9.8%)	54 (5.9%)	36 (3.9%)
4	Cell cycle Proteins involved in cell division and DNA replication (e.g. cyclin, mitogen inducible gene, DNA topoisomerase, centrin)	11 (1.2%)	3 (0.3%)	8 (0.9%)
5	Transport Membrane transporters and lipid transport proteins (e. g. clathrin heavy chain, axonal transport protein, transportin)	13 (1.4%)	10 (1.1%)	3 (0.3%)
6	Neuron function Proteins involved in neuronfunction (e. g. neurofilament protein, synaptic vesicle protein, FMRF neuropeptide)	11 (1.2%)	9 (1%)	2 (0.2%)
7	Protein domains Proteins defined by specific domains and repeats (e. g. C2 domain, Ca ²⁺ binding protein, lipoprotein-binding prot.)	59 (6.5%)	35 (3.8%)	24 (2.6%)
8	Candidate parasitism Genes Nematode-host interaction specific (e. g. cellulases, chitinase, xylanase, SEC2, CBP 1, Ov T1, Ov 20, cysteine proteinase)	28 (3.1%)	22 (2.4%)	6 (0.7%)
9	Undefined homologues <i>C. elegans</i> , <i>B. malayi</i> , <i>H. sapiens</i> ESTs (e. g. yk8c7.5, proteins in chrom. III)	106 (11.6%)	71 (7.8%)	35 (3.8%)
10	Unknown No matching	414 (45.2%)	310 (33.9%) ¹	104 (11.4%) ²

¹ ESTs with E-values $> 1 \times 10^{-1}$ in BLASTX. These EST are unique to this data set.

² These ESTs have E-values of $1 \times 10^{-5} \leq E \leq 1 \times 10^{-1}$ in BLASTX, however, the aligning sequences have poor definition lines.

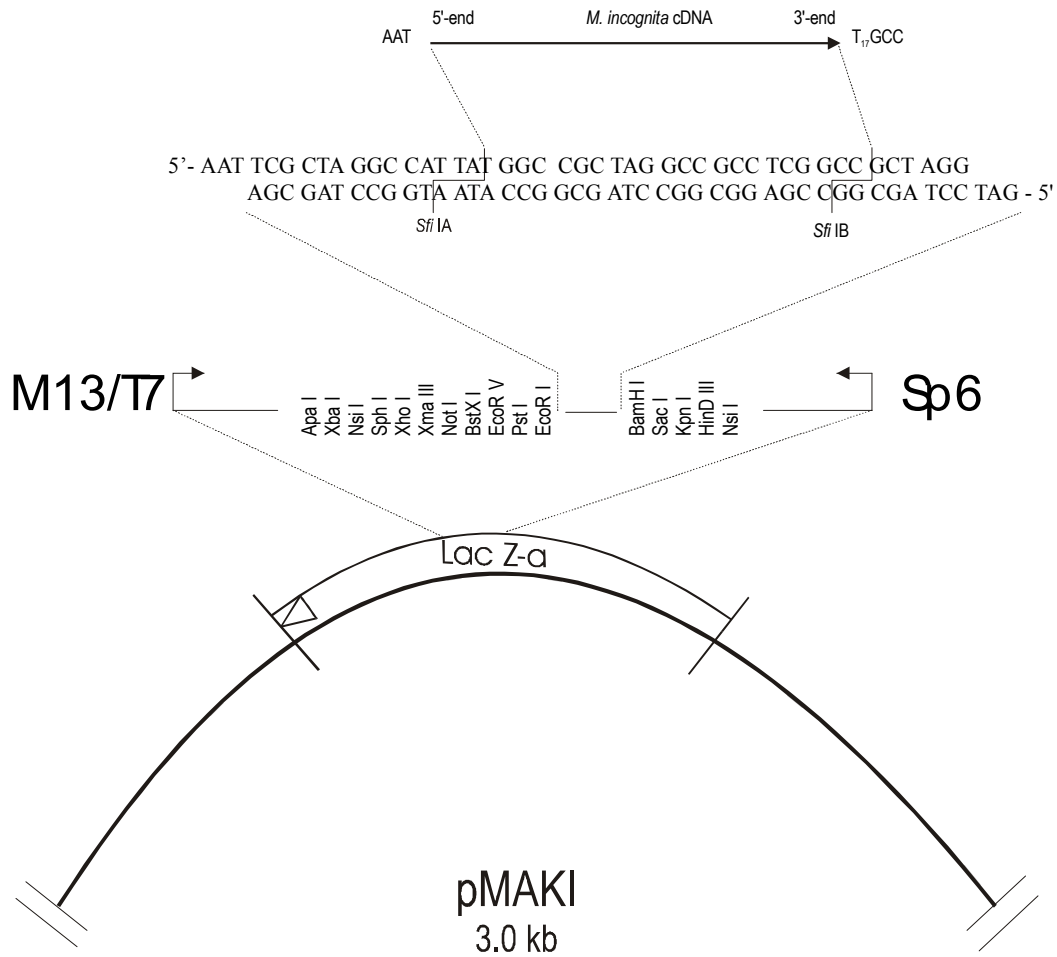


Figure 1. Construction of the cDNA library in the *Sfi* I restriction sites of the multiple cloning site of plasmid pMAK I.

```

AE003477      CYYTNWSQYRVKIGKFPEDIPADLCTHIIFAFGWLKKNKLS-SYESNDETKDNV-PGLY 184
AF250997      CYYTNWAQYREGEGKFLPENIPNGLCTHILYAFKVDLGDGSKAFEWNDEDESEWS-KGMY 85
Q11174        CYFTNWAQYRQGRAKFPEDYTPGLCTHILFAFGWMNADYTVRAYDPADLPNDWAGEGMY 116
Mi_MD0774     CYFTNWAIRSGRAKFAPEYAPGLCTHIFYAFAYFNESFEAYAIDPNDLPNDSDDLPGQY 74
               **:***: **  .** **: . .*****:*. . . : : *  .:  * *
AE003477      ERMMLTKKANPKLKILLALGGWSFG--TQKFKDMSSTRYTRQTFVYSIAIPFLRKRGF DGL 242
AF250997      SGVTKLKETNPCLKILLSYGGYNFG--SAIFTEIAKSAQKTERFIKSAIEFLRKNNF DGF 143
Q11174        RRVNKLKVTDTQLKTLLSFGGWSFG--TALFQGMAASSASRKVFIDSAITFVRTWGF DGI 174
Mi_MD0774     ARVVALKKYDPNLKFVMSFGGWTFTSTTTTLFQNMSTSSKQNRGKFIKSSIAFIKKGFDGI 134
               : **  :.:** :.: **:. * . : *  :.: : . * : * * * :.: .***:
AE003477      DMDWEYPKGSDDKKNFVLLKELREAFEAQELKKPRLLSAAVPVGPDPNIRGGYDVPA 302
AF250997      DFDWEYPLG--VAKEHAKLVEAMKSAFVEEAKTSGKQRLLLTAAVSAGKETIDGSYDVES 201
Q11174        DIDWEYPSGATDMANYVALVKELKAACESEAGSTGKDRLLVTAAVAAGPATIDAGYDIPN 234
Mi_MD0774     DLDIEY PDS--KENFNLLQEFHLASCNEK--NVKTKLIITAAVAAGDIDIVKNSYDIAT 189
               *: * ** . : . * : : : * * * * : : : * * . * : . * :
AE003477      IASYLDFINLMAYDFHGKWERETGHNAPLYAPSTDSEW--- 340
AF250997      LGKNFDLLFLMSYDLHGSWEKNVDLHGKLRPTKGEVSGI-- 240
Q11174        LAPNFDLILLMSYDFGAWASLVGFNSPLYATELPAEW-- 273
Mi_MD0774     MAKYVDFINLMTYDFHITSENKTGYNSPLRSKGLFEYYRCW 230
               :. .*: : **:*: . . . . * .
    
```

Figure 2. Amino acid sequences of chitinases of various origins aligned using the algorithm Clustal W, version 1.8 (Thompson *et al.*, 1994). Only fragments of accession with significant homology to MD0774 of *M. incognita* are shown. The putative proton donor – a glutamic acid (E) – in the active site of the chitinases is in bolded font. Two chitinases of nematode origin (*C. elegans*, swiss-prot accession Q11174, *Wuchereria bancrofti*, genbank accession AF250997) and one chitinase sequence of arthropod origin (*Drosophila melanogaster*, genbank accession AE003477) are included in the alignment. Asterisk, identical or conserved residues in all sequences of the alignment; colon, conserved substitutions; single dots, semiconserved substitutions.

BUTOMUS UMBELLATUS НОВ ПЛЕВЕЛ НА ОРИЗОВИТЕ ПОВРШНИ ВО МАКЕДОНИЈА

Каров И., Митрев С., Спасов Д., Спасова Драгица, Колева-Гудева Лилјана

Краток извадок

Во овој труд опишани се морфолошките особини на плевелот *Butomus umbellatus* на локалитетите каде што е констатиран во Македонија.

Клучни зборови: *Butomus umbellatus* лист, плевели, ризоми.

BUTOMUS UMBELLATUS NEW WEED AT THE RICE FIELDS IN MACEDONIA

Karov I., Mitrev S., Spasov D., Spasova Dragica, Koleva-Gudeva Liljana

Abstract

In this paper the morphological characteristics of the weed *Butomus umbellatus* found on localities in R Macedonia are described.

Key words: *Butomus umbellatus* leafs, weed, rhizome.

1. Вовед

Интензивниот развој на растителните болести и плевели во оризовите површини не е само резултат на монокултурното одгледување на оризот но и на неконтролираниот увоз на семенски материјал од ова за нас значајна култура.

2. Материјал и методи на работа

Секоја година во текот на вегетацијата на оризот се прават подетални прегледи на засеаните оризови површини во Македонија а со цел да се евидентира и проучи херболошкиот состав во оризиштата и врз основа на овие резултати се усмерува агротехничката и хемиската заштита.

Најчесто се користи визуелна оцена за процентуалната застапеност на плевелите а во микро опити се користи квадратнатната метода.

Констатираните плевели се носат во лабораторијата на хербаризирање и нивно детерминирање.

3. Резултати

Од извршените прегледи на оризовите површини во текот на месец јули во 1985 година за прва пат е забележан плевелот *Butomus umbellatus*. Во истражувањата изведени во последните години се утврди дека најраспространети се плевелите од фамилијата на *Cyperaceae* (*Scirpus maritimus*, *Scirpus mucronatus*, *Cyperus difformis*, *Cyperus spp.*), *Echinochloa spp.* а

послабо распространети се: *Potamogeton fluitans*, *Heteranthera spp*, *Leersia oryzoides* и *Alisma plantago – aquatica*.

Недоволното снабдување со вода во текот на вегетацијата на оризот најверојатно е еден од основните услови за масовното никнење и класење на дивото просо - *Echinochloa spp*.

Плевелот *Butomus umbellatus* најпрво е најден во две оризови парцели во непосредна близина на с. Долни Балван во Штип. Кон крајот на јули и почетокот на август (во изминатите неколку години) овој плевел е забележан и во површините под ориз во с. Чифлик и во с. Мојанци - Кочани (Слика 3 и 4).

Butomus umbellatus спаѓа во фамилијата, *Butomaceae*, има ризоми од кои едно по друго во низа израснуваат многу растенија.

Л и с т о в и - триаглести, на врвовите малку спирално завиткани и со светло зелена боја. На едно растение може да се развијат од 14 до 20 листови а нивната просечна должина изнесува 60 cm. (Слика 2).

Ц в е т о в и - се во бело виолетова боја, собрани во штитести соцветија (Слика 1). На едно растение има обично по едно соцветие, кое е прицврстено на цилиндрично стебло чија должина се движи од 76 - 100 cm и поникнува директно од подземните ризоми без лисја. Соцветијата се јасно уочливи бидејќи се над површината на оризот и лесно се распознаваат од поголема оддалеченост.

Ризомите се беличести секогаш се во земјата и се во низа поредени

4. Заклучок

Врз основа на прегледот на домашната научна и стручна литература и проучените морфолошки карактеристики може да се донесе заклучок дека се работи за *Butomus umbellatus L.* како нов плевел и сега за прв пат опишан на оризовите површини во Штип и Кочани - Македонија

Литература

Karov, I. et all (1983): Prilog proucavanja efiksesnosti nekih kombinacija herbicida u pirincu. Jugoslovensko savetovanje o primeni pesticida. Neum 1983. Sarajevo.

Каров, И. и др. (1984): Прилог кон проучувањето на некои хербицидни комбинации во оризот. Југословенско советување за примена на пестициди - Струга. Зборник на трудови 1984.

Karov, I. et all (1986): Weed control and herbicide residues in rice production, 3th congress on weeds. Proceedings. Ohrid 1988.

Слика 1. *V.umbellatus* □
изглед на соцветие.



Слика 2. *V.umbellatus* -
карактеристичен изглед на
корен, стебла, листови и
соцветија.



Слика 3. *V.umbellatus* едно
растение во оризна нива со
бројни плевели од *Scirpus
microromatus*.



Слика 4. Силно заплевена
оризова нива со плевелот
V.umbellatus



ГЕНЕТИКА НА ОТПОРНОСТ НА ОРИЗОТ КОН *PYRICULARIA ORYZAE* Cav.

Каров И¹, Бисерка Наумова² и Елизабета Манова²

1992, Зборник на трудови за заштита на растенијата (скратена верзија)

Краток извадок

Испитувана е отпорноста на оризот кон паразитната габа *Pyricularia oryzae* Cav., и тоа: вертикалната и хоризонталната отпорност на 16 сорти ориз, при што се дојде до сознанието дека тестираните сорти ориз покажуваат висока осетливост кон таа габа.

Клучни зборови: *Pyricularia oryzae* Cav, ориз, вертикална и хоризонтална отпорност.

GENETICS OF RESISTANCE ON RICE TOWARDS *PYRICULARIA ORYZAE* Cav.

Karov I., Biserka Naumova and Elizabeta Manova

1992, Yearbook for plant protection, Skopje (shorten version)

Abstract

Resistance on rice towards *Pyricularia oryzae* Cav. was examined: vertical and horizontal resistance on 16 sorts of rice, and it was concluded that all tested sorts were with high sensitivity toward this parasitic fungus.

1. Вовед

Pyricularia oryzae Cav. е причинител на пламеницата на оризот и претставува една од најраспространетите растителни болести на оризот, а се јавува речиси во сите држави (регистравана е во 85 држави) производители на ориз.

Висината на штетите зависи во прв ред од осетливоста на сортите, од времето на инфекција и во извесна мера од климатските фактори. По правило, раните зарази повлекуваат и најголеми штети. Во Индија, уништени се над 266.000 тони ориз (Padmahan, 1965), а на Филипините некои години штетите изнесувале и до 50%. Во Непал, во 1985 година е забележана епифитоција од оваа растителна болест со интензитет на зараза од 75 до 100%.

Како заштита на оризот од оваа економски значајна патогена габа се користат голем број хемиски заштитни средства - фунгициди, при што

¹Institute of Southern crops - Strumica, Goce Delcev b.b., 2 000 Strumica, Macedonia

²Institute for rice - Kocani

¹Институт за јужни земјоделски култури - Струмица, Гоце Делчев б.б., Македонија

²Институт за ориз - Кочани

честопати се добива ориз со сомнителен квалитет. За да се намали примената на голем број хемиски заштитни средства во оризот, во светот, па еве и кај нас, посебно внимание му се посветува на проучувањето на отпорноста на оризот кон економски важните растителни болести.

Истражувањето на отпорноста на оризот кон пламеницата е многу сложено, од прижина што постои екстремна можна варијабилност на причинителот на пламеницата. Во полски услови, а речиси и во секој локалитет, габата си формира различни патогени раси кои се приспособени да опстанат во соодветни временски услови. Покрај сето тоа, врз отпорноста влијаат и различните типови на отпорност кон различни сорти ориз, а и многу други фактори во самата околина влијаат врз отпорноста на оризот.

Во Интернационалниот институт за ориз на Филипините, во периодот од 1962-1964 година, биле тестираны 8.214 сорти ориз. Од нив 1.457 покажале високо отпорна реакција (ИРПИ, 1964). Истите, 1457 сорти, биле тестираны уште седум пати во наредните две години, и на крајот 450 сорти од нив останале отпорни. Потоа, истражувањата се продолжени и уште десет пати овие сорти се тестираны и само 75 од 8.214 сорти биле отпорни во сите испитувани станици и во сите испитувани години (ИРПИ, 1966). Општо земено, резултатите од интернационалните матични тестови (Ou, 1964, 1966, Ling, 1968) покажале дека многу сорти ориз се отпорни, меѓутоа, отпорноста кај многу сорти варира според бројот на различните патогени раси од оваа паразитна габа. Многу егзотични сорти ориз покажувале отпорна реакција на овој начин: сорти ориз од типот Јапоника биле отпорни во Јужна Азија (Индија и Пакистан) а многубројни сорти од типот Индика биле отпорни во умерените региони на Азија (Јапонија и Кореја) а некои сорти ориз од регионите на Југоисточна Азија покажале отпорност во Јужна Азија и во другите умерени региони од Азија. Од оваа произлегува уверувањето дека: нема сорта ориз која може да биде отпорна кон сите раси во светот, но и нема раса од оваа патогена габа која може да нападне и да изврши инфекција на сите сорти ориз во целиот свет.

Направени се голем број испитувања за наследната отпорност на оризот кон пламеницата. Од добиените резултати произлегува заклучокот дека гените ја контролираат Отпорноста и оти отпорноста е доминантна во многу случаи, а се разликуваат од еден до три пара гени. Неслагање постои, а е резултат на тоа што истражувачите користат различен генетски материјал, различни методи на вештачка инокулација и различни методи и критериуми за класификација на отпорноста и осетливоста. Во Јапонија, само во периодот 1966/74 година се идентификувани 13 гени кои ја контролирале отпорноста кон пламеницата на оризот, а некои од нивните адели биле сместени на еден ист локус, како што се: Pi-k, Pi-k^s, Pi-k^p и Pi-k^h. (Цит. по Ou, 1985).

Иако проучувањата се вршени во Јапонија, 13 гени биле утврдени таму, а само два од нив Pi-a и Pi-i биле најдени во јапонските сорти ориз, а другите гени биле најдени во други странски сорти ориз. Генетиката на отпорност е испитувана и во Индија, особено по седумдесетите години. Таму е утврдено дека отпорноста во сортите Зенит, Те-теп и Тадукан била контролирана од три пара гени, а само два од нив можеле да ја поклонат отпорноста (Radmanabhan et al., 1974).

Еден од најтешките проблеми во испитување на наследната отпорност кон оваа паразитна габа е постоењето на варијабилна реакција во хибридната популација, честопати, постои едно големо варирање во реакцијата од отпорни до осетливи единки.

Варијабилноста на оваа габа во култура, промена во патогеноста и можноста за формирање раси, одамна привлекувало внимание на истражувачите а и денес претставува многу важно прашање кое интензивно се проучува. Нему му се придава посебна важност поради непосредната врска што ја има во селекцијата на отпорност и одржување на резистентен материјал.

Постоењето на различни патогени раси во САД било утврдено од Latterell et al.(1954). Шест години подоцна, во САД и во некои држави од Азија и Латинска Америка, биле идентификувани 15 патогени раси (Latterell et al.,1960). A, Atkins (1962) и Marchetti et al,(1976) откриле уште по една патогена раса во Тексас. Многу патогени раси биле идентификувани во Кореја, Индија, Колумбија, Нигерија, Малезија и на Филипините. Секоја земја во своите испитувања за откривање нови патогени раси си користи различни сорти ориз. На тој начин во Јапонија биле откриени 18 патогени раси (Хирано, 1967), во Тајван 27 (Цхиен, 1967), а на Филипините биле откриени 250 патогени раси (ИРРИ, 1975). За време на престојот на раководителот на овој проект во Тексас (САД), во идентификацијата на патогените раси беа користени осум различни сорти ориз и тоа: Missarak, Zenith, NP-125, Usen, Dular, Kanto-51, 8970-S и Kaloro.

Yamada et al.(1976) препорачува девет нови постојани сорти ориз од кои секоја сорта е со еден познат ген на отпорност, а за броење на расите да се користи Гилмар-овиот октален систем.

Основна цел на истражувањата беше да се одреди спектарот на вертикалната (расноспецифична) отпорност кон некои патогени раси од оваа габа, најдени во САД и споредени со хоризонтална (расно не специфична, полска) отпорност меѓу 16 сорти ориз од Македонија. Во овој период, се настојуваше да се усвојат и на наши услови да се приспособат методите на тестирање и почетно лабораториско опремување, па и добиените резултати се пионерски.

2. Изложување на текот на истражувањето и резултати

2.1. Материјал и методи на истражување

2.2. Оранжериско производство. Млади оризови растенија беа произведувани во поцинкувани лимени садови, 25x36 cm и длабоки 10 cm. Во секој вегетативен сад беа сеани по осум сорти ориз. За сеидба е користена почва на која не е користено, односно, произведувано ориз, чиста и незаразена. Наполнетите лимени садови со земја се рамнат и со специјален маркер се прават по осум браздички во секој лимен сад, окоју 6 cm долги и 2 cm длабоки. Губрење се врши кога оризот ќе порасне на 2-3 листа со КАН, 4g на еден лимен сад. Од секоја сорта, за сеидба се користат по 5-10 зрна ориз, во четири повторувања. Кога оризовите растенија ќе се развијат на 3-4 листа тогаш тие се готови за вештачка инокулација или околу 15 дена по сеидбата на оризот, растенијата можат да бидат инокулирани.

Оризовите растенија, произведувани за тестирање на отпорноста во оранжериски или лабораториски услови во лимени садови, пожелно е за тој период да бидат повремено наводнувани, а не цело време да се под вода.

2.3. *Производството на инокулум.* Чистите моноспорни култури од оваа патогена габа, односно одредените патогени раси за тестирање беа изолирани од заразени коленца од оризови стебла. Природно заразените коленца се сушат 6-8 недели на собна температура од 22-28°C а потоа се чуваат во фрижидер на -18°C се до нивната употреба. Пред умножувањето на потребниот инокулум од предвидените патогени раси, заразените коленца од оризовите стебла се ставаат во Петри кутии во влажен филтер и се инкубираат за време од 24 часа на 25°C. За оваа време габата обилно формира конидии врз површината од коленцето. Потоа Петри кутиите се носат во изолациона комора и под строго стерилни услови се врши издвојување на конидиите од стеблото на агарова средина. Петри кутиите се отвараат и се поставуваат под микроскот или бинокулар, зголемување најмалку 60 пати и точно во фокусот на видното поле. Потоа многу прецизно, со специјална игла за акупунктура, претходно натопена во агар или со малку агар на врвот од иглата се носи во видното поле на микроскопот, се допира иглата до една или две конидии од оваа габа, тие се лепат за иглата и повторно иглата со агарот се враќа во хранливата подлога од агар и обезмастено оризово брашно. Тоа се врши прво во Петри кутии а потоа културата се прочистува на друга хранлива подлога во мали Ерленмаерови колбици од 125 мл исполнети со 20 мл од 2% оризов агар, така насаните посевоките се инкубираат во термостат на 27°C. Спрулацијата е многу пообилна ако посевоките се инкубираат под бела-флуоресцентна светлост, јачина 4 000 Лукси, за врмр од 10-14 дена пред да бидат употребени.

2.4. *Инокулум и инкубациона йосијайка.* Обично, една колбица со произведен инокулум од 30 мл е доволна за еден сет односно за 8 сорти ориз во 4 повторување. Издвојувањето на конидиите од културите се врши со додавање на 15 мл дестилирана вода во колбицата каде што се развивала габата и во истите колбици се става покрај вода и 20-30 броја на тркалести стаклени топченца и така со рака се меша околу 20 секунди, топченцата удираат по конидиите и на тој начин се одвојуваат од конидиофорите при што се добива конидијална суспензија (вода + конидии). Потоа, суспензијата се филтрира преку филтер хартија со отвори од 40 меша (0,42 мм) и на оваа филтрирана суспензија се додава дестилирана вода, така што вкупниот волуман на вода (суспензија) да изнесува 30 мл во секоја колбица. На овој начин добиената суспензија е со концентрација од $5-50 \times 10^4$ /мл. Ваквата содржина на конидии е сосема доволно за вештачка инокулација. Иста е постапката за сите патогени раси што се вклучени во испитувањето но со посебно внимание да не дојде до мешање на конидиите меѓу расите.

Веднаш по приготвувањето на инокулумот се пристапува кон вештачка инокулација. Прво, лимените садови со оризови растенија се носат во специјални лимени комори (по 4 лимени сада во една комора) каде што релативната влажност на воздухот е над 90% а температурата околу 25°C.

Вештачката инокулација се врши со специјален атомизер кој работи со компримиран CO₂, високиот притисок ја распрашува конидијалната

суспензија и на тој начин конидиите се лепат на орозовите лисја. Ако прскањето се врши со обични пупми, тогаш се создаваат крупни честички односно се врши оросување и капките паѓаат од површината на лисјата, бидејќи орозовите лисја содржат многу силициум и тешко се задржуваат покрупни водени честички на лисјата. По инокулацијата, оризовита растенија се инлубираат во специјалните влажни лимени комори за време од 16-18 часа, а потоа се носат во лабораторија или во оранжерија.

2.5. Утврдување на вертикална отпорност. Тестирани се 10 интернационални патогени раси од оваа габа врз 16 сорти ориз од Македонија, тестирана е секоја група од секоја сорта ориз. Реакција на сортите беше евидентирана 7-8 дена по инокулацијата а за одредување на вертикалната отпорност е приманувана скала од 1-9.

1-3 = ОТПОРНИ, имаат вертикална отпорност кон тестираната раса. Кај оваа група на отпорност, симптомите на болеста се манифестираат со ситни некротични дамки, со големина на глава од шпенагла, или дамки со големина од 2 мм во пречник и со сив пепелав центар.

4-6 = ИНТЕРМЕДИЈАРНИ СОРТИ, повредите, односно дамките се малку елипсоидни до 3 мм во должина, низ ваквите симптоми на болеста може да се најде мешавина на други некротични дамки до 5 мм во должина.

7-9 = ОСЕТЛИВИ СОРТИ, без вертикална отпорност, дамките се над 5 мм во должина, јасно изразени рабови и по секоја некротична дамка, при што настанува брзо сушење на растенијата. Изумрените растенија се со оцена 9.

2.6. Утврдување на хоризонтална отпорност. За утврдување на хоризонталната отпорност на оризот, неопходно е изградба на специјален матичник за тестирање. Во Институтот засега нема изградени таков матичник, и затоа не сме во можност да вршиме испитување на хоризонтална отпорност кон пламеницата.

Во нашите испитувања како многу осетлива сорта кон пламеницата беше сеана М-101, а како многу отпорна беше сеана Lebonnet, која е со одлична полска отпорност. Во овие испитувања беа застапени 16 сорти ориз од Македонија и 4 патогени раси и тоа: IB-1, IB-45, IB-49, и IC-17.

Процентот на зараза е одредуван пет пати и тоа: 12, 14, 18, 20, и 24 дена по никнењето на оризот, а потоа беше извршено статистичка обработка на податоците.

Хоризонталната отпорност на оризот кон пламеницата е поставена во една скала од 0-9. Со "0" се одбележани сорти ориз што се со хоризонтална отпорност како што се Lebonnet и Nortai, а до "9" е оценета многу осетливата сорта М-101.

Сорти што се со оцена од 1-3, имаат хоризонтална отпорност, кај нив симптомите на болеста се ситни, некротично дамки до големина од 1 мм.

Оцената над "4" е индикација дека сортите немаат хоризонтална отпорност кон расите што биле земени во испитување. Одредување на сортите по групи е во зависност од процентот на зараза на лисната површина. Така отпорните сорти се со интензитет на зараза до 5%.

Оцена 4 = сорти ориз кај кои интензитетот на зараза изнесува до 5% а симптомите на болеста се тркалести до елипсоидни или во форма на око.

Оцена 5 = Сорти кај кои се забележани заразени лисја од 5% до 10%.

Оцена 6 = Од 10% до 25% заразена лисна површина (ЗЛП).

Оцена 7 = Од 25% до 50% ЗЛП.

Оцена 8 = Од 50% до 90% ЗЛП.

Оцена 9 = Од 90% ЗЛП па се до целосно угинување на заразените оризови растенија.

Овој тест се покажа многу практичен за утврдување на хоризонталната отпорност како и за споредување на истата меѓу самите сорти вклучени за тестирање на оваа отпорност.

Предноста е што како почетен материјал за вештачка зараза се зема ширење на конидиите по природен пат, од сорти што се изразито осетливи на други сорти или линии што се земени за тестирање во овој матичник. За време на овие истрежување матичникот мора да биде наводнуван со вештачки дожд, и тоа околу 6 секунди на секои 6 минути, два до три часа претпладне и две три часа попладне, поради создавање услови за инфекција и развој на болеста.

3. Вертикална отпорност

Отпорноста означува способност на едно растение да го спречи или ограничи нападот од еден потенцијален патоген. За да дојде до израз факторот отпорност мора едновременно да бидат присутни трите услови за настанување на болеста: Растение домаќин (ориз), патоген и поволни надворешни услови за развој на патогенот.

Вертикална односно специфична отпорност постор кај растенијата и е независно од присуството на патогенит, го оневозможува неговото навлегување на растението, а доколку паразитот навлезе, растението го спречува неговиот понатамошен развој.

Вертикалната или специфична отпорност се манифестира како преимунитет на молекуларно-генетска основа, активност за гените за отпорност - генетска транскрипција и генетска транслокација. Вертикалната отпорност е заснована кон оделни раси, а за нас е посебно важно во некоја сорта ориз да внесеме гени за отпорност кон застапените раси во нашите производни услови. Затоа тестирани се 16 сорти ориз од Македонија кон 10 патогени расо кон оваа паразитна габа. Резултатите се прикажани во табелите 1 и 2.

Од изнесените резултати во табела 1 се гледа дека тестираните сорти ориз покажуваат инзвонредно висока осетливост кон десетте патогени раси од оваа габа. Во првото тестирање (табела 1) отпорна реакција кон расата "АР" покажаа следните сорти: Узрос-271, П-76/6, Маратели, РБ x Балдо x Кубан-3 и Маратели x Балдо, чија што оцена на отпорност изнесуваше "1" и спаѓаат во групата на многу отпорни сорти кои во себе имаат ген за вертикална отпорност кон расата "АР"

Во групата интермедиерни сорти со оцена од 4 до 6 спаѓаат: Кубан-3, кон расата ИБ-49 (оцена 4), Узрос x Монтичели кон расите ИБ-1, ИБ-45 и ИБ-49, а сортата Балдо само кон расата ИБ-49, кон оваа патогене раса интермедиерна реакција покажуваат и сортите: Корбента x Балдо и Узрос-275. Сортата Осоговка е со интермедиерна отпорност кон ИБ-49 и АП. Мартели и Монтичели кон ИБ-49, Корбента кон ИБ-49, сортата ориз Х-15-3811 кон расите ИБ-45, ИБ-49, ИД-13 и ИГ-1 и на крајот крстоската Маратели x Банџо имаше интермедијарна отпорност кон расите: ИБ-45, ИБ-49, ИБ-54 и ИД-13.

При второто тестирање на сортите во наредната година се добиени главно слични резултати (види табела 2). Сортата Узрос-275 е отпорна кон расите ИБ-54, ИД-13 и ИН-1, а вертикална отпорност кон расата ИБ-54 имаат сортите: Р-76/6, Мартели, РБ x Балдо x Кубан 3 и Мартели x Бандо.

Кон расите ИБ-1, ИБ-49 и ИС-17 речиси нема отпорна сорта. Големи разлики во осетливоста на сортите е забележана кај расата ИД-13, каде што има сорти со отпорна реакција (Узрос-275 и Монтичели), интермедијарна реакција (Узрос x Монтичели), Балдо, Р 76/6, Маратели, Монтичели, Н-15-38-11 и Маратели x Балдо. Кон истата раса (ИД-13) се утврдени многу осетливи сорти ориз: Кубан-3, Корбента x Балдо, Осоговка, РБ x Балди x РБ и БР-69.

Анализирајќи ги вкупните резултати во утврдување на вертикалната отпорност на оризот кон испитуваните раси на оваа габа, се дојде до следните заклучоци: Сортата Балбо е изразито осетлива кон расите ИБ-54 и АР а сортата Маратели е отпорна кон овие раси, така и добиената крстоска Маратели x Балдо е сосема отпорна кон овие раси (ИБ-54 и АР), оттука произлегува заклучокот дека сортата Маратели има во себе гени на отпорност кон споменатите две раси од оваа паразитна габа и се јавува како донатор на гените за вертикална отпорност кон споменетите раси. Додека пак сортите Балдо и Корбента речиси спрема сите патогени раси се осетливи па и нивната крстоска Корбента x Балдо е сосема осетлива кон споменатите раси и слободно може да се каже дека овие две сорти како и нивните крстоски се осетливи кон оваа паразитна габа и не се препорачуваат како изворен материјал во селекцијата односно во создавањето на нови сорти ориз.

4. Хоризонтална отпорност

Оваа отпорност базира на физиолошко-биохемиски функции на организмот односно ратението, таа не го содржи концептот ген за ген □ отпорност. Овде се работи за отпорност на некои сорти ориз кон голем број издвоени патогени раси од паразитот. Во многу земји од светот, хоризонталната отпорност ја нарекуваат полска отпорност.

Во нашите испитувања се тестирани истите 16 сорти ориз од Македонија и од некои земји кон хоризонталната односно полската отпорност.

За утврдување на хоризонталната отпорност на оризот покрај 16 различни сорти, користени се и 4 различни патогени раси: ИБ-1, ИБ-45, ИБ-49 и ИЦ-17. Оцене на отпорноста во специјалниот матичник е вршена во 5 наврати по никнењето на оризот, а добиените резултати се прикажани во табела 3. Од изнесените резултати може да се види дека тестираните сорти ориз се многу осетливи кон габата *Pyricularia oryzae*. Најмал процент на зараза (13%) е забележан 12 дена по никнењето на оризот кај Крстоската Узрос x Монтичели, а 24 дена по никнењето интензитетот на зараза достигна до 42%. Важно е да се спореди оваа крстоска со добиените резултати од вертикалната отпорност, при што беше утврдена висока осетливост на оваа крстоска кон истите испитувани раси.

Кај другите испитувани сорти е утврден висок процент на инфекција (30-98%), што укажува на заклучокот дека тестираните сорти ориз немаат хоризонтална отпорност кон пламеницата на оризот. Затоа, во иднина е

потребно да се врши тестирање на голем број домашни и странски сорти ориз со цел да се изнајде некоја отпорна сорта кон оваа паразитна габа. Се смета дека некоја сорта ориз има хоризонтална отпорност ако ЗЛП и изнесува до 5% или да добие оцена од 1-3, што во нашите испитувања таква сорта не е најдена.

5. Заклучок

За оваа релативно кратко време е направен обид за совладување на методологијата за тестирање на отпорност на оризот кон оваа значајна растителна болест - пламеницата на оризот.

Извршено е тестирање на отпорност на 16 сорти ориз, при што беа користени 10 патогени раси, изолирани и колекционирани во повеќе земји во светот, а нивната детерминација беше извршена во државата Тексас во САД.

Резултатите од досегашните испитувања за вертикалната отпорност на оризот укажуваат на можноста за постоење на оваа отпорност во нашите сорти ориз. Вертикалната отпорност е утврдена кон расата "AP" кај сортите: Узрос-275, P-76/6, Маратели, РБ x Балдо x Кубан-3 и Маратели x Балдо, меѓутоа овие сорти ориз беа со осетлива реакција кон другите патогени раси. Многу од тестираните сорти беа со интермедијарна реакција кон поделни раси од оваа габа.

Што се однесува до постоењето на хоризонталната отпорност, слободно може да се каже дека кај тестираните 16 сорти ориз не е утврдена хоризонтална отпорност. Затоа, треба да се бара и истражува во многу поголем број сорти ориз.

Еден од најголемите проблеми за испитување на отпорноста (вертикална и хоризонтална) е што постои една голема варијабилност во хибридната популација на голем број патогени раси од оваа паразитна габа. Ние во иднина ќе се раководиме од заклучокот дека тешко може една раса да нападне на сите сорти ориз, но и се согласуваме со сознанието дека можеме да најдеме сорта ориз што ќе биде отпорна кон сите патогени раси, на мислење сме дека не постои таква сорта што ќе биде отпорна кон сите раси, но голем успех бо идните истражувања ќе биде утврдување на сорта ориз што ќе е отпорна кон поголем број раси, било тие да потекнуваат од Македонија или од некој друг регион каде што се одгледува оризот.

Литература

Asuyama, H. 1965: Morphology, taxonomy, host range and life cycle of *P. oryzae* In the rice blast disease. Baltimore, Maryland.

Atkins, J.G. 1962: Prevalence and distribution of pathogenic races of *P. Oryze* in the U.S., *Phytopathology* 52:2.

Barr, M.E. 1977: Magnaporthe, Tellimenella and hyponectria (*Physosporollaceae*). *Mycologia* 69:552-966.

Chien, C.C. 1967: Studies on the physiological races of the rice blast fungus, *P. oryzae* Cav. *Bulletin of the Taiwan Agricultural Research Institute* 26.

Hirano T. 1967: Recent problems in rice breeding for blast resistance in Japan. Tokyo, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council.

IRRI, (International Rice Research Council), Annual reports for: 1964, 1966 and 1975.

Latterell, F.M. Tullis, E.C. Otten R.T. and Gubernik A. 1954: Physiologic races of *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 44:495.

Latterell, F.M. Tullis, E.C. Otten R.T. and Collier, J.W. 1960: Physiologic races of *Pyricularia oryzae* Cav., *Plant Dis. Repr.* 44 (9) 679-683.

Ling, K.C. 1968: Results of 1966 and 1967 International uniform blast nursery test. *International Rice Commission Newsletter* 17 (3) 1-23.

Marchetti, M.A., Rush, M.C. Hunter, W.E. 1976: Current status of rice blast in the Southern United States. *Idid.* 60.721-725.

Ou, S.H. 1964: Results on the FAO-IRC 1962-1963 uniform blast nursery tests. *Int Rice Commission Newsletter* 13 (3) 22-30.

Ou, S.H. 1966: *International Rice Commission Newsletter* 15 (3) 1-13.

Ou, S.H. 1985 *Rice Disease Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England.*

Padmanabhan, S.Y. 1965: Estimating losses from rice blast in India. In. *rice blast disease*, 203-221. Baltimore, Maryland.

Padmanabhan, S.Y., Mathur, S.C., Mirsa, R.K. 1974: Breeding for blast resistance in India, genetic of resistance. *Indian Journal of Genetics and plant breeding.* A 34, 424-429.

Suzuki, H. 1967: *Studies on biological spacialization in P.oryzae.* Tokyo. Institute of plant pathology.

Suzuki, H. 1965: Origin of variation in *P.oryzae*. In *the blast disease.* Baltimore, Maryland.

Tanaka, Y. Murata, N. Kato, H. 1979: Behavior of nuclei and chromosomes during ascus development in the mating between either ricestrain or weeping love-gras strain and regi-starin of *Pyricularia*. *Ibid.* 45, 182-191.

Valent, B., Crawford, M.S., Weaver, C.G., Chumley, F.G. 1986: Genetic studies of fertility and Pathogenicity in *Magnaporthe grisea* (*Pyricularia oryzae*). *Iowa state Journal of Research.* Vol. 60.N4.

Wu.H.K., Tsao T.H. 1967: The ultrastructure of *P.oryzae* Cav. *Botanical Bulletin of academia Sinica* 8. 353-363.

Yaegashy, H., Hebert, T.T., 1976: Peritecial development and nuclear behavior in *Pyricularia*. *Phytopathology* 66, 122-126

Yaegashy, H., Udagawa, S. 1978: The taxonomical identity of the stase of *Pyricularia grisea* and its allies. *J. Bot.* 56:180-183.

Табела 1 . Одредување на спектарот на вертикална (расно-специфична) отпорност кон 10 патотипови од *P. oryzae*. 1 test.
Tale 1. Determine the spectrum of vertical (race-specific) resistance to 10 pathotypes of *P. oryzae*. 1 test.

Copra	IB-1	IB-45	IB-49	IB-54	AR	IC-17	TXIC-17	ID-13	IG-1
Kuban-3	8	8	4	8	7	8	8	8	8
Uzros x Monticelli	6	6	5	7	8	8	8	8	8
Baldo	8	7	4	7	8	8	8	8	8
Korbenta x Baldo	8	8	6	8	8	8	8	8	8
Uzros-275	8	7	5	8	1	8	8	8	8
R 76/6	8	8	7	8	1	8	8	8	8
Osogovka	8	8	6	7	6	8	8	8	8
Marateli	9	8	4	8	1	8	8	8	8
Monticeli	9	7	4	7	8	8	8	8	7
RB X Balila x RB	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Korbenta	8	8	5	7	7	8	8	8	8
H-15-38	8	6	5	7	7	8	8	6	4
Kocanski	9	8	7	8	8	8	8	6	8
N. 69	9	8	7	8	8	8	8	8	8
RB x Balila x Kuban - 3	9	8	8	7	1	8	8	8	8
Marateli x Baldo	8	5	5	6	1	8	8	6	8

Табела 2. Одредување на спектарот на вертикална (расно-специфична) отпорност кон 10 патотипови од *P. oryzae*. 2 test.
Tale 2. Determine the spectrum of vertical (race-specific) resistance to 10 pathotypes of *P. oryzae*. 2 test.

Copra	IB-1	IB-45	IB-49	IB-54	AR	IC-17	TX IC-17	ID-13	IG-1
Kuban-3	8	8	8	8	8	7	7	8	4
Uzros x Monticelli	8	8	8	8	8	7	7	4	6
Baldo	8	8	8	8	8	7	7	4	5
Korbenta x Baldo	8	8	8	8	8	8	8	8	7
Uzros-275	8	4	7	2	8	7	8	1	6
R 76/6	8	8	8	0	8	8	8	4	8
Osogovka	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Marateli	8	8	8	2	8	8	5	4	7
Monticeli	8	8	8	8	8	7	7	2	7
RB X Balila x RB	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Korbenta	8	7	8	8	8	7	6	6	7
H-15-38	8	6	8	8	4	3	4	4	4
Kocanski	8	8	8	8	8	7	7	6	8
N. 69	8	8	8	8	8	8	8	8	8
RB x Balila x Kuban - 3	8	8	8	2	8	8	8	6	8
Marateli x Baldo	8	6	7	1	7	4	7	4	6

Табела 3. Хоризонтална (расно-неспецифична, полска, трајна) отпорност

Table 3. Horizontal (race non-specific field, durable) resistance

СОРТА	Денови по никнењето – Days after seeding emergence				
	Em	Em	Em	Em	Em
	.+1 2	.+1 4	.+1 8	.+2 0	.+2 4
Kuban-3	47	68	68	73	88
Uzros x Monticelli	13	20	25	28	42
Baldo	45	62	65	70	82
Korbenta x Baldo	55	73	82	83	94
Uzros-275	35	58	68	75	82
R 76/6	37	58	53	57	57
Osogovka	47	72	67	67	83
Marateli	63	85	87	90	93
Monticeli	50	63	57	60	72
RB X Balila x RB	35	53	62	67	70
Korbenta	30	45	58	58	73
H-15-38	53	75	80	80	87
Kocanski	33	53	62	65	80
N. 69	73	92	95	97	98
RB x Balila x Kuban - 3	57	78	82	87	92
Marateli x Baldo	42	60	75	82	88

ЛИСНИ ВОШКИ КАЈ ПИПЕРКАТА ВО СТРУМИЧКИОТ РЕОН

Душан Спасов

2001, Охрид, Р. Македонија, 26 Советување за заштита на растенијата.

Краток извадок

Со овие испитувања е даден нов прилог на познавањето на лисните вошки кај пиперката. Квалитативната анализа покажа дека кај пиперката во Струмичко се присутни пет вида лисни вошки: *Myzus persicae* Sulz.; *Aphis gossypii* Glov.; *Aphis fabae* Scopoli; *Aulacortum solani* Kalt. и *Macrosiphum euphorbiae* Thomas.

По извршената квалитативна анализа, извршена е и квантитативна анализа на присутните лисни вошки по време на долетување и видови. Анализата покажа највисока застапеност на лисните вошки од половината на мај до половината на јуни. Во есенскиот дел највисока застапеност лисните вошки имаа од половината на септември до половината на октомври. Како најзастапени видови лисни вошки се: *M. persicae* со 44,34 % и *A. gossypii* со 33,81%.

Клучни зборови: пиперка, лисни вошки, квалитативна и квантитативна анализа, *M. persicae*, *A. gossypii*, *A. fabae*, *A. solani*, *M. euphorbiae*.

APHIDS OF PEPPER IN THE STRUMICA REGION

Dusan Spasov

2001, Ohrid, R of Macedonia, 26 Consultation conference for plant protection

Abstract

The purpose of these work was to extend a new contribution of knowing of pepper Aphids. The qualitative analysis it was consider that in the region of Strumica there were five species of pepper Aphids: *Myzus persicae* Sulz.; *Aphis gossypii* Glov.; *Aphis fabae* Scopoli; *Aulacortum solani* Kalt. and *Macrosiphum euphorbiae* Thomas.

The quantitative analysis of the Aphids was done according to it's presents in the period of arriving and according to it's species. It was consider that the higher presents of Aphids was noticed in the spring time, started at the second half of may till the second half of jun. In the outhom time the higher present of Aphids was noticed from the second half of the september till the second half of the october.

The most frequent species of Aphids are *M. persicae* with 44,34% of presents and *A. gossypii* with 33,81%.

Key words: pepper, Aphids, qualitative and quntitative analysis, *M. persicae*, *A. gossypii*, *A. fabae*, *A. solani*, *M. euphorbiae*.

1. Вовед

Пиперката е осетлива на напад од разни видови инсекти од сеидбата до бербата. Нападот на штетните инсекти врз растенијата од пиперката, предизвикува појава на разни симптоми: Семето и 'ркулците може да бидат целосно уништени или оштетени при што не доаѓа до никнење. Инсектите, го оштетуваат кореновиот систем прегризувајќи го или убушувајќи се во внатрешноста, како последица на што доаѓа до овенување на растенијата. Кај младите растенија, инсектите го прегризуваат стеблото, кај вака прегризените растенија под влијание на допир или ветер, лесно доаѓа до крѓење а со самото тоа и овенување на растенијата. Лисјата од пиперката се добра храна на поголем дел од инсектите, при што доаѓа до нивно физичко отстранување или деформација, накадрување, пожолтување и појава на други симптоми. Со својата активност, дел од инсектите ги оштетуваат или целосно ги уништуваат цветовите на пиперката. Инсектите хранејќи се од младите плодови ги деформираат или убушувајќи се во самите нив целосно ги уништуваат.

Едни од позначајните видови инсекти кои предизвикуваат позначајни штети на пиперката се лисните вошки, *Aphididae* – **Homoptera**.

2. Материјал и метод на работа

Испитувањата се вршени во текот на двегодишниот период 1992 - 1993 година во Струмица. Опитот беше поставен на површина од 0,5 ха пиперка, сорта Куртовска капија, на опитните површини при Институтот за јужни земјоделски култури. На опитната парцела беа поставени пет ловни садови, распоредени по целата површина, садовите беа наполнети со 2/3 вода во кои беше додаден и детергент за перење, за да се намали површинскиот напон на водата. Ловните садови, беа поставени на висина која го пратеше врвот на културата. На самиот почеток садовите беа поставени на површината на почвата, со прирастот на пиперката садовите се поместуваа во висина. Садовите беа поставени од расадување на пиперката до крајот на вегетацијата. Материјалот од ловните садови се собираше на секој три дена, се носеше во лабораторија, каде се вршеше триажи и детерминација. Во опитот беа користени и обоени лепливи ленти, сина бела и жолта, по три од секоја боја. На обоените лепливи ленти се вршеше броење на уловениот материјал на секој 15 дена.

3. Резултати и дискусија

3.1. Квалитативна анализа

Анализата на материјалот покажа дека на пиперката во Струмичко се присутни следните видови лисни вошки:

- *Myzus persicae* Sulz.
- *Aphis gossypii* Glov.
- *Aphis fabae* Scopoli
- *Aulacortum solani* Kalt.
- *Macrosiphum euphorbiae* Thomas

3.2. Квантитативна анализа

Со цел да се добие одредена слика за застапеноста на лисните вошки кај пиперката во Струмичкиот реон, покрај квалитативниот состав е извршена и квантитативна анализа на уловените индивидуи.

3.2.1. Вкупна застапеност на лисните вошки кај пиперката

При испитувањето на вкупната застапеност на лисните вошки на пиперката, уловени се вкупно (во ловни садови и обоени ленти, во двете години на испитување) 1333 единки. Од нив 57,01% се уловени со ловни садови, 42,99% со лепливи обоени ленти (таб.1).

а) Резултати добиени со ловни садови

Вкупната застапеност на единки од лисните вошки на пиперката, уловени со ловни садови во двете години на испитување, прикажани се во табела . Од вкупно анализираните 760 единки од лисните вошки, најзастапен е видот *M.persicae* со 44,34%, потоа *A. gossypii* со 33,81%. Овие два вида заедно се застапени со 78,15% на кои им припаѓаат повеќето од половината на уловените единки. Со помала бројност се застапени видовите, *A. fabae* со 8,43%, *A. solani* и *M.euphorbiae* со 6,71%.

б) Резултати добиени од лепливи обоени ленти

Овие резултати во двете години на испитување се дадени во табела 3.

Поради неможноста единките од лепливите ленти да се детерминираат, ги даваме само како вкупно застапени лисни вошки за различно обоени ленти.

Најмногу уловени единки има на жолтата лента - 45,55%, на сината 29,32% и на белата - 25,13%.

3.2.2. Застапеност на лисните вошки по видови и време на долетување

Покрај изнесените анализи за бројноста на единките, направена е анализа на застапеноста на видовите по времето на долетување.

Во периодот на долетување од зимскиот на летниот домаќин, најбројно долетување имаше од втората декада на мај до крајот на јуни. Во овој период најмногу застапени беа *M.persicae* и *A. gossypii*.

Во периодот на прелетување на лисните вошки од летниот на зимскиот домаќин, најбројно долетување имаше третата декада на септември и првата декада на октомври. Најмногу застапени во овој период беа видовита *M.persicae* и *A.Gossypii*.

4.Заклучок

Врз основа на добиените резултати од испитувањата може да се извлечат следните заклучоци:

1.На пиперката во Струмичко се присутни 5 видови лисни вошки: *Myzus persicae* Sulz, *Aphis gossypii* Glov, *Aphis fabae* Scopoli, *Aulacortum solani* Kalt и *Macrosiphum euphorbiae* Thomas.

2. Според вкупната застапеност на лисните вошки по видови, најмногу застапен е видот *M. persicae* со 44,34%. Потоа следуваат *A. gossypii* со 33,81%, *A. fabae* со 8,43%, *A. solani* со 6,71% и *M. euphorbiae* со 6,71%.

3.Според резултатите добиени од лепливите обоени ленти, најмногу уловени единки се на жолто обоената лента 45,55%, потоа сината 29,32%, а најмалку на бело обоената лента 25,13%.

4. Според времето на долетување, на крилати лисни вошки се јавуваат два термини: првиот термин е пролетниот, кога лисните вошки се селат од зимскиот на летниот домаќин (мај-јуни). Вториот термин е есенскиот, кога

лисните вошки се селат од летниот на зимскиот домаќин (септември-октомври).

5. Според времето на долетување на лисните вошки по видови, нај застапени се видовите: *M. persicae* и *A. gossypii*.

Литература

1. Банџо, С. (1991): "Испитување на отпорноста на некои сорти салата кон различни биотипови вошки од видот *Myzus persicae* Sulz.", Зборник на трудови, Година II, Том 2, 77-83, Скопје.

2. Blesić, B. (1982): "Lisne vaši žitarica, korovskih trava i njihovi predatori u Vojvodini". Glasnik zaštita bilja, br.6, Zagreb.

3. Bleckman, R.L.; Eastop, V.F. (1984): "Aphids on the worlds crops: An identification and information guide", John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, 466 pp.

4. Василев, Љ (1971): "Биолошки развој и предаторско влијание на *Coccinella septempunctata* L., врз редуцирањето на лисната вошка *Myzus persicae* Sulz. на тутунот". Тутун 3-4, Прилеп.

5. Григоров, Ст. (1969): "Листните вџшки по зеленчуковите растения, биолошките особеност и средства за борба", Градинарство, кн. 6, Софија.

6. Григоров, Ст. (1976): "Специална ентомологија", Земиздат, Софија.

7. Григоров, Ст. (1977): "Лисните вџшки и интегрираната борба", Растениевјадни науки, кн. 10, Софија.

8. Григоров, Ст. (1980): "Листните вџшки и борбата с тях", Земиздат, Софија.

Табела 1. Вкупна застапеност на лисните вошки на пиперот
 (уловени во ловни садови и обоени ленти)

Table 1. Total presence of leaf louse on pepper
 (hunting post and color ribbons)

Метод на ловење Method of hunting	Број на единки Number of individuals	%
Ловни садови / Hunting post	760	57,01
Обоени ленти / Color ribbons	573	42,99
Вкупно / Total	1333	100,00

Табела 2. Вкупна застапеност на лисните вошки кај пиперот по
 видови (уловени во ловни садови)

Table 2. Total of leaf louse on pepper per species (hunting pots)

Вид-Species	Ловни садови / Hunting pots	
	број на единки Number of individuals	%
Мсзус персицае Сулз	337	44,34
<i>Aphis gossypii</i> Glov.	257	33,81
<i>Aphis fabae</i> Scopoli	64	8,43
<i>Aulacortum solani</i> Kalt.	51	6,71
Мацросишум еупхорбиае Тхомас	51	6,71
Вкупно-Total	760	100,00

Табела 3. Вкупна застапеност на лисните вошки кај пиперката
 (уловени со обоени ленти)

Table 3. Total presence of leaf louse on pepper
 (color ribbons)

Боја на лентата Color of the ribbon	Број на единки Number of individuals	%
жолта / yellow	261	45,55
сина / blue	168	29,32
бела / white	144	25,13
Вкупно / Total	573	100,00

Табела 4. Квалитативен и квантитативен состав на л.в. на пиперката во пролет

Table 4. Qualitative and quantitative system of leaf louse in spring

Датум на собирање материјалот и број единки Date of collecting material and number of individuals												
Вид Species	16.V	19.V	22.V	25.V	28.V	31.V	03.VI	06.VI	09.VI	12.VI	15.VI	Вкупн. Total
Myzus persicae	20	25	17	20	13	10	7	5	5	3	2	127
Aphis gossypii	15	22	17	18	11	10	6	3	4	2	1	109
Aphis fabae	2	2	1	2	2	1	3	3	2	/	/	18
Aulacortum solani	4	3	1	2	1	3	1	2	1	/	/	18
Macrosiphum euphorbiae	3	2	1	1	2	3	2	2	/	1	/	17

Табела 5. Квалитативен и квантитативен состав на л.в. на пиперката во есен

Table 5. Qualitative and quantitative system of leaf louse on pepper in autumn

Датум на собирање материјалот и број единки-Датум на собирање материјалот и број единки-Датум на собирање материјалот и број единки Date of collecting material and number of individuals										
Вид- Species	21.IX	24.IX	27.IX	30.IX	03.X	06.X	09.X	12.X	Вкупно Total	
Myzus persicae	10	9	11	4	4	4	5	3	50	
Aphis gossypii	5	4	4	7	4	4	3	2	33	
Aphis fabae	2	1	/	/	1	1	1	/	6	
Aulacortum solani	/	1	/	1	1	1	1	/	5	
Macrosiphum euphorbiae	/	1	/	1	1	/	2	/	5	

ЗДРАВСТВЕНА СОСТОЈБА НА ПИПЕРКАТА ВО ЈУГОИСТОЧНИОТ РЕГИОН НА РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА ВО 2001 ГОДИНА

Митрев С. и Спасов Д

2001, Охрид, Р.Македонија, 26 Советување за заштита на растенијата.

Краток извадок

Целта на овие проучување беше, во текот на производната 2001 година да се изврши согледување и да се утврди здравствената состојба на пиперката во југоисточниот дел на Р. Македонија.

Во текот на испитувањата регистрирано е присуството на повеќе растителни болести со различна природа и тоа од: габно, бактериско и вирусно потекло, како и присуство на различни штетници. За правилна детерминација на некои позначајни габни и бактериски заболувања извршени се и лабораториски испитувања.

Од резултатите добиени при ова испитување може да се заклучи дека, во текот на производната 2001 година најголема застапеност имаа вирусните заболувања кои ги причинуваат: вирусот на мозаикот на краставицата кај пиперката *Cucumis mosaic virus - CMV*, вирусот на мозаикот на луцерката *Alfalfa mosaic virus - AAMV*, вирусот на мозаикот на тутунот *Tobacco mosaic virus - TMV* и некои други не толку значајни вируси. Габните и бактериските заболувања се појавуваа со послаб интензитет, но и нивното значење не е ништо помалку важно. Од габните болести посебно значење има причинителот на пламеницата кај пиперката (*Phytophthora capsici*), додека од бактериските болести најзначен е причинителот на дамкавост кај листовите и плодовите (*Xanthomonas vesicatoria*).

Јакиот интензитет на вирусните болести можеби се должеше на јаката застапеност на лисните вошки, трипсите и зелената цикада, кои претставуваат всушност и најважни преносители на вируси кај пиперката, што повеќе го усложнуваа проблемот со заштита на пиперката, особено при производство на семе кај сортата куртовска капија.

Клучни зборови: пипер, болести, штетници, Р. Македонија.

THE HEALTH CONDITION OF PAPER PLANTS IN 2001 IN STRUMICA DISTRICT

Mitrev S. and Spasov D.

2001, Ohrid, R of Macedonia, 26 Consultation conference for plant protection

Abstract

This study was undertaken to show survive of different pathogens on pepper plants *Capsicum annuum* L. and health condition of this plant in Strumica district. Pepper is a vegetable plant with great economic importance to the people in this region.

The health condition of pepper plants was observed in the field, plastic tunnels and green houses. There were presented different plant diseases caused by fungi (*Phytophthora capsici*), bacteria (*Xanthomonas vesicatoria*), viruses (Cucumis mosaic virus – CMV, Alfalfa mosaic virus - AAMV and Tobacco mosaic virus - TMV) and pests (*Myzus persicae* and *Aphis gossypii*). The laboratory determination of the fungi and bacteria were done.

From the results of this examination we could concluded that viruses were most important pathogens in cultivation of pepper, and caused the great losses in Strumica district. But this year the situation with viruses was better then the other years in the past.

Key words: pepper, diseases, harmful insects, Republic of Masedonia

1. Вовед

Пиперката за Р. Македонија претставува економски важна градинарска култура. Поради своите квалитетни својства пиперката е една од најценетите и најраширените градинарски култури.

Површините на кои се одгледува пиперката варираат од година на година, во зависност од повеќе фактори, а исто така и приносите. Пиперката се одгледува на отворено и во заштитен простор (пластеници и стакленици). Најзастапени сорти се: Куртовска капија која се одгледува исклучиво на отворено, Златен медал, Бела долга, Жупска рана кои се одгледуваат во заштитен простор и мал дел на отворено, од лута пиперка застапени се: Скопска лута, шипка, Струма, Романа и др. кои се одгледуваат во заштитен простор, помал дел на отворено.

Од повеќето неповолни фактори кои делуваат за нискиот принос и лошиот квалитет пред се, на Куртовската капија секако се и фитопатогените организми и различните штетници.

2. Материјал и метод на работа

Овој прегледен труд е резултат од активностите на Институтот за јужни земјоделски култури од Струмица, за постојано следење на состојбата со растителните болести и штетници кај повеќето градинарски култури во струмичкиот регион. Перманентното опаѓање на приносот и квалитетот на плодовите, од година во година беше поттик за пратење на здравствената состојба на пиперката.

Во текот на испитувањата извршени се контроли на сите позначајни производни локалитети во околината на Струмица, од каде се земени поголем број на примероци од заболени растенија: Радовиш, Штип, Св.Николе и Кочани. Големината на парцелите во кои беа вршени евидентирањето и оценката се движеа од 0,1-1,5 ха. По потреба на соодветните примероци се извршени лабораториски испитувања, за

одредување на присуството на фитопатогени габи или бактерии кои се причинители на различни заболувања. При испитувањето се користени стандардни лабораториски методи.

За изолирање на патогените габи е користена хранлива компир декстозна подлога (PDA), додека за изолација на бактериите се користени стандардна хранлива подлога (NA) и хранлива подлога обогатена со 5% сахароза (NAS). Патогеноста кај добиените чисти култури испитувана е со помош на вештачки инокулации на тест растенија од пиперка.

Болестите за кои сметавме дека се од вирусно потекло, одредувани се, на основа на манифестираните симптоми споредени со податоците од литература. Не се извршени класични лабораториски идентификации поради отсуството на соодветна опрема и обучен кадар за работа со фитопатогените вируси.

Во наведените локалитети постојано е следена и состојбата со растителните штетници, при што се извршени визуелни прегледи на секои петнаесет дена на површините посеани со пиперка, преглед на плевелната вегетација во парцелите и околу парцелите. Собраниот материјал од терен, се носеше во лабораторија каде се вршеше триажа, и детерминација на видовите.

3. Резултати и дискусија

На основа на превземените активности, за утврдување на состојбата со болестите кај пиперката во југоисточниот дел на Македонија, може да се констатира присуството на повеќе фитопатогени организми:

A) Вирусни болести

A1) Вирусот на мозаикот на краставицата (VMK) кај пиперката.

Вирусот на мозаикот на краставицата кај пиперката *Cucumis mosaic virus* (VMK) е еден од најраспространетите и најопасните причинители на заболување кај ова растение. Паразитот секоја година редовно е присутен по парцелите, обично околу 20-30%, а понекаде се заразени и преко 60% од прегледаните растенија. Во производната 2001 г. застапеноста на вирусот (VMK) беше над очекуваното ниво, и се движеше од 70-100%. Најголем дел од заразените парцели над 90% се на пиперка одгледувана на отворено и тоа на сорта Куртовска капија во Струмичкиот регион и дел од Радовишкиот регион.

Симптомите се многу впечатливи за овој вирус, но сепак зависат од неколку фактори и тоа: од осетливоста на растението, вирулентноста на сојот на вирусот, староста на растението и условите на средината. Штетите од патогениот вирус, како и обично, се огледуваа во смалувањето на приносот и квалитетот на плодовите. Кај листовите првите симптоми се појавуваа во облик на фин хлоротичен мозаик, во некои случаи се формираа жолти пеги, со неправилна форма и појава на некроза долж мозаичните шари. Карактеристично е што некои лиски беа издолжени, додека други кратки и ситни, обично при самиот врв на заболеното растение. Лиските кај некои растенија беа поголеми од нормалните со изразени нерви, додека средниот нерв е во цик-цак положба. Кај заразените растенија се јавуваа поголем број на гранки со скратени меѓуколенца и со

збиени листови, поради што заразените растенија имаа жбунест и метличав изглед.

Кај плодовите на пиперката се среќаваа патогени промени поради изобличувањето на цветовите и стерилноста на поленот, поради што плодовите не се образуваа или нивниот број беше мал, додека формираните плодови во повеќето случаи беа закржлавени, изобличени и со појава на некроза по нивната површина.

Забележано е и присуство на растителните вошки *Myzus persicae* и *Aphis gossypii* кои воедно се и неперзистентни преносители на овој вирус.

A2) Вирусот на мозаикот на луцерката (AAMV) кај пиперката

Пиперката е едно од по осетливите растенија према вирусот на мозаикот на луцерката (AAMV). Овој вирус причинува значајни економски штети така што приносот може да биде намален и до 65%. Заболувањата што се јавуваа на прегледаните површини како резултат од нападот на овој вирус, беа чести и имаа појак интензитет во однос на претходните години и се движеше од 10-50%. И од овој вирус најголем дел од заразените парцели над 90% се на пиперка одгледувана на отворено и тоа на сорта Куртовска капија, во Струмичкиот регион и дел од Радовишкиот регион.

Симптомите на заболувањето најрано се забележани во поединечни расади по котиледонските листови, обично во случаи кога е користено заразено семе. Дамките се белузлави и се распоредени рамномерно по површината на лиската. Слични симптоми се јавуваа и кај првите постојани листови, во вид на бели или жолтеникави дамки со неправилен облик, кои постепено се прошируваа и кај другите листови, зафаќајќи го ткивото помеѓу лисните нерви. Во случаи кога заразата потекнува од заболено семе, растенијата значително заостануваа во порастот, слабо цветаа и формирањето на плодовите беше доста намалено. Кај зелените плодови, се јавуваа линии или тесни белузлави-жолтеникави траки, кое претставуваа дијагностички знак. Заразените плодови се искривени према вршната третина или половина.

Познато е дека во природата овој вирус (AAMV) добро се одржува во многу едногодишни и двогодишни домаќини, како што е луцерката, белата и црвената детелина, каде вирусот се одржува и се пренесува во наредната година.

Кај прегледуваните парцели беа присутни лисните вошки, како што се: *Myzus persicae* и *Aphis gossypii*, кои воедно се и неперзистентни преносители на вирусите кај пиперката.

Б) Бактериски болести

Б1) *Xanthomonas vesicatoria* – бактериска дамкавост кај пиперката

Карактеристичните симптоми кои се јавуваа кај листовите на пиперката, укажуваа на присуството на бактериска заболувања. Во текот на вегетацијата, посебно почнувајќи од средината на месец јули, па се до крајот на месец септември, во почетокот имаше појава на ситни дамки, неправилно распоредени по површината на листовите, мрсни, темно зелени, покасно некротични и се прошируваат и спојуваат помеѓу себе. Дамките ретко се среќаваа по плодовите.

Потребно е да се нагласи дека интензитетот на појавата и причинетите штети од ова бактерија се незначителни, во споредба со

некои претходни години (1995). Имаше само некое поголемо значење кај поединечни парцели.

Б2) *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* - бактериска дамкавост на расадот

Симптомите од ова бактерија се среќаваа по котиледоните ливчиња и по првите вистински ливчиња на растенијата од пиперката во расадот. Во почетокот дамките беа мрсни, темно зелени, неправилни и различни по големина, брзо се шират од лист на лист и од едно на друго растение. Воглавно симптомите беа забележани во расадот кај пиперката од сортата куртовска капија, во периодот од 20 април до 10 мај. Карактеристично е, што ова бактериско заболување, се јавува секоја година во поедини расади, независно толку од надворешните услови колку од микроклиматските услови внатре во пластеникот. Бидејќи младиот расад е заштитен со полиетиленска фолија, и ако, внатре се исполнат одредени услови, доаѓа до брза појава и проширување на заболувањето, кое го причинува бактеријата *P.s. pv. syringae*.

В) Габни болести

Фитопатогените габи имаат големо влијание во смалувањето на приносот кај пиперката. Габните заболувања во струмичкото производно подрачје се јавуваат секоја година со различен интензитет, но не предизвикуваат некои поголеми и значајни штети. Постојат и извесни исклучоци во поедини години, посебно кога станува збор за габата *Phytophthora capsici*.

В1) *Phytophthora capsici* - пламеница кај пиперката.

Пламеница кај пиперката која ја предизвикува габата *Phytophthora capsici* е една од најзначајните и економски најважните болести кај пиперката, затоа што при нејзина појава можно е приносот да биде тотално уништен. Габата е присутна во Македонија и во струмичко повеќе од 20 години, причинувајќи големи штети со нејзината изненадна појава и брзо ширење. Болеста како што е вообичаено се развиваше по приземниот дел на стеблото и кореновиот врат кај пиперката, поретко по другите растителни органи. Растенијата пропаѓаа и мал број од нив можеа да се опорават од болеста. Производството на пиперката во струмичко во 2001 год. не беше поштедено од ова опасна габа, со нејзина појава и поголеми штети.

Посебно изразена и со поголем %, оваа габна болест се јавува на подрачјето на селата Куклиш, Банско, Муртино и др., на пиперката во заштитен простор и со помал интензитет на отворено. Во последните две години со поголем интензитет се јавува на Куртовската капија во Радовишкиот регион.

Г) Штетници

На производните површини под пиперка се пратеше состојбата со штетните инсекти, при што е забележана следната состојба:

Г1) Лисни вошки- *Aphididae*

На испитуваните локалитети, лисните вошки беа вообичаено присутни, но карактеристично беше, што, нивната бројност и интензитетот на нападот на одредени локалитети беа доста јаки. Појава со појак интензитет на напад од лисни вошки и стварање на колонии, имаше од почетокот на август до 20 септември. Во поединачни форми, лисните вошки се забележани на сите реони во текот на целата вегетација на

пиперката.Првата појава од лисни вошки, имаше уште во април на плевелната вегетација.Посебно значајни, се како преносители на вирусни болести на Куртовската капија, која во оваа производна година беше зафатена на голем дел од површините. Како најзастапени видови на ова подрачје се јавуваат лисните вошки: *Myzus persicae* Sulz и *Aphys gosiipi* Glov.

Г2) Трипси- Thripidae

Трипсите (*Thrips tabaci* и *Franklinela occidentalis*) во 2001год. беа присутни кај пиперката во ова производно подрачје, од година во година трипсите имаат се поголемо значање како штетници на пиперката, кои го намалуваат приносот и квалитетот на плодовите. Трипсите се значајни преносители на вирусни болести.

Г3) Цикади-Cicadidae

Како штетници на пиперката во производната 2001 година скоро на сите испитувани реони, беа застапени со поголем процент зелените цикади, кои се значајни преносители на вирусите кај пиперката.

Г4) Двоточкасто пајаче-Tetranychus urticae

Како штетник на пиперката во испитуваната година се јави и двоточкасто пајаче. Со поголем интензитет се јави на пиперката во заштитен простор и тоа на пиперка засадена како втора култура, каде што мораше да се превземат хемиски мерки за сузбивање, да не направи посериозни штети на посевите.

Г5) Совици- Noctuidae

Од совиците посериозни штети на пиперката имаше од **Heliothis obsoleta**- памуковата совица. Појава со поголем интензитет од оваа совица имаше втората половина на август и септември, кога имаше и поголеми оштетувања, каде имаше значаен број на оштетени плодови од пиперката на отворено, сорта Куртовска капија и пиперка во заштитен простор, како втора култура од сортите Златен медал, Бела долга и некои хибриди, кои се застапени на помали површини.

4.Заклучок

Присуството на различните растителни болести и штетници во голема мерка го смалуваа приносот кај пиперката. Секако најголемо значење од сите причинители на растителни болести имаа фитопатогените вируси, а во помал степен фитопатогените габи и бактерии. Фитопатогените вируси предизвикаа позначајни штети, регистрирано е присуството на вирусот на мозаикот на краставицата (**CMV**) , вирусот на мозаикот на луцерката (**AAMV**) и други вируси но во помал %.

Од штетните инсекти најзастапени беа лисните вошки,но значајно место како штетници имаа трипсите и зелената цикада, особено како преносители на вирусите.Здравствената состојба кај пиперката, во производната 2001 год. може да се оцени како многу лоша во споредба со претходните неколку години.

Плодоредот, е многу значајна агротехничка мерка, која доста слабо или многу ретко се применува на прегледаните парцели посебно во струмичкиот регион. Од повеќе причини, пиперката долго време се одгледува на исто место и состојбата со растителните болести и штетници постојано се влошува од година во година.

Значењето што го имаат растителните болести и штетници, во намалувањето на приносот кај пиперката, се зголемува уште повеќе со неправилната и не навремената употреба на хемиски средства.

Литература

- Arsenijević, M. (1988): Bakterioze biljaka. Naučna knjiga, Beograd.
- Григоров, С. (1976): Специална ентомологија, Земиздат, Софија.
- Klement, Z., Rudolph, K. i Sands, D.C. (1990): Methods in Phytobacteriology. Akademiai Kiado, Budapest 1990.
- Kolektiv autora, (1983): Priručnik izveštajne i prognozne službe zaštite poljoprivrednih kultura, Beograd.
- Ivanović M. (1992): Mikoze biljaka. Nauka. Beograd.
- Јованчев, П., Пејчиновски, Ф., Јанкуловски, Д., Русевски, Р., Банџо и Попсимонова Гордана (1996): Здравствена состојба на пиперката во Република Македонија во 1995 година. Годишен зборник за заштита на растенијата, Вол. VII, 159-169.
- Maceljski, M. Kišpatić, J. (1987): Zaštita povrća. Nakladni zavod znanja. Zagreb.
- Митрев, С. Спасов, Д. (1995): Здравствената состојба на пиперката куртовска капија во струмичкиот регион во 1994 година. Годишен зборник за заштита на растенијата, Vol. VI, 33-38.
- Митрев, С. Спасов, Д. (1999): Здравствената состојба на пиперката куртовска капија во струмичкиот регион во 1998 година. Годишен зборник за заштита на растенијата, Vol. X, 163-171.
- Šutić, D. (1983): Viroze biljaka. Nolit, Beograd.