

## ОДРЕДУВАЊЕ НА ОТПОРНОСТА КАЈ ТУТУНОТ СПРЕМА *PHYTOPHTHORA PARASITICA* VAR. *NICOTIANAE* ПРЕКУ ИНОКУЛАЦИЈА НА КОРЕНОТ

Ташкоски П.

ЈНУ Институтот за тутун - Прилеп

### В О В Е Д

Болеста црнилка претставува сериозна закана за производството на тутун во повеќе земји во светот, причинувајќи големи економски штети.

Оваа болест е од посебен интерес за нашата практика, бидејќи истата е и најмалку е проучувана кај нас.

Причинителот на болеста, габата *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*, инфекциите ги извршува преку коренот, а симптомите се манифестираат со појава на некроза по стеблото и венење и сушење на листовите.

Бидејќи се работи за почвен патоген, примената на хемиски препарати не обезбедува целосна заштита на тутунската култура. Од тие причини се пристапило кон селекционирање на отпорни сорти тутун. Прв кој почнал да се занимава со селекција на сорти отпорни на болеста црнилка е Tisdale во Флорида, 1922 година. Тој ја добил сортата Florida 301 која во наредните четириесет години се користела како отпорен родител за создавање на голем број сорти отпорни на црнилката (4).

Повеќе автори ја испитувале реакцијата на тутунските сорти и линии кои носат отпорност спрема црнилката од видовите *Nicotiana tabacum* - Florida 301, *Nicotiana longiflora* и *Nicotiana plumbaginifolia* (8, 11). Новодобиените сорти тутун немаат подеднаква отпорност кон расите од патогенот. Така, растенијата кои носат отпорност од сортата Florida 301 се умерено отпорни и реагираат слично кон расите О и

1, додека растенијата кои носат отпорност од *Nicotiana longiflora* и *Nicotiana plumbaginifolia* имаат висока отпорност кон расата О, но се целосно осетливи на расата 1.

Отпорноста на тутунот спрема *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* и селекционирањето на отпорни сорти тутун кон патогенот и денес претставуваат предмет на проучување кај голем број истражувачи (2, 3, 7).

Со цел да се провери патогеноста на изолатите од габата, а воедно и да се проучи реакцијата на новите сорти тутун кон овој патоген, како брз и едноставен метод се користи тест-котиледонскиот метод (5, 6, 10), како и методот на инокулирање на коренот од тутунскиот расад (5).

Кореновата инокулација на расадот се користи како брз метод за одредување на отпорноста кај сортите тутун, за пресметување на ефикасноста на хемиските препарати против црнилката и за одредување на патогеноста на изолатите од *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*.

Во нашите проучувања го користевме методот на инокулирање на коренот од млади тутунски растенија, со цел да ја провериме вирулентноста на неколку изолати од габата, како и отпорноста на повеќе домашни и странски сорти тутун спрема патогенот. Овој метод е добар за проверување на отпорноста на сортите тутун, бидејќи резултатите се добиваат во почетните фази од селекционирањето на новите сорти.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

Инокулирањето на коренот од младите тутунски растенија го извршивме во лабораториски услови, за да ја провериме отпорноста кај некои видови и сорти тутун од домашно и странско потекло кон двете раси од патогенот (раса О и раса 1). Како материјал за испитувањето беа користени растенија од три видови од родот *Nicotiana* и растенија од десет домашни и шест странски сорти тутун.

Тестирани беа видовите *Nicotiana longiflora*, *Nicotiana plumbaginifolia* и *Nicotiana glauca*. Од сортите со домашно потекло беа тестирани П 12-2/1, П 7, П 23, ЈК 7-4/2, ЈК 125/3, Џебел бр.1, О 9-18/2, О 110-88/3, Б 1/91 и МВ 1, а од странските сорти, Ку 14, Ку 14 x L8, NC 2326, В 37, Coker 371 gold, и Weinhart 1000-1. Странските сорти тутун имаа различен степен на отпорност кон патогенот. Сортата Ку 14 е високоосетлива на двете раси од габата, а сортата Ку 14 x L8 е отпорна на расата О, а осетлива на расата 1. NC2326 и В37 се со средна отпорност кон двете раси, додека Coker371 и Weinhart 1000-1 се високоотпорни на двете раси.

Семето од видовите и тутунските сорти беше посеано во саксии со стерилизирана смеша од почва, песок и арско ѓубре во однос 1:1:1. Расадот беше одгледуван во услови на Биолошката лабораторија до фаза на 2-4 листови.

Инокулумот беше одгледуван на хранлива подлога овесов агар за време од 15 дена во термостат на температура од 25°C.

Секоја тестирана сорта беше инокулирана со изолатите П4, П10, С45 и П54 кои припаѓаат на физиолошката раса О, и изолатот П 14 кој и припаѓа на физиолошката раса 1 од габата. Со секој изолат

беа инокулирани по 10 растенија, а 10 растенија кои не беа инокулирани ни служеа како контрола. Опитот беше повторен четири пати.

За инокулирање користевме здрави и добро развиени тутунски растенија во фаза на 2-4 листови. Растенијата беа миени со вода од чешма, а посебно кореновиот систем беше добро измиен од остатоците од почва и арско ѓубре. Секое растение беше поставено во стаклен сад, каде имавме ставено по 7 ml дестилирана вода и инокулум од габата. Како инокулум користевме фрагменти од мицелијата на габата, со големина од околу 5 mm. Растенијата за контрола беа поставени во стаклени садови со дестилирана вода.

Инокулираните растенија ги држевме во влажна комора со дневно осветлување од 12 часа и температура од 27°C.

Првите симптоми на инфекција кај некои сорти беа забележани по 4 дена од инокулацијата, со венење на листовите, промена на бојата на коренот, кореновиот врат и стебленцето.

Инфицираните растенија според симптомите на зараза беа визуелно степенувани по 7 дена од инокулацијата по следна индексна скала:

О - без симптоми на зараза

1-4 - заразени растенија (симптоми на хипокотилот, котиледоните, дршките на листовите и лисната плојка)

5 - мртви растенија

Индексот на болеста беше пресметуван по методот на Dukes и Apple (1), на тој начин што бројот на заразени растенија кои се оценети со даден индекс се множат со истиот, а збирот на сите производи се дели со 10, вкупниот број на инокулирани растенија.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултатите добиени при ова испитување за отпорноста на тутунот спрема патогенот *Phytophthora parasitica var. nicotianae*, беа во зависност од вирулентноста на изолатите како и од осетливоста односно отпорноста на тестираните сорти тутун. За ова испитување користевме изолати кои им припаѓаа на две физиолошки раси и кои имаа различна вирулентност.

Од изолатите кои и припаѓаа на расата О, највирулентен беше изолатот П10, со индекс на вирулентност 6,16, а најслабо вирулентен изолатот П4, со индекс на вирулентност 1,75. Изолатот П14 и припаѓа на расата 1, а неговиот индекс на вирулентност изнесува 8,33 (9).

Симптомите на болеста беа забележани по 4 дена од инокулирањето во вид

на промена на бојата кај коренот и кореновиот врат, а подоцна и на котиледоните, лисните дршки и листовите. Резултатите од ова проучување се прикажани табеларно преку индексот на болеста.

Од тестираните видови, највисока отпорност кон двете раси од патогенот покажа видот *Nicotiana nesophila*, каде немаше забележано инфицирани растенија. Кај инокулираните растенија од видовите *Nicotiana longiflora* и *Nicotiana plumbaginifolia* беше регистриран слаб процент на инфицирани растенија со изолатите од двете

раси, со што е добиен и послаб индекс на болеста (Табела 1). *Nicotiana longiflora* беше целосно отпорна на изолатите П4 П10 раса О, а слаба осетливост покажа кон останатите изолати од двете раси. За разлика од неа, видот *Nicotiana plumbaginifolia* беше отпорен на изолатите С45 и П54 раса О, а највисок процент на инфицирани растенија е забележан при инокулирање со изолатот П14 раса 1. Кај овој вид со изолатот П14 индексот на болеста изнесуваше 0,6.

Табела 1 - Индекс на болеста кај одделни видови од родот *Nicotiana* 7 дена по инокулацијата на коренот кај расадот со изолати од габата *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*

Table 1 - Disease index in some species of the genus *Nicotiana* 7 days after inoculation of seedling root with fungus isolates *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*

В И Д Species	И з о л а т и Isolates				
	П 4	П 10	С 45	П 54	П 14
	Р а с а Race				
	О	О	О	О	1
<i>N. longiflora</i>	0,0	0,0	0,2	0,5	0,3
<i>N. plumbaginifolia</i>	0,1	0,5	0,0	0,0	0,6
<i>N. nesophila</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Сортите од странско потекло при ова испитување покажаа различен степен на отпорност. Најголем индекс на болеста (3,1-4,5) со сите испитувани изолати беше регистриран кај сортата Ку 14 и истиот се движеше помеѓу 3,1 и 4,5. Тоа ни покажува дека оваа сорта е доста осетлива како кон расата О така и кон расата 1 од патогенот.

Како најотпорна кон двете раси се покажа сортата Coker 371. Кај неа индексот на болеста се движеше помеѓу 0,3 и 0,8. Исто така со висока отпорност се карактеризира и сортата Veinhart 1000-1, но во ова испитување кај истата беше добиен нешто повисок индекс на болеста со изолатите П4 и П10 раса О. Кај сортата NC 2326 и V 37 беше добиен највисок индекс на болеста. Истиот се движеше помеѓу 1,2 до 3,3 кај NC2326 инокулирана со изолатите П4 и П10 раса О, и 1,2 до 3,9 кај V37 инокулирана со изолатите П4 и П 54 раса О. Спрема висината на добиениот индекс, овие

сорти се одредени како средноотпорни.

Сортата Ку 14 x L8 која е прикажана како осетлива на расата 1, а отпорна на расата О, при нашето испитување ја потврди својата отпорност. Инокулирана со изолатите од расата О, таа покажа помал индекс на болеста кој зависеше од вирулентноста на изолатот, додека кај изолатот П14 раса 1 истиот изнесуваше 1,9 (Табела 2). Од дадените индекси во табелата, јасно се гледа дека оваа сорта е поосетлива на расата 1, а поради нискиот индекс со изолатите раса О, кој се движеше од 0,5 кај изолатот П 4 до 1,2 кај изолатот С45, може да се каже дека има повисока отпорност кон оваа раса.

Симптомите на инфицираните растенија можат да се видат и на прикажаните фотографии (Сл. 1, 2 и 3).

Со испитуваните изолати од двете раси од габата беа тестирани и 10 сорти тутун од домашно потекло. Резултатите од испитувањето се прикажани во Табела 3.

Табела 2 - Индекс на болеста кај некои странски сорти тутун 7 дена по инокулацијата на коренот кај расадот со изолати од габата *Phytophthora parasitica var. nicotianae*

Table 2 – Disease index in some introduced tobacco varieties 7 days after inoculation of seedling root with fungus isolates *Phytophthora parasitica var. nicotianae*

В И Д Species	С о р т а Variety	И з о л а т и Isolates				
		П4	П10	С45	П54	П14
		Р а с а Race				
		0	0	0	0	1
N. tabacum	Ку 14	3,1	4,1	4,0	4,2	4,5
	Ку 14 x L8	0,5	1,1	1,2	1,0	1,9
	NC 2326	1,2	3,3	2,3	0,9	2,6
	B 37	1,2	2,3	3,1	3,9	1,9
	Coker 371	0,5	0,8	0,7	0,3	0,8
	Beinhart 1000-1	1,0	0,7	1,0	0,7	0,8



Сл.1 - *P. parasitica var. nicotianae* - Вештачка инокулација на коренот кај сортата NC 2326 (лево-контрола, десно инокулација со изолатот П10)  
Fig. 1- *P. parasitica var. nicotianae* - Artificial inoculation of the root in variety NC 2326 (left- check, right-inoculation with P10 isolate)



Сл. 2- *P. parasitica var. nicotianae* - Вештачка инокулација на коренот кај сортата Ку 14 x L8 со изолатите П4, П10 и П14 (горе-контрола, долу- инокулирани растенија)  
Fig. 2- *P. parasitica var. nicotianae* - Artificial inoculation of the root in variety Ку 14 x L8 with isolates P4, P10 and P14 (up- check, down-inoculated plants)



Сл. 3- *P. parasitica var. nicotianae* - Вештачка инокулација на коренот кај сортата В 37 (лево - контрола, десно - инокулација со изолатот П14)  
Fig. 3- *P. parasitica var. nicotianae* - Artificial inoculation of the root in variety В 37 (left - check, right - inoculation with P14 isolate)

Табела 3 - Индекс на болеста кај одделни домашни сорти тутун 7 дена по инокулацијата на коренот кај расадот со изолати од габата *Phytophthora parasitica var. nicotianae*

Table 3 – Disease index in some local tobacco varieties 7 days after inoculation of seedling root with fungus isolates *Phytophthora parasitica var. nicotianae*

ВИД Species	СОРТА Variety	Изолати Isolates				
		П4	П10	С45	П54	П14
		Р а с а Race				
		0	0	0	0	1
N. t a b a c u m	П 12-2/1	2,6	3,6	3,2	3,1	4,0
	П 7	2,1	3,2	3,0	2,7	4,3
	П 23	2,3	3,4	2,8	3,0	4,0
	ЈК 7-4/2	1,8	3,7	2,8	2,1	3,9
	ЈК 125/3	1,7	2,4	2,1	1,9	2,8
	Џебел бр. 1	1,6	3,1	2,4	2,0	3,6
	О 9-18/2	1,8	2,9	2,8	2,2	3,0
	О 110-88/3	2,3	2,9	2,9	2,1	3,4
	Б 1/91	2,5	3,4	3,3	2,6	4,0
	МВ 1	2,1	3,1	3,0	2,3	3,8



Сл. 4 - *P. parasitica var. nicotianae* - Вештачка инокулација на коренот кај сортата П12-2/1 (горе-контрола, долу-инокулирани растенија со изолатите П4, П10 и П14)  
Fig. 4 - *P. parasitica var. nicotianae* - Artificial inoculation of the root in variety P12-2/1 (up- check, down- plants inoculated with isolates P4, P10 and P14)

Кај сите испитувани сорти (П 12-2/1, П 7, П 23, ЈК 7-4/2, ЈК 125/3, Џебел бр.1, О 9-18/2, О 110-88/3, Б 1/91 и МВ 1), највисок индекс на болеста беше регистриран со изолатот П14 кој и припаѓа на расата 1, и истиот се движеше од 2,8 кај сортата ЈК

125/3, до 4,3 кај сортата П 7. Најмал индекс на болеста беше регистриран со изолатот П4 раса О, кој изолат се карактеризираше и со најслаба вирулентност. Индексот на болеста се движеше помеѓу 1,6 кај сортата Џебел бр. 1 до 2,6 кај сортата П 12-2/1. Кон

другите изолати (П10, С45 и П54), домашните сорти покажаа среден степен на отпорност.

Од сите сорти со домашно потекло, највисок степен на отпорност покажа сортата ЈК 125/3. Индексот на болеста кај оваа сорта се движеше од 1,7 кај најслабовирулентниот изолат (изолат П4, раса О), до 2,8 кај изолатот П14 раса 1.

Дел од добиените резултати се фотографирани, а на прикажаните слики

јасно се гледа инфицираниот дел од коренот и стеблото кај одделните сорти тутун (Сл. 4, 5 и 6).

Бидејќи кај останатите сорти тутун тестирани по овој метод не се забележуваат значителни разлики во отпорноста спрема двете раси од патогенот, не можеме да направиме рангирање на нивната отпорност спрема причинителот на болеста црnilка.



Сл. 5 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Вештачка инокулација на коренот кај сортата П 7 (горе-контрола, долу-инокулирани растенија со изолатите П4, П10 и П14)

Fig. 5 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Artificial inoculation of the root in variety P 7 (up- check, down- plants inoculated with isolates P4, P10 and P14)



Сл. 6 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Вештачка инокулација на коренот кај сортата МВ-1 (горе-контрола, долу-инокулирани растенија со изолатите П4, П10 и П14)

Fig. 6 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Artificial inoculation of the root in variety MV-1 (up- check, down- plants inoculated with isolates P4, P10 and P14)

## ЗАКЛУЧОК

Анализирајќи ги резултатите од проучувањата извршени во Биолошката лабораторија по методот на инокуирање на коренот кај млади тутунски растенија, може да се донесе следниов заклучок:

Тестираните видови од родот *Nicotiana* инокуирани по овој метод покажаа доста висок степен на отпорност. Како најотпорен кон двете раси од патогенот се покажа видот *Nicotiana pesophila*, кај кого немаше регистрирано инфицирани растенија. Кај видовите *Nicotiana longiflora* и *Nicotiana plumbaginifolia* имаше појава на слаба инфекција претежно со изолатот П14, кој и припаѓа на физиолошката раса 1. Со изолатите раса О, инфекцијата беше незначителна.

Од испитуваните странски сорти тутун највисок степен на отпорност кон двете раси од патогенот покажаа Coker 371 gold и Weinhart 1000-1. Сортите В 37 и NC 2326 покажаа среден степен на отпорност кон двете раси. Сортата Ку 14 x L8 и при овој метод на инокулација ја потврди

својата отпорност кон расата О од патогенот, а осетливост кон расата 1. Највисок степен на осетливост покажа сортата Ку 14. Таа беше скоро подеднакво инфицирана како од изолатот раса 1 така и од изолатите раса О.

Сите сорти со домашно потекло, со исклучок на сортата ЖК 125/3, покажаа среден степен на отпорност кон изолатите раса О, а висока осетливост кон расата 1. Како најотпорна сорта инокуирана по овој метод се покажа сортата ЖК 125/3, кај која беше регистриран слаб индекс на болеста како со расата О така и со расата 1. Индексот на болеста кај оваа сорта се движеше помеѓу 1,7 кај расата О, и 2,8 кај расата 1.

Методот на инокуирање на коренот од тутунскиот расад ни дава можност за проверување на степенот на отпорност спрема патогенот *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* во раните фази при селекционирање на нови сорти тутун.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Dukes P. D., Apple J. L., 1962. Relationship of zoospore production potential and zoospore motility with virulence in *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Phytopathology*, vol. 52, 3, 191-193.

2. Jianmin Z., Jioping Z., 1988. Premiere etude sur la resistance du mutant R 400 a *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* et sur sa tolerance a la toxine du pathogene. *Information bulletin, CORESTA*, 9-13, october.

3. Jioping Z. et al., 1988. Selection cellulaire de mutants resistants a *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Information bulletin, CORESTA*, 9-13, october.

4. Lucas G. B., 1975. *Diseases of tobacco*. Biological Consulting Associated Box 5726 Raleigh, North Carolina.

5. Maia N. et al., 1995. Two techniques for assaying resistance to *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* on young tobacco plants. *Tobacco Science*, 39:43-48.

6. Pelissier B., 1986. Use of the cotyledon test for breeding tobacco resistant to *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Bulletin information, CORESTA*, 3/4, 47-56.

7. Penalver N., Torrecilla G., 1992. Reaction de certaines infroductions de varieties de tabac et varieties cubaines a *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Bulletin d information, CORESTA*, 2, 1992.

8. Stokes G. W., Litton C.C., 1966. Source of black shank resistance in tobacco and host reaction to races O and 1 of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Phytopatology*, 56:678-680.

9. Ташкоски П., 1999. Физиолошка специјализација на *Phytophthora parasitica* (Dastur) var. *nicotianae* (Breda de haan) Tucker и отпорност на некои видови и сорти тутун во Република Македонија. Докторска дисертација, Универзитет Св. Кирил и Методиј, Скопје.



10. Ташкоски П., 2002. Користење на котиледон-тестот за одредување на отпорноста спрема *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* кај младите тутунски растенија. Тутун, Vol. 52, No 7-8, 185-252, јули-август.

11. Valleau W. D. et al., 1960. Nine years experience with the *Nicotiana longiflora* factor for resistance to *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in the control of Black Shank. Tobacco Science Vol. IV, pps 92-94, May 13.

## ESTIMATION OF TOBACCO RESISTANCE TO PHYTOPHTHORA PARASITICA VAR. NICOTIANAE BY ROOT INOKULATION

P. Taskoski  
*Tobacco Institute-Prilep*

### S U M M A R Y

Results of the analyses made in Biological laboratory by root inoculation of young tobacco plants led to the following conclusions:

Investigated species of the genus *Nicotiana* inoculated by this method showed considerably high level of resistance. The highest resistance to both races of the pathogen was that of *Nicotiana nesophila*, where no infected plants were observed. In *N. longiflora* and *N. plumbaginifolia* the level of infection was low, mainly with the isolate P14, which belongs to the physiological race 1. With race 0 isolates, the infection was insignificant.

Among the introduced varieties, the highest resistance to both races of the pathogen was observed in Coker 371 gold and Beinhart 1000-1. The varieties B 37 and NC 2326 had medium level of resistance to both races. The variety Ky 14 x L8 confirmed its resistance to race 0 and susceptibility to race 1 of the pathogen. The highest level of susceptibility was observed in Ky 14. It was infected by the race 1 and race 2 isolates in almost equal parts.

All varieties of domestic origin, except for the variety YK 125/3, showed a medium level of resistance to the race 0 isolates and high level of susceptibility to race 1. The most resistant variety inoculated by this method was YK 125/3, in which low disease index was recorded with both race 0 and with race 1. The disease index in this variety ranged from 1.7 in race 0 to 2.8 in race 1.

The method of root inoculation of tobacco seedlings makes it possible to check the level of resistance to *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in the early stages of breeding the new tobacco varieties.

*Author's address:*  
P. Taskoski  
*Tobacco Institute-Prilep*  
Kicevski pat bb, 7500-Prilep  
Republic of Macedonia