

## **PHYTOPHTHORA PARASITICA (Dastur) var. NICOTIANAE (Breda de Haan) TUCKER ПРИЧИНТЕЛ НА БОЛЕСТА ЦРНИЛКА НА ТУТУНОТ**

**П. Ташкоски**

*ЈНУ Институт за тутун-Прилеп*

### **ВОВЕД**

*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* е причинител на болеста црnilка на тутунот. Црnilката најпрво ја опишал Van Breda de Haan од Јава во 1896 година и ја именувал габата како *Phytophthora nicotianae* (2). Во Индија, 1913 година, Дастур опишал сличен организам што е патогеничен за рицинусот, но не и за тутунот, и на организмот му дал име *Phytophthora parasitica*. Подоцна, во 1931 година, Туцкер работејќи на таксономијата на родот *Phytophthora*, заклучил дека *P. nicotianae* е само вариетет на видот *P. parasitica* Dastur, па за оваа габа го предложил името ***Phytophthora parasitica* Dastur var. *nicotianae* (Breda de Haan) Tucker**, и тоа е името што моментно го користат најголемиот број патолози на тутунот. Во 1963 година, Waterhouse заклучил дека името *Phytophthora nicotianae* има предност и утврдил дека точното име на патогенот на црnilката на тутунот треба да биде *Phytophthora nicotianae* (Breda de Haan) Tucker var. *nicotianae* Waterhouse (1). Но, и двете имиња се користат за да го опишат овој патоген.

Денес во светот се познати четири раси од патогенот, а доминантна е расата О (4).

Со извршените испитувања на изолатите добиени од тутунопроизводните реони во Р. Македонија, од наша страна е констатирано присуство на две раси и тоа расите О и 1, при што преовладува расата О (7).

Болеста црnilка на тутунот за прв

пат е опишана од Van Breda de Haan од Јава во 1896 година, а во САД за прв пат е забележана во јужна Џорџија околу 1915 година. Подоцна, во 1931 година, болеста е забележана во северна Каролина на вирџиниските и берлејските тутуни, а во 1935 година е забележана и во Тенеси и Кентаки. Денес оваа болест е широко распространета во сите поголеми тутунопроизводни подрачја во САД (2).

Појавата на црnilката на тутунот е забележана и на другите континенти (Азија, Африка, Европа). Во Европа е регистрирана во Германија, Полска, Романија, Бугарија, Грција, а во Црна Гора е забележана во 1983 година (1). Денес болеста црnilка се појавува низ целиот свет, во сите тутунопроизводни подрачја, причинувајќи големи штети на тутунопроизводството.

Во Република Македонија болеста црnilка со поголеми оштетувања за прв пат е забележана во 1986 година на одделни површини под тутун во прилепскиот производен реон (3). Во последниве години оваа болест може да се сретне и во другите тутунопроизводни реони низ Републикава.

Целта на ова испитување е да се запознаеме со распространетоста на патогенот, симптомите на болеста, да извршиме изолирање на причинителот и да ја провериме ефикасноста на некои фунгициди за негово сузбивање.

### **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА**

Неколку години (1995, 1996, 1997) во текот на вегетацијата на тутунот (во расадопроизводството и по расадувањето) вршевме континуирано набљудување на површините под тутун во повеќе тутунопроизводни реони

низ Републикава, за да го одредиме присуството на патогенот и појавата на болеста црnilка. Од оние површини каде што беа констатирани растенија заразени со симптоми на болеста црnilка, земавме растителни при-

мероци кои ги користевме за понатамошни лабораториски испитувања. Инфицираниот растителен материјал беше обработуван по вообичаени лабораториски методи и истиот го користевме за изолирање на чиста култура со која вршевме вештачка инокулација на здрави тутунски растенија за да ги провериме и потврдиме симптомите на заразените растенија во поле. Воедно, добиената чиста култура ја користевме и за микроскопски набљудувања и проучувања на габата.

За сузбивање на патогенот користевме некои системични фунгициди кои беа употребени *in vitro* (врз чиста култура од габата) и на расаден тутун во биолошка лабораторија (*in vivo*). Беа користени фунгицидите Ridomil MZ 72, Galben M8, Sandofan Z и Cimozin S.

Третирањето на чистата култура од габата беше изведено така што препаратите беа додадени во хранливата подлога, а потоа е извршено засејување на габата. Инкубацијата траеше 15 дена на температура од 25°C. Опитот е изведен двапати во по три повторувања.

Ефикасноста на фунгицидите за сузбивање на габата беше проверена и во Биолошката лабораторија со доза од 1 kg/ha активна материја. Третирањето беше извршено со полевање на тутунските растенија со по 100 ml раствор од фунгицидот. Интензитетот на заболување е прикажан како средна вредност од трите повторувања, а ефикасноста на препаратите, изразена во проценти, е пресметана по Abbott.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

### Симптоми на болеста

Од неколкугодишните набљудувања на површините под тутун во Р. Македонија, констатиравме присуство на патогенот и појава на болеста во повеќе тутунопроизводни реони. Најголем процент на зараза беше регистриран во прилепскиот производен реон, а со нешто послаба зараза болеста беше забележана и во кумановскиот и струмичкиот производен реон. Така, на одделни парцели во прилепскиот реон, поготово на површините опфатени со хидросистемот, штетите изнесуваа од 20 до 40% инфицирани растенија (Сл. 1).

Патогенот на црнилката, пред сè, го напаѓа коренот и основата на стеблото, а можат да бидат инфицирани и сите делови од растението. Симптомите на болеста варираат во зависност од староста на растението и временските услови.

Младиот тутунски расад е многу осетлив на болеста и при влажно и топло време развива типични симптоми на болеста "сечење". Тој почнува да венее, по листовите се појавуваат маслинести дамки, изгледа како да е натурен со врела вода, а стебленцето во основата добива кафена боја.



Сл.1- *P. parasitica* var. *nicotianae* - Површина со инфицирани тутунски растенија од црнилка

Fig.1- *P. parasitica* var. *nicotianae* - Area of tobacco plants infested with black shank

Често пати со расадот болеста се пренесува и на нива. На нива, црнилката најпрво се забележува на пониските места во вид на

огништа, односно онаму каде што водата се задржува подолго време на површината (Сл.2).



Сл.2- *P. parasitica var. nicotianae* - Појава на болеста во вид на огништа  
Fig.2- *P.parasitica var. nicotianae* - Occurence of the disease in a form of focuses

Кај расадениот тутун првите симптоми на болеста се манифестираат со ненадејно венење на листовите. Растенијата обично преку ноќ закрепнуваат, за наредниот ден уште повеќе да овенат. Во зависност од степенот на почвената влага и отпорноста на домаќинот, за неколку денови или недели лисјата пожолтуваат, се сушат и провиснуваат на стеблото.

Ако откорнеме растение кај кое болеста е во рана фаза, ќе забележиме дека еден или повеќе од поголемите странични корени се поцрнети или угинати, додека на стеблото сеуште нема гниење или промена на бојата. Меѓутоа, со напредувањето на болеста, инфекцијата се шири кон стеблото на растението, при што целиот коренов систем и основата на стеблото некротизираат (Сл.3). Во последните фази, стеблото може да биде поцрнето над земјата 30 cm и повеќе, од каде и болеста го добила името "црнилка". Често пати може да се видат заболени растенија кон крајот на вегетацијата со стебло поцрнето скоро до врвот, а на врвот останати уште неколку зелени ливчиња и цветната китка. Ако стеблото од заразено растение го расечеме по должина, ќе видиме дека срцевината е сува, кафена до црна и обично поделена на дискови (Сл.4).

Иако овој симптом е најкарактеристичен за црнилката, сепак при дијагностици-

рање на болеста не можеме да го земеме предвид само овој симптом, бидејќи има и други биотички и абиотички фактори што можат да предизвикаат симптоми на дискови.

Во услови на обилни врнежи, долните листови од тутунот можат да се инфицираат со патогенот зашто заразената почва се распрскува и се налепува на листовите, а на нив се појавуваат влажни и светлозелени дамки. Лезиите брзо се шират, стануваат кафени и некротични и достигнуваат големина од неколку cm.

За да се потврди присуството на патогенот кај инфицираните растенија, потребно е да се изврши и микроскопски преглед на растенијата со симптоми на болеста црнилка.

На заразеното растение се прави надолжен пресек, се зема фрагмент од преодното место помеѓу здравата и заразената срцевина и се набљудува под микроскоп. Во ткивото од срцевината можеше да се забележи присуство на мицелија од габата.

За изолирање на габата и добивање на чиста култура на хранлива подлога, ги користевме инфицираните растенија. Со чистата култура беше извршена вештачка инокулација на здрави тутунски растенија за да се потврдат симптомите на болеста во поле, а овие инфицирани растенија ги користевме за реизолација заради идентификација на габата.



Сл.3 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Симптоми на коренот и стеблото од тутунот  
 Fig.3 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Symptoms of the disease at tobacco root and stalk



Сл.4 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Симптоми на срцевината од тутунското растение  
 Fig.4 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Symptoms of the disease at tobacco plant pith

### Патоген

*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* е почвен растителен патоген кој и припаѓа на класата Oomycetes, ред Peronosporales, фамилија Pythiaceae.

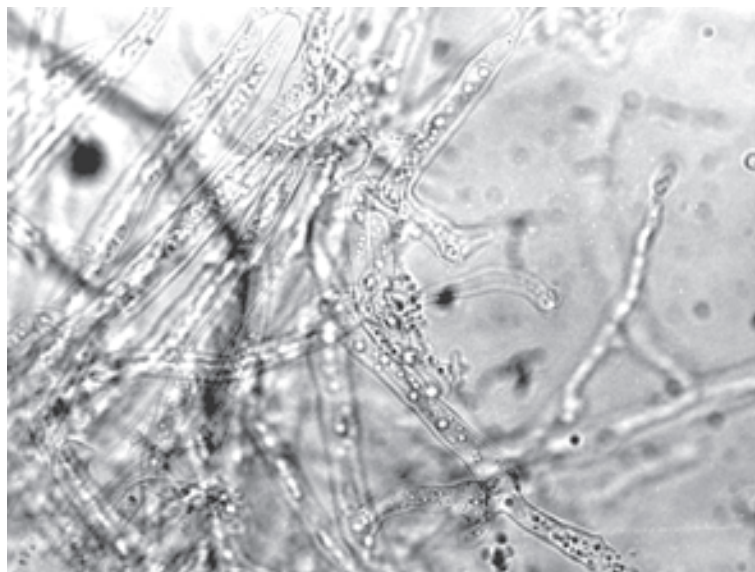
Габата на хранлива подлога образува бела пајажинеста мицелија со средна густина и се развива воздушно и супстратно.

Хифите се еднообразни, со нееднаква ширина која се движи помеѓу 4,5-9,0 микрометри (5), нерамни или мазни, по боја просирни или светложолти, не се септирани, но со стареењето добиваат псевдосепти. Содржината на хифите е гранулирана и со стареењето станува вакуоларна (Сл.5).

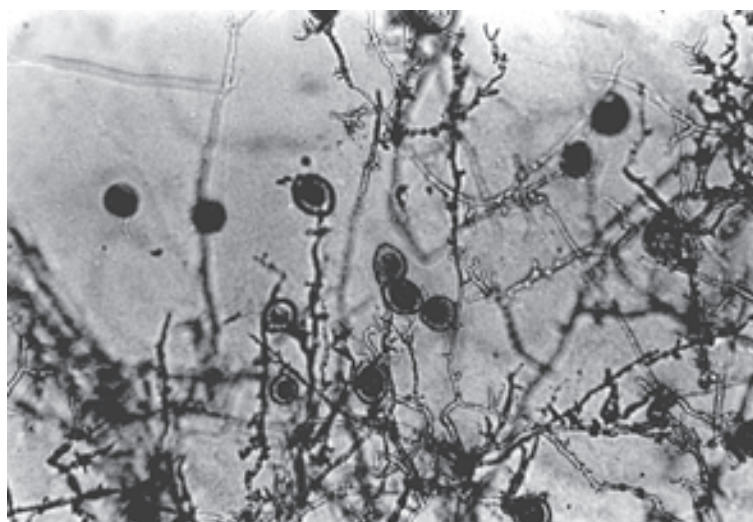
Спорангиите се бесполови и се образуваат симподијално на спорангиофори (Сл.6). Имаат јајцевидна, крушовидна или сферична форма, обично имаат само една папила, по боја се просирни до светложолти со варијабилни димензии (20-60 x 16-40 микрометри). Од спорангиите се ослободуваат поголем број зооспори со по две камшичиња и големина од 8 до 12 микрометри. Хламидоспорите се бесполови спори, сферични до

јајцевидни, без папила, со задебелени сидови, просирни до кафени или сламестожолти, со пречник од 14 до 40 микрометри (5,6). Ооспорите се полови спори со дебели сидови, сферични, просирни или сламести, со пречник од 25 микрометри (2).

Црнилката е болест на топлото време. За инфекција на растенијата е потребна температура на почвата над 20°C и висока влажност. Високата влага во почвата го потпомага ослободувањето и движењето на зооспорите од габата кои ја вршат заразата. Црнилката се појавува на кисели и алкални почви, при што најдобра рН вредност за нејзиниот развој е помеѓу 5 и 6 (5). Растителните остатоци и слободните хламидоспори во почвата служат како примарен инокулум на габата. На топли и влажни почви хламидоспорите изртуваат во ркулечни цевки кои го инфицираат коренот на тутунското растение, или произведуваат спорангии. Од спорангиите се ослободуваат зооспорите, кои движејќи се низ средината бидуваат привлечени од корењата на тутунот каде почнуваат да ртат



Сл.5 - *P. parasitica* var. *nicotiana* - Гранулирани хифи од габата  
Fig.5 - *P. parasitica* var. *nicotiana* - Granulated hyfae of the fungus



Сл.6 - *P. parasitica* var. *nicotiana* - Хифи со спорангии од габата  
Fig.6 - *P. parasitica* var. *nicotiana* - Hyphae with fungus sporangia

и ја извршуваат инфекцијата. По извршената инфекција, габата расте низ ткивото на растението и репродуцира спорангии или хламидоспори кои ѓртат и причинуваат нови инфекции. Овој циклус се повторува во текот на вегетацијата на тутунот.

На крајот од вегетацијата, со распаѓање на заразните тутунски растенија, хламидоспорите се ослободуваат во почвата каде што презимуваат, а можат да преживеат и повеќе години во отсуство на тутун-домаќин.

Патогенот се шири преку заразните

растителни остатоци и заразената почва со помош на водата за наводнување или дождовите кои ја пренесуваат заразената почва, а заедно со неа и спорите од габата. Патогенот може да се пренесува и со почвата што се налепува на земјоделските алатки, па дури и со обувките на земјоделецот.

Интензитетот на болеста може да биде уште појак до колку во почвата има присуство на коренови нематоди кои и обезбедуваат влез на габата, со што се забрзува и инфекцијата.

### Контролирање на болеста

За да се стави болеста под контрола, потребно е да се примени интегрална заштита во која ќе бидат вклучени: плодоред, агротехнички мерки, контрола на нематодите, отпорни сорти и примена на хемиска заштита.

Хемиската борба е вообичаена мерка при заштитата на растенијата од болести и штетници. И при ова испитување сакавме да ја провериме ефикасноста на неколку фунгициди за сузбивање на патогенот *Phytophthora parasitica var. nicotianae*. Третирањата беа извршени врз чиста култура од габата, и врз расаден тутун во биолошката лабораторија.

Чистата култура од габата беше одгледувана на хранлива подлога овесов агар каде што имавме додадено фунгицид. Фунгицидите Ridomil MZ72 и Sandofan Z беа употребени во концентрација од 0,3%, додека фунгицидите Galben M8 и Cimosin S во концентрација од 0,2%.

Целта на ова испитување беше да го провериме фунгицидното дејство на препаратите *in vitro* врз порастот и развојот на габата за време од 15 дена. Резултатите од испитувањето се прикажани во Табела 1 и Графикон 1, како просечни вредности добиени од трите повторувања.

Како што може да се види од прикажаните податоци, габата најслабо се развива на подлогата во која имаше додадено Ridomil

MZ72. Почетокот на развој беше регистриран дури на шестиот ден од инкубацијата, а на 15 ден порастот на мицелијата достигна до 12 mm. За разлика од оваа варијанта, кај контролата порастот на мицелијата по 24 часа изнесуваше 5 mm, а на 15 ден 85 mm. На хранливата подлога во која имаше додадено фунгицид Galben M8 габата покажа среден пораст кој на 15 ден изнесуваше 45 mm. Најбрз пораст на габата беше регистриран на подлогите во кои беа додадени фунгицидите Sandofan Z и Cimosin S и истиот на 15 ден изнесуваше 60 односно 66,66 mm.

И при второто испитување беа постигнати слични резултати. На подлогата со фунгицидот Ridomil MZ72 габата почна да се развива по петтиот ден, а на 15-от ден достигна пораст од 14 mm. Кај контролата по 24 часа габата имаше пораст од 10 mm, а на 15-от ден беше регистриран пораст од 90 mm. И при ова испитување габата имаше среден пораст на подлогата со фунгицидот Galben M8, а најголем пораст постигна на подлогата со фунгицидите Sandofan Z и Cimosin S (63,33 и 73,33 mm).

Од добиените резултати при првото и второто испитување може да се констатира дека фунгицидот Ridomil MZ72 употребен *in vitro*, за разлика од другите фунгициди, покажа најголемо инхибиторно дејство врз порастот и развојот на мицелијата од габата *Phytophthora parasitica var. nicotianae*.



Сл. 7 - *P. parasitica var. nicotianae* -Третирани растенија со Ridomil MZ 72

Fig. 7 - *P. parasitica var. nicotianae* - Plants treated with Ridomil MZ 72

Табела 1 - Пораст на мицелијата од габата на хранлива подлога во која има додадено фунгициди  
Table 1 - Growth of fungus mycelium on nutrient medium with addition of fungicides

I испитување - I investigation

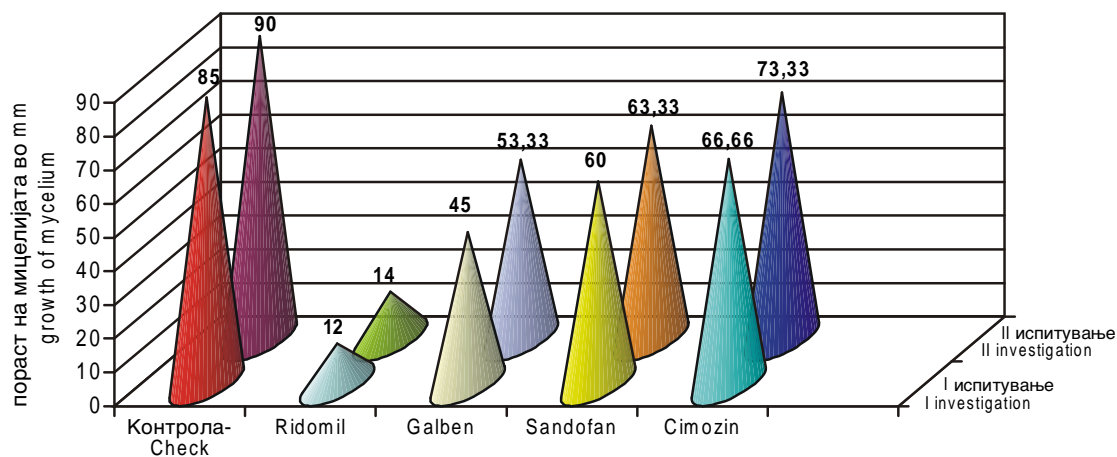
Варијанта Variant	Пораст на мицелијата во mm по денови - Mycelium growth in mm, by days														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Контрола- Check	5,00	11,66	20,00	30,00	40,00	45,00	50,00	60,00	65,00	80,00	80,00	80,00	80,00	85,00	85,00
Ridomil MZ72 0,3%	-	-	-	-	-	+	+	1,00	1,00	1,00	3,00	5,00	10,00	12,00	12,00
Galben M8 0,2%	-	-	+	3,00	6,66	11,66	15,66	20,00	23,00	26,00	31,00	35,00	40,00	43,33	45,00
Sandofan Z 0,3%	-	-	1,00	6,66	11,66	16,66	21,66	28,33	31,66	36,66	41,66	51,66	51,66	51,66	60,00
Cimozin S 0,2%	-	5,00	10,00	15,00	20,00	30,00	35,00	39,33	43,33	48,33	52,33	56,66	63,33	63,33	66,66

II испитување - I investigation

Варијанта Variant	Пораст на мицелијата во mm по денови - Mycelium growth in mm, by days														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Контрола- Check	10,00	20,00	35,00	40,00	50,00	60,00	70,00	78,33	83,33	85,00	90,00	90,00	90,00	90,00	90,00
Ridomil MZ72 0,3%	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	1,00	3,00	8,00	10,33	14,00
Galben M8 0,2%	+	5,00	11,66	13,66	17,66	20,66	23,33	26,66	31,00	35,00	40,00	43,33	48,33	48,33	53,33
Sandofan Z 0,3%	1,00	3,00	9,00	12,00	20,00	23,33	26,33	30,00	35,00	40,00	45,00	50,00	55,00	60,00	63,33
Cimozin S 0,2%	13,66	21,00	27,33	31,66	36,00	36,66	40,00	45,00	50,00	51,66	55,00	60,00	65,00	70,00	73,33

(+) Почеток на развој на габата  
beginning of fungus development

Графикон 1 - Пораст на мицелијата од габата на 15 ден од инкубацијата  
Graph 1 - Growth of fungus mycelium on 15 day of incubations



Ефикасноста на фунгицидите во сузбивањето на овој патоген беше проверена и по расадувањето на тутунот во услови на биолошката лабораторија. За оваа цел беа користени фунгицидите на база metalaxyl (Ridomil MZ72), benalaxyl (Galben M8), oxadixyl (Sandofan Z) и cimoxyanil (Cimozin S) во доза од 1 kg/ha активна материја.

Ефикасноста на употребените фунгициди изразена во проценти ја пресметувавме по формулата на Abbott.

Резултатите од ова испитување се прикажани во Табела 2 и Графикон 2. Од изнесените податоци се гледа дека фунгицидот Ridomil MZ72 употребен по расадувањето на тутунот со полевање, покажа доста висока ефикасност во однос на другите фунгициди и контролата, која изнесуваше 78,79 % (Сл. 7 и 8). Фунгицидите Galben M8 и Cimozin S не покажаа ефикасност во сузбивањето на овј патоген.



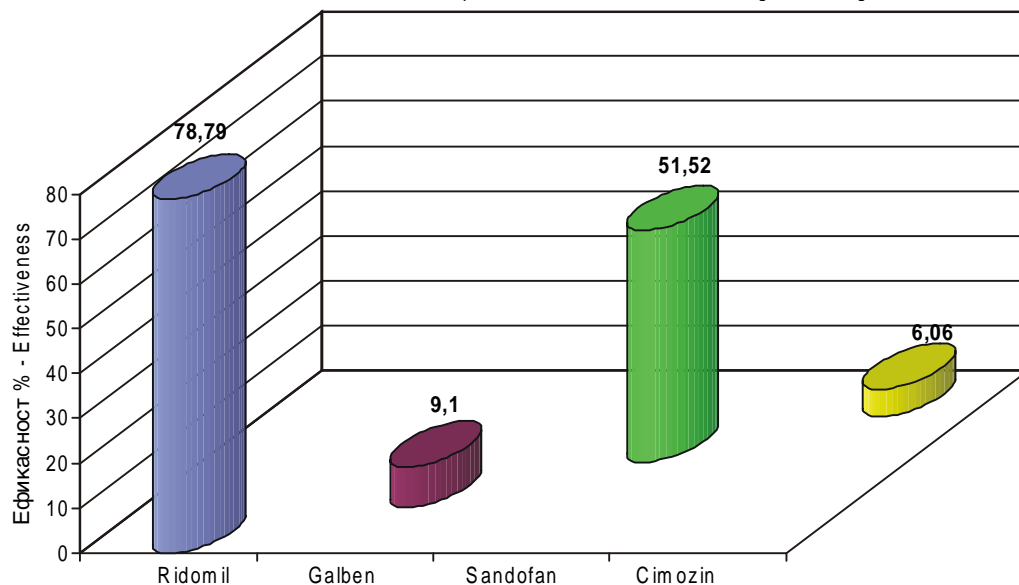
Сл. 8 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Нетретирани растенија (контрола)  
Fig. 8 - *P. parasitica* var. *nicotianae* - Untreated plants (Check)



Табела 2 - Ефикасност на испитуваните фунгициди во сузбивањето на габата *P. parasitica* var. *nicotianae* (1998) во услови на биолошка лабораторија  
 Table 2 – Effectiveness of investigated fungicides in the control of *P. parasitica* var. *nicotianae* in Biological laboratory

Фунгицид Fungicide	I повторување I replication		II повторување II replication		III повторување III replication		Вкупно третиран растенија Total N° of treated plants	Вкупно третиран растенија Total N° of treated plants	Интен- зитет на заболу- вањето % Disease intensity	Ефикасност % Effectiveness
	Растенија - Plants		Растенија - Plants		Растенија - Plants					
	Третиран Treated	Заболени Diseased	Третиран Treated	Заболени Diseased	Третиран Treated	Заболени Diseased				
Контрола Check	12	12	12	9	12	12	36	33	91,67	-
Ridomil MZ72 1kg/ha a.m	12	0	12	0	12	7	36	7	19,44	78,79
Galben M8 1kg/ha a.m	12	9	12	11	12	10	36	30	83,33	9,10
Sandofan Z 1kg/ha a.m	12	3	12	4	12	9	36	16	44,44	51,52
Cimozin S 1kg/ha a.m	12	10	12	11	12	10	36	31	86,11	6,06

Графикон 2- Ефективност на испитуваните фунгициди  
Graph 2 - Effectiveness of investigated fungicides



### ЗАКЛУЧОК

Врз основа на овие проучувања и нивниот коментар, дојдовме до следниот заклучок:

- Патогенот *Phytophthora parasitica var. nicotianae* е присутен во неколку тутуно-производни реони во Република Македонија (Прилеп, Куманово, Струмица).

- Се работи за почвен патоген кој го инфицира коренот и приземниот дел на стеблото од тутунот, а при врнежливи години можат да бидат инфицирани и долните листови од растението.

- Мицелијата се развива низ ткивата на тутунското растение, каде и останува по завршувањето на неговата вегетација.

- Габата презимува во вид на хламидоспори во растителните остатоци, а при по-

волни услови хламидоспорите ртат во хифи или спорангии кои ги извршуваат примарните инфекции.

- Патогенот се шири преку заразените растителни остатоци, со заразената почва, со помош на водата за наводнување, преку земјоделските алатки како и со кореновите нематоди.

- За да се спречи појавата и ширењето на оваа болест потребно е да се применува плодоред, соодветна агротехника, отпорни сорти тутун, сузбивање на нематодите и хемиска заштита.

- Од испитуваните хемиски препарати употребени *in vitro* и *in vivo*, најдобра ефикасност покажа фунгицидот Ridomil MZ72 врз база metalaxyl.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Vucinic, Z., Todorovic, J., 1985. *Phytophthora nicotianae* (Breda de Haan) Tucker var. *nicotianae* Waterhouse, nov parazit duvana u Crnoj Gori. Zastita bilja Vol. 36 (1), br. 171, Beograd.

2. Lukas, G. B., 1975. Diseases of Tobacco, Raleigh, Nort Carolina.

3. Мицковски, Ј., 1988. Фитофтората- (црнилката) важен проблем во тутунопроизводството. Тутун, Vol.38, No 9-10.

4. Shew, H.D., Lukas, G.B., 1991). Compendium of Tobacco Diseases. Amer. Phytopath. Soc., St. Paul, Minnesota.

5. Ташкоски, П., 1994. Црнилка на

тутунот и можности за нејзино сузбивање во Република Македонија. Магистерски труд, Институт за тутун - Прилеп.

6. Ташкоски, П., 1998. Некои поважни карактеристики на патогенот *Phytophthora parasitica (Dastur) var. nicotianae (Breda de Haan) Tucker*-причинител на болеста црнилка

на тутунот. Тутун, Vol.48, No 7-12, 69-132.

7. 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, Институт за тутун - Прилеп.

### ***Phytophthora parasitica (Dastur) var. nicotianae (Breda de Haan) Tucker* – CAUSING AGENT OF THE BLACK SHANK DISEASE OF TOBACCO**

**P. Taskoski**

*Tobacco Institute – Prilep*

#### **SUMMARY**

Based on our investigations, the following conclusion was drawn:

-The pathogen of *Phytophthora parasitica var. nicotianae* is present in several tobacco producing regions in R. Macedonia (Prilep, Kumanovo, Strumica).

-This is a soilborne pathogen which infects the root and the aboveground part of tobacco stalk, and during periods of rainy weather, the lower leaves of the plant may also be infected.

-The mycelium develops in tobacco plant tissues, where it stays after the end of its growing period.

-The fungus overwinters in a form of chlamydospores in the plant debris, and when favorable conditions appear, the chlamydospores germinate into hyphae or sporangia, which make the primary infections.

-The pathogen is spread by the infected plant debris, by infested soil, irrigation water, farm equipment and by root nematodes.

-To prevent the occurrence and distribution of the disease it is necessary to apply crop rotation, adequate cultural practices, resistant tobacco varieties, nematodes control and chemical protection.

-Of the investigated *in vitro* and *in vivo* applied chemicals, the highest effect was obtained with application of the metalaxyl-based fungicide Ridomil MZ72.

*Author's address:*

*P. Taskoski*

*Tobacco Institute-Prilep*

*7500 Prilep*

*Republic of Macedonia*