

ВЛИЈАНИЕ НА ФУНГИЦИДИТЕ ВРЗ РАЗВОЈОТ НА ПАТОГЕНОТ *PHYTOPHTHORA PARASITICA* VAR. *NICOTIANAE* ВО УСЛОВИ IN VITRO

Петре Ташкоски, Биљана Гвероска
Институт за тутун - Прилеп

ВОВЕД

Болеста црнилка на тутунот којашто е предизвикана од патогенот *Phytophthora parasytica* var. *nicotianae*, покрај другите заболувања на тутунот како што се пламеницата, вирозите и причинителите на сечењето на расадот, претставува економски значајно заболување како во светот така и во нашата Република.

Оваа болест од нејзината појава во 1986 година со појак интензитет на нашите тутунопроизводни реони (2) па до денес, претставува постојана опасност за тутунската култура.

Зависно од климатските услови и интензивниот начин на одгледување на тутунот, болеста се појавува со различен интензитет на напад којшто на одредени површини достигнува од 20 до 50% заразени тутунски растенија (2, 3).

Габата е факултативен сапрофит којашто за својот развој бара висока влажност и повисока температура што е потврдено и од нашите испитувања. Оптималната температура за развој на чиста култура се движи помеѓу 20 и 30°C и лесно се одгледува на повеќе хранливи подлоги (4).

Штетите причинети од овој патоген ја наметнаа потребата од проучување и примена на хемиски препарати за негово сузбивање.

Бидејќи од година во година ова заболување зема сее поголем замав, проширувајќи се на нови локалитети, сметаме дека комплетна заштита на тутунот од овој причинител е можна со примена на интегрална заштита, каде што ќе најде место и примената на хемиската заштита.

Поставувањето на полски опити за проверување на ефикасноста на фунгицидите за сузбивање на овој патоген е тешко изводливо и не секогаш може да се добијат соодветни резултати. Тоа зависи од климатските услови во текот на вегетацијата (температура и врнежи), а најмногу од природната инфицираност на почвата, односно од присуството на патогенот во почвата.

За таа цел се определивме за лабораториски испитувања in vitro, односно проверување на токсичното дејство на фунгицидите врз габата одгледувана на хранлива подлога. Сметаме дека на овој начин ќе се добие подобра прегледност на фунгицидното дејство на препаратите врз патогенот, коишто понатаму ќе може да се користат со поголема сигурност при поставувањето на полски опити за испитување на нивната ефикасност во сузбивањето на причинителот на болеста црнилка.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ НА РАБОТА

Испитувањата беа извршени во текот на 2004 година во Фитопатолошката лабораторија на Институтот за тутун, на чиста култура од габата одгледувана на хранлива подлога овесов агар.

За поголема точност и пореално прикажување на резултатите од истражувањето беа изведени три опити, а секој опит беше поставен во по три повторувања.

Како материјал беше користена чиста култура од габата изолирана од инфицирани тутунски растенија од прилепскиот тутунопроизводен реон. По изолирањето габата беше одгледувана на хранлива подлога овесов агар. На подготвената хранлива подлога по нејзината стерилизација посебно се додадени фунгицидите во предвидените концентрации. Како стандард ни служеше fungicidot Previcur N. Преглед на испитуваните

Табела 1. - Преглед на испитуваните фунгициди
Table 1. - Review of tested fungicides

Фунгициди Fungicides	Активна материја Active ingredient	Содржина на а.м. во % Contents of a.i. %	Концентрација % Rate
Ridomil MZ 72	Metalaxyl + mankozeб	8% + 64%	0,3%
Sandofan Z	Oxadixyl + cineb	10% + 50%	0,3%
Galben M8	Benalaxyl + mankozeб	8% + 65%	0,2%
Cimozin S	Cimoksanyl + cineb	4,4% + 56%	0,2%
Previcur N	Propamokarb	70%	0,25%

фунгициди, активната материја и нивните концентрации се дадени во Табела 1.

Од секоја хранлива подлога во којашто имаше додадено соодветен фунгицид беа земани по 20 ml и разлеани во претходно стерилизирани петриеве кутии со пречник од 90 mm. За секоја варијанта беа подготвени по три петриеве кутии. Врз хранливата подлога во петриевите кутии беше поставен фрагмент со мицелија од габата стара неколку дена со големина од 1 x 1mm. Засеаните петриеве кутии беа инкубирани во термостат на температура од 25°C за време од 15 дена.

Како контрола ни служеа петриеве кутии со хранлива подлога во којашто немаше додадено препарат.

За време на инкубацијата секој ден беа вршени мерења на порастот на колонијата од габата, а резултатите се прикажани како просечни вредности од трите повторувања посебно за секој изведен опит.

Ефикасноста на испитуваните препарати беше оценувана врз основа на развојот на колонијата што е измерена на 15^{от} ден од инкубацијата кај третираните варијанти со препарати и кај контролата.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Добиените резултати од *in vitro* испитувањата кај трите изведени опити за проверување на токсичното дејство на фунгицидите врз развојот на габата од секојдневните мерења, се обработени и прикажани табеларно како средни вредности од трите повторувања.

Препаратите додадени во хранливата подлога врз којашто беше засеана габата покажаа различно фунгицидно односно фунгистатично дејство кај трите изведени опити.

Резултатите од просечните вредности на секојдневните мерења за развојот на колонијата во период од 15 дена за првиот опит се прикажани во Табела 2. По 24 часа од засејувањето на културата, почеток на развој на мицелија е забележан само кај варијантите Cimozin S и Previcur N, а кај контролата е измерен развој во пречник од 5,00 mm. На вториот ден од инкубацијата развојот на

мицелијата изнесуваше 2,50 mm кај Cimozin S, 8,25 mm кај Previcur N до 13,66 mm кај контролата. Кај варијантите Sandofan Z и Galben M развојот е забележан дури на 6^{от} односно на 8^{от} ден, додека кај варијантата Ridomil MZ при ова испитување немаше појава на мицелија сее до 15^{от} ден од инкубацијата.

Направените мерења за порастот на мицелијата од 5, 10 и 15^{от} ден се дадени на Графикон 1. На петтиот ден од инкубацијата најголем пораст е измерен кај контролата, 34,66 mm а најмал кај Cimozin S 12,50 mm. Кај варијантите Ridomil MZ, Sandofan Z и Galben M нема појава на мицелија. На 10^{от} ден од одгледувањето пречникот од колонијата на габата кај контролата изнесува 76,66 mm, 2,00 mm кај Sandofan Z а почеток на развој е забележан кај Galben M. Најмал пораст на мицелијата на 15^{от} ден е измерен кај Galben M, 5,00 mm, а максимален пораст од 90,00 mm е измерен кај контролата.

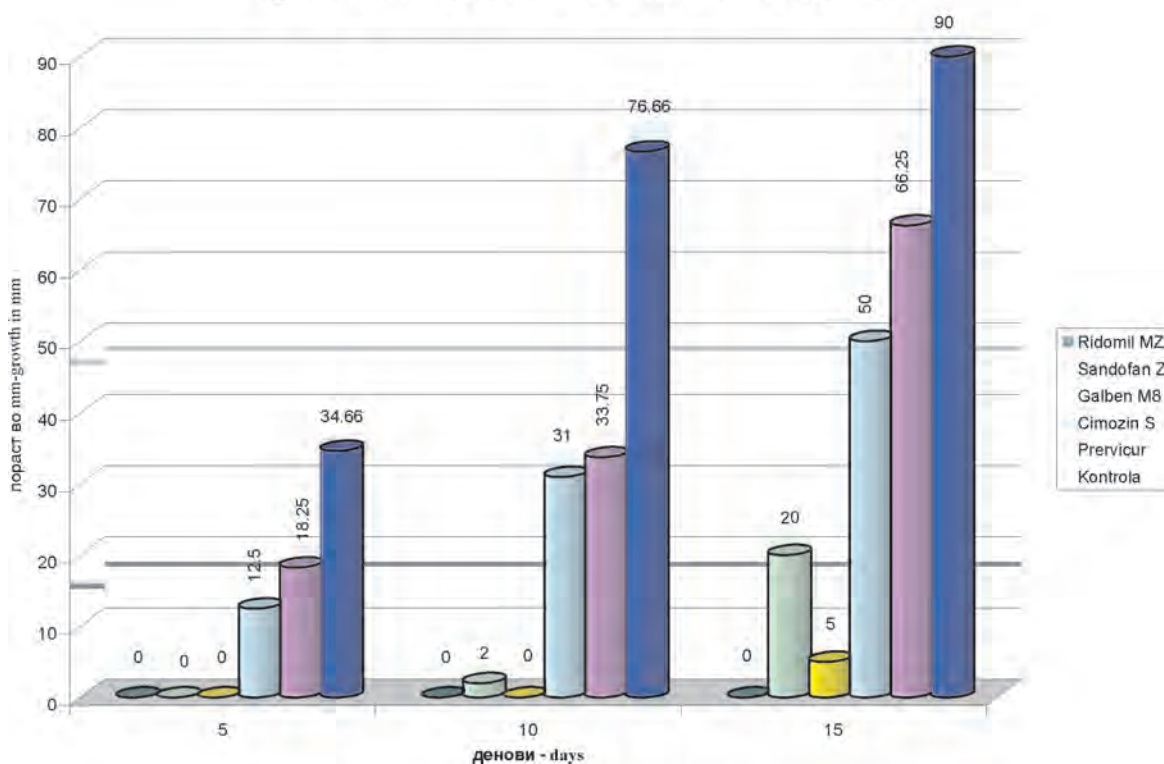
Табела 2. Пораст на мицелијата во mm по денови
Table 2. Mycelium growth in mm by days

I опит - trial I

Варијанта Variant	Денови - days														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Ridomil MZ72 0,3%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sandofan Z 0,3%	-	-	-	-	-	+	+	1,00	1,00	2,00	4,00	11,00	16,00	18,50	20,00
Galben M8 0,2%	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	1,00	1,00	2,00	2,00	5,00
CimozinS 0,2%	+	2,50	7,00	10,00	12,50	15,00	20,00	23,00	26,50	31,00	35,00	37,00	40,00	45,00	50,00
Previcur N 0,25%	+	8,25	12,50	15,25	18,25	22,25	25,00	27,50	32,50	33,75	35,50	40,50	49,00	58,25	66,25
Контрола Check	5,00	13,66	21,33	27,33	34,66	42,66	55,00	63,33	72,66	76,66	81,00	83,33	84,66	87,66	90,00

(+) почеток на развој на мицелија
Start of mycelial growth

Графикон - 1. Пораст на мицелијата на 5, 10 и 15 ден (I опит)
Figure 1. Mycelium growth at the 5-th, 10-th and 15th day (I trial)



При набљудувањата направени кај вториот опит, по 24 часа од засејувањето на културата развој на мицелија од само неколку mm беше забележан кај варијантите Cimosin S и Previcur N, додека кај контролата беше измерен пречник од 5,00 mm (Табела 3). Кај варијантата Sandofan Z мицелија имаше појавено на вториот ден, додека кај варијантите Galben M и Ridomil MZ на третиот, односно на петтиот ден.

На петтиот ден од извршените мерења на пречникот на колонијата кај некои варијанти беа добиени слични резултати како и во првиот опит. Почеток на развој беше регистриран кај варијантата Ridomil MZ, а најмал развој имаше кај Galben M. И во овој опит најголем развој од 40,00 mm беше измерен кај контролата. На десеттиот ден од инкубацијата кај контролата порастот на мицелијата достигна до 70,00 mm, додека кај Ridomil MZ само 3,00 mm. Кај останатите варијанти немаше многу големи меѓусебни разлики во порастот на мицелијата. Така, на 15^{от} ден беа измерени 88,00 mm кај контролата и 15,00 mm кај Ridomil MZ. Кај другите варијанти порастот се движеше помеѓу 45,33 и 73,33 mm (Графикон 2).

За време на набљудувањето на третиот опит, во првиот ден кај сите варијанти, со исклучок на варијантата Ridomil MZ, беше забележан развој на мицелија кој достигнуваше од 1,00 mm кај Sandofan Z, 6,00 mm кај Cimosin S до

8,00 mm кај контролата (Табела 4). Кај варијантата Ridomil MZ појава на мицелија е забележана дури на 5^{от} ден, како и во вториот опит.

Набљудувањата направени на 5, 10 и 15^{от} ден од инкубацијата кај третиот опит не се разликуваат многу од оние добиени во вториот опит.

На петтиот ден појава на мицелија е забележана кај варијантата Ridomil MZ, а најголем пораст од 45,00 mm е измерен кај контролата (Графикон 3). Во наредните денови развојот се зголемува и на 10^{от} ден кај Ridomil MZ достигнува до 1,00 mm, а кај контролата до 80,00 mm. Мерењата направени на 15^{от} ден покажаа дека кај варијантата Ridomil MZ има најмал пораст од само 14,66 mm, додека најголем пораст е измерен кај контролата од 90,00 mm. Кај останатите варијанти е измерен поголем развој за разлика од претходните две испитувања.

Од изведените испитувања *in vitro* кај трите опити јасно се гледа дека најголемо фунгистатично дејство покажа препаратот Ridomil MZ. Само кај двата опита мицелија на габата се појавуваше по петтиот ден од инкубацијата, со слаб развој во наредните денови. Нешто послабо фунгистатично дејство во првите денови во вториот и третиот опит беше забележано и кај препаратите Galben M и Sandofan Z, но во наредните денови габата добро се развиваше.

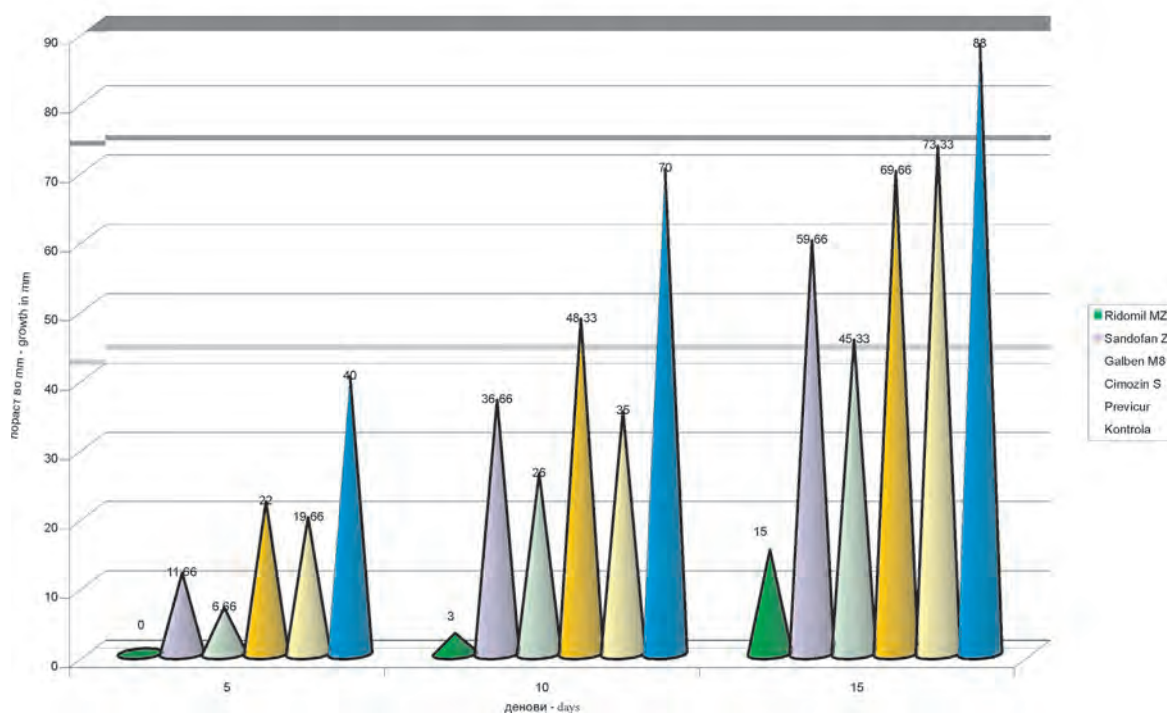
Табела 3. Пораст на мицелијата во mm по денови
Table 3. Mycelium growth in mm by days

II опит - trial II

Варијанта Variant	Денови - days														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Ridomil MZ72 0,3%	-	-	-	-	+	1,00	1,00	2,00	2,00	3,00	3,00	5,00	10,00	12,00	15,00
Sandofan Z 0,3%	-	1,00	3,00	6,66	11,66	16,66	21,66	28,33	31,66	36,66	41,66	51,66	51,66	51,66	59,66
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	45,33
Cimosin S 0,2%	2,00	5,16	9,16	15,00	22,00	28,33	35,00	39,33	43,33	48,33	52,33	56,66	60,33	63,33	69,66
Previcur N 0,25%	3,00	8,00	12,30	17,00	19,66	22,00	25,00	28,00	33,33	35,00	37,66	44,66	55,00	66,25	73,33
Kontrola Check	5,00	11,66	21,00	30,00	40,00	45,00	50,00	60,00	65,00	70,00	75,00	77,00	80,00	85,00	88,00

(+) почеток на развој на мицелија
Start of mycelial growth

Графикон - 2. Пораст на мицелијата на 5, 10 и 15 ден (II опит)
Figure 2. Mycelium growth at the 5-th, 10-th and 15-th day (II trial)



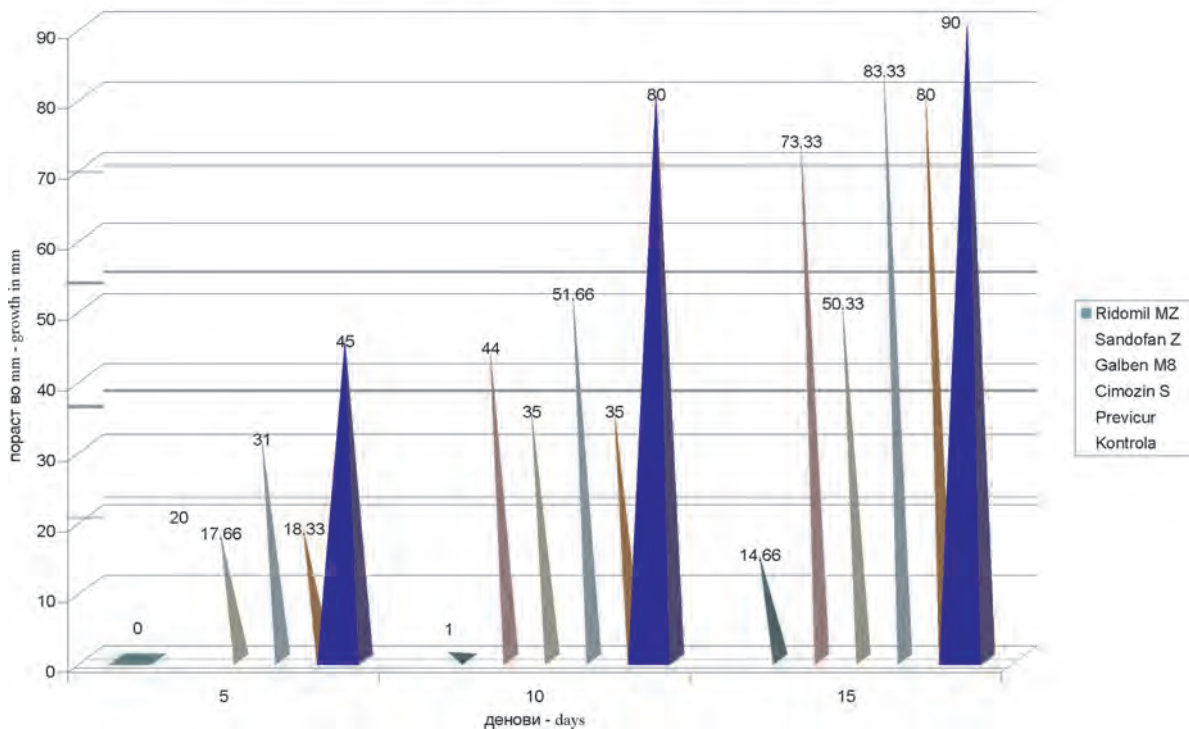
Табела 4. Пораст на мицелијата во mm по денови
Table 4. Mycelium growth in mm by days

III опит - trial III

Варијанта Variant	Denovi - days														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Ridomil MZ72 0,3%	-	-	-	-	+	+	+	+	1,00	1,00	1,00	3,00	8,00	10,33	14,66
Sandofan Z 0,3%	1,00	3,33	8,66	15,00	20,00	23,33	27,33	32,00	37,00	44,00	48,33	55,00	60,00	65,00	73,33
Galben M8 0,2%	2,00	5,00	11,66	13,66	17,66	20,66	23,33	26,66	30,00	35,00	39,00	43,33	45,33	50,33	50,33
Cimozin S 0,2%	6,00	15,00	25,66	29,33	31,00	36,66	40,00	45,00	49,00	51,66	55,00	60,00	66,66	72,00	83,33
Previcur N 0,25%	3,00	6,00	13,00	15,33	18,33	23,00	25,66	27,00	30,00	35,00	40,00	50,00	60,00	70,00	80,00
Контрола Check	8,00	15,00	25,00	32,00	45,00	56,00	60,00	69,33	73,33	80,00	85,00	89,00	90,00	90,00	90,00

(+) почеток на развој на мицелија
Start of mycelial growth

Графикон - 3. Пораст на мицелијата на 5, 10 и 15 ден (III опит)
Figure 3. Mycelium growth at the 5-th, 10-th and 15-th day (III trial)



Преглед за развој на габата на 15^{от} ден од инкубацијата за трите изведени опити е даден во Табела 5 и Графикон 4. Од прикажаниот преглед може да се види дека кај варијантата Ridomil MZ во првиот опит нема појава на мицелија, што беше и причина за да се изведат уште два опита. При вториот и третиот опит кај оваа варијанта се добиени слични резултати (15,00 и 14,66 mm), што говори за високото фунгистатично дејство на овој препарат. Најслаби резултати во сите три опити покажаа препаратите Previcur N и Cimosin

S. Останатите препарати не покажаа поголема токсичност врз развојот на габата од гледувана на хранлива подлога.

Високото фунгистатично дејство на препаратот Ridomil MZ што се покажа врз чиста култура од габата при нашите испитувања се потврдува со литературните податоци.

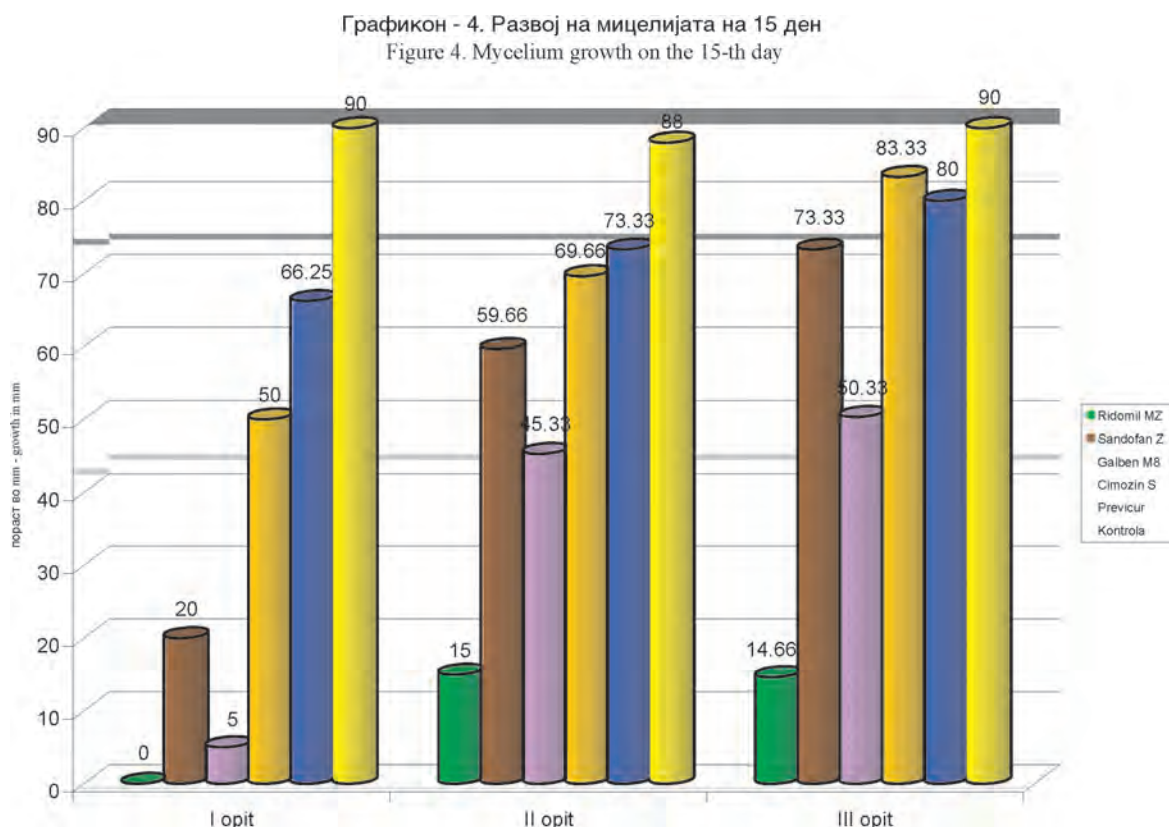
Слични испитувања се вршени со течна формулација на metalaxyl додаден во хранливата средина (1), кој покажал висока токсичност на порастот на мицелијата во споредба со контролата.

Табела 5. Преглед на развојот на мицелијата од трите опити на 15 ден
Table 5. Survey of mycelium growth from the three trials on the 15-th day

Варијанта Variant	I опит - trial	II опит - trial	III опит - trial
Ridomil MZ 72 0,3%	-	15,00	14,66
Sandofan Z 0,3%	20,00	59,66	73,33
Galben M8 0,2%	5,00	45,33	50,33
Cimosin S 0,2%	50,00	69,66	83,33
Previcur N 0,25%	66,25	73,33	80,00
Контрола Check	90,00	88,00	90,00

Високата ефикасност на фунгицидите врз база на metalaxyl во сузбивањето на патогенот *P. parasitica* var. *nicotianae* во полски услови е потврдена во испитувањата во Грција (7), во Јужна Африка (6) и во Македонија во Институтот за тутун-Прилеп

(5). Според нив активната материја metalaxyl употребена во различни формулации на препарати обезбедува највисока заштита на тутунот во поле од причинителот на болеста црнилка.



ЗАКЛУЧОК

Во Фитопатолошката лабораторија на Институтот за тутун - Прилеп беа направени in vitro испитувања на токсичното дејство на некои фунгициди врз развојот на габата *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*.

Резултатите добиени од трите опити го потврдија високото фунгистатично дејство на фунгицидот Ridomil MZ 72 додаден во хранливата подлога во концентрација од 0,3%. Во првите денови од инкубацијата врз хранливата подлога немаше развој на габата. Појава на мицелија беше забележана по петтиот ден и таа слабо се развиваше се до дванаесеттиот ден. На петнаесеттиот ден колку што траеше и набљудувањето, беше измерен пораст од 15,00 mm кај вториот опит и 14,66 mm кај третиот опит.

Слаб развој на габата до четвртиот ден беше регистриран и кај фунгицидите Sandofan Z и Galben M8, но во наредните денови развојот беше значително побрз во однос на оној кај варијантата Ridomil MZ 72.

Најбрз развој на габата беше забележан кај препаратите Previcur N и Cimozin S, со што овие препарати покажаа и најслаба ефикасност. На 15^{от} ден од инкубацијата колонијата достигна пораст од 80,00 mm односно 83,33 mm сличен на оној измерен кај контролата (90,00 mm).

Спрема тоа, од сите испитувани фунгициди на чиста култура од габата, највисока токсичност врз порастот на мицелијата покажа препаратот Ridomil MZ 72 врз база на metalaxyl.

ЛИТЕРАТУРА

1. Farih A. et al., 1981. In vitro effects of metalaxyl on growth, sporulation and germination of *Phytophthora parasitica* and *P. citophthora*. Plant disease, August, 651- 653.
2. Мицковски Ј., 1988. Фитофтората (црнилката) - важен проблем во тутунопроизводството. Тутун, Vol. 38, N° 9-10, 317-327.
3. 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.
4. Ташкоски П., 2000. Влијание на еколошките фактори врз развојот на габата *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Тутун, Vol.50, N° 9-10, 213-220.
5. Taškoski P., Gveroska B., Stojkov S., 2003. Results of laboratory and field investigations of some fungicides in the control of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*, the causing agent of black shank disease on tobacco. Proceeding scientific papers international scientific conference "50 years university of forestry", Session Plant protection, 263-267, 1-2 april, Sofija.
6. Vaan Jaarsveld E. and Scholtz A., 1998. Evaluating different metalaxyl formulations for control of Black Shank (*Phytophthora nicotianae*) on flue-cured tobacco in South Africa and evaluating cultivars for resistance against Black Shank in combination with Ridomil G (metalaxyl). Information Bulletin, CORESTA congress, 11- 15 October, Brighton.
7. Vasilakakis Ch. B. et al., 1984. The control of tobacco Black Shank in the field using systemic fungicides. CORESTA, 8 th International tobacco Scientific Congress - Vienna.

In vitro EFFECT OF FUNGICIDES ON DEVELOPMENT OF THE PATHOGEN OF *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*

Petre Taskoski, Biljana Gveroska
Tobacco Institute - Prilep

SUMMARY

In vitro investigations were carried out in Phytopathological laboratory of Tobacco Institute-Prilep on the toxic effect of some fungicides in development of the fungus *P. parasitica* var. *nicotianae*.

Results obtained in three trials confirmed the high fungistatic effect of Ridomil MZ 72 added in nutrient medium in a rate of 0,3%. In the first days of incubation, no fungus development appeared on nutrient medium. Mycelial growth was recorded after the 5-th day, progressing slowly up to the 12-th day. At the 15-th day, the final day of observation, a growth of 15,00 mm and 14,66 mm was recorded in the second and third trial, respectively.

Poor fungus development was recorded up to the 4-th day with chemicals Sandofan Z and Galben M8, but in the following days the growth was significantly faster compared to that in the variant Ridomil MZ 72.

The most rapid growth of the fungus was recorded with Previcur N and Cimozin S and this is the chemical that showed the lowest effectiveness. 15 days after incubation the growth of the colony of 80,00 mm, 83,33 mm was similar to that in the check variety (90,00 mm).

Accordingly, the highest toxicity among all investigated fungicides on mycelium growth on pure fungus culture was obtained with Ridomil MZ 72 based on metalaxyl.

Author's address:

Petre Taskoski
Tobacco Institute - Prilep
Kicevski pat bb, 7500 Prilep
Republic of Macedonia