

В.Г.Иванюк, член-корреспондент ААН РБ, доктор биологических наук, профессор

Белорусский НИИ картофелеводства

О.В.Авдей, ст. научный сотрудник

Белорусский НИИ защиты растений

Г.К.Журомский, научный сотрудник

Белорусский НИИ картофелеводства

УДК 632.481.146Ф:635.21:632.952(476)

Мониторинг, стратегия и тактика борьбы с резистентностью возбудителя фитофтороза картофеля к фениламидам

*В условиях Беларуси изучено состояние резистентности популяции *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary к металаксилу. Доказано, что уровень устойчивости гриба прямо пропорционален интенсивности использования против него системных фунгицидов группы фениламинов. Анализ полученных данных не выявил зависимости между характером проявления фитофтороза на картофеле и резистентностью его возбудителя. Установлено, что признак резистентности приурочен в основном к типу совместимости A_1 . Предложены мероприятия по восстановлению чувствительности к металаксилу популяции *Ph. infestans*.*

*The article studies the status of the resistance of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary population to metalaxil in the conditions of the Republic of Belarus. It is proved that the level of fungus resistance is directly proportional to the intensity of systemic phenylamide group fungicides used against it. The analysis of the data obtained has not revealed any interrelation between the character of late blight seen in potato and its agent resistance. It is determined that resistance indication is mainly timed to a type of A_1 compatibility. The article offers the measures on restoring *Ph. infestans* population sensitivity to metalaxil.*

Несмотря на более чем 150-летнюю историю изучения возбудителя фитофтороза картофеля, разработки и усовершенствования методов защиты, оказалось, что болезнь и сегодня остается наиболее вредоносной во всех картофелеводческих странах мира, в том числе и в Беларуси. Особенно резко изменилась ситуация в последние 10-15 лет, когда надежда на возможную победу над фитофторозом с помощью системных препаратов за короткое время сменилась разочарованием в их эффективности.

На наш взгляд, в основе всех неудач в борьбе с фитофторозом картофеля лежат изменения, произошедшие в биологии возбудителя болезни, в повышении его адаптивности, пластичности, в усилении патогенных свойств. Гриб *Ph. infestans* приобрел способность поражать картофель на протяжении всей вегетации, начиная со времени появления всходов и до естественного отмирания ботвы. Болезнь в Беларуси отмечается ежегодно во второй декаде июня, т.е. на 20-30 дней раньше обычного срока (первая половина июля) одновременно на листьях и стеблях сортов всех групп спелости независимо от погодных условий.

В сложившейся ситуации основным методом борьбы с фитофторозом остается химический. В настоящее время против листовых пятнистостей картофеля (фитофтороз, альтернариоз) рекомендовано свыше 30 фунгицидов с разным механизмом действия. Треть составляют комбинированные препараты, из которых 90% включают системный компонент, относящийся к группе фениламинов.

Общезвестно, что одним из последствий применения препаратов этой группы является формирование популя-

ций патогена, резистентных к ним. В результате развития устойчивости снижается эффективность защитных мероприятий. Попытки же компенсировать данный недостаток увеличением кратности обработок или доз пестицидов ведут к загрязнению окружающей среды и неблагоприятным изменениям в биоценозах. Поскольку в основе механизма возникновения резистентности лежит селективирующее действие химического агента на популяцию гриба, неизбежным результатом таких действий является также ускоренное нарастание устойчивости патогена вплоть до полной потери эффективности используемого препарата [8, 11].

Цель настоящей работы — изучение состояния резистентности *Ph. infestans* к системным фунгицидам в условиях Беларуси и разработка способов ее преодоления.

Методика исследований. Для определения чувствительности *Ph. infestans* к металаксилу использовали метод листовых дисков (ФАО, 1982). Сущность его заключается в заражении суспензией зооспорангиев испытываемого изолята гриба дисков из листьев картофеля, помещенных на растворы фунгицида определенной концентрации [6]. Метод включает несколько этапов: сбор пораженных фитофторозом растений картофеля во всех агроклиматических зонах; выделение возбудителя болезни в чистую культуру и его размножение; приготовление диагностических растворов металаксилла в концентрациях от 0,01 до 1000 мкг/мл; вырезание дисков из здоровых листьев картофеля восприимчивого сорта и экспозиция их в растворах металаксилла; приготовление суспензии зооспорангиев стандартного (чувствительного) и анали-

Таблица 1. Резистентность популяции *Ph. infestans* к системным фунгицидам

Год	Характер проявления фитофтороза	Количество изолятов, %		
		резистентные	среднерезистентные	чувствительные
1989	эпифитотия	36	44	20
1990	эпифитотия	86	6	8
1991	депрессивно-умеренное	42	48	10
1993	эпифитотия	58	36	6
1994	поздняя эпифитотия	0	10	90
1995	эпифитотия	18	8	74
1996	эпифитотия	35	42	23
1997	эпифитотия	7	35	58
1998	эпифитотия	40	32	28
1999	депрессия	26	28	46
2000	эпифитотия	5	31	64

зируемых изолятов *Ph. infestans* и заражение ими листовых дисков; определение интенсивности спороношения гриба на поверхности дисков и графический расчет эффективной концентрации металаксилу, ингибирующей рост патогена на 50% ($ЭК_{50}$). По отношению $ЭК_{50}$ опытного образца к $ЭК_{50}$ чувствительного штамма определяли фактор резистентности (FR) анализируемого изолята возбудителя фитофтороза по формуле

$$FR = \frac{ЭК_{50} \text{ анализируемого изолята}}{ЭК_{50} \text{ чувствительного изолята}}$$

При значении FR ниже 10 изолят считали чувствительным к металаксилу. При уровне FR в пределах от 10 до 100 популяцию фитофторы относили к смеси устойчивых и чувствительных штаммов, если выше 100 — ее характеризовали как устойчивую к системным фунгицидам [5, 7].

В качестве стандарта использовали чувствительный к металаксилу изолят *Ph. infestans*, полученный из ВНИИ фитопатологии РАСХН.

Результаты исследований. В Беларуси изучению резистентности *Ph. infestans* к фениламидам большое внимание уделялось в работах В.Г. Иванюка, А.А. Константиновича [4], Л.В. Барыбкиной [1]. Ими впервые в республике были обнаружены резистентные к металаксилу штаммы гриба. В дальнейшем нами выявлено, что в популяции возбудителя фитофтороза картофеля ежегодно присутствуют изоляты, устойчивые к этой группе препаратов. Однако уровень резистентности их по годам не одинаков. Наиболее высокое содержание устойчивых и среднеустойчивых форм у *Ph. infestans* отмечено в 1989–1993 гг. — 80–94% [3]. С 1994 г. их количество существенно снизилось и находилось в пределах от 10 до 77% (табл. 1).

Анализ данных не выявил зависимости между уровнем резистентности и характером развития заболевания. Высокое содержание устойчивых форм патогена в популяции отмечено как в годы депрессивно-умеренного проявления болезни (1991 г.), так и в годы эпифитотийного развития (1989, 1990, 1993, 1996, 1998 г.). При этом в годы эпифитотии уровень резистентности к металаксилу может быть как очень высоким (1990 г. — 92%, 1993 г. — 94%), так и низким (1995 г. — 26%, 2000 г. — 36%).

На наш взгляд, основными факторами, определяющими долю содержания устойчивых и среднеустойчивых форм гриба в популяции *Ph. infestans*, являются количество и частота применения системных фунгицидов против возбудителя фитофтороза картофеля.

Как видно из рисунка, существует тесная зависимость между объемом применения системных препаратов в Беларуси и уровнем резистентности. Так, резкое сокращение количества обработанных полей этими фунгицидами в 1994 г. вызвало снижение количества устойчивых форм в популяции гриба. Однако даже незначительное увеличение объемов использования системных препаратов, отмеченное в 1995–1997 гг., послужило причиной нарастания доли содержания резистентных изолятов *Ph. infestans*.

По мнению Труса С.М. и Козловского Б.Е. [9], восстановление чувствительности популяции возможно в тех случаях, когда резистентные штаммы гриба по своим характеристикам, определяющим их жизнеспособность и конкурентоспособность, уступают чувствительным формам.

Однако в исследованиях, проведенных ранее, не учитывалась одна из наиболее важных характеристик исследуемых штаммов *Ph. infestans* — тип совместимости. Перед нами была поставлена цель — установить наличие зависимости между состоянием резистентности популяции и ее структурой.

Выявлено, что среди изолятов, имеющих тип совместимости A_1 , содержание резистентных и среднерезистентных форм гриба достигает соответственно 22,7 и 27,3% (табл. 2).

Таблица 2. Типы совместимости и резистентность *Ph. infestans* к металаксилу (1993–1999 гг.)

Тип совместимости	Количество изолятов, %		
	резистентные	среднерезистентные	чувствительные
A_1	22,7	27,3	50,0
A_2	4,7	9,6	85,7

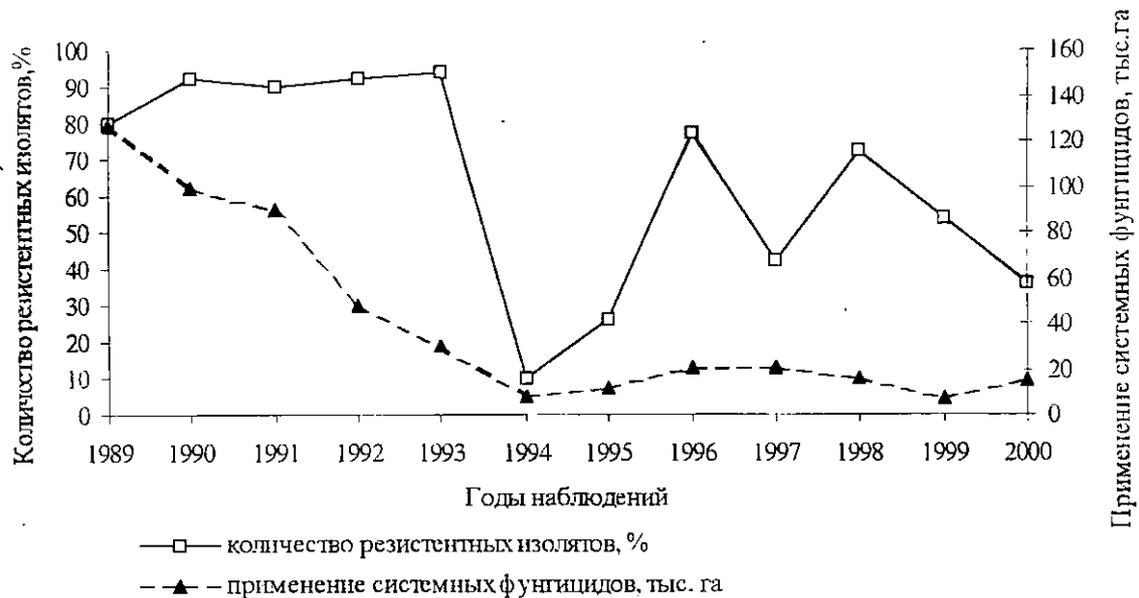


Рис. Влияние объемов применения системных фунгицидов на резистентность популяции *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

Преимущественное содержание чувствительных форм (85,7%) зарегистрировано у изолятов, относящихся к типу спаривания A_2 . На долю устойчивых штаммов у этой физиологической формы *Ph. infestans* приходилось только 4,7%. Установлено, что в резистентной популяции патогена количество A_1 типа совместимости в 4,8 раза больше, чем типа A_2 .

Высокий процент содержания чувствительных форм гриба среди изолятов A_2 типа отмечают исследователи в "польской", "японской" и "нидерландской" популяциях патогена [12, 13]. В 1989 г. в Польше среди 15 устойчивых штаммов только 1 имел тип спаривания A_2 и 14 изолятов — A_1 .

Таким образом, на основании данных, полученных в результате проведенного анализа, установлено, что в условиях Беларуси признак резистентности приурочен в основном к типу спаривания A_1 , который уступает по своим характеристикам, определяющим его жизнеспособность и патогенность, типу совместимости A_2 . Полученные результаты подтверждаются проведенным парным корреляционно-регрессионным анализом (табл. 3).

С целью разработки антирезистентной стратегии применения фунгицидов нами изучена продолжительность сохранения признака устойчивости к металаксилу у "белорусских" изолятов патогена. Выявлено, что в течение первых пяти генераций изоляты возбудителя фитофтороза картофеля сохраняли резистентность к фениламидам, а в пяти последующих она снижалась до уровня среднерезистентных штаммов.

Для длительного сохранения эффективности используемых фунгицидов в борьбе с возбудителем фитофто-

роза картофеля важным является прогнозирование момента возникновения резистентности к этим фунгицидам. По нашим данным, полученным в лабораторных условиях, уже после трех пассажей на тканях картофеля, содержащих металаксил, чувствительные изоляты гриба проявляли себя как среднеустойчивые, а на четвертый и последующие — они имели свойства устойчивых штаммов.

Одним из приемов, получивших широкое применение в системе защиты картофеля от фитофтороза во многих картофелеводческих странах мира, является использование схем чередования комбинированных и контактных фунгицидов [2]. В настоящее время существует разный спектр схем их чередования. Однако основное внимание исследователями в опытах было направлено на учет биологической эффективности применяемых пестицидов против возбудителя заболевания во время вегетации и полученный урожай.

Нами в полевых условиях изучалось селективное действие препаратов, использованных в схемах обработок, на резистентность популяции *Ph. infestans*. Исследования осуществлялись в изолированных, контролируемых условиях с применением наиболее часто используемых схем опрыскиваний. В качестве комбинированного фунгицида был взят ридомил МЦ — 72% с.п. с нормой расхода 2,5 кг/га; контактного — дитан М-45 — 80% с.п. с нормой расхода 1,5 кг/га.

До естественного появления патогена в полевых условиях проводилось инфицирование посадок картофеля суспензией гриба, состоящей из резистентных, среднерезистентных и чувствительных изолятов в соотношении 1:1:1. Инфекционный материал получали путем смешивания

Таблица 3. Статистическая оценка зависимости между содержанием в популяции типов совместимости и резистентностью *Ph. infestans* (1989–1999 гг.)

Тип совместимости	Уровень устойчивости		
	резистентные	среднерезистентные	чувствительные
A_1	+0,6587±0,21	+0,1277±0,37	-0,6262±0,23
A_2	-0,6890±0,19	-0,1953±0,36	+0,6880±0,20

конидиальных споровидных патогена в равном количестве. Использовались два контроля: 1 — биологический (без заражения и обработок); 2 — заражение растений смесью изолятов без последующих обработок препаратами.

Как видно из таблицы 4, после трех обработок растений картофеля комбинированным фунгицидом (ридомил МЦ — 8% металаксил) в популяции *Ph. infestans* доля содержания устойчивых изолятов составила 50%. Остальные были отнесены нами к группе среднеустойчивых. При последующих опрыскиваниях количество резистентных штаммов резко возрастало и к концу вегетации достигло 100%, т.е. все отобранные изоляты оказались устойчивыми к металаксилу.

Аналогичные результаты ранее были получены С.М.Трусом /10/. Автор также указывает на то, что применение фениламинов приводит к быстрому увеличению доли резистентных форм в популяции, причем уровень устойчивости значительно повышается к концу вегетационного периода.

В то же время использование контактного фунгицида дитан М-45 позволяет снизить долю содержания резистентных штаммов к концу вегетации после 4-5 обработок (исходное содержание резистентных изолятов — около 33%) до 17-18%. Однако, как видно из таблицы, в этом случае отмечена тенденция к количественному преобладанию (50%) среднеустойчивых форм.

Особое внимание нами уделено тем вариантам опыта, где применялось чередование контактного и комбинированного фунгицида. Выявлено, что сочетание 2 обработок ридомилом МЦ с 3 обработками дитаном М-45, в сравнении с другими схемами чередования препаратов, было наиболее приемлемым с точки зрения снижения уровня устойчивости популяции *Ph. infestans* к металаксилу. Установлено, что количество резистентных штаммов уменьшилось до 39%, в то время как использование других схем чередования препаратов (2 профилактические обработки контактным фунгицидом и последующие — комбинированным, а также чередование этих препаратов) способствовало увеличению доли содержания в популяции резистентных изолятов до 67 и 57% соответственно.

В варианте с 3 опрыскиваниями растений ридомилом МЦ после 2 обработок дитаном М-45 резко возрастает частота встречаемости устойчивых к фениламидам штаммов патогена (67-70% начиная с третьего опрыскивания) и остается на этом же уровне до конца вегетационного периода. Причем чувствительных изолятов *Ph. infestans* в этой популяции гриба нами обнаружено не было.

Использование схемы чередования контактного и комбинированного фунгицида также вызвало образование лишь незначительного количества чувствительных штаммов патогена (7%) на фоне высокого содержания в популяции резистентных и среднерезистентных форм — 57 и 36% соответственно.

Популяция возбудителя фитофтороза картофеля, изолированная с контрольных растений, где проводилось искусственное заражение патогеном (без обработок препаратами), состояла из среднеустойчивых изолятов — 24% и чувствительных — 76%. Соотношение резистентных, среднерезистентных и чувствительных форм гриба составило 0:1:3, в то время как в исходной инфекции оно было 1:1:1. Исчезновение устойчивых штаммов в этом случае, по нашему мнению, связано с отсутствием селективных факторов, т.е. фунгицидов, содержащих фениламины.

Нами установлена также еще одна закономерность, заслуживающая особого внимания. В популяции *Ph. infestans*, появление и развитие которой происходило естественным путем (контроль биологический), отмечено 100%-ное содержание среднеустойчивых форм гриба. В данном случае наша точка зрения также совпадает с мнением С.М.Труса /10/ о том, что группа изолятов со средней устойчивостью может служить адаптивным потенциалом, позволяющим патогену достаточно быстро вызывать образование устойчивых форм в популяции при применении фунгицида.

Таким образом, на основании детального анализа полученных результатов, в условиях Беларуси во избежание накопления в популяции *Ph. infestans* резистентных форм целесообразно проводить защиту картофеля от возбудителя фитофтороза, применяя следующую схему обработок: 2 опрыскивания комбинированным препаратом и последующие — контактным.

Таблица 4. Влияние фунгицидов на резистентность популяции *Ph. infestans* к фениламидам (сорт Явар, 1996–1997 гг.)

Вариант	Количество обработок	Количество изолятов, %											
		после 2 обработок			после 3 обработок			после 4 обработок			после 5 обработок		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Контроль (биологический)	0	0	67	33	0	100	0	-	-	-	-	-	-
Контроль (без обработок)	0	11	44	45	0	24	76	-	-	-	-	-	-
Ридомил МЦ	5	33	67	0	50	50	0	80	20	0	100	0	0
Дитан М-45	5	6	34	60	23	46	31	18	38	44	17	50	33
Ридомил МЦ+дитан М-45	2+3	33	67	0	46	36	18	38	42	20	39	46	15
Дитан М-45+ридомил МЦ	2+3	6	34	60	67	17	16	70	30	0	67	33	0
Дитан М-45+ридомил МЦ (чередование)	5	50	17	33	50	20	30	50	50	0	57	36	7

Примечание. 1 — резистентные изоляты, 2 — среднерезистентные, 3 — чувствительные изоляты

Литература

1. Барыбкина Л.В. Резистентность популяции *Phytophthora infestans* к фунгицидам в условиях Белоруссии // Современное положение с резистентностью вредителей, возбудителей болезней растений и сорняков к пестицидам: Тез. докл. восьмого совещ., 2-5 марта 1992 г., Уфа. – Уфа, 1992. – С. 82-83.
2. Брукиш Д.А. Биологическое обоснование рационального применения пестицидов против фитофтороза и альтернариоза картофеля: Автореф. дис.... канд. биол. наук. – Минск, 1997. – 16 с.
3. Иванюк В.Г., Авдей О.В. Резистентность *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary к системным фунгицидам // Международный аграрный журнал. – 1999. – № 6. – С. 20-22.
4. Иванюк В.Г., Константинович А.А. Эффективность фунгицидов против резистентных форм возбудителя фитофтороза картофеля // Современное положение с резистентностью вредителей, возбудителей болезней растений и сорняков к пестицидам: Тез. докл. восьмого совещ., 2-5 марта 1992 г., Уфа. – Уфа, 1992. – С. 87-88.
5. Изучение природных популяций возбудителя фитофтороза на картофеле и томатах: Метод. указания / Всес. науч.-иссл. инст. фитопатологии; Сост. Ю.В. Воробьева, В.В. Гриднев, Л.А. Поспелова и др. – Москва, 1990. – 31 с.
6. Методические указания по мониторингу возбудителя фитофтороза картофеля для определения чувствительности его к металаксилу / Б.Е. Козловский, А.В. Филиппов и др. – Москва, 1989. – 16 с.
7. Определение степени чувствительности фитофторы к металаксилу: Метод. указания / Всес. науч.-иссл. инст. защиты растений; Сост. В.В. Мелоян, С.Л. Тютчев. – Ленинград-Пушкин, 1990. – 8 с.
8. Трус С.М. Устойчивость фитопатогенных грибов к фунгицидам и мониторинг возбудителя фитофтороза картофеля для определения чувствительности его к препаратам группы фениламинов // Агрохимия. – 1994. – № 3. – С. 112-124.
9. Трус С.М., Козловский Б.Е. Конкурентная способность изолятов *Phytophthora infestans*, различающихся по чувствительности к фениламидным препаратам // Современное положение с резистентностью вредителей, возбудителей болезней растений и сорняков к пестицидам: Тез. докл. восьмого совещ., 2-5 марта 1992 г., Уфа. – Уфа, 1992. – С. 76-78.
10. Трус С.М. Эпифитотимологические аспекты резистентности возбудителя фитофтороза картофеля *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary к фунгицидам и обоснование методов ее преодоления: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Москва, 1992. – 24 с.
11. Darsow U. Ermittlung der relativen Krautfaulerresistenz (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) der Kartoffel in der Feldprüfung // Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz. – 1989. – Vol. 25. – № 2. – S. 137-143.
12. Mating type, nuclear DNA content, allozyme phenotype and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* from Japan / C.D. Therrien, P.W. Tooley, L.J. Spielman et. al. // Phytopathology. – 1991. – Vol. 81. – P. 242-258.
13. *Phytophthora infestans* in Poland from 1987–1989. Nuclear DNA content, mating type distribution and response to metalaxyl / C.D. Therrien, D.L. Ritch, L.S. Sujkowski et. al. // Phytopathology. – 1992. – Vol. 82. – P. 360-367.