

Токсическое действие протравителей семян на изоляты гриба *Fusarium nivale* (Fr.) Ges. – возбудителя снежной плесени озимого тритикале

Приведены результаты анализа токсического действия протравителей семян: суми 8, 2% ФЛО, раксил 060, КС, витавакс 200 ФФ, 34% в.с.к., колфуго дуплет, КС, феразим, КС, премис двести, КС на изоляты гриба *F. nivale* Прилуцкой популяции, резистентные к фундазолу, 50% с. п. Изоляты были наиболее чувствительны к препаратам суми 8, 2% ФЛО, раксил 060, КС, витавакс 200 ФФ, 34% в.с.к., премис двести, КС. Препарат колфуго дуплет оказал слабое токсическое действие, “фактор резистентности” составил в среднем 80,9. К препарату феразим проанализированные изоляты проявили резистентность.

Снежная плесень является одной из наиболее распространенных и вредоносных болезней озимых зерновых культур. В нашей республике против гриба *Fusarium nivale* – возбудителя снежной плесени – в течение более 15 лет широко использовались фунгициды из группы бензимидазолов: фундазол, беномил, агроцит. Вследствие этого биологическая эффективность, например, фундазола снизилась к концу 90-х годов с 71,0-73,0 до 17,0-21,0%. Более того, нередко отмечались случаи стимуляции развития болезни [1]. Первые сообщения о потере чувствительности популяции *F. nivale* к бензимидазольным фунгицидам относятся к началу 80-х годов. Так, о резистентности *F. nivale* к бензимидазолам сообщалось Хартке и Бухенауэром (1984), Ульвонгом (1984), Юнкером (1985), Хаэгермаком (1985) [7]. В последнее десятилетие интерес к этой проблеме не уменьшился и отражен в работах ряда авторов [8, 9, 10].

Исследователями Института защиты растений [2] при анализе структуры популяций гриба *F. nivale*, паразитирующего на озимой ржи, по чувствительности к фундазолу было установлено не только наличие резистентных изолятов, но и в целом резистентных популяций. Пятилетний мониторинг резистентности Прилуцкой популяции гриба *F. nivale* свидетельствует о сохранении низкой чувствительности ее к фундазолу. Сравнительно продолжительное сохранение низкой чувствительности популяции гриба *F. nivale* к фундазолу и одновременное использование препаратов из других классов химических соединений обусловили необходимость изучения наличия перекрестной устойчивости. В исследования были включены следующие препараты, используемые в республике для

The article provides the results of of the analysis of toxic influence of seed dressers: Sumi 8.2% FLO, Raxil 060, SC, Vitavax 200 FF, 34% WSC, Kolfugo duplet, SC, Ferazium, SC, Premis 200, SC on *nivale* fungus isolates of Priluki population resistant to Fundazol, 50% SP. These isolates were more sensitive to Sumi 8.2% FLO, Raxil 060, SC, Vitavax 200 FF, 34% WSC, Premis 200, SC preparations. Kolfugo duplet preparation exerted weak toxic influence “factor of resistance” averaged 80.9. Analysed isolates showed resistance to the preparation Ferazim.

обеззараживания семян озимой ржи от патогенной микрофлоры: раксил 2% с. п. и байтан-универсал 19,5% с. п. На основании полученных данных сделан вывод об отсутствии перекрестной устойчивости и, следовательно, возможности эффективного применения протравителей из других химических групп для ограничения развития болезни. Вместе с тем для нас представляет большой теоретический и практический интерес реакция другой культуры – озимого тритикале, которая в значительной степени поражается возбудителем снежной плесени, грибом *F. nivale* – при использовании новых протравителей, рекомендованных на этой культуре.

Как известно, любой вид гриба представлен изолятами с различной степенью чувствительности к фунгицидам. При этом часть изолятов способна адаптироваться к препаратам, а следовательно, быть менее чувствительной к обработкам. Такие изоляты могут расти при более высоких концентрациях фунгицида. Уровень устойчивости патогена – один из факторов, который влияет на динамику развития заболевания при использовании химических средств защиты [3].

В связи с этим целью нашей работы было изучение в условиях *in vitro* токсического действия протравителей семян на изоляты гриба *F. nivale* – возбудителя снежной плесени озимого тритикале – для биологического обоснования тактики и стратегии применения препаратов в условиях повышенной устойчивости патогена к бензимидазолам.

Материалы и методы. Выделение изолятов *F. nivale* проводили из пораженных листьев озимого тритикале на картофельно-глюкозный агар. Гриб культивировали в чашках Петри при температуре 15-18°C. Для испытания фун-

гицидной активности химических веществ применяли метод, предложенный Н.М. Гольшиным [4], с использованием агаровой питательной среды. Растворы фунгицидов готовили на спирте и воде и вводили в расплавленную агаровую среду при 40-50°C. Затем среду разливали в чашки Петри по 10 мл в каждую. Использовали набор концентраций 1, 10, 100 мкг/мл по действующему веществу. Для количественной характеристики чувствительности изолятов применены термины EC_{50} и “фактор резистентности” (ФР). EC_{50} – концентрация фунгицида, необходимая для эффективного подавления роста штамма на 50%. EC_{50} определяется по логарифмической сетке, где по оси X откладываются данные подавления роста колонии гриба, по оси Y – концентрация (мкг/мл) изучаемого фунгицида. Фактор резистентности – отношение EC_{50} изучаемого штамма к EC_{50} чувствительного штамма [6].

В исследования были включены следующие протравители семян озимого тритикале, используемые для обеззараживания посевного материала от патогенной микрофлоры: витавакс 200 ФФ (34% водно-суспензионный концентрат, содержащий 17% карбоксина – группа оксатионов, и 17% тирама – относится к производным дитиокарбаминных кислот); колфуго дуплет, КС (37% концентрат суспензии, содержащий 20% карбендазима, группа бензимидазолов, и 17% карбоксина); премис двести, КС (20% концентрат суспензии, действующее вещество которого триконазол относится к группе триазолов); раксил 060, КС (6% концентрат суспензии из группы триазолов); суми 8, 2% ФЛО, действующее вещество которого диниконазол также относится к группе триазолов; феразим, КС (50% концентрат суспензии, действующее вещество карбендазим относится к группе бензимидазолов).

Для выяснения токсического действия вышеперечисленных протравителей семян озимого тритикале относительно гриба *F. nivale* были использованы изоляты низкочувствительной Прилукской и высокочувствительной Ивацевичской популяций к фундазолу.

Результаты и их обсуждение. Проведенные нами ранее исследования чувствительности к фундазолу изолятов Прилукской и Оршанской популяций гриба *F. nivale*, вызывающего снежную плесень озимого тритикале, свидетельствуют о том, что все изучаемые изоляты Прилукской популяции имели EC_{50} свыше 100 мкг/мл, т.е. данная группа изолятов оказалась резистентной (табл. 1).

Оршанская популяция также оказалась низкочувствительной, но характеризуется большей дифференциацией по степени чувствительности изолятов. Так, 32,3% из них были высокочувствительны; 13 – с EC_{50} от 71 до 100 мкг/мл,

с пониженной чувствительностью; 9,6% с EC_{50} от 1 до 50 мкг/мл – со средней чувствительностью и 45,1% с EC_{50} свыше 100 мкг/мл – резистентные [5]. Затем была проанализирована чувствительность к фундазолу изолятов Ивацевичской популяции. Выяснилось, что данная популяция состоит из чувствительных (50,0%), низкочувствительных (10%) и резистентных изолятов (40,0%).

Изучение токсического действия протравителей на фоне резистентной Прилукской популяции показало (табл. 2), что препараты суми 8, раксил и премис двести (группа триазолов) оказывали наиболее сильное токсическое действие на изоляты гриба *F. nivale*. Для препарата суми 8, EC_{50} и ФР изолятов составили соответственно 0,1-0,6 и 1,0-6,0; для препарата раксил – 0,4-1,8 и 1,0-4,5; для препарата премис двести – 0,4-2,0 и 1,0-5,0, т.е. изоляты оказались чувствительными к данным препаратам.

Витавакс 200 ФФ также оказался токсичным по отношению к анализируемым изолятам, однако EC_{50} и ФР для этого препарата были несколько выше по сравнению с приведенными препаратами и составили 0,3-6,0 и 1,0-20,0 соответственно. Следует отметить, что для трех из пятнадцати изолятов не было отмечено роста гриба даже при использовании самой малой из испытываемых концентраций – 1 мкг/мл, т.е. эти изоляты оказались высокочувствительными.

Показатели EC_{50} и ФР для препарата колфуго дуплет составили соответственно 0,6- >100 и 1,0-166,7. Четыре изолята имели EC_{50} >100 и ФР – 166,7. В общей сложности препарат не оказал токсического действия на восемь изолятов (более 50%), поскольку EC_{50} превышала аналогичный показатель чувствительного к данному препарату изолята (0,6) более чем в 100 раз, т.е. они были резистентны. Вместе с тем анализ структуры Прилукской популяции к этому протравителю по токсичности свидетельствует о наличии чувствительных к препарату изолятов, среди которых 20,0% высокочувствительные, 20,0% среднечувствительные. По-видимому, такая крайне противоположная реакция изолятов резистентной популяции обусловлена тем, что препарат комбинированный и содержит 20,0% карбендазима (группа бензимидазолов) и 17% карбоксина. Поэтому в производстве эффективность препарата в результате обеззараживания семян против гриба *F. nivale* может быть недостаточной для защиты посева в местах многолетнего применения препаратов бензимидазольной группы.

Препарат феразим КС, действующее вещество которого карбендазим – из группы бензимидазолов, оказался неэффективным, так как все изоляты были устойчивы и EC_{50} их превышала показатель 100 мкг/мл. Поэтому такой

Таблица 1. Распределение изолятов *F. nivale* по степени чувствительности к фундазолу (% от общего числа изолятов)

Популяции	Число изучаемых изолятов	EC_{50} , мкг/мл						
		0	1-10	11-30	31-50	51-70	71-100	>100
Прилукская	44	-	-	-	-	-	-	100
Оршанская	31	32,3	3,2	3,2	3,2	-	13	45,1
Ивацевичская	40	47,5	-	2,5	-	2,5	7,5	40,0

Таблица 2. Чувствительность к протравителям семян озимого тритикале, резистентных к фундазолу, 50% с. п. изолятов Прилукской популяции гриба *F. nivale*

Изолят, №	Суми 8, 2% ФЛО		Раксил, 060 КС		Витавакс 200 ФФ, 34% в.с.к.		Колфуго дуплет, КС		Феразим, КС		Премис двести, КС	
	ЕС ₅₀	ФР	ЕС ₅₀	ФР	ЕС ₅₀	ФР	ЕС ₅₀	ФР	ЕС ₅₀	ФР	ЕС ₅₀	ФР
1	0,4	4,0	0,8	2,0	5,3	17,7	0,7	1,2	>100	-	0,6	1,5
2	0,2	2,0	0,8	2,0	6,0	20,0	16,7	16,7	>100	-	1,0	2,5
3	0,3	3,0	1,0	2,5	4,0	13,3	2,2	2,2	>100	-	0,5	1,3
4	0,3	3,0	1,0	2,5	4,5	15,0	>100	166,7	>100	-	0,9	2,3
5	0,4	4,0	1,8	4,5	5,0	16,7	>100	166,7	>100	-	1,0	2,5
6	0,4	4,0	1,4	3,5	0,4	1,3	>100	166,7	>100	-	0,9	2,3
7	0,6	6,0	1,5	3,8	0,6	2,0	>100	166,7	>100	-	1,0	2,5
8	0,5	5,0	1,5	3,8	0,4	1,3	60,0	100,0	>100	-	1,0	2,5
9	0,4	4,0	0,5	1,3	0,9	3,0	15,0	25,0	>100	-	0,8	2,0
10	0,1	1,0	1,0	2,5	0,3	1,0	0,6	1,0	>100	-	0,7	1,8
11	0,4	4,0	0,5	1,3	S	-	62,0	103,3	>100	-	2,0	5,0
12	0,2	2,0	0,6	1,5	0,4	1,3	78,0	130,0	>100	-	2,0	5,0
13	0,3	3,0	0,4	1,0	S	-	10,0	16,7	>100	-	1,0	2,5
14	0,4	4,0	0,7	1,8	S	-	65,0	108,3	>100	-	0,4	1,0
15	0,5	5,0	0,6	1,5	0,6	2,0	25,0	41,7	>100	-	1,8	4,5
Среднее	0,36	3,6	0,9	2,4	1,9	6,3	48,5	80,9			1,1	2,6

Примечание. S- рост изолята редуцировался при концентрации 1 мкг/мл

Таблица 3. Токсическое действие препаратов феразим, КС и колфуго дуплет на изоляты гриба *F. nivale*, чувствительные к фундазолу, 50% с. п.

Популяция	Количество изолятов	Феразим, КС	Колфуго дуплет, КС
		ЕС ₅₀	ЕС ₅₀
Ивацевичская	15	S	S

Примечание. S – рост изолята редуцировался при концентрации 1 мкг/мл.

препарат в зонах интенсивного использования бензимидазолов не следует применять ввиду отсутствия его токсического действия относительно гриба *F. nivale*.

В дальнейших исследованиях нас интересовал вопрос о токсическом действии препаратов феразим и колфуго дуплет на изоляты чувствительной к фундазолу популяции гриба *F. nivale*. В результате проведенного анализа было выяснено, что препараты феразим, КС и колфуго дуплет, КС оказали токсическое действие на изоляты гриба *F. nivale* – рост колоний гриба был редуцирован уже при концентрации фунгицидов в среде 1 мкг/мл (табл. 3).

Таким образом, исследования показали, что изоляты гриба *F. nivale*, (Прилукская популяция), резистентные к фундазолу, чувствительны к протравителям семян: суми 8,2%ФЛО, раксил 060, КС, витавакс 200 ФФ, 34% в.с.к., премис двести, КС, «фактор резистентности» составил в среднем для каждого из этих препаратов: 3,6; 2,4; 6,3; 2,6 соответственно. Препарат колфуго дуплет оказал слабое токсическое действие на изоляты этой популяции и «фактор резистентности» составил в среднем 80,9. К препарату феразим проанализированные изоляты проявили резистентность. Для Ивацевичской популяции, обладающей чувствительностью к препарату фундазол, обнаружили такую и по отношению к протравителям феразим и колфуго дуплет, что позволяет применять их в зонах, где популяции гриба *F. nivale* чувствительны к препаратам из бензимидазольного ряда.

Литература

1. Буга С. Ф., Радына А. А., Боярчук В. Е. Мониторинг чувствительности популяции гриба *F. nivale* (Fr.) Ces к фундазолу // Весці АНБ: Сер. біял. навук. – 1996. – № 2. – С. 76-79.
2. Буга С. Ф., Радына А. А., Боярчук В. Е. Мониторинг чувствительности популяции гриба к фундазолу. // Микология и фитопатология. – 2000. – Т. 34. Вып. 3. – С. 63-67.
3. Гагкаева Т. Ю. Чувствительность к фунгицидам штаммов *Fusarium graminearum* различного географического происхождения // Соврем. сост. пробл. резистентности вредителей, возбудителей болезней и сорняков к пестицидам в России и сопредельных странах на рубеже XXI века: Материалы девятого совещ. (20,22 дек. 2000г., Санкт-Петербург). – Санкт-Петербург, 2000. – С. 63-65.
4. Гольшин Н. М. Фунгициды в сельском хозяйстве. – Москва: Колос, 1970. –185 с.
5. Жуковский А. Г., Буга С. Ф. Чувствительность популяции гриба *F. nivale*, паразитирующего на озимом тритикале, к фундазолу // Защита растений: Сб. науч. тр. / НИРУП “Белорус. ин-т защиты растений”. – Минск, 2003. – Вып. 27. – С. 84-89.
6. Cohen V. Determination of the sensitivity of *Pseudoperonospora cubensis* to phenylamides // Bull. OEPP. – 1992. – Vol. 22, № 2. – P. 318-320.
7. Haegermark U., Petersson E. Resultat fran brod-

dbehonotingsforsok I hostrag mot snomogel (*Gerlachia nivales*) // Vaxtskyddsrapport, konsulentavd. vaxtskydd inst. vaxt – och skogsskydd. – Jordbruk, 1988. – Vol. 52. – P.124-126.

8. Analysis of variation within *Microdochium nivale* from wheat: evidence for a distinct sub-group / Lees A. K., Nichollson P., Rezanoor H. N., Parry D. W. // Mycol. Res. – 1995. – Vol. 99. – P. 103-109.

9. Analysis of *Microdochium nivale* isolates from wheat in the UK during 1993 / Parry D. W., Rezanoor H. N., Pettitt T. R. et. al. // Ann. appl. Biol. – 1995. – Vol. 126, N. 3. – P. 449-455.

10. Pettitt T. R., Parry D. W., Polley R. W. Improved estimation of the incidence of *Microdochium nivale* in winter wheat stems in England and Wales, during 1992, by use of benomyl agar // Mycol. Res. – 1993. – Vol. 97. – P. 1172-1174.
