УДК 632. 952

В.В. Чекмарев, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией;

Н.Н. Дубровская, научный сотрудник;

О.И. Корабельская, младший научный сотрудник; **Г.Н. Бучнева**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,

Среднерусский филиал ФГБНУ Тамбовский НИИСХ (392553, Тамбовская область, Тамбовский район, п/о Новая жизнь, ул.

амоовская ооласть, тамоовскии раион, п/о повая жизнь, ул. Молодёжная 1,

тел.: 8(4752) 62-90-60; email: <u>tmbsnifs@mail.ru</u>)

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ФУНГИЦИДОВ IN VITRO

При испытаниях средств защиты растений в полевых условиях необходим достаточно длительный период времени, большой расход материальных средств и труда. Не всегда оказывается возможным оценить эффективность химических препаратов в отношении конкретного вида патогена. На естественном инфекционном фоне растения оказываются инфицированными несколькими видами грибов, вызывающих сходные По причине симптомы заболевания. этой возникает необходимость изучения эффективности фунгицидов В отношении отдельных видов фитопатогенов искусственном инфекционном фоне или применения лабораторных методов с использованием чистых культур грибов. Одним из таких методов является метод агаровых пластин (или чашечный метод). Установлено, что данный метод возможно использовать для биологической оценки фунгицидов (in vitro) в отношении грибов рода Fusarium, а также других видов, способных развиваться на искусственных питательных средах. Он заключается в следующем: в опытных вариантах на агаровую пластину наносится суспензия конидий гриба и раствор препарата, в контрольном - вместо фунгицида стерильная вода. После инкубации в термостате определяют число образовавшихся колоний гриба и их диаметр. Применение метода агаровых пластин позволило выявить наиболее эффективные (92,2 - 100,0 %) в отношении грибов Fusarium semitectum, F. tricinctum и Bipolaris sorokiniana препараты – Кинто дуо, Витарос, Винцит, Максим, Виал ТТ и Максим экстрим. Наибольшее ингибирующее действие (эффективность 97,3 – 98,6 %) против гриба Fusarium graminearum оказали фунгициды Колфуго супер и Фалькон.

Ключевые слова. Метод агаровых пластин, фунгициды, грибы рода Fusarium, биологическая эффективность.

V.V. Chekmarev, Candidate of Agricultural Sciences, head of the laboratory; N.N. Dubrovskaya, research officer;

O.I. Korabelskaya, junior research officer; G.N. Buchneva, Candidate of Biological Sciences, senior research officer, Middle Russian Branch of FSBSI Tambovsky RIA (392553, Tambov region, Tambov district, v. of Novaya Zhizn, Molodezhnaya Str., 1; tel.: 8(4752) 62-90-60; email: tmbsnifs@mail.ru)

BIOLOGICAL ASSESSMENT OF FUNGICIDES IN VITRO

During the testing of plant protection methods on the fields we need a longer period of time, large expenditure of material and labor. It's not always possible to evaluate the efficiency of chemical drugs to one definite type of pathogen. On the naturally infected fields the plants are infected by some kinds of fungi, that produce the same symptoms of the disease. Thus it is essential to study the efficiency of fungicides to some kinds of phyto pathogens in the artificial conditions or to use laboratory methods with the application of pure cultures of fungi. One of these methods is Plate Count Agar (PCA) (also called Standard Methods Agar (SMA)). It has been established that this method can be used for biological assessment of fungicides (in vitro) for the fungi Fusarium, and also for other species which grow in the artificial conditions. The method consists in the following: in the experimental variants, a suspension of conidia of the fungus and a solution of the chemical drug are applied to the agar plate, in the control variant sterile water is applied instead of the fungicide. After the process of incubation in the thermostat, a number of formed fungal colonies and their diameter are assessed. The application of Plate Count Agar (PCA) (also called Standard Methods Agar (SMA)) gave the opportunity to reveal the most efficient (92.2-100.0%) for the fungi Fusarium semitectum, F. tricinctum and Bipolaris sorokiniana chemical drugs 'Kinto Duo', 'Vitaros', 'Vintsit', 'Maksim', 'Vial TT' and 'Maksim' ekstrim'. The fungicides 'Kolfugo super' and 'Falkon' showed their largest inhibitory effect (with the efficiency of 97.3-98.6%) for the fungus Fusarium graminearum.

Keywords: Plate Count Agar (PCA) (also called Standard Methods Agar (SMA)), fungicides, fungi Fusarium, biological efficiency.

Введение. Биологическую и хозяйственную эффективность средств защиты растений чаще всего оценивают в полевых опытах. Но предварительную оценку фунгицидов возможно провести и в лабораторных условиях. Это касается видов грибов, способных расти на искусственных питательных средах, в частности, грибов рода Fusarium и Bipolaris sorokiniana. На зерновых злаковых культурах они вызывают корневые гнили и фузариоз колоса. Для контроля развития корневых гнилей в настоящее время применяется достаточно широкий спектр химических препаратов – протравителей семян. Но не все они в одинаковой степени оказываются эффективными против данного заболевания. Это связано с тем, что возбудители корневых гнилей представлены

различными видами микроорганизмов и применяемые средства не всегда способны ингибировать их развитие. Многие фитопатогены проявляют определенный уровень резистентности к фунгицидам. В отношении возбудителя фузариоза колоса пшеницы биологическая эффективность существующих фунгицидов относительно невелика и в полевых условиях составляет 60 – 70 %. По этой причине возникает необходимость в создании и скрининге препаратов, эффективных в отношении возбудителей, вызывающих корневые гнили и фузариоз колоса зерновых культур. В связи с этим, целью наших исследований являлось изучение лабораторных методов, пригодных для скрининга средств, подавляющих развитие вышеназванных возбудителей. В ходе проведенных экспериментов было установлено, что для выявления фунгицидов, ингибирующих развитие грибов рода Fusarium, а также других видов, способных развиваться на искусственной питательной среде, оказалось возможным использовать метод агаровых пластин [1,2].

Материалы и методы. В качестве материала исследований были использованы чистые культуры грибов Fusarium semitectum, F. tricinctum, F. graminearum и Bipolaris sorokiniana. Применительно к изучению влияния химических препаратов на виды грибов, способных расти на искусственных питательных средах, нами была разработана соответствующая методика, основанная на применении метода агаровых пластин [3]. Она заключается в следующем: на поверхность агаровой пластины в чашке Петри наносится 0,5 мл водной суспензии конидий изучаемого вида гриба и 0,5 мл раствора фунгицида. Количество препарата пересчитывают на площадь агаровой пластины, исходя из его нормы расхода. В контроле вместо фунгицида на поверхность агара наносят 0,5 мл стерильной воды. После инкубации в термостате в течении 3 – 7 суток (в зависимости от вида гриба) и температуре 24,5 – 25,0°С проводят подсчет числа образовавшихся колоний и измеряют их диаметр в микронах (под бинокуляром). В экспериментах использовали искусственную питательную среду Чапека.

Результаты. В данной работе представлены результаты опытов по изучению влияния протравителей семян и фунгицидов на рост и развитие колоний грибов Fusarium semitectum, F. tricinctum, F. graminearum и Bipolaris sorokiniana (таблицы 1 и 2).

1. Эффективность протравителей семян в отношении грибов Fusarium semitectum, F. tricinctum и Bipolaris sorokiniana при использовании метода агаровых пластин

№ п/п	Фунгицид, норма расхода	Вид гриба					
		Fusarium		Fusarium		Bipolaris	
		semitectum		tricinctum		sorokiniana	
		Кол-во	Биоло-	Кол-во	Биоло-	Кол-во	Биоло-
		коло-	гическая	коло-	гическая	коло-	гическая

		ний,	эффек-	ний,	эффек-	ний,	эффек-
		шт.	тивность,	ШТ.	тивность,	ШТ.	тивность,
			%		%		%
1	Контроль	417	-	947	-	226	-
2	Кинто дуо КС, 2 л/т	0	100,0	0	100,0	2	99,1
3	Витарос ВСК, 3 л/т	3	99,3	0	100,0	0	100,0
4	Винцит СК, 2 л/т	0	100,0	19	98,0	0,7	99,7
6	Максим КС, 2 л/т	0	100,0	45	95,2	0	100,0
7	Виал ТТ ВСК, 0,4 л/т	6	98,6	37	96,1	0	100,0
8	Максим экстрим КС,	12	97,1	74	92,2	0	100,0
	2 л/т						·
5	Колфуго супер КС,	15	96,4	0	100,0	78	65,5
	2 л/т						
9	Раксил КС, 0,5 л/т	107	74,3	609	35,7	4,7	97,9
10	Дивиденд стар КС,	149	64,3	620	34,5	0	100,0
	1 л/т						
11	Премис двести КС,	137	67,1	639	32,5	0	100,0
	0,25 л/т						
12	Суми-8 КС, 2 л/т	370	11,3	503	46,9	0	100,0
	HCP ₀₅	67	-	98	_	35,3	

Как видно из данных таблицы 1, наибольшей (98,0 - 100,0 %) эффективностью в отношении видов Fusarium semitectum, F. tricinctum и Bipolaris sorokiniana обладали препараты Кинто дуо КС, Витарос ВСК и Винцит СК. К этой же группе средств, ингибирующих развитие вышеназванных видов грибов, можно отнести Максим КС, Виал ТТ ВСК и Максим экстрим КС. Они снижали численность колоний на 92,2 – 100,0 %. Препарат Колфуго супер КС проявлял высокую (96,4 – 100,0 %) эффективность против видов Fusarium semitectum и F. tricinctum, но в отношении гриба Вipolaris sorokiniana данный показатель был существенно ниже и составил 65,5 %. Раксил КС, Дивиденд стар КС, Премис двести КС и Суми-8 КС оказали значительное ингибирующее воздействие (эффективность 97,9 – 100,0 %) на рост колоний Вipolaris sorokiniana, но были малоэффективны (11,3 – 74,3 %) против Fusarium semitectum и F. tricinctum.

1. Эффективность фунгицидов против гриба Fusarium graminearum (метод агаровых пластин)

№ п/п	Препарат, норма расхода	Количество колоний на агаровой пластине, шт.	Биологи- ческая эффектив- ность, %	Диаметр колоний, мкм	Снижение диаметра колоний, %
1	Контроль	223	-	522	-
2	Колфуго супер КС, 2 л / га	3	98,6	80	84,7
3	Фалькон КЭ, 0,6 л / га	6	97,3	55	89,5

4	Альто супер КЭ, 0,5 л / га	58	74,0	128	75,5
5	Амистар экстра СК, 0,6 л/ га	68	69,5	135	74,1
6	Рекс дуо КС, 0,5 л / га	132	40,8	152	70,9
7	Рекс С КС, 0,75 л / га	147	34,1	215	58,8
8	Абакус ультра СЭ, 1,5 л / га	174	22,0	155	70,3
	HCP ₀₅	36	-	58	-

Согласно данным таблицы 2, из испытанных фунгицидов наибольшей (97,3 – 98,6 %) эффективностью обладали препараты Колфуго супер КС и Фалькон КЭ. Снижение диаметра колоний гриба в этих вариантах опыта составило 84,7 – 89,5 %. Менее эффективными были фунгициды Альто супер КЭ и Амистар экстра СК. Они снижали численность колоний на 69,5 – 74,0 %, а их диаметр на 74,1 – 75,5 %. Эффективность препаратов Рекс дуо КС, Рекс С КС и Абакус ультра СЭ находилась на низком уровне и составила 22,0 – 40,8 %. Следует отметить, что Рекс дуо КС и Абакус ультра СЭ все же существенно (на 70,3 – 70,9 %) снижали диаметр колоний гриба Fusarium graminearum.

Полученные в лабораторных экспериментах данные о биологической эффективности вышеназванных средств могут не соответствовать результатам полевых опытов. При испытаниях фунгицидов в полевых условиях этот показатель, как правило, существенно ниже. Во многом это зависит от класса препарата, химической структуры его действующего вещества, способности ингибировать развитие патогена непосредственно в тканях растения, продолжительности действия. Достаточно эффективных средств против фузариоза колоса зерновых культур, способных полностью ингибировать развитие заболевания, пока не создано.

Выводы. Исходя из вышеизложенного можно сказать, что с помощью метода агаровых пластин возможно провести предварительную экспресс-оценку средств, применяемых (или рекомендуемых к применению) для контроля заболеваний зерновых культур. Его использование позволило выявить средства (Кинто дуо КС, Витарос ВСК, Винцит СК, Максим КС, Виал ТТ ВСК и Максим экстрим КС), обладающие одновременно высокой (92,2 - 100,0 %) эффективностью в отношении грибов Fusarium semitectum, F. tricinctum и Bipolaris sorokiniana – возбудителей корневых гнилей зерновых злаковых культур. Аналогичные результаты получены при испытании фунгицидов, применяемых для обработки вегетирующих растений. Установлено, что препараты Колфуго супер КС и Фалькон КЭ проявляют высокую (97,3 – 98,6 %) эффективность в отношении гриба Fusarium graminearum – возбудителя фузариоза колоса пшеницы. В

целом полученные результаты согласуются с литературными данными о действии вышеназванных средств на возбудителей фузариозных заболеваний зерновых культур. Изучение влияния химических препаратов на патогенные микроорганизмы с помощью метода агаровых пластин позволяет существенно ускорить скрининг средств, эффективных против болезней растений.

Литература

- 1. Аристовская, Т.В. Большой практикум по микробиологии / Т.В. Аристовская, М.Е. Владимирская, М.М. Голлербах и др. М: Высшая школа, 1962. 492 с.
- 2. Герхардт, Ф. Методы общей бактериологии / Ф. Герхардт, Д.Е. Мюррей, Р.Н. Костилов и др. М. : Мир, 1983. Т. 1. 536 с.
- 3. Чекмарев, В.В. Методика определения биологической эффективности фунгицидов в отношении грибов рода Fusarium и их резистентности к химическим препаратам / В.В. Чекмарев, Ю.В. Зеленева, Г.Н. Бучнева, О.И. Корабельская, Н.Н. Дубровская, В.А. Левин, В.Ф. Фирсов. Тамбов : Принт-Сервис, 2015. 61 с.

Literature

- 1. Aristovskaya, T.V. The Big practical work on microbiology / T.V. Aristovskaya, M.E. Vladimirskaya, M.M. Gollerbah and others M. "High school" 1962. 492 p.
- 2. Gerhardt, F. Methods to general bacteriology / F. Gerhardt, D.E. Myurrey, R.N. Kostilov and others. M. : Mir. 1983. V.~1. 536 p.
- 3. Chekmarev, V.V. The Methods of the determination to biological efficiency fungicides in respect of fuguses of the genus Fusarium and their resistance to chemical preparation / V.V. Chekmarev, YU.V. Zeleneva, G.N. Buchneva, O.I. Korabeliskaya, N.N. Dubrovskaya, V.A. Levin, V.F. Firsov. Tambov: Print-Servis. –2015. 61 p.