

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЯ
СЕТЧАТОЙ ПЯТНИСТОСТИ ЛИСТЬЕВ (*PYRENOPHORA TERES*)
К ДВУХКОМПОНЕНТНЫМ ФУНГИЦИДАМ
НА ОСНОВЕ ТРИАЗОЛОВОГО И СТРОБИЛУРИНОВОГО КЛАССОВ

Я.В. ЯХНИК, Г.В. ВОЛКОВА

(Федеральный научный центр биологической защиты растений)

Исследования проводили с целью изучения чувствительности сетчатой пятнистости листьев (возбудитель – *Pyrenophora teres* Drechsler) к двухкомпонентным фунгицидам на основе триазолового и стробилуринового классов. Работу выполняли на интактных растениях ячменя и в чистой культуре гриба с использованием 4 препаратов (Амистар Экстра, СК, Амистар Голд, СК, Балий, КМЭ, Деларо, КС) и 3 вариантов обработки с различной от рекомендуемой производителями нормой применения: 0% (контроль без фунгицида), 50%, 100% (рекомендуемая производителями норма), 150%, 200%. Было выявлено, что чувствительность гриба *P. teres* значительно варьировала в зависимости от действующего вещества в составе токсиканта и механизмов взаимодействия с препаратом – *in vivo* (опосредованное) или *in vitro* (прямое). При обработке растений рекомендуемой производителями нормой минимальная биологическая эффективность выявлена после обработки фунгицидом Деларо, КС – 76,3% (на основе протиоконазола (175 г/л) и трифлуксистробина (150 г/л)), максимальные показатели биологической эффективности выявлены после обработки препаратом Балий, КМЭ – 83,1% (на основе азоксистробина (120 г/л) и пропиконазола (180 г/л)). При внесении фунгицидов в чашки с питательной средой рост колоний гриба замедлился во всех опытных вариантах, максимальные показатели биологической эффективности выявлены при внесении препаратов Амистар Голд, СК – 98,8% (на основе азоксистробина (125 г/л) и дифеноконазола (125 г/л)), Деларо, КС – 98,4% (на основе протиоконазола (175 г/л) и трифлуксистробина (150 г/л)); минимальные значения выявлены при внесении препарата Амистар Экстра, СК – 38,8% (на основе азоксистробина (200 г/л) и ципроконазола (80 г/л)). Внесение всех препаратов на питательную среду вызвало чрезмерное структурирование и патологическую дифференциацию мицелия гриба *P. teres*, на среде с фунгицидами наблюдалось ускорение фаз роста колоний в сравнении с контрольным вариантом. Внесение препаратов Амистар Голд, СК, Деларо, КС, и Балий, КМЭ полностью ингибировало споруляцию. Проведенные исследования позволили получить новые знания по изменению морфолого-культуральных признаков региональной популяции *P. teres* под действием фунгицидов триазолового и стробилуринового классов и ее чувствительности к токсикантам.

Ключевые слова: ячмень озимый, *Pyrenophora teres*, сетчатая пятнистость листьев, болезни ячменя, фунгициды, чувствительность.

Введение

Сетчатая пятнистость листьев (возбудитель заболевания – аскомицет *Pyrenophora teres* (Died.) Drechsler) является одним из наиболее распространенных и вредоносных заболеваний ячменя озимого (*Hordeum vulgare* L.) во всем мире, вызывающее потери урожая до 50% и значительно снижающее качество зерна [15, 18]. Ввиду активных микроэволюционных процессов популяции патогена способны адаптироваться к высеваемым в конкретных регионах сортам, индуцируя быструю потерю сортовой устойчивости, а также мутировать и приобретать устойчивость к наиболее распространенным

и широко применяемым современным фунгицидам. Резистентность к фунгицидам, содержащим хинон-внешний ингибитор (QoI), ингибитор сукцинатдегидрогеназы (SDHI) и ингибитор деметилазы (DMI), в связи с повышением интенсификации сельскохозяйственного производства наблюдается повсеместно, однако мутация против фунгицидов QoI обеспечивает лишь частичную устойчивость, в связи с чем химический класс стробилуринов до сих пор остается эффективным против сетчатой пятнистости листьев [10].

Химическая защита от сетчатой пятнистости листьев ячменя обычно достигается за счет использования смесей фунгицидов, включающих в себя стробилурины, триазолы и карбоксамиды. Исследования, проведенные в Австралии, выявили снижение чувствительности к фунгицидам наиболее распространенного триазолового класса у изолятов, выделенных после 2015 г., они имели умеренную и высокую резистентность к тебуконазолу [13]. Также в последние годы у возбудителя сетчатой пятнистости листьев на посевах в Австралии возникла устойчивость к группе ингибиторов сукцинатдегидрогеназы (пиразолкарбоксамиды), которые представляют собой один из ключевых классов фунгицидов, используемых для борьбы с сетчатой пятнистостью. Новые двойные мутации гриба *P. teres* f. *teres* привели к возникновению устойчивых к пидифлуметофену и флюксапироксаду форм в Аргентине в 2021 г. [16]. Резистентность к фунгицидам стробилуринового класса, выявленная у изолятов гриба *P. teres* в Японии, связана с мутацией, которая препятствует взаимодействию белка CytВ и фармакофора QoI [14]. Такой тип мутантов QoI-R демонстрирует частичную устойчивость к QoI у патогенных грибов *P. teres*. Аналогичные данные о выявлении резистентных к фунгицидам основных химических классов форм гриба *P. teres* фиксируются повсеместно [8, 11, 17]. Снижение или полное отсутствие чувствительности фитопатогенных грибов к химическим обработкам приводят к снижению урожайности, ухудшению качественных характеристик зерна и к контаминации семян микотоксинами.

Необходимо проводить перманентные исследования изменения чувствительности доминантов фитопатогенного комплекса к основному ассортименту используемых защитных препаратов на химической основе для обоснования антирезистентной стратегии защиты озимого ячменя, контроля источника возможной инфекции и получения качественного урожая. Предотвращение эпифитотий сетчатой пятнистости листьев ячменя обеспечит продовольственную и экологическую безопасность как региона, так и страны.

Таким образом, возникает необходимость в изучении чувствительности региональной популяции *P. teres* к фунгицидам наиболее распространенных и широко применяемых на юге России химических классов.

Цель исследований: изучить чувствительность возбудителя сетчатой пятнистости листьев (гриб *P. teres*) к двухкомпонентным фунгицидам на основе триазолового и стробилуринового классов (Амистар Экстра, СК (азоксистробин 200 г/л + ципроконазол 80 г/л); Амистар Голд, СК (азоксистробин 125 г/л + дифеноконазол 125 г/л); Балий, КМЭ (азоксистробин 120 г/л + пропиконазол 180 г/л); Деларо, КС (протионазол 175 г/л + трифлюксистробин 150 г/л)).

Материал и методы исследований

Исследования проводили в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (ФГБНУ ФНЦБЗР) с использованием уникальной научной установки «Фитотрон для выделения, идентификации, изучения и поддержания рас, штаммов, фенотипов патогенов» (<https://ckp-rf.ru/catalog/usu/671925/>) и объектов биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов».

Для создания искусственного инфекционного фона образцы растений с признаками поражения сетчатой пятнистостью отбирали на производственных посевах озимого ячменя Краснодарского края. Из одного листа выделяли один изолят гриба. После высыхания при температуре 20°C с листьев вырезали пораженные участки ткани (5 × 10 мм), поверхность дезинфицировали 1%-ным раствором гипохлорита натрия в течение 2 мин, затем промывали 3 раза стерильной водой в течение 2 мин и высушивали на стерилизованной фильтровальной бумаге. Продезинфицированные срезы растений помещали на морковно-свекольный агар (120 мл моркови, 120 мл свеклы, 20 г агара, 1 л воды) и инкубировали в течение 5 дней при 23°C под УФ-лампами (30 Вт UVB280–315 нм) [3]. Через 5 дней стерильной иглой переносили одну конидию в чашки с свекольно-морковным агаром для размножения.

Для исследований отобрали широко используемые химические фунгициды – производные триазолов и стробилуринов: Амистар Экстра, СК, 1 л/га (азоксистробин 200 г/л + ципроконазол 80 г/л); Амистар Голд, СК, 1 л/га (азоксистробин 125 г/л + дифеноконазол 125 г/л); Балий, КМЭ, 0,8 л/га (азоксистробин 120 г/л + пропиконазол 180 г/л); Деларо, КС, 1 л/га (протиоконазол 175 г/л + трифлуксистробин 150 г/л). Исследования проводили с использованием 5 вариантов обработки препаратами с разной нормой применения в процентном соотношении к разрешенной в сельском хозяйстве: 0% (контроль без фунгицида), 50%, 100% (вариант с разрешенной в сельском хозяйстве нормой применения), 150%, 200%.

Чувствительность к препаратам изучали на интактных растениях озимого ячменя, восприимчивого к патогену сорта Романс, и *in vitro* на чистой культуре *P. teres*. Для каждого опытного варианта в условиях климатокamеры Binder KBWF 720 (температура +23,0°C, влажность – 80%, освещенность – 13000 люкс) были посеяны по 3 вазона по 12–15 растений (объем – 0,5 л). Инокуляцию восприимчивого сорта озимого ячменя Романс возбудителем сетчатой пятнистости проводили методом опрыскивания (концентрация 40×10³ конидий на 1 мл) в стадии двух развернутых листьев, затем растения на сутки были помещены в полиэтиленовые изоляторы [7]. Обработку фунгицидами осуществляли через 3 суток после инокуляции, учет – через 7 дней после обработки препаратами.

Чувствительность к фунгицидам в чистой культуре *P. teres* изучали в чашках Петри на морковно-свекольном агаре. В чашки вносили растворы с разной нормой применения в процентном соотношении к разрешенной в сельском хозяйстве методом растирания по поверхности среды согласно методике Чекмарева [6]. Через сутки в чашки Петри вносили мицелиальные диски питательной среды с 7-дневной культурой гриба *P. teres*, вырезанные микробиологическим сверлом. Инкубацию патогена проводили в течение 7 дней (23°C под УФ лампами 30 W UVB280–315 нм), затем был измерен и рассчитан диаметр выросших на питательной среде с препаратом колоний. Интенсивность споруляции рассчитывали через 10 дней после инкубации (23°C под УФ лампами 30 W UVB280–315 нм). Из каждой чашки Петри готовили 10 мл конидиальной суспензии, затем подсчитывали количество спор в 1 мл суспензии с помощью ColonyCount, Schuett. При учете споруляции в чашках Петри с фунгицидами ввиду маленьких размеров колоний было использовано микробиологическое сверло, затем с вырезанного мицелиального диска отделена спорово-суспензиальная масса и рассчитана споруляция. Полученные данные умножены на частное от площади чашки и площади мицелиального диска.

В каждом опытном варианте было использовано 3 повторности. Биологическую эффективность (БЭ) рассчитывали по формуле Аббота, полуэффективную концентрацию (EC₅₀) – с помощью сервиса «Quest Graph™ EC50 Calculator». Статистическое различие выборок оценивали с помощью критерия Фишера ($\alpha = 0,05$). Расчет производили с использованием программного обеспечения StatSoft Statistica v13.0.

Результаты и их обсуждение

При обработке пораженных сетчатой пятнистостью листьев растений фунгицидами в различных концентрациях было выявлено, что обработка половинной от рекомендуемой производителями нормы замедляет развитие болезни от 52,5% (Деларо, КС) до 66,1% (Амистар Голд, СК) (табл. 1).

При обработке растений рекомендуемой производителями нормой минимальная биологическая эффективность выявлена после обработки препаратом Деларо, КС (76,3%), максимальные показатели выявлены после обработки препаратом Балий, КМЭ (83,1%). При увеличении дозы фунгицида в растворе до двойной нормы через 7 дней после обработки на растениях во всех опытных вариантах были также отмечены минимальные очаги поражения сетчатой пятнистостью листьев в виде отдельных некрозов и хлорозов (рис. 1). Ингибирующее развитие болезни под действием двойной нормы фунгицидов наблюдалось в диапазоне от 88,1% (Деларо, КС) до 96,6% (Балий, КМЭ), биологическая эффективность препаратов Амистар Голд, СК и Амистар Экстра, СК выявлена на уровне 89,8 и 93,2% соответственно.

В состав препаратов Деларо, КС и Балий, СК входит действующее вещество протиоконазол из группы ингибиторов синтеза эргостерина, обладающее защитным, искореняющим и лечебным действием, а также стимулирующим рост корней и побегов растения [5]. Второе действующее вещество каждого препарата относится к химической группе стробилуринов: трифлуксистробин (Деларо, КС) и азоксистробин (Балий, СК). По данным литературы, трифлуксистробин обладает активностью широкого спектра с защитным и лечебным действием, может перемещаться через газовую фазу, мезостемно и трансламинарно, положительно влияет на увеличение содержания белка в зернах пшеницы в связи со стимулирующим действием на нитратредуктазу [4]. Азоксистробин ингибирует прорастание спор грибов, обладает искореняющим, защитным, трансламинарным и системным действием.

Таблица 1

Развитие сетчатой пятнистости листьев на растениях ячменя после обработки фунгицидами различных химических классов, сорт Романс (тепличный комплекс ФГБНУ ФНЦБЗР, 2023 г.)

Фунгицид	EC ₅₀ , мг/мл	Развитие болезни, %				
		0%*	50%	100%	150%	200%
Амистар Голд, СК	0,35	59,0±4,0	20,0±3,3	11,0±2,8	6,0±1,6	6,0±1,6
Биологическая эффективность, %		-	66,1	81,4	89,8	89,8
Амистар Экстра, СК	0,80	59,0±4,0	23,0±2,3	12,0±2,1	11,0±1,6	4,0±0,4
Биологическая эффективность, %		-	61,0	79,7	81,4	93,2
Балий, КМЭ	0,77	59,0±4,0	21,0±2,0	10,0±2,0	6,0±1,6	2,0±0,4
Биологическая эффективность, %		-	64,4	83,1	89,8	96,6
Деларо, КС	0,80	59,0±4,0	25,0±3,3	14,0±2,1	14,0±2,1	7,0±1,4
Биологическая эффективность, %		-	52,5	76,3	76,3	88,1

*Норма применения от разрешенной в сельском хозяйстве, %.

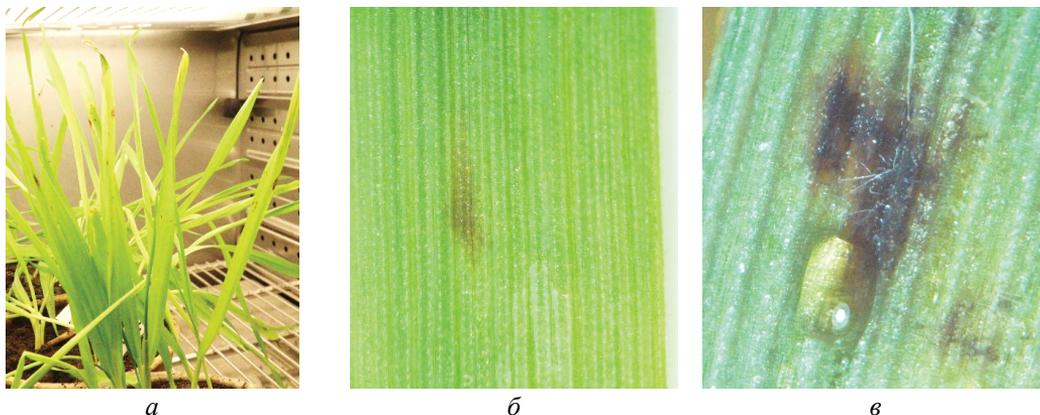


Рис. 1. Пораженные сетчатой пятнистостью листья ячменя озимого после обработки препаратом Балий, КМЭ в рекомендуемой норме:
 а) через 7 дней после обработки препаратом;
 б) хлороз на листовых пластине (увеличение в 2 раза);
 в) прорастание мицелия гриба через сутки после помещения на питательную среду пораженного участка листа (увеличение в 4 раза) (лабораторный комплекс ФГБНУ ФНЦБЗР, 2023 г., ориг.)

Принципиальное различие между веществами отмечается в работах Bartlett с группой исследователей, которые выявили, что азоксистробин распространяется трансламнарно, а также поднимается по ксилеме в организме растения выше точки поглощения [9]. В исследовании перераспределение азоксистробина после обработки зоны у основания листа привело к защите от болезней до верхушки листовой пластины, в то время как другие протестированные стробилурины не показали таких результатов.

Анализ биологической эффективности препаратов Амистар Голд, СК и Амистар Экстра, СК в различных нормах применения выявил невысокие, но статистически достоверные различия между опытными вариантами ($F_t 10,1 < F_f 19,2$). В состав обоих фунгицидов входит действующее вещество азоксистробин химического класса стробилуринов в различных концентрациях (Амистар Голд, СК 125 г/л, Амистар Экстра, СК 200 г/л). Второе действующее вещество каждого препарата относится к классу триазолов, механизм действия которых заключается в ингибировании биосинтеза стерина, нарушении функционирования клеточных мембран, клеточного деления, задерживании стимуляции роста и полового размножения гриба. Ципроконазол (входит в состав Амистар Экстра, СК) является умеренно растворимым в воде веществом (140 мг/л), поэтому быстро поглощается тканями и перераспределяется по всему листу, передвигается акропетально, базипетально и ламинарно; проявляет фунгитоксичность при относительно низких нормах расхода, усваивается корнями, передвигается в надземные органы, а также обладает значительной стойкостью в биологических средах, обеспечивая защитное действие до 45 суток [1]. Дифеноконазол (входит в состав Амистар Голд, СК) обладает значительно меньшей растворимостью в воде (5 мг/л) и способностью активно перемещаться по растению, вещество сорбируется листьями, оказывая защитное и лечащее действие. Фунгициды с дифеноконазолом широко используют при обработке против листовых болезней, в качестве протравителей семенного материала, а также при нанесении на корни, так как вещество усваивается корнями растений и доставляется в другие части через ткани ксилемы [12]. В то же время дифеноконазол обладает фитотоксичностью к проросткам пшеницы, так как вызывает

окислительный стресс, снижает биосинтез хлорофилла, подавляет рост и развитие растений. Угнетение растения-хозяина снижает защитные барьеры организма, что положительно влияет на развитие инфекционного процесса вследствие поражения гемибиотрофными патогенами.

Механизмы действия фунгицидов имеют различия при опосредованном воздействии на патосистему «Патоген-растение» ввиду взаимодействия нескольких живых объектов и непосредственно на патоген, выделенный в чистой культуре и растущий на питательной среде. При внесении препаратов в рекомендуемой производителями норме в чашки рост колоний замедлился во всех опытных вариантах, максимальные показатели биологической эффективности выявлены при внесении препаратов Амистар Голд, СК (98,8%) и Деларо, КС (98,4%), минимальные значения выявлены при внесении препарата Амистар Экстра, СК (38,8%) (табл. 2).

Увеличение нормы применения препаратов Амистар Голд, СК и Деларо, КС на 50% привело к полному ингибированию роста колоний. Двойная норма от рекомендованной производителями полностью ингибировала рост мицелия при внесении препаратов Амистар Голд, СК, Балий, КМЭ и Деларо, КС. При внесении препарата Амистар Экстра, СК средний диаметр мицелия в чашках составил 11,7 мм (в контроле – 56,7 мм) (рис. 2).

Дифеноконазол действует напрямую на патоген, полностью ингибирует рост субкутикулярного мицелия, снижает уровень спороношения гриба. Под действием ципроконазола в клетках грибов происходит ингибирование биосинтеза стероидов, в том числе эргостерола, с подавлением С-14-деметилирования при взаимодействии с цитохромом Р-450. Широкое использование ципроконазола в сельском хозяйстве обусловлено также достаточным спектром действия именно в растениях, так как происходит увлечение содержания хлорофилла, увеличивается всхожесть проростков [2].

Таблица 2

Диаметр колоний *Pyrenophora teres* на мицелиальных дисках после внесения химических фунгицидов на питательную среду (лабораторный комплекс ФГБНУ ФНЦБЗР, 2023 г.)

Фунгицид	ЕС ₅₀ , мг/мл	Диаметр колоний, мм				
		0%*	50%	100%	150%	200%
Амистар Голд, СК	0,03	56,7±4,0	6,0±0,8	0,7±0,4	0	0
Биологическая эффективность, %		-	89,4	98,8	100	100
Амистар Экстра, СК	1,05	56,7±4,0	31,7±2,3	34,7±3,6	27,0±2,0	11,7±0,8
Биологическая эффективность, %		-	44,1	38,8	52,4	79,4
Балий, КМЭ	0,68	56,7±4,0	10,0±0,9	6,7±0,4	1,3±0,4	0
Биологическая эффективность, %		-	82,4	88,2	97,7	100
Деларо, КС	0,01	56,7±±4,0	3,0±0,4	0,9±0,2	0	0
Биологическая эффективность, %		-	94,7	98,4	100	100

*Норма применения от разрешенной в сельском хозяйстве, %.

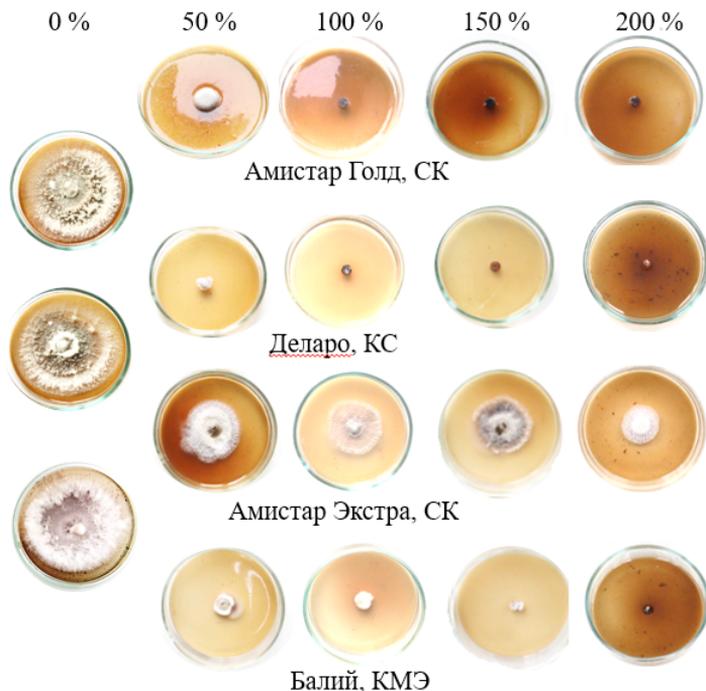


Рис. 2. Ингибирование роста колоний *Pyrenophora teres* через 7 суток инкубации с химическими фунгицидами на питательной среде (лабораторный комплекс ФГБНУ ФНЦБЗР, 2023 г., ориг.)

Внесение в чашки Петри препаратов Деларо, КС и Балий, КМЭ полностью ингибировало споруляцию, наблюдался сильно структурированный мицелий гриба с патологической дифференциацией, уменьшенным расстоянием между перегородками, лизисом отдельных клеток, подавлением ветвления и роста боковых гиф растущим концом главной гифы вследствие конкуренции за источник питания (рис. 3а). При внесении препаратов Амистар Экстра, СК и Амистар Голд, СК гриб *Pyrenophora teres* образовал пленчатую колонию с белым стерильным мицелием, характерную для питательных сред с недоступными питательными веществами (рис. 3б). Также стоит отметить в опытных вариантах наличие слабо структурированного мицелия с красным оттенком (рис. 3в). Внесение препаратов Балий, КМЭ и Деларо, КС обеспечило рост колоний гриба только по периметру внесенного диска с питательной средой. На среде с фунгицидами наблюдалось ускорение фаз роста колоний в сравнении с контрольным вариантом, так как наблюдались признаки фазы старения при наличии экспоненциальной фазы роста колоний в контрольном варианте.

В чашках Петри с фунгицидом Амистар Экстра, СК было выявлено конидиальное спороношение. При внесении 50% от рекомендуемой производителями нормы споруляция составила $1,1 \pm 0,8 \times 10^3$ шт/мл, конидиофоры одиночные, некоторые конидии не были отсоединены от конидиеносцев, что свидетельствует об их нежизнеспособности (рис. 3г). Внесение в чашки с питательной средой рекомендуемой производителями нормы препарата стимулировало увеличение количества конидий и составило $9,2 \pm 3,4 \times 10^3$ шт/мл. В 77,2% случаев это были 2–3-септированные конидии, остальные конидии содержали 4 септы. В одной чашке Петри с 150% от рекомендуемой производителями нормой фунгицида были выявлены одиночные конидии, в чашке с двойной нормой препарата конидии не выявлены.

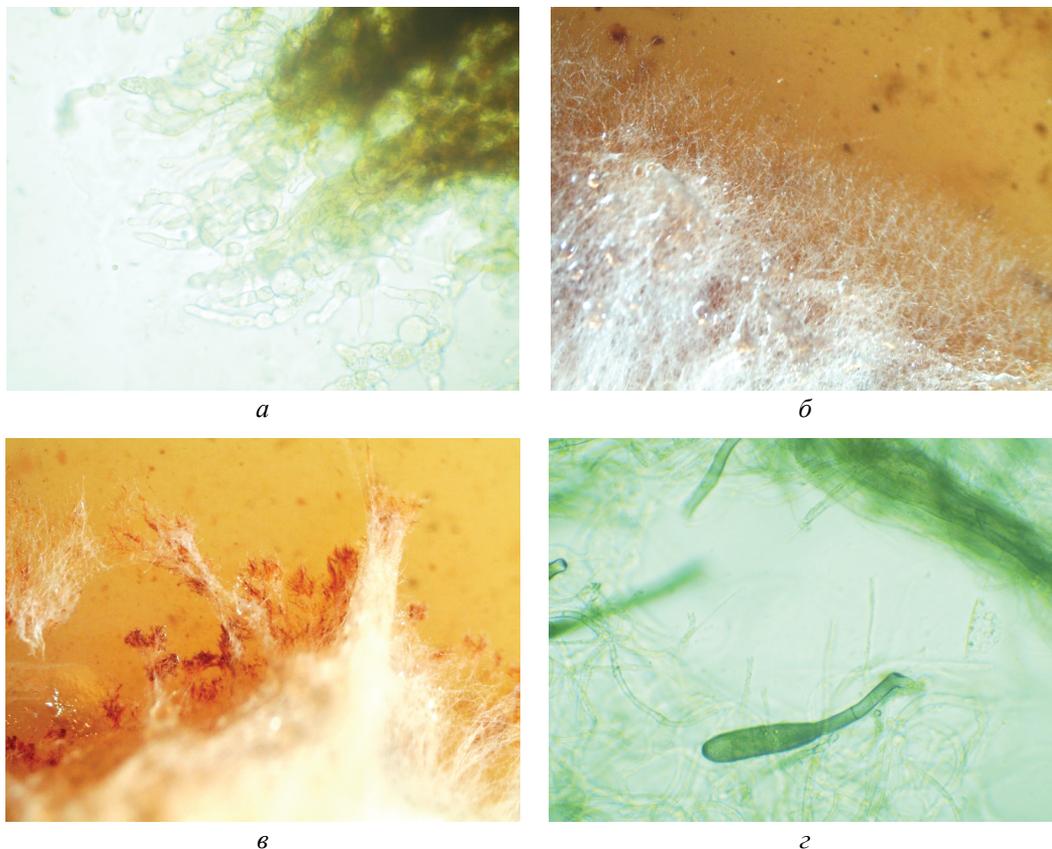


Рис. 3. Ингибирование образования нормальных морфологических структур *Pyrenophora teres*:
 а) образование мицелия с патологической дифференциацией при внесении препарата Балий, КМЭ (рекомендуемая производителями норма);
 б) образование плечатой колонии с белым мицелием при внесении препарата Амиста р Экстра, СК (200% рекомендуемой нормы);
 в) формирование слабо структурированного мицелия с красным оттенком при внесении препарата Балий, КМЭ (рекомендуемая производителями норма);
 г) формирование единичных конидий на концах конидиеносцев при внесении на среду препарата Амистар Экстра, СК (50% рекомендуемой нормы)
 (лабораторный комплекс ФГБНУ ФНЦБЗР, 2023 г., ориг.)

Выводы

Чувствительность возбудителя сетчатой пятнистости листьев ячменя к химическим фунгицидам значительно варьировала в зависимости от действующего вещества в составе токсиканта и механизмов взаимодействия с препаратом – *in vivo* (опосредованное взаимодействие) или *in vitro* (прямое влияние).

При обработке растений рекомендуемой производителями нормой минимальная биологическая эффективность выявлена после обработки препаратом Деларо, КС – 76,3% (протиоконазол 175 г/л + трифлуксистробин (Зато) 150 г/л), максимальные показатели биологической эффективности выявлены после обработки препаратом Балий, КМЭ – 83,1% (азоксистробин 120 г/л + пропиконазол 180 г/л).

При внесении препаратов в рекомендуемой производителями норме в чашки с питательной средой рост колоний замедлился во всех опытных вариантах. Максимальные показатели биологической эффективности выявлены при внесении

препаратов Амистар Голд, СК – 98,8% (азоксистробин 125 г/л + дифеноконазол 125 г/л) и Деларо, КС – 98,4% (протиоконазол 175 г/л + трифлюксистробин 150 г/л); минимальные значения выявлены при внесении препарата Амистар Экстра, СК – 38,8% (азоксистробин 200 г/л + ципроконазол 80 г/л).

Внесение всех изученных препаратов на питательную среду вызвало патологические изменения в структуре мицелия гриба *P. teres*. Также на среде с фунгицидами наблюдалось ускорение фаз роста колоний в сравнении с контрольным вариантом.

Внесение препаратов Амистар Голд, СК, Деларо, КС и Балий, КМЭ полностью ингибировало споруляцию *P. teres* при всех нормах применения.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23–76–10063, <https://rscf.ru/project/23-76-10063/>

Библиографический список

1. Андреева Е.И., Зинченко В.А. Системные фунгициды – ингибиторы биосинтеза эргостерина // Журнал «АгроXXI». – 2002. – № 4. – С. 14–15.
2. Байбакова Е.В., Нефедьева Е.Э., Белопухов С.Л., Зорькина О.В., Желтобрюхов В.Ф., Колотова О.В., Могилевская И.В. Физиологические особенности действия флудиоксонила и ципроконазола на прорастание зерновок пшеницы // АгроЭкоИнфо. – 2021. – № 3. – С. 1–19.
3. Волкова Г.В., Яхник Я.В., Кремнева О.Ю., Мерзлякина Е.Н. Подбор оптимальной питательной среды для культивирования *Pyrenophora teres* Drechsler // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 3 (59). – С. 122–127. <https://doi.org/10.18286/1816-4501-2022-3-122-127>.
4. Захарычев В.В., Марцынкевич А.М. Аналоги стробилуринов в защите растений // Агрехимия. – 2013. – № 12. – С. 64–74.
5. Санеева Е.А., Зорькина О.В., Нефедьева Е.Э. Исследование фитотоксического действия тебуконазола, протиоконазола, флудиоксонила и препаратов на их основе на энергию прорастания и рост проростков пшеницы и горчицы белой // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. – 2022. – Т. 14, № 5. – С. 166–186. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2022-14-5-166-186>.
6. Чекмарев В.В., Зеленева Ю.В., Бучнева Г.Н., Корабельская О.И., Дубровская Н.Н., Левин В.А., Фирсов В.Ф. Методика определения биологической эффективности фунгицидов в отношении грибов рода *Fusarium* и их резистентности к химическим препаратам. – Тамбов: Принт-Сервис, 2015. – 61 с.
7. Afanasenko O.S., Jalli M., Pinnschmidt H.O., Filatova O., Platz G J. Development of an international standard set of barley differential genotypes for *Pyrenophora teres* f. *teres* // Plant Pathology. – 2009. – Т. 58, № 4. – С. 665–676. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02062.x>.
8. Backes A., Vaillant-Gaveau N., Esmaeel Q. Biological agent modulates the physiology of barley infected with *Drechslera teres* // Sci Rep. – 2021. – P. 8330. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87853-0>.
9. Bartlett D.W., Clough J.M., Godwin J.R., Hall A.A., Hamer M., Parr-Dobrzanski B. The strobilurin fungicides // Pest Management Science: formerly Pesticide Science. – 2002. – Т. 58, № 7. – Pp. 649–662. <https://doi.org/10.1002/ps.520>.
10. Ellwood S.R., Piscetek V., Mair W.J., Lawrence J.A., Lopez-Ruiz F.J., Rawlinson C. Genetic variation of *Pyrenophora teres* f. *teres* isolates in Western Australia and emergence of a Cyp51A fungicide resistance mutation // Plant Pathology. – 2019. – Т. 68, № 1. – Pp. 135–142. <https://doi.org/10.1111/ppa.12924>.

11. Knight N.L., Adhikari K.C., Dodhia K.N., Mair W.J., Lopez-Ruiz F.J. Workflows for detecting fungicide resistance in net form and spot form net blotch pathogens // Pest Management Science. – 2023. – P. 7951. <https://doi.org/10.1002/ps.7951>.
12. Liu R., Li J., Zhang L., Feng T., Zhang Z., Zhang B. Fungicide difenoconazole induced biochemical and developmental toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Plants. – 2021. – T. 10, № 11. – P. 2304. <https://doi.org/10.3390/plants10112304>.
13. Mair W.J., Wallwork H., Garrard T.A., Haywood J., Sharma N., Dodhia K.N., Lopez-Ruiz F.J. Emergence of resistance to succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* in Australia // BioRxiv. – 2023. – P. 2023.04. 23.537974. DOI: <https://doi.org/10.1101/2023.04.23.537974>
14. Matsuzaki Y., Kiguchi S., Suemoto H., Iwahashi F. Antifungal activity of metyltetraprole against the existing QoI-resistant isolates of various plant pathogenic fungi: Metyltetraprole against QoI-R isolates // Pest management science. – 2020. – T. 76, № 5. – Pp. 1743–1750. <https://doi.org/10.1002/ps.5697>.
15. Mironenko N.V., Lashina N.M., Baranova O.A., Zubkovich A.A., Afanasenko O.S. Hybridization between *Pyrenophora teres* Forms in Natural Populations of Russia and the Republic of Belarus // Doklady Biological Sciences. – Moscow: Pleiades Publishing, 2022. – T. 507, № 1. – C. 373–379. <https://doi.org/10.1134/S0012496622060114>.
16. Sautua F.J., Carmona M.A. SDHI resistance in *Pyrenophora teres* f. *teres* and molecular detection of novel double mutations in *sdh* genes conferring high resistance // Pest Management Science. – 2023. – № 79 (9). – Pp. 3300–3311. <https://doi.org/10.1002/ps.7517>.
17. Tini F., Covarelli L., Ricci G., Balducci E., Orfei M., Beccari G. Management of *Pyrenophora teres* f. *teres*, the causal agent of net form net blotch of barley, in a two-year field experiment in central Italy // Pathogens. – 2022. – № 11 (3). – P. 291. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030291>.
18. Vasileva K. Monitoring of barley net blotch (*Pyrenophora teres* Drechsler) in Bulgaria // Scientific Papers. Series A. Agronomy. – 2022. – T. 65, № 1. – Pp. 373–379.

SENSITIVITY OF THE CAUSATIVE AGENT OF NET BLOTCH
OF BARLEY (*PYRENOPHORA TERES*) TO A TWO-COMPONENT FUNGICIDE
BASED ON TRIAZOLE AND STROBILURINE CLASSES

YA.V. YAKHNIK, G.V. VOLKOVA,

(Federal Research Center of Biological Plant Protection)

*The study was conducted to investigate the sensitivity of net blotch of barley (pathogen – *Pyrenophora teres* Drechsler) to two-component fungicides based on triazole and strobilurine classes. The work was carried out on intact barley plants and in pure culture of the fungus using four preparations (Amistar Extra, SC, Amistar Gold, SC, Baliy, MC, Delaro, SC) and five treatment options with different application rates from those recommended by the manufacturers (0 (control without fungicide), 50%, 100% (manufacturers' recommended rate), 150%, 200%). It was found that the sensitivity of the *P. teres* fungus varied significantly depending on the active ingredient in the toxicant and the mechanism of interaction with the preparation – in vivo (indirect) or in vitro (direct). When the plants were treated with the doses recommended by the manufacturers, the minimum biological efficacy was found after treatment with the fungicide Delaro, SC – 76.3% (based on prothioconazole (175 g/l) and trifloxystrobin (150 g/l)), the maximum biological efficacy was found after treatment with Baliy, MC – 83.1% (based on azoxystrobin (120 g/l) and propiconazole*

(180 g/l). When fungicides were applied to cups with a nutrient medium, the growth of fungal colonies was slowed down in all experimental variants, the maximum biological efficacy values were found after application of Amistar Gold, SC – 98.8% (on the basis of azoxystrobin (125 g/l) and diflucanazole (125 g/l)), Delaro, SC – 98.4% (based on based on prothioconazole (175 g/l) and trifloxystrobin (150 g/l)); minimum values were found when applying Amistar Extra, SC – 38.8% (on the basis of azoxystrobin (200 g/l) and ciproconazole (80 g/l)). The introduction of all preparations into the nutrient medium caused excessive structuring and pathological differentiation of *P. teres* fungus mycelium, and an acceleration of colony growth phases was observed on the medium with fungicides in comparison with the control variant. The introduction of Amistar Gold, SC, Delaro, SC, and Baliy, MC preparations completely inhibited sporulation. The conducted studies provided new knowledge on the changes in morphological and cultural characteristics of the regional population of *P. teres* under the action of fungicides of the triazole and strobilurine classes and its sensitivity to toxicants.

Keywords: winter barley, *Pyrenophora teres*, net blotch of barley, barley diseases, fungicides, sensitivity.

References

1. Andreeva E.I., Zinchenko V.A. Systemic fungicides – inhibitors of ergosterol biosynthesis. *Agro XXI*. 2002;4:14–15. (In Russ.)
2. Baybakova E.V., Nefedeva E.E., Belopukhov S.L., Zorkina O.V. et al. Physiological features of the action of fludioxonil and cyproconazole on the germination of wheat kernels. *AgroEcoInfo*. 2021;3:1–19. (In Russ.)
3. Volkova G.V., Yakhnik Ya.V., Kremneva O.Yu., Merzlikina E.N. Selection of appropriate nutrient medium for cultivation of *Pyrenophora teres* Drechsler. *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2022;3(59):122–127. (In Russ.) <https://doi.org/10.18286/1816-4501-2022-3-122-127>
4. Zakharychev V.V., Martinskevich A.M. Strobilurin analogues in plant protection. *Agrohimia*. 2013;12:64–74. (In Russ.)
5. Saneeva E., Zorkina O., Nefedeva E. Research of the phytotoxic effect of tebuconazole, prothioconazole, fludioxonil and based on them products on the germination power and growth of seedlings of wheat and white mustard. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2022;14(5):166–186. (In Russ.) <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2022-14-5-166-186>
6. Chekmarev V.V., Zeleneva Yu.V., Buchneva G.N., Korabelskaya O.I. et al. *Methodology for determining the biological effectiveness of fungicides against fungi of the genus Fusarium and their resistance to chemicals*. Tambov, Russia: Print-Service, 2015:61. (In Russ.)
7. Afanasenko O.S., Jalli M., Pinnschmidt H.O., Filatova O., Platz G.J. Development of an international standard set of barley differential genotypes for *Pyrenophora teres* f. *teres*. *Plant Pathology*. 2009;58(4):665–676. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02062.x>
8. Backes A., Vaillant-Gaveau N., Esmael Q. Biological agent modulates the physiology of barley infected with *Drechslera teres*. *Sci Rep*. 2021:8330. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87853-0>
9. Bartlett D.W., Clough J.M., Godwin J.R., Hall A.A. et al. The strobilurin fungicides. *Pest Management Science*. 2002;58(7):649–662. <https://doi.org/10.1002/ps.520>
10. Ellwood S.R., Piscetek V., Mair W.J., Lawrence J.A. et al. Genetic variation of *Pyrenophora teres* f. *teres* isolates in Western Australia and emergence of a Cyp51A fungicide resistance mutation. *Plant Pathology*. 2019;68(1):135–142. <https://doi.org/10.1111/ppa.12924>

11. Knight N.L., Adhikari K.C., Dodhia K.N., Mair W.J., Lopez-Ruiz F.J. Workflows for detecting fungicide resistance in net form and spot form net blotch pathogens. *Pest Management Science*. 2023;7951. <https://doi.org/10.1002/ps.7951>
12. Liu R., Li J., Zhang L., Feng T. et al. Fungicide difenoconazole induced biochemical and developmental toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants*. 2021;10(11):2304. <https://doi.org/10.3390/plants10112304>
13. Mair W.J., Wallwork H., Garrard T.A., Haywood J. et al. Emergence of resistance to succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* in Australia. *BioRxiv*. 2023. <https://doi.org/10.1101/2023.04.23.537974>
14. Matsuzaki Y., Kiguchi S., Suemoto H., Iwahashi F. Antifungal activity of metyltetraprole against the existing QoI-resistant isolates of various plant pathogenic fungi: Metyl tetraprole against QoI-R isolates. *Pest management science*. 2020;76(5):1743–1750. <https://doi.org/10.1002/ps.5697>
15. Mironenko N.V., Lashina N.M., Baranova O.A., Zubkovich A.A., Afanasenko O.S. Hybridization between *Pyrenophora teres* Forms in Natural Populations of Russia and the Republic of Belarus. *Doklady Biological Sciences*. 2022;507(1):373–379. <https://doi.org/10.1134/S0012496622060114>
16. Sautua F.J., Carmona M.A. SDHI resistance in *Pyrenophora teres* f. *teres* and molecular detection of novel double mutations in *sdh* genes conferring high resistance. *Pest Management Science*. 2023;79(9):3300–3311. <https://doi.org/10.1002/ps.7517>
17. Tini F., Covarelli L., Ricci G., Balducci E. et al. Management of *Pyrenophora teres* f. *teres*, the causal agent of net form net blotch of barley, in a two-year field experiment in central Italy. *Pathogens*. 2022;11(3):291. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030291>
18. Vasileva K. Monitoring of barley net blotch (*Pyrenophora teres* Drechsler) in Bulgaria. *Scientific Papers. Series A. Agronomy*. 2022;65(1):373–379.

Сведения об авторах

Яхник Яна Викторовна, аспирант, научный сотрудник лаборатории иммунитета растений к болезням Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений»; 350039, Российская Федерация, г. Краснодар, п/о 39, ФГБНУ ФНЦБЗР; тел.: (918) 320–26–46; e-mail: yahnik1@mail.ru

Волкова Галина Владимировна, д-р биол. наук, член-корреспондент РАН, зам. директора по развитию и координации НИР, руководитель лаборатории иммунитета растений к болезням Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений»; 350039, Российская Федерация, г. Краснодар, п/о 39, ФГБНУ ФНЦБЗР; тел.: (918) 374–76–78; e-mail: galvol.bpp@yandex.ru

Information about the authors

Yana V. Yakhnik, postgraduate student, Research Associate at the Laboratory of Plant Immunity to Diseases, Federal Research Centre of Biological Plant Protection (post office 39, FSBSI FRCBPP, Krasnodar, 350039, Russian Federation; phone: (918) 320–26–46; e-mail: yahnik1@mail.ru)

Galina V. Volkova, DSc (Bio), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Development and Coordination, Federal Research Centre of Biological Plant Protection (post office 39, FSBSI FRCBPP, Krasnodar, 350039, Russian Federation; phone: (918) 374–76–78; e-mail: galvol.bpp@yandex.ru)