

УДК 632.952:632.95.024.1

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ФУНГИЦИДА АМИСТАР НА АГРОНОМИЧЕСКИ ВАЖНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И НЕКОТОРЫЕ ШТАММЫ RHIZOCTHORA INFESTANS

А.Д. ОСМАН, В.Т. ЕМЦЕВ, В.А. КАЛИНИН, А.Н. СМЕРНОВ, К.В. БЫКОВ

(Кафедры химических средств защиты растений и микробиологии)

В лабораторных опытах установлено, что фунгицид амистар практически безопасен для микроорганизмов (*Pseudomonas putida*, *Klebsiella planticola*, *Azotobacter chroococcum* и *Clostridium acetobutylicum*). Рост различных штаммов фитогоры сильно ингибировался очень низкими концентрациями амистара. Штамм фитогоры ОДП-12,3, который был выделен из плодов томата из района, где использовались различные фунгициды, оказался более устойчивым к амистару по сравнению с другими штаммами.

Большая часть пестицидов, используемых в сельском хозяйстве, попадает в почву и оказывает влияние на ее микробный ценоз.

Исключительное значение для оценки токсического действия пестицидов имеет выбор показателей и методов, характеризующих структуру и функциональное состояние почвенной биоты. Здесь возможны три подхода.

1. *Культурный*, основанный на оценке воздействия пестицидов на определенные виды микроорганизмов в чистой культуре.

2. *Производственный*: выбор основных показателей осуществляется исходя из агрономической ценности микроорганизмов.

3. *Экологический*, в основе кото-

рого лежит представление о микрорфлоре почвы как части наземной экосистемы, где микроорганизмы развиваются и функционируют в соответствии с экологическими законами [2].

Порог действия токсических веществ на биологическую систему определяют на основе анализа кривой доза-эффект [4].

В практике санитарно-гигиенических и токсикологических исследований в качестве критерия токсичности используют индекс $СК_{50}$, характеризующий концентрацию химического вещества, снижающего численность популяции или активность биохимических процессов на 50%. Он приемлем для первичной оценки воздей-

ствия пестицидов на почвенную биоту. Величина $СК_{50}$ позволяет количественно оценить влияние, оказываемое пестицидом на отдельные компоненты почвенной биоты. Однако при ее использовании нельзя составить реального представления о степени опасности или вредоносности пестицида.

При оценке вредоносности пестицидов для того или иного вида микроорганизмов целесообразно значение $СК_{50}$ сравнивать с производственной концентрацией пестицида, что получило наименование коэффициента надежности, или безопасности [2].

Методика

Амистар — новый фунгицид с широким спектром действия. Действующее вещество в нем — азоксистробин. Механизм его действия основан на блокировании обмена электронов между цитрохромом В и цитохромом С в процессе дыхания у грибных возбудителей [6].

Микроорганизмы — *Pseudomonas putida*, *Klebsiella planticola*, *Azotobacter chroococcum* — культивировались поверхностным методом на соответствующие плотные питательные среды [5]; *Clostridium acetobutyllicum* — в жидкой среде методом предельных разведений [3]. Три штамма *Phytophthora infestans* культивировались по методу Shattock [8]. Различные градации концентраций фунгицида вносили в питательные среды микроорганизмов.

Построение графиков зависимости эффекта от доз фунгицида проводили в соответствии с методом, описанным В.А. Зинченко и

другими [1]. Скорость нарастания эффекта оценивали по наклону кривых.

Результаты

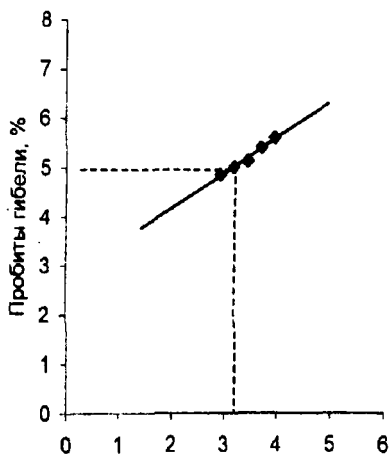
Графики зависимости эффекта от доз для *Pseudomonas putida*, *Klebsiella planticola*, *Azotobacter chroococcum* и *Clostridium acetobutyllicum* представлены на рис. 1. Из этих графиков видно, что наклон кривой у *Klebsiella planticola* (б) больше по сравнению с другими бактериями, т.е. скорость нарастания эффекта у нее выше.

По этим графикам были установлены величины $СК_{50}$, т.е. концентрации, вызывающие гибель 50% чистых культур этих микроорганизмов (табл. 1).

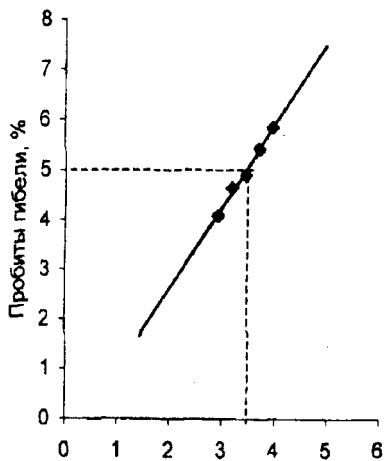
Судя по данным величинам *Pseudomonas putida* и *Klebsiella planticola* более устойчивы к амистару по сравнению с *Azotobacter chroococcum*. Это закономерно, так как амистар препятствует процессу дыхания, а *Pseudomonas putida* и *Klebsiella planticola* — факультативные анаэробы, а *Azotobacter chroococcum* — аэроб.

Относительно высокую чувствительность к амистару, не имеющего цитохрома *Clostridium acetobutyllicum*, можно объяснить тем, что чистые культуры при выращивании их в жидких средах более чувствительны к фунгицидам [7], и, кроме того, возможно, амистар оказывает влияние на другие структуры и процессы, в частности, на мембраны и транспорт веществ.

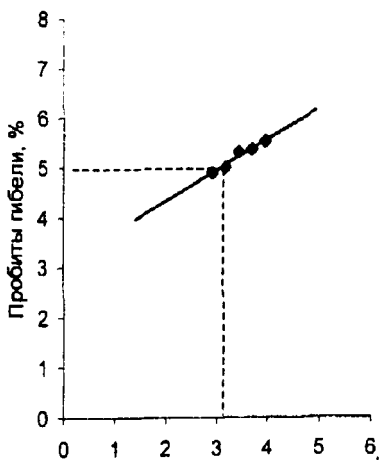
Графики зависимости эффекта от доз для различных штаммов *Phytophthora infestans* представле-



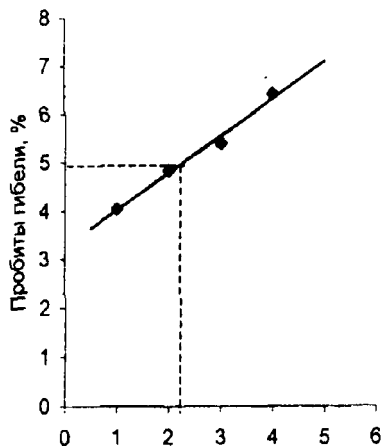
а



б



в



г

Рис. 1. Эффект воздействия фунгицида амистар на различные микроорганизмы.

а — *Pseudomonas putida*, б — *Klebsiella planticola*, в — *Azotobacter chroococcum*, г — *Clostridium acetobutylicum*. Логарифмы концентраций для всех микроорганизмов $\times 10000$.

ны на рис. 2. Из этих графиков видно, что наклон кривой у штаммов ЗВК-2,6 и ОДП-12,3 больше, т.е. скорость нарастания эффекта у них выше, чем у штамма ЗВПТ-15,2. По данным графиков были

установлены величины $СК_{50}$ этих штаммов. Их значения приведены в табл. 1. $СК_{50}$ штамма ОДП-12,3 в 2,6 раза выше $СК_{50}$ штамма ЗВК-2,6 и в 77,5 раз выше $СК_{50}$ штамма ЗВПТ-15,2.

Таблица 1

Сравнительная оценка действия амистара на чистые культуры микроорганизмов

Микроорганизм	$СК_{50}$, %	Индекс селективности (ИС*)						
		Pseudomonas putida	Klebsiella planticola	Azotobacter chroococcum	Clostridium acetobuticum	Phytophthora infestans		
						ОДП-12,3	ЗВК-2,6	ЗВПТ-15,2
Pseudomonas putida	0,03177		1.1	1.5	20,0	17828,3	46997,0	1381304,3
Klebsiella planticola	0,02965			1,4	18,7	16638,6	43860,0	1289130,4
Azotobacter chroococcum	0,02148				13,5	12053,9	31775,1	933913,0
Clostridium acetobuticum	0,001589					891,7	2350,6	69087,0
Phytophthora infestans:								
ОДП-12,3	0,000001782						2,6	77,5
ЗВК-2,6	0,000006761							29,4
ЗВПТ-15,2	0,000000023							

* ИС = $СК_{50}$ I объекта / $СК_{50}$ II объекта

Штамм ОДП-12,3 был выделен из плодов томатов из района, где использовались различные фунгициды, штаммы ЗВК-2,6 и ЗВПТ-15,2 — из листьев картофеля и плодов томатов, которые выращивались на полях, где никогда не использовались пестициды. Относительная устойчивость штамма ОДП-12,3 по сравнению с другими штаммами, возможно, связана с тем, что этот штамм был выделен из популяции *Phytophthora infestans*, против которой применялись различные фунгициды. Штамм ЗВК-2,6 был значи-

тельно менее чувствителен, чем штамм ЗВПТ-15,2. По-видимому, это связано с тем, что штамм ЗВК-2,6 должен быть более устойчив к различным внешним стрессам (в том числе и к обработкам фунгицидами), так как у его мицелия на листьях нет возможности избежать контакта с ними, у мицелия же штамма ЗВПТ-15,2 была возможность избежать такие стрессы под защитой покровов плода томата.

Различия в чувствительности к амистару разных микроорганизмов говорят об избирательности

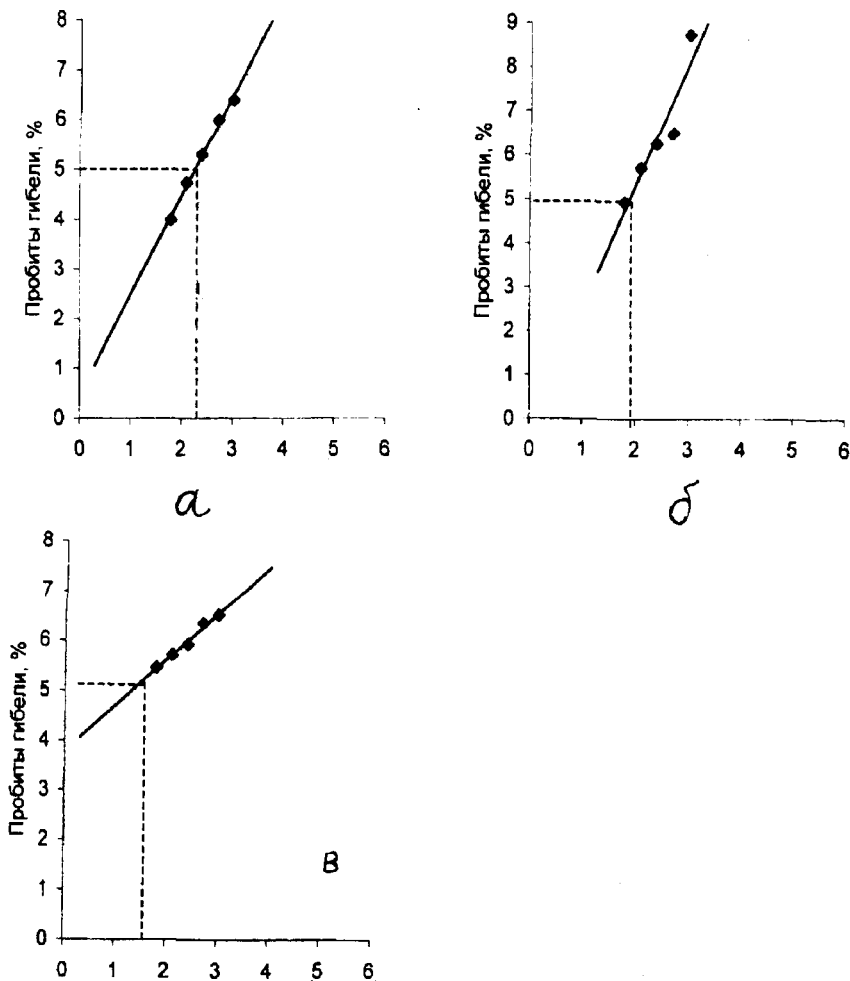


Рис. 2. Эффект воздействия фунгицида амистар на различные штаммы *Phytophthora infestans*.

а — ОДП-12,3; б — ЗВК-2,6; в — ЗВПТ-15,2. Логарифмы концентраций для всех штаммов $\times 100000000$.

его действия. Чистые культуры *Pseudomonas putida*, *Klebsiella planticola*, *Azotobacter chroococcum* и *Clostridium acetobutlicum*

оказались более устойчивыми к этому фунгициду по сравнению с разными штаммами *Phytophthora infestans*. Величина $СК_{50}$ этих мик-

роорганизмов на 3—4 порядка выше, чем $СК_{50}$ штамма ОДП-12,5. Судя по индексам селективности можно сказать, что амистар характеризуется очень большой избирательностью действия.

Учитывая шкалу безопасности

пестицидов для почвенной биоты [2], из табл. 2 следует, что амистар несущественно ингибирует *Pseudomonas putida*, *Klebsiella planticola*, *Azotobacter chroococcum* в концентрациях, превышающих его производственную более чем в 200 раз ($K_6 > 200$).

Т а б л и ц а 2

Степени ингибирования различных микроорганизмов фунгицидом амистар

Микроорганизм	$СК_{50}$, %	$K_6 = СК_{50}/ПК^*$
<i>Pseudomonas putida</i>	0,03177	317,70
<i>Klebsiella planticola</i>	0,02965	296,50
<i>Azotobacter chroococcum</i>	0,02148	214,80
<i>Clostridium acetobuticum</i>	0,001589	15,89
<i>Phytophthora infestans</i> ОДП-12,3	0,000001782	0,01782
» » ЗВК-2,6	0,0000006761	0,006761
» » ЗВПТ-15,2	0,000000023	0,00023

*ПК — производственная концентрация (для амистара она равна 1 мг д.в. на 1 кг почвы, т.е. 0,0001%).

Амистар слабо ингибирует *Clostridium acetobuticum* ($K_6 > 15$). Он ингибирует развитие различных штаммов *Phytophthora infestans* (ОДП-12,5, ЗВК-2,6, ЗВПТ-15,2) дозами, которые соответственно в 100, 1000, 10000 раз меньше его производственной концентрации. Коэффициенты безопасности составляют, примерно, соответственно 0,02, 0,007 и 0,0002.

Выводы

1. Амистар характеризуется очень большой избирательностью действия.

2. В дозах, рекомендуемых для применения в производственных условиях, амистар безопасен для

изученных в нашем опыте агрономически важных микроорганизмов.

3. Амистар сильно ингибирует развитие изученных в нашем опыте различных штаммов *Phytophthora infestans* в дозах, намного меньше его производственной концентрации.

Таким образом, амистар является перспективным фунгицидом для подавления развития фитотороза, вызываемого расами гриба, относительно устойчивыми к другим группам фунгицидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зинченко В.А., Вяткина Н.И., Афанасьева А.И. Биологические методы определения токсичности

и остатков инсектицидов. — Метод. указания к лабораторно-практическим занятиям по курсу «Химическая защита растений». М.: МСХА, 1974. — 2. Круглов Ю.В. Микрофлора почвы и пестициды. М.: Агропромиздат, 1991. — 3. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Почвенные азотфиксирующие бактерии рода *Clostridium*. М.: Наука, 1974. — 4. Саноцкий И.В., Уланова Н.П. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. М.: Медици-

на, 1978. — 5. Теннер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева М.И. Практикум по микробиологии. М.: Колос, 1979. — 6. Hedke K., Klink H., Kvieg U., Wehrmann A., Verreet J.A. Institut fur Phytopathologie, Christian-Albrechts-Universität, Kiel. IPS. Model Weizen am Beispiel Amistar. Getreide. 1977, 3 Jg.(1), p. 26-36. — 7. Malik M.A.B., Tesfai K. Bull. Environ. contam. and Toxicol., 1983, vol. 31, N 4, p. 432—437. — 8. Shattock R.C. Plant Pathology, 1988, vol. 37, p. 4—11.

Статья поступила 21 декабря
1998 г.

SUMMARY

Laboratory experiments were carried out to study the effect of fungicide Amistar on growth of some beneficial microorganisms and on three strains of phytophthora infestants.

Actually no risk to beneficial microorganisms has been demonstrated. These were: *Pseudomonas putida*, *Klebsiella planticola*, *Azotobacter chroococcum* and *Clostridium acetobutlicum*.

The results indicated that different strains of Phytophthora infestants were strongly inhibited by very low concentrations of Amistar.

Phytophthora infestants strain ODP-12.3 which was isolated from tomatoes have been treated by different fungicides was more stable in comparison with other strains.