

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФУНГИЦИДОВ ПРОТИВ ГРИБА *BOTRYTIS CINEREA* – ВОЗБУДИТЕЛЯ СЕРОЙ ГНИЛИ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ

Нефедьева Людмила Алексеевна – учащаяся 11 класса МОУ «Средняя школа с углубленным изучением отдельных предметов № 81 Центрального района Волгограда».

Научный руководитель – Мартынова Ирина Анатольевна, учитель биологии высшей квалификационной категории МОУ «Средняя школа с углубленным изучением отдельных предметов № 81 Центрального района Волгограда».

Аннотация: впервые проведена комплексная оценка действия представителей стробилуринов, триазолов и их производных по отдельности и в смеси на возбудителя серой гнили свеклы – гриба *B. cinerea*. Наибольшую эффективность против штамма показали протиоконазол и дифеноконазол, наименьшую – азоксистробин при использовании в одинаковых дозах. В комбинированном фунгициде Протазокс наибольший вклад внес азоксистробин.

Ключевые слова: *Beta vulgaris L.*, серая гниль, азоксистробин, протиоконазол, дифеноконазол.

Фитопатогенные грибы вызывают заболевания хозяйственно ценных видов растений, распространяющиеся с большой скоростью. Грибы вырабатывают микотоксины, приводящие к отравлениям животных и повреждениям тканей растений [1].

Одним из способов ограничения роста грибов является применение фунгицидов. Фунгицидные препараты используются в медицине, ветеринарии и защите растений. Разработка новых средств защиты растений необходима для повышения их продуктивности и в связи с развитием устойчивости у фитопатогенных штаммов грибов. Фунгицидные препараты направлены на повышение урожая и улучшение его качества. Они применяются в виде протравителей семян, для обработки растений во время вегетации, для обработки овощехранилищ и др. Наибольшее распространение в настоящее время имеют химические фунгициды. Их применение позволяет сохранить урожай, но требует соблюдения мер безопасности [2].

Цель исследования – оценка эффективности трехкомпонентного фунгицидного препарата на основе стробилуринов, триазолов и их производных против гриба *Botrytis cinerea*, вызывающего заболевание столовой свеклы.

Методика исследования. Эксперименты проводили с использованием штамма *Botrytis cinerea* (MFG58984, лаборатория микологии и фитопатологии ФГБНУ ВИЗР) и растений свеклы столовой (*Beta vulgaris* L.).

Систематическое положение рода *Botrytis*: Царство Fungi, Отдел Ascomycota, Подотдел Pezizomycotina, Класс Leotiomycetes, Подкласс Leotiomycetidae, Порядок Helotiales, Семейство Sclerotiniaceae.

Представители рода *Botrytis* поражают растения, вызывая серую гниль. Важнейшее место в роде занимает многоядный паразит – ботритис серый (*B. cinerea*) – возбудитель серой гнили многих растений.

B. cinerea как сапрофит обитает в почве и на мертвых остатках растений. Может развиваться на живых тканях, вызывая гнили. Основная форма его существования – мицелий. Для перезимовки гифы мицелия образуют, уплотняясь, склероции. Они способны перезимовывать, сохраняются в течение двух – трех лет. Весной развитие гриба возобновляется. На разросшемся мицелии образуются споры в присутствии капельножидкой влаги или в условиях высокой относительной влажности воздуха.

Бесполовая стадия гриба обрастает субстрат, образуя довольно плотный серый или коричневатый налет. Конидии одноклеточные, шаровидной или слегка вытянутой формы, 10-18×7-10 мкм. Конидиеносцы прямые, разветвленные. Их длина до 2 мм, толщина от 16 до 30 мкм.

B. cinerea изменчив. Существуют формы, заселяющие различные субстраты, обитающие в разных природно-климатических зонах. Вид распространен, но предпочитает теплый влажный климат. Его формы и расы способны к паразитизму преимущественно на одном виде растений и слабо патогенны для других.

В опытах использовали действующее вещество (далее – д.в.) фунгицидов: азоксистробин – фунгицид из класса стробилуринов, протиоконазол – фунгицид из класса триазолов, дифеноконазол – фунгицид из класса производных триазола.

Методология исследований. Эксперименты проводили по следующим направлениям: методом глубинного культивирования мицелия в жидкой среде Чапека; методом заражения изолированных тканей корнеплодов свеклы [4, 5].

Штамм гриба *B. cinerea* выращивали на пластинках КСА при освещении эритемной лампой для индукции спороношения. Длина волны излучаемого лампой света – 285-380 нм, что соответствует ближнему ультрафиолету А (UVA) и среднему ультрафиолету В (UVB). Излучение способствует выработке эргостеролов у грибов [3]. Конидии асептически переносили в колбу с жидкой средой, концентрация составляла 10^4 КОЕ·мл⁻¹.

Глубинное культивирование проводили по методу Т.А. Гагкаевой. В стерильные колбы разливали по 50 мл стерильной среды Чапека. В колбы вносили суспензию конидий *B. cinerea* объемом 0,1 мл. Затем добавляли концентрированные растворы фунгицидов (азоксистробин, протиоконазол,

дифеноконазол), рассчитывая, чтобы их концентрация в растворе составляла 0,1; 1,0 и 10,0 ppm (мг/л) [4, 5]. Также вносили растворы готовых препаративных форм фунгицидов Протазокс КС и Протазокс МД, содержащих названные д.в. в концентрациях 200 + 125 + 60 г/л соответственно (условно приняли 20:10:5) [6]. Дозы комплексного протравителя для внесения в питательную среду рассчитывали по азоксистробину.

Культивировали при температуре 20-22 °С в течение 14 дней в темноте при перемешивании. Содержимое колб фильтровали, массу мицелия определяли после высушивания гравиметрически. Эксперимент проводили в трех биологических повторностях.

Для инокуляции тканей корнеплода свеклы использовали суспензию конидий *B. cinerea* в глицерине, который является поверхностно-активным веществом и облегчает поверхностное взаимодействие конидий и растительной ткани, а также препятствует оседанию конидий в суспензии. Это обеспечивает равномерное заражение тканей. Суспензию наносили на паренхиму корнеплодов свеклы. Корнеплод промывали и разрезали на пластинки 15×15×3 мм. Поверхность пластинок стерилизовали 1%-ным раствором гипохлорита натрия, отмывали стерильной водой. Пластины асептически раскладывали в стерильные чашки Петри с увлажненной фильтровальной бумагой по 4-5 шт. Опыты проводили в 2 повторностях. На каждую пластинку наносили 20 мкл суспензии, где содержалось $4...5 \cdot 10^5$ конидий. Один вариант опыта – контроль – оставляли без заражения. Один зараженный вариант оставляли без нанесения фунгицидов. Через 60 мин на пластинки паренхимы наносили по 20 мкл раствора фунгицидов в дозах, соответствующих их концентрации в препарате Протазокс, а также в концентрациях, уменьшенных в 2 раза и увеличенных в 1,5 раза (рис. 2, рис. 3). Культивировали 7 суток при непрерывном освещении эритемной лампой при комнатной температуре. Оценивали плотность мицелия и изменение цвета пластинок свеклы. Результаты выражали в баллах [2].

Влияние фунгицидов на рост *B. cinerea* в жидкой питательной среде Чапека.

Как видно из рис. 1, штамм был наиболее чувствителен к протиоконазолу в дозах 1 – 10 ppm и дифеноконазолу во всех применяемых дозах. Наименее чувствителен *B. cinerea* к азоксистробину. Во всех вариантах малые концентрации были менее эффективны, чем высокие.

Фунгицид Протазокс по первому варианту (МД) содержит следующие компоненты, г/л: азоксистробин 150-220, протиоконазол 100-150, дифеноконазол 50-100, триэтаноламинная соль тристирилфенил полигликолевого эфира фосфорной кислоты Soprophor FL (смачиватель - диспергатор) 30-60, этоксилированный жирный амин Witcamine 4130A (усилитель активности) 20-80, касторовое этоксилированное масло Tagat V20 (эмульгатор) 20-60, пропиленгликоль (антифриз) 10, аэросил R812 (реологическая

добавка) 10, метиловые эфиры жирных кислот или растительное масло до 1 л (растворитель) до 1 л.

Фунгицидная композиция по второму варианту (КС) содержит следующие компоненты, г/л: азоксистробин 150-220, протиоконазол 50-100, дифеноконазол 50-100, блок-сополимер этиленоксида и пропиленоксида Tensiofix DB08 (диспергирующий агент) 10-25, бутил блок-сополимер Atlas G5002L (диспергирующий агент) 5-15, пропиленгликоль (антифриз) 75-100, аэросил 200 (стабилизатор) 5, Пента 465 (пеногаситель) 2, Rhodopol 23 (загуститель) 2, 1,2-бензизотиазолин-3-он (биоцид) 2, поливиниловый спирт 10 масс. % водный раствор (смачиватель – прилипатель) 40, вода (растворитель) до 1 л. [6].

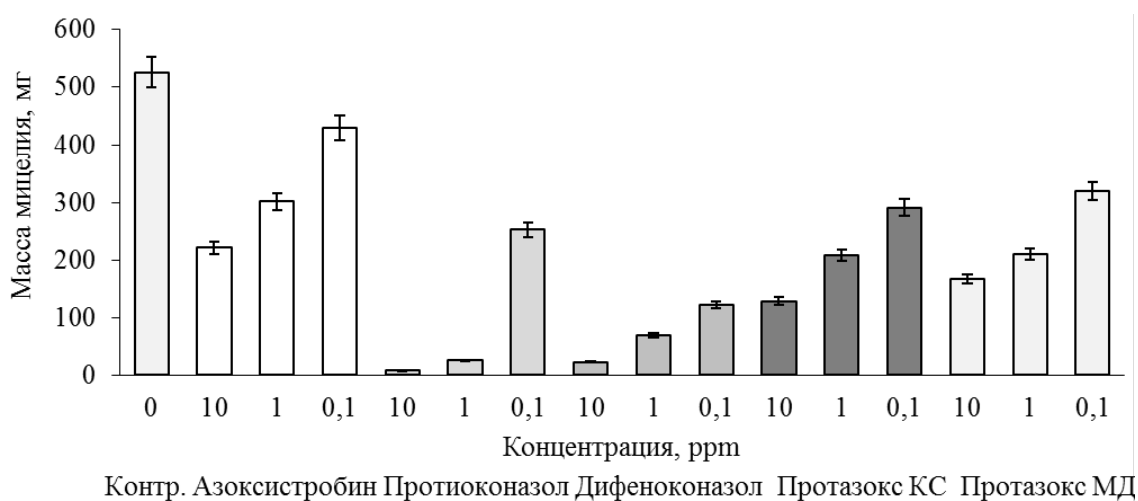


Рис. 1 Рост мицелия *B. cinerea* в накопительной культуре

Эффективность фунгицидов Протазокс КС и Протазокс МД в применяемых дозах отличалась от эффективности индивидуальных д.в. (рис. 1). Поскольку содержание азоксистробина в опытах с использованием готовых препаративных форм и в опытах с индивидуальным д.в. была одинаковой, следует отметить, что эффективность трехкомпонентного препарата была выше, чем эффективность индивидуального д.в. – азоксистробина. Введение триазолов в состав комплексного препарата увеличило его эффективность. Эффективность комплексного фунгицида Протазокс КС на водной основе оказалась выше эффективности Протазокс МД на масляной основе в условиях глубинного культивирования.

Влияние индивидуальных д.в. и фунгицида Протазокс на рост *B. cinerea* методом заражения изолированных тканей корнеплодов свеклы столовой.

По методике, разработанной в ФГБНУ ВИЗР, инокулюм наносится на высежки растительной ткани и культивируется до 5-7 сут. Эта методика и была использована. Результаты приведены на рис. 2-3.

Как видно из рис. 2, в контроле заражение отсутствовало, не было и роста мицелия. Заражение растительной ткани без применения фунгицидов вызвало обильный рост мицелия.

Растительная ткань (рис. 2-3) проявила чувствительность к грибу *B. cinerea*. Индивидуальные д.в., применяемые в дозах, соответствующих их соотношениям в готовом препарате (20:10:5), различались по эффективности при исследовании методом заражения растительной ткани. Ни одно д.в. не останавливало рост гриба, поэтому следует говорить не о фунгицидной, а о фунгистатической активности. Наибольшей фунгистатической активностью в применяемых дозах обладал азоксистробин, наименьшей – дифеноконазол. Эффективность всех д.в. уменьшалась при снижении дозы. Применение комплексного фунгицида Протазокс было более эффективно по сравнению с азоксистробином только при использовании дозы, увеличенной вдвое.

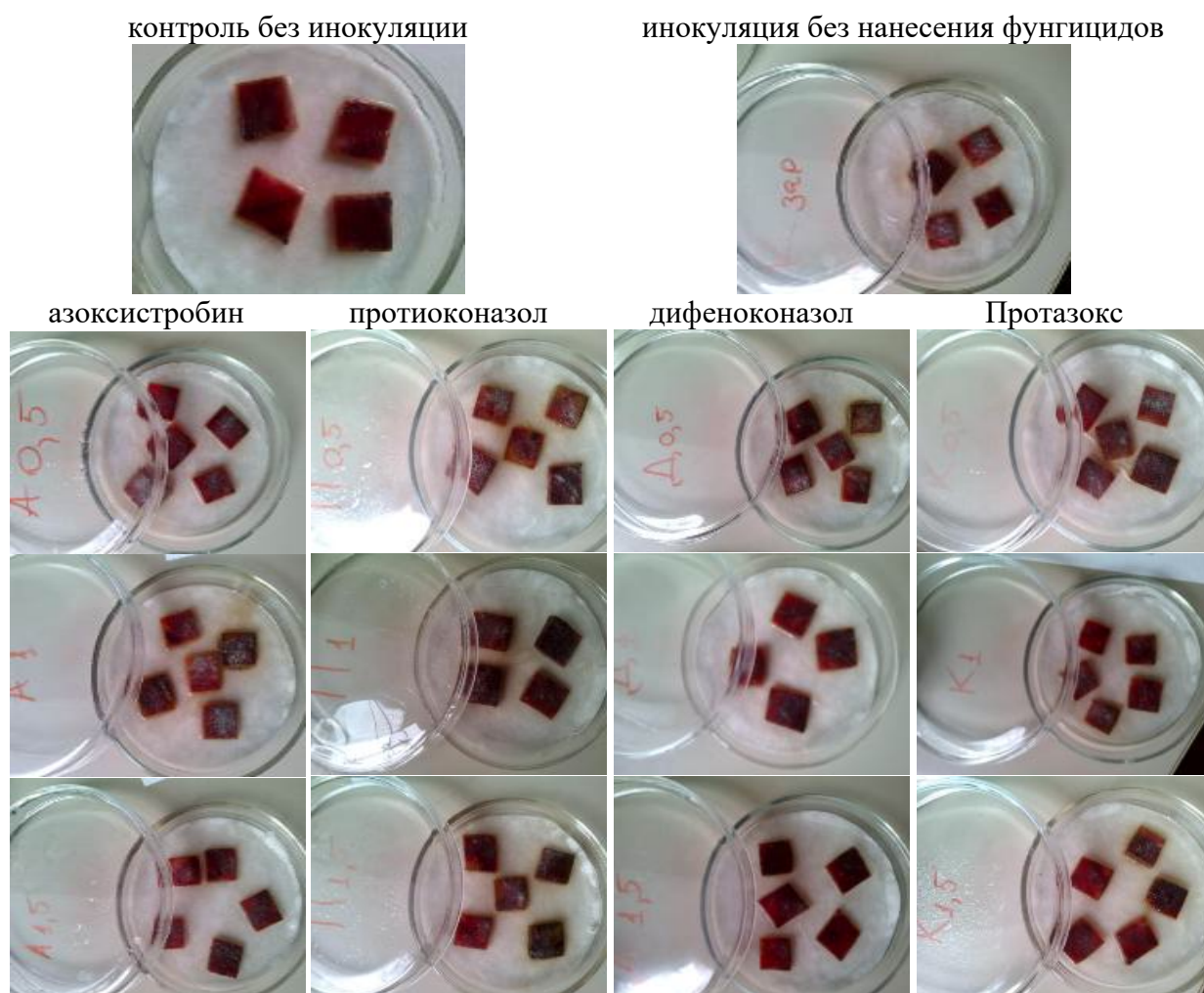


Рис. 2 Внешний вид роста мицелия *B. cinerea* на ткани корнеплода свеклы, 4 сут.
Примечание. Надписи 0,5; 1 и 1,5 указывают соответственно на половину дозы, полную дозу и полуторную дозу д.в. от его дозы в протравителе (для азоксистробина, протиоконазола и дифеноконазола) или половину дозы, полную дозу и удвоенную дозу препарата Протазокс

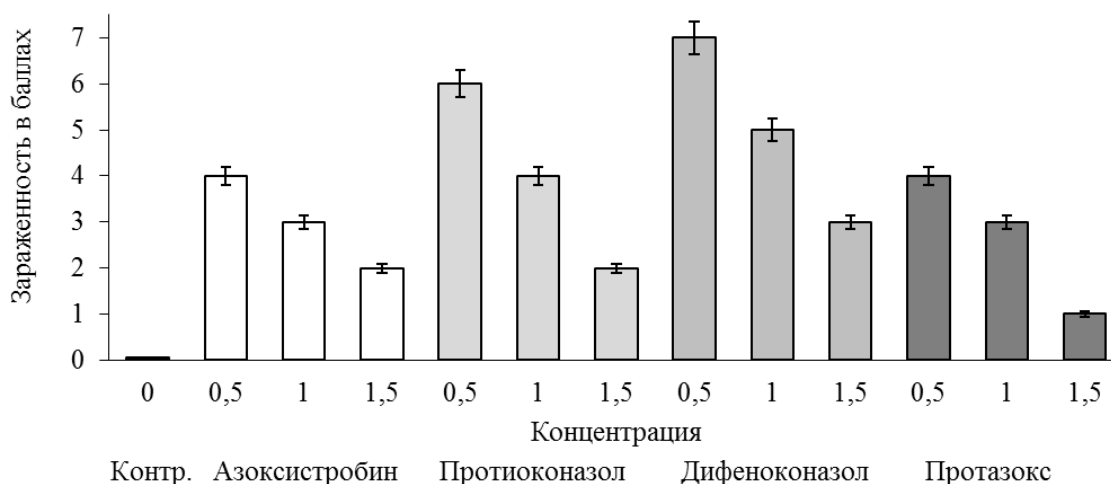


Рис. 3 Рост мицелия *B. cinerea* на изолированной ткани корнеплода свеклы
Примечание. Концентрация 0,5; 1 и 1,5 указывает соответственно на половину дозы, полную дозу и полуторную дозу д.в. от его дозы в протравителе (для азоксистробина, протиоконазола и дифеноконазола) или половину дозы, полную дозу и удвоенную дозу препарата Протазокс

Данный эксперимент проводили в условиях, благоприятных для роста гриба, а не для формирования иммунного ответа растения, поэтому эффективные дозы фунгицида оказались завышенными. Тем не менее, введение протиоконазола и дифеноконазола в состав фунгицида оправдывало себя и способствовало увеличению эффективности комплексного фунгицида в высоких дозах, когда эффективность отдельных д.в. была ниже. Исходя из результатов опыта следует предположить, что продолжение исследований может быть направлено на разработку протравителей, в которых дозы протиоконазола и дифеноконазола будут выше, чем в Протазоксе.

Проведены исследования влияния фунгицидов на рост возбудителя серой гнили свеклы – гриба *Botrytis cinerea* методом глубинного культивирования в статической культуре. Показано, что эффективность фунгицидов убывала с уменьшением их концентрации. Наибольшую эффективность против штамма показали протиоконазол и дифеноконазол, наименьшую – азоксистробин.

Для комплексного препарата предложено соотношение, г/л: азоксистробин 150-220, протиоконазол 100-150, дифеноконазол 50-100. Эффективность комплексных препаратов на водной и масляной основе была выше эффективности отдельных д.в. в изучаемых дозах, т.е. получен эффект взаимного усиления.

Изучен вклад отдельных фунгицидов в эффективность комплексного фунгицида против возбудителя серой гнили свеклы методом заражения изолированной паренхимы корнеплода. Наибольшей эффективностью обладал комплексный фунгицид Протазокс. В применяемых дозах наибольший вклад внес азоксистробин. В перспективе следует рассмотреть возможность увеличения концентраций протиоконазола и дифеноконазола.

Исследования позволили уточнить состав фунгицида Протазокс и внести предложения для повышения его эффективности. Результаты самостоятельных исследований опубликованы [5].

Библиографический список:

1. Белошапкина О.О., Гриценко В.В., Митюшев И.М., Чебаненко С.И. Защита растений: фитопатология и энтомология: учебник / О.О. Белошапкина, В.В. Гриценко, И.М. Митюшев и др. – Ростов Н/Д: Феникс, 2017. – 482 с.

2. Белицкая М.Н. Исследование и сравнительный анализ действующих веществ современных протравителей зерновых культур / М.Н. Белицкая, Грибуст И.Р. и др. // Вестник технологического университета. – 2015. – Т.18. – №9. – С. 32-36.

3. Беккер З.Э. Физиология и биохимия грибов: монография / З.Э. Беккер. – М.: Изд-во МГУ, 1988. – 228 с.

4. Нефедьева Е.Э. Оценка эффективности действия фунгицидов против возбудителя серой гнили столовой свёклы / Е.Э. Нефедьева, Е.В. Байбакова, М.Н. Белицкая // Успехи медицинской микологии. Т. XVIII: материалы юбилейной конф. по микологии и микробиологии, посвящ. 100-летию кафедры микологии и альгологии МГУ им. М. В. Ломоносова, 120-летию со дня рожд. З.В. Ермольевой и 100-летию со дня рожд. Н.Д. Шеклакова (г. Москва, 11-12 апреля 2018 г.) / Общероссийская общественная организация «Национальная академия микологии». – Москва, 2018. – С. 172-177.

5. Нефедьева Л.А. Оценка эффективности азоксистробина, протиокназола и дифенокназола против возбудителя серой гнили столовой свеклы / Л.А. Нефедьева, А.А. Попытаева, И.А. Мартынова и др. // Наука, технологии, искусство: теоретико-эмпирические и прикладные исследования: сб. науч. тр. по материалам Междунар. науч.-практ. конф. (г. Екатеринбург, 15 февраля 2022 г.) / гл. ред.: Н.А. Краснова; НОО «Профессиональная наука». – Екатеринбург, 2022. – С. 49-63.

6. Пат. 2661392 Российская Федерация, МПК А01N 43/54 (2006.01), А01P 3/00 (2006.01). Фунгицидная композиция (варианты) / К.Н. Музылев, О.О. Агапова, Е.Г. Николаев, О.В. Прокшиц, Е.Э. Нефедьева; патентообладатель ООО «Агро Эксперт Групп». – № 2018105656, заявл. 14.02.2018; опубл. 16.07.2018, Бюл. № 20 – 8 с.: 4 табл.

ASSESSMENT OF THE EFFECT OF FUNGICIDES AGAINST THE FUNGUS *BOTRYTIS CINEREA* – THE CAUSATIVE AGENT OF GRAY ROT OF BEET

Lyudmila Alekseevna Nefedieva – a student of the 11th grade of the Municipal educational institution "Secondary school with in–depth study of individual disciplines № 81 of the Central District of Volgograd". Russian Federation.

Scientific supervisor –Irina Anatolyevna Martynova, teacher of biology of the highest qualification category of the Municipal educational institution "Secondary school with in–depth study of individual disciplines № 81 of the Central District of Volgograd". Russian Federation.

Abstract: For the first time, a comprehensive assessment of the effect of representatives of strobilurines, triazoles and their derivatives, individually and in a mixture, on the causative agent of gray beet rot – the fungus *B. cinerea*. The greatest effectiveness against the strain was shown by prothioconazole and diphenconazole, the least – azoxystrobin when used in the same doses. Azoxystrobin made the greatest contribution to the combined fungicide Protazox.

Keywords: *Beta vulgaris* L., gray rot, azoxystrobin, prothioconazole, diphenconazole.