В.С. Комардина¹, Е.В. Васеха¹, В.Д. Полексенова², И. В. Рубаник²

¹РГУП «Институт защиты растений», аг. Прилуки, Минский р-н

²Белорусский государственный университет, г. Минск

ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ГРИБА *ALTERNARIA* SP., ВОЗБУДИТЕЛЯ АЛЬТЕРНАРИОЗА ЯБЛОНИ К ФУНГИЦИДАМ

Рецензент: канд. биол. наук Янковская Е.Н.

Аннотация. В статье приведены результаты по изучению чувствительности грибов рода *Alternaria* – возбудителей альтернариоза яблони к фунгицидам Скор, КЭ, Хорус, ВДГ и Строби, ВГ в концентрациях по действующему веществу 1, 10 и 100 мкг/мл. Установлено высокое фунгицидное действие дифеноконазола и ципродинила на изоляты патогена во всех изученных концентрациях – подавление роста мицелия на 14-е сутки культивирования составило 58,3-87,9% и 51,1-91,9% соответственно. Отмечено значительное варьирование в чувствительности изолятов патогена к крезоксим-метилу.

Ключевые слова: яблоня, альтернариоз, фунгициды, чувствительность изолятов.

Введение. В последние десятилетия повсеместно наблюдается увеличение распространенности и вредоносности альтернариоза яблони, особенно в зонах с теплым и влажным климатом. Болезнь проявляется преимущественно в виде пятнистости листьев, кроме того, патогены – грибы из рода *Alternaria* вызывают поражение плодов в виде сердцевинной и поверхностной гнилей [7, 12]. По литературным данным на чувствительных сортах распространенность альтернариозной пятнистости может достигать до 70%, что приводит к преждевременной дефолиации и снижению урожая за счет уменьшения фотосинтетической поверхности листьев [6]. В плодах, пораженных некоторыми видами *Alternaria* spp., может накапливаться значительное количество микотоксинов – альтернариола и монометилового эфира альтернариола, токсичность которых для человека и животных доказана многими исследователями [2, 10]. В Польше наиболее поражаемыми альтернариозной гнилью при хранении являются такие сорта яблони как: Golden Delicious, Gloster, Boskoop, Sterking [8].

В садах Беларуси из обследованных сортов альтернариозная пятнистость листьев отмечается как на интродуцированных сортах яблони (Jonagold, Freedom, Idared, Golden Delicious, Ligol, Topaz), так и на сортах белорусской селекции (Заславское, Весялина, Вербнае, Надзейны, Белорусское сладкое), при этом распространенность болезни

достигает 30% и выше. Также установлено, что в условиях Беларуси, чем менее сорт поражается паршой, тем более он поражается другими пятнистостями листьев, в том числе и альтернариозной [9]. В годы с благоприятными для развития гнилей погодными условиями (теплая и влажная погода в период цветения яблони и образования завязи) отмечается поражение плодов альтернариозом, при этом распространенность болезни достигает 6,0%.

Высокие показатели распространенности болезни свидетельствуют о том, что проводимые в саду фунгицидные обработки против парши яблони, не всегда эффективны от альтернариоза. Российские ученые подтверждают необходимость проведения в системах защиты яблони отдельных обработок против альтернариоза, даже при отсутствии необходимости защиты от основных патогенов – парши и мучнистой росы, что связано с увеличением паразитической активности грибов рода *Alternaria* [4, 5].

В связи с вышесказанным возникает необходимость в подборе сорта-тента препаратов, эффективных против возбудителей альтернариоза. Целью данных исследований было оценить чувствительность грибов рода *Alternaria* к фунгицидам из разных химических групп и подобрать эффективные концентрации для контроля развития фитопатогенов.

Методика проведения исследований. В лабораторных опытах были использованы 4 изолята *Alternaria* spp., выделенные из пораженных листьев яблони коллекционного сада РУП «Институт плодородства». Выделение грибов в чистую культуру проводили по общепринятым в фитопатологии методикам. Изучение чувствительности грибов к фунгицидам проводили согласно рекомендациям Международного комитета по фунгицидной резистентности FRAC [3, 11].

Изоляты культивировали в чашках Петри с картофельно-глюкозным агаром (КГА), содержащих различные концентрации одного из фунгицидов.

В опыте изучали чувствительность изолятов к препаратам из 3-х химических групп с различным механизмом действия на грибы: триазолы (DeMethylation Inhibitors) – Скор, КЭ (дифеноконазол, 250 г/л); стробилурины (Quinone outside Inhibitors) – Строби, ВГ (крезоксим-метил, 500 г/кг); анилинпиримидины (AP-fungicides) – Хорус, ВДГ (ципродинил, 750 г/кг). Предварительно готовили маточный раствор фунгицидов с концентрацией 1000 мг/мл по д. в., в качестве растворителя использовали стерильную дистиллированную воду. Далее путем разведения готовили рабочие растворы каждого из фунгицидов в концентрациях 1, 10 и 100 мг/мл. В питательную среду, охлажденную до 40 °С, добавляли расчетный объем рабочего раствора фунгицида для получения конечных концентраций препаратов. Питательную среду с концентрациями 1, 10 и

100 мкг/мл разливали по 20 мл в чашки Петри, в которые после застывания проводили посев изолятов *Alternaria* spp. Повторность опыта 4-х кратная (чашка-повторность). Контроль – питательная среда без фунгицида. Чашки Петри культивировали при комнатной температуре 18-20 °С.

Определение линейного роста грибов во всех вариантах проводили путем измерения диаметра колоний в 2-х взаимоперпендикулярных направлениях на 7-е и 14-е сутки культивирования. Ингибирование роста колонии рассчитывали по формуле Эббота:

$$T = \frac{D_k - D_o}{D_k} \times 100,$$

где T-ингибирование роста по сравнению с контролем, %; D_к – диаметр колоний в контроле, см; D_о – диаметр колоний в опыте, см [1].

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенных исследований установлено, что степень чувствительности изолятов гриба *Alternaria* spp. варьировала в значительной степени в зависимости от фунгицида и концентрации действующего вещества.

Установлено, что фунгицид Скор, КЭ во всех изучаемых концентрациях оказывает высокое ингибирующее действие по отношению к грибам – возбудителям альтернариоза. Ингибирование роста мицелия изолятов по отношению к контролю составило от 69,3 до 83,3% на 7-е сутки культивирования, и от 58,3 до 87,9% на 14-е сутки роста (таблица 1). При этом не выявлено существенных различий по изолятам фитопатогена.

Таблица 1 – Влияние фунгицида Скор, КЭ на вегетативный рост изолятов гриба *Alternaria* spp. (лабораторный опыт, РУП «Институт защиты растений», 2018 г.)

Изолят	Диаметр колонии, см				Ингибирование роста изолята по отношению к контролю, %		
	7-е сутки роста						
	1 мкг/мл	10 мкг/мл	100 мкг/мл	Контроль	1 мкг/мл	10 мкг/мл	100 мкг/мл
А – 1	0,99±0,17	0,96±0,27	0,85±0,17	5,09±0,45	80,6	81,1	83,3
А – 2	1,24±0,03	0,89±0,09	0,88±0,03	4,71±0,23	73,6	81,1	81,3
А – 3	1,39±0,22	0,99±0,11	0,76±0,12	4,53±0,22	69,3	78,1	83,2
А – 4	1,11±0,15	0,74±0,03	0,69±0,05	3,61±0,49	69,3	79,5	80,8
Среднее	1,18	0,89	0,79	4,49	73,2	79,9	82,5
14-е сутки роста							
А – 1	2,06±0,06	1,41±0,13	1,29±0,19	8,6±0	76,1	83,6	85,0
А – 2	2,41±0,07	1,31±0,48	1,04±0,03	8,6±0	71,9	84,8	87,9
А – 3	2,91±0,39	1,93±0,12	1,16±0,14	7,61±0,45	61,8	74,6	84,8
А – 4	2,58±0,27	1,29±0,23	0,89±0,12	6,18±0,75	58,3	79,1	85,6
Среднее	2,49	1,49	1,09	7,75	67,0	80,5	85,8

Анализ полученных данных также показал высокую антифунгальную активность препарата Хорус, ВДГ по отношению к изучаемым изолятам. На 7-е сутки культивирования показатели угнетения роста мицелия в сравнении с контролем варьировали от 38,2% до 83,3% в вариантах с минимальными концентрациями препарата (1 и 10 мкг/мл) до 81,9-86,6% в варианте с максимальной концентрацией ципродинила (100 мкг/мл) (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние фунгицида Хорус, ВДГ на вегетативный рост изолятов гриба *Alternaria* spp. (лабораторный опыт, РУП «Институт защиты растений», 2018 г.)

Изолят	Диаметр колонии, см				Ингибирование роста изолята по отношению к контролю, %		
	7-е сутки роста						
	1 мкг/мл	10 мкг/мл	100 мкг/мл	Контроль	1 мкг/мл	10 мкг/мл	100 мкг/мл
А – 1	1,56±0,11	0,85±0,18	0,86±0,09	5,09±0,45	63,3	83,3	83,1
А – 2	1,2±0,25	0,79±0,25	0,63±0,06	4,71±0,29	74,5	83,2	86,6
А – 3	1,56±0,12	2,80±0,16	0,61±0,09	4,53±0,22	65,6	38,2	86,5
А – 4	0,73±0,03	1,18±0,05	0,65±0,07	3,61±0,49	79,8	67,3	81,9
Среднее	1,26	1,40	0,69	4,49	70,8	68,0	84,5
	14-е сутки роста						
А – 1	3,5±0,17	0,85±0,25	0,86±0,05	8,6±0	59,3	82,8	85,7
А – 2	2,7±0,18	0,81±0,28	0,69±0,03	8,6±0	68,6	90,6	91,9
А – 3	3,72±0,35	0,86±0,18	0,71±0,03	7,61±0,45	51,1	88,7	90,7
А – 4	2,83±0,18	0,63±0,03	0,65±0,07	6,18±0,75	54,2	89,8	89,5
Среднее	3,18	0,79	0,73	7,75	58,3	88,0	89,5

На 14-е сутки наименьшее ингибирование роста мицелия отмечено при концентрации препарата 1 мкг/мл – 51,1-68,6%, в то время как при концентрации 10 и 100 мкг/мл – составило от 82,8 до 91,9%.

В опыте по изучению чувствительности изолятов возбудителя альтернариоза к фунгициду Строби, ВГ установлено, что при концентрации 1 мкг/мл большинство изолятов были не чувствительны к препарату. В концентрации по д. в. 10 мкг/мл фунгицид оказывал слабое фунгитоксическое действие на изоляты фитопатогена. На 7-е сутки роста ингибирование роста колоний варьировало от 17,2 до 50,1%, на 14-е сутки культивирования – не превысило 15,3% (таблица 3). При этом отмечено существенное варьирование по изолятам.

Наиболее чувствительными изоляты оказались к максимальной концентрации действующего вещества фунгицида – 100 мкг/мл. В варианте опыта ингибирование роста мицелия составило 55,5-78,4% на 7-е сутки культивирования и 46,6-57,4% на 14-е сутки роста.

Таблица 3 – Влияние фунгицида Строби, ВГ на вегетативный рост изолятов гриба *Alternaria* spp. (лабораторный опыт, РУП «Институт защиты растений», 2018 г.)

Изолят	Диаметр колонии, см				Ингибирование роста изолята по отношению к контролю, %		
	7-е сутки роста						
	1 мкг/мл	10 мкг/мл	100 мкг/мл	Контроль	1 мкг/мл	10 мкг/мл	100 мкг/мл
А – 1	4,71±0,15	4,21±0,10	2,26±0,13	5,09±0,45	7,46	17,2	55,5
А – 2	4,71±0,11	2,66±0,17	1,52±0,51	4,71±0,23	0	43,5	67,7
А – 3	4,43±0,09	3,08±0,43	1,89±0,17	4,53±0,22	2,2	32,0	58,3
А – 4	3,53±1,08	1,80±0,13	0,78±0,06	3,61±0,49	2,2	50,1	78,4
Среднее	4,35	2,94	1,61	4,49	3,0	35,7	64,9
	14-е сутки роста						
А – 1	8,45±0,18	8,38±0,26	4,59±0,26	8,6±0	1,7	2,5	46,6
А – 2	8,52±0,08	7,28±0,12	3,66±0,38	8,6±0	0,9	15,3	57,4
А – 3	7,35±0,23	6,63±0,81	3,89±0,29	7,61±0,45	3,4	12,9	48,9
А – 4	5,85±0,72	5,34±0,38	3,15±0,17	6,18±0,75	5,3	13,6	49,0
Среднее	7,54	6,91	3,82	7,74	2,8	11,1	50,4

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что в лабораторных условиях высокое фунгитоксическое действие в отношении всех изолятов гриба *Alternaria* spp. оказывают препараты из группы триазолов (Скор, КЭ) и анилинопиримидинов (Хорус, ВДГ), которые даже в невысоких концентрациях действующего вещества (10 мкг/мл) обеспечивают эффект подавления роста мицелия более, чем на 70 %.

Наименее чувствительными изученные изоляты были к фунгициду Строби, ВГ: в концентрации 1 и 10 мкг/мл – ингибирование роста колоний для всех изолятов не превысило 15,3 %; при этом, при концентрации 100 мкг/мл подавление роста мицелия варьировало до 57,4 %.

Список литературы

1. Андреева, Е.И. Методические рекомендации по испытанию химических веществ на фунгицидную активность / Е.И. Андреева, В.С. Каргомьшев. – Черкассы, 1990. – 67 с.
2. Ганнибал, Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*: метод. пособие / Ф.Б. Ганнибал. – СПб: ВИЗР, 2011. – 70 с.
3. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов / М.Х. Хохлаков [и др.]. – Л.: ВАСНИЛ, 1971. – 36 с.
4. Якуба, Г.В. Изучение основных тенденций в развитии микозов яблони в меняющихся условиях среды / Г.В. Якуба // Плодоводство и ягодоводство России: сб. науч. работ. – М.: ФГБНУ ВСТИСП; редкол. И.М. Куликов [и др.]. – М., 2013. – Т. 36.– Ч. 2. – С. 355–360.

5. Якуба, Г.В. Эволюция паразитических свойств *Alternaria alternata* (*fries:fries*) *keissler* на яблоне в условиях Краснодарского края / Г.В. Якуба // Плодоводство и ягодоводство России: сб. науч. работ. – М.: ФГБНУ ВСТИСП; редкол. И.М. Куликов [и др.]. – М., 2010. – Т. 24. – Ч. 2. – С. 380–386.
6. Filajdić, N. Identification and distribution of *Alternaria mali* on apples in North Carolina and susceptibility of different varieties of apples to *Alternaria* blotch / N. Filajdić, T.B. Sutton // *Plant Dis.* – 1991. – Vol. 75, № 10. – P. 1045–1048.
7. Filajdić, N. Influence of temperature and wetness duration on infection of apple leaves and virulence of different isolates of *Alternaria mali* / N. Filajdić, T.B. Sutton // *Phytopathol.* – 1992. – Vol. 82, № 11. – P. 1279–1283.
8. Grabowski, M. Choroby drzew owocowych / M. Grabowski. – Kraków: Plantpress Sp. Z o. o., 2006. – 133 s.
9. Phytosanitary condition of apple scab resistant and immune cultivars of domestic breeding, cultivated in the orchards of Belarus / V.S. Kamardzina [et al.] // Development and technology: abstracts of 2nd International conference on the Scientific Actualities and Innovations in Horticulture 2018, Kaunas, 4-6 June 2018 / Institute of Horticulture, Lithuanian research Centre for Agriculture and Forestry; scientific committee: Z. Dabkevičius [et al.]. – Kaunas, 2018. – P. 69–70.
10. Khajuria, Y.P. Molecular characterization of *Alternaria alternata* (apple pathotype) from Kashmir valley / Y.P. Khajuria, S. Koul, M.K. Dhar // *Biotechnol. An Indian Journ.* – 2013. – Vol. 7 (2). – P. 49–53.
11. Sensitivity baselines in fungicide resistance. Research and management [Electronic resource]: FRAC Monograph № 3 / Cambridge, UK. – Mode of access: www.frac.info/docs/default-source/publications/monographs. – Date of access: 15.01.2018.
12. Timing of infection and development of *Alternaria* diseases in the canopy of apple trees / D.O.C. Hartevelde [et al.] // *Plant Dis.* – 2014. – Vol. 98, № 3. – P. 401–408.

V.S. Komardina¹, E.V. Vasekha¹, V.D. Polexonova², I.V. Rubanik²

¹*RUE «Institute of Plant Protection», a/c Priluki, Minsk district*

²*Belarusian State University, Minsk*

EVALUATION OF FUNGUS *ALTERNARIA* SP., AN AGENT OF APPLE *ALTERNARIA* BLIGHT TO FUNGICIDES

Annotation. The results on studying the susceptibility of fungi genus *Alternaria* – agents of apple *Alternaria* blight to fungicides Scor, EC, Chorus, WDG and Strobi, WG at concentrations by active ingredient 1, 10 and 100 gg/ml are presented. A high fungitoxic action of difenoconazole and cyprodinyl on the pathogen isolates at all concentrations studied is determined – the mycelium suppression on the 14-th day of cultivation has made 58,3 – 87,9% and 51,1 – 91,9% , accordingly. A significant susceptibility variation of the pathogen isolates to cresoxym-methyl is marked.

Key words: apple-tree, *Alternaria* blight, fungicides, isolates susceptibility.