Т. Г. Пилат, Е. И. Жук, С. Ф. Буга, В. А. Радивон, А. А. Жуковская, В. Г. Лешкевич, Н. А. Бурнос, И. Н. Одинцова, В. А. Кирейчик, Е. И. Рожко

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

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ГРИБОВ РОДА FUSARIUM LINK, ПОРАЖАЮЩИХ ОЗИМУЮ ПШЕНИЦУ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ, К ФУНГИЦИДНЫМ ДЕЙСТВУЮЩИМ ВЕЩЕСТВАМ

Дата поступления статьи в редакцию: 04.08.2025 Рецензент: канд. с.-х. наук Бойко С. В.

Аннотация. В статье представлены результаты изучения чувствительности доминирующих видов грибов рода *Fusarium*, выделенных из растений озимой пшеницы (корневой системы и зерновок), отобранных в 6 областях республики, к фунгицидным действующим веществам, широко применяемым с целью защиты культуры от корневой гнили и фузариоза колоса. Выявлена значительная вариация степени чувствительности возбудителей фузариозов ко всем проанализированным действующим веществам. Установлено, что изучаемые популяции доминирующих видов грибов рода *Fusarium*, являются гетерогенными по чувствительности к фунгицидным действующим веществам при оценке *in vitro*. Различий по чувствительности ко всем включенным в исследование фунгицидам не выявлено только в популяции *F. culmorum*.

Ключевые слова: озимая пшеница, Fusarium spp, фунгициды, действующие вещества, резистентность, чувствительность.

Введение. Грибы рода *Fusarium* — обширная и распространенная во всем мире группа микроорганизмов, вызывающих различные болезни зерновых культур. Наиболее вредоносными являются корневая гниль и фузариоз колоса, недобор урожая от которых может достигать 30 % и более [4, 10].

Помимо озимой пшеницы грибы Fusarium spp. поражают многие сельскохозяйственные культуры, поэтому данная группа грибов постоянно присутствует в агроценозах. Интенсификация производства зерновых культур в нашей стране обусловливает применение химических фунгицидов как при протравливании семян, так и в период вегетации.

При планируемой урожайности 50–60 ц/га помимо обязательного (закрепленного на законодательном уровне) протравливания в вегетационном сезоне проводится, как правило, еще 2 фунгицидные обработки

для защиты культуры от болезней, а в посевах с формируемой урожайностью свыше 70 ц/га – 3.

Известно, что продолжительное применение одного и того же действующего вещества или разных фунгицидов, но с однотипным механизмом действия, обусловливает формирование в популяциях грибов-возбудителей болезней резистентности (устойчивости) [1].

Наиболее остро проблема образования резистентных форм возбудителей болезней возникла после широкого внедрения в практику применения системных фунгицидов с избирательным механизмом действия (бензимидазолы, триазолы, имидазолы, стробилурины, карбоксамиды и др.). Возникновение резистентности к ним объясняется тем, что указанные соединения воздействуют на процессы, управляемые одним или небольшим числом генов, и для того, чтобы появился резистентный к фунгициду штамм гриба, достаточно одной (для стробилуринов) или нескольких мутаций (для триазолов).

Резистентность в популяциях грибов возрастает также при увеличении интенсивности защитных мероприятий. Например, в Европе интенсификация защиты зерновых культур от септориоза листьев, мучнистой росы и церкоспореллезной прикорневой гнили привела к снижению чувствительности грибов-возбудителей болезней к бензимидазолам, азолам и стробилуринам [3, 7, 8].

Появление устойчивости к действующим веществам фунгицидов, особенно широко применяемых в хозяйствах страны, может обусловить снижение эффективности фунгицидов и протравителей семян даже при правильном, в соответствии с регламентом, использовании, что будет способствовать увеличению затрат на проведение защитных мероприятий и удорожанию себестоимости зерна и продуктов его переработки.

В связи с этим требуется проведение исследований по изучению эффективности фунгицидов из различных химических классов и мониторинг уровня резистентности изолятов грибов-возбудителей болезней фузариозной этиологии в разных областях Республике Беларусь.

Материалы и методика проведения исследований. Исследования по определению чувствительности грибов рода *Fusarium* к фунгицидным действующим веществам, предоставленными лабораторией динамики пестицидов, проводили в лаборатории фитопатологии РУП «Институт защиты растений».

Сбор растительных образцов осуществляли в хозяйствах республики. Выделение возбудителей проводили следующим образом: фрагменты пораженных частей растений длиной около 1 см стерилизовали путем погружения в 1 %-й раствор гипохлорита натрия в течение 10 сек. После этого части растения дважды промывали стерильной дистиллированной водой, просушивали между слоями стерильной фильтровальной бумаги,

после чего раскладывали фрагменты на поверхность картофельно-сахарозного агара (КСА) с добавлением 5 %-го раствора стрептомицина для элиминации бактерий в чашках Петри. Чашки инкубировали при +20...+25 °C. Через 7–10 суток выросшие колонии пересевали для последующего определения их видовой принадлежности и дальнейшей работы с чистыми культурами грибов-возбудителей болезней фузариозной этиологии [2].

Видовую идентификацию возбудителей проводили после выделения их в чистую культуру, основываясь на культуральных и морфологических признаках, используя определитель W. Gerlach и H. Nirenberg [6]. Дальнейшая идентификация изолятов видов грибов рода *Fusarium* была подтверждена методами молекулярной биологии [9]. В результате определены 5 доминирующих видов грибов, которые включили в дальнейшее исследование для изучения чувствительности выделенных изолятов к действующим веществам фунгицидов: *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. culmorum* (WG Smith), *F. oxysporum* Schltdl., *F. poae* (Peck) Wollenw, *F. equiseti* (Corda) Sacc. (таблица 1).

Таблица 1 – Виды грибов рода Fusarium, включенные в исследования

| <u> </u> | | | | | | | |
|-------------|-----------------------|-------------|-------------|--------------|---------|--|--|
| Область | Количество видов, шт. | | | | | | |
| | F. avenaceum | F. culmorum | F. equiseti | F. oxysporum | F. poae | | |
| Брестская | 2 | 0 | 2 | 5 | 0 | | |
| Витебская | 5 | 2 | 0 | 2 | 5 | | |
| Гомельская | 0 | 4 | 1 | 10 | 0 | | |
| Гродненская | 1 | 0 | 2 | 10 | 0 | | |
| Минская | 4 | 0 | 5 | 10 | 2 | | |
| Могилевская | 0 | 0 | 7 | 4 | 5 | | |
| Всего | 12 | 6 | 17 | 41 | 12 | | |

В схему опыта были включены действующие вещества из следующих классов: триазолы (тебуконазол, ципроконазол, пропиконазол, протиоконазол), стробилурины (азоксистробин), фенилпирролы (флудиоксонил), карбоксамиды (биксафен). Выбор перечисленных действующих веществ обусловлен их широкой представленностью в препаратах, используемых как для протравливания семян озимой пшеницы, так и применения во время вегетации культуры для защиты от болезней.

Чувствительность изолятов оценивали по их способности расти на питательной среде в присутствии определенных количеств действующего вещества фунгицида. Сравнение осуществляли по величине EC_{50} – концентрации действующего вещества, вызывающей 50 %-е ингибирование роста мицелия. Для проведения исследования использовали картофельно-декстрозный агар (КДА).

Чувствительность изолятов грибов рода Fusarium определяли с использованием 96-луночных планшетов согласно методикам Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). Для этого культивировали изоляты на питательных средах, содержащих различные концентрации (0,03; 0,1; 0,3; 1,0; 3,0; 10; 30; 50 мкг/мл) одного из действующих веществ. Эксперимент выполняли в 5-ти кратной повторности. Суспензии спор выделенных изолятов гриба готовили с титром 10 тыс. спор/мл для каждого. В каждую лунку планшета вносили по 20 мкл суспензии спор соответствующего изолята гриба, затем по 20 мкл соответствующего разведения анализируемого действующего вещества, а также по 160 мкл КДА. Планшеты инкубировали в течение 4 суток при 20 °C в темноте, после чего учитывали процент ингибирования роста гриба в лунках с добавлением действующего вещества по сравнению с контролем (лунки без внесения действующего вещества). Полученные данные статистически анализировали с использованием пробит-анализа и вычисляли EC_{50} для каждого изолята гриба [5]. Изоляты, чувствительность которых к фунгицидным действующим веществам оказывалась более чем в 2 раза меньше, чем средняя для вида, характеризовались как резистентные к данному действующему веществу.

Результаты и их обсуждение. Определение полулетальной эффективной концентрации (EC_{50}) позволило установить варьирование значений показателя в зависимости от вида и от действующего вещества.

В таблице 2 приведены концентрации действующих веществ, приводящие к 50%-ному подавлению роста изучаемых видов грибов. Установлено, что наибольшее ингибирующее действие на рост изолятов $F.\ oxysporum$ оказывали тебуконазол и флудиоксонил. Их EC составили 0,07–12,13 и 0,02–33,28 мкг/мл соответственно. В то же время остальные действующие вещества менее эффективно подавляли рост изолятов этого вида. Максимальные значения EC отмечались для протиоконазола — до 91,12 мкг/мл.

Чувствительность изолятов F. avenaceum к препаратам, включенным в исследования, оказалась более высокой по сравнению с F. avenaceum максимальный ингибирующий эффект оказывали флудиоксонил (диапазон EC_{50} составил 0.04-0.17 мкг/мл), тебуконазол (0.27-0.89 мкг/мл) и азоксистробин (0.17-2.38 мкг/мл). Наименее эффективно ограничивал рост изолятов F. avenaceum ципроконазол, полулетальная концентрация которого колебалась в пределах 7.27-42.95 мкг/мл.

Флукодиоксонил также наиболее сильно подавлял рост мицелия изолятов F. poae — EC_{50} 0,04—0,06 мкг/мл. Наименее эффективным в отношении данного вида оказался биксафен (EC_{50} варьировала от 10,33 до 39,15 мкг/мл).

Таблица 2 — Полулетальная концентрация (EC_{s_0}) действующих веществ фунгицидов для грибов рода *Fusarium* (РУП «Институт защиты растений», лабораторные опыты, 2025 г.)

| Место | EC ₅₀ , мкг/мл (min и max значения показателя) | | | | | | | | |
|----------------------------------|---|-------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|---------------|--|--|
| выде- ления (об- ласть) | тебуко- назол | флудиок- сонил | азок- систро- бин | ципроко- назол | пропико- назол | протиоко- назол | бикса- фен | | |
| F. oxysporum | | | | | | | | | |
| Брест- ская | 0,71-1,60 | 0,06-33,28 | 0,66-1,35 | 11,36-29,93 | 5,08-10,43 | 25,04-91,12 | 11,17-29,29 | | |
| Витеб- ская | 0,07-1,60 | 0,02-0,06 | 0,49-0,86 | 0,17-30,20 | 1,89-11,88 | 3,22-55,81 | 2,27-3,63 | | |
| Гомель- ская | 0,37-4,33 | 0,03-19,2 | 0,56-17,55 | 2,23-48,92 | 3,09-49,85 | 50,96-68,95 | 3,38-80,92 | | |
| Гроднен- ская | 0,46-12,13 | 0,14-17,79 | 0,50-23,67 | 8,95-35,54 | 3,58-21,13 | 54,43-84,94 | 3,31-76,97 | | |
| Минская | 0,47-1,81 | 0,03-29,09 | 0,70-8,06 | 0,88-27,54 | 2,18-21,03 | 30,43-84,33 | 1,40-74,17 | | |
| Могилев- ская | 0,74-1,74 | 0,04-0,08 | 0,32-0,67 | 24,37-32,11 | 14,21-37,80 | 65,00-75,22 | 7,46-67,06 | | |
| F. avenaceum | | | | | | | | | |
| Брест- ская | 0,73-0,83 | 0,13-0,17 | 0,36-0,57 | 20,23-40,03 | 2,36-3,76 | 4,30-5,27 | 0,78-7,14 | | |
| Витеб- ская | 0,27-0,81 | 0,05-0,15 | 0,17-2,38 | 7,27-40,75 | 0,51-37,33 | 0,27-13,20 | 0,66-3,74 | | |
| Гроднен- ская | 0,30 | 0,12 | 0,29 | 8,44 | 0,74 | 0,55 | 1,54 | | |
| Минская | 0,75-0,89 | 0,04-0,11 | 0,39-1,12 | 30,16-42,95 | 2,70-6,65 | 1,63-2,73 | 0,76-1,64 | | |
| | | | F | г. роае | | | | | |
| Витеб- ская | 0,10-0,56 | 0,04-0,05 | 0,18-0,82 | 2,27-35,96 | 0,24-1,84 | 3,09-17,96 | 10,33-39,15 | | |
| Минская | 0,18-0,34 | 0,04-0,05 | 0,60-0,70 | 15,04-17,26 | 0,33-0,39 | 14,06-29,10 | 32,39-37,91 | | |
| Могилев- ская | 0,25-0,41 | 0,04-0,06 | 0,16-16,89 | 9,87-28,89 | 0,28-1,24 | 6,84-21,27 | 17,41-37,27 | | |
| | | ı | | ulmorum | | | | | |
| Витеб- ская | 0,34-0,38 | 0,04-0,05 | 11,36- 22,08 | 5,74-6,44 | 0,67-0,69 | 15,77-25,36 | 18,48-27,65 | | |
| Гомель- ская | 0,17-0,26 | 0,04-0,05 | 3,62-22,98 | 1,18-4,54 | 0,23-0,54 | 12,31-29,71 | 17,99-31,10 | | |
| - P | F. equiseti | | | | | | | | |
| Брест- ская | 0,14-0,21 | 0,06-0,07 | 0,67-0,68 | 0,44-1,05 | 0,03-0,07 | 0,10-0,22 | 1,29-1,58 | | |
| Гомель- ская | 0,14 | 0,05 | 1,24 | 0,97 | 0,11 | 0,90 | 0,78 | | |
| Гроднен- ская | 0,16-0,22 | 0,07-0,08 | 0,47-0,85 | 0,60-1,11 | 0,04-0,19 | 0,92-5,17 | 1,70-3,52 | | |
| Минская | 0,03-0,32 | 0,03-0,11 | 0,59-1,24 | 0,78-1,33 | 0,06-0,67 | 0,62-1,78 | 0,77-3,23 | | |
| Могилев- ская | 0,16-0,27 | 0,06-0,09 | 0,4-7,95 | 0,48-8,71 | 0,02-0,37 | 0,31-2,89 | 0,47-9,18 | | |

В отношении $F.\ culmorum$ высокий ингибирующий эффект проявил флудиоксонил (EC $_{50}$ от 0,04 до 0,05 мкг/мл). Наименее эффективно из

всех проанализированных фунгицидных действующих веществ ограничивали рост изолятов гриба протиоконазол (EC_{50} до 29,71 мкг/мл) и биксафен (до 31,10 мкг/мл).

Изоляты F. equiseti в целом оказались более чувствительными ко всем изучаемым фунгицидам в сравнении с другими видами. Максимальное значение EC_{50} (8,71 мкг/мл) отмечено для ципроконазола.

Таким образом, наиболее низкие значения EC_{50} для всех изучаемых изолятов видов *Fusarium* наблюдались для флудиоксонила и тебуконазола.

Также можно отметить, что в пределах одной популяции значения EC_{50} для изолятов варьируют в достаточно широком диапазоне. Так, например, у изолятов F. oxysporum, выделенных из Гомельской области, EC_{50} для биксафена составило от 3,38 мкг/мл до 80,92 мкг/мл, что свидетельствует о разном уровне чувствительности к данному действующему веществу в пределах популяции.

Для оценки риска возникновения резистентности у изолятов доминирующих видов гриба Fusarium к изучаемым действующим веществам провели дифференциацию изолятов по устойчивости (таблица 3). Отмечено, что среди изолятов F. culmorum не выявлено резистентных ни к одному из действующих веществ. Популяции других видов характеризуются наличием устойчивых изолятов к некоторым действующим веществам. Так 8,3 % изолятов F. poae продемонстрировали устойчивость к азоксистробину, пропиконазолу, протиоконазолу, тебуконазолу, в то время как резистентных к биксафену, флудиоксонилу и ципроконазолу изолятов не выявлено. Снижение чувствительности к азоксистробину, биксафену, пропиконазолу, протиоконазолу и ципроконазолу отмечено в популяции гриба F. equiseti. Все изоляты F. avenaceum были чувствительными к флудиоксонилу и ципроконазолу, в то время как к остальным действующим веществам обнаружены резистентные изоляты.

Таблица 3 – Устойчивость изолятов грибов рода *Fusarium* к действующим веществам

| Действующее | % устойчивых изолятов в популяции (среднее ${ m EC}_{50}$ для популяции, мкг/мл) | | | | | | |
|---------------|--|--------------|-------------|-------------|-------------|--|--|
| вещество | F. oxysporum | F. avenaceum | F. culmorum | F. poae | F. equiseti | | |
| Азоксистробин | 12,2 (3,51) | 16,7 (0,86) | 0,0 (14,85) | 8,3 (1,90) | 5,9 (1,33) | | |
| Биксафен | 17,1 (30,03) | 8,3 (2,09) | 0,0 (24,82) | 0,0 (30,01) | 5,9 (2,44) | | |
| Пропиконазол | 7,3 (11,14) | 8,3 (6,13) | 0,0 (0,50) | 8,3 (0,75) | 5,9 (0,13) | | |
| Протиоконазол | 0,0 (60,57) | 16,7 (3,91) | 0,0 (21,52) | 8,3 (13,24) | 5,9 (1,51) | | |
| Тебуконазол | 9,8 (1,40) | 8,3 (0,79) | 0,0 (0,27) | 8,3 (0,28) | 0,0 (0,18) | | |
| Флудиоксонил | 24,3 (5,63) | 0,0 (0,09) | 0,0 (0,05) | 0,0 (0,05) | 0,0 (0,07) | | |
| Ципроконазол | 4,9 (18,54) | 0,0 (30,03) | 0,0 (3,76) | 0,0 (18,44) | 5,9 (1,33) | | |

Наибольший процент резистентных к изучаемым действующим веществам изолятов обнаружен в популяции *F. oxysporum*. На рисунке 1 представлено распределение устойчивых изолятов данного вида в зависимости от места их выделения.

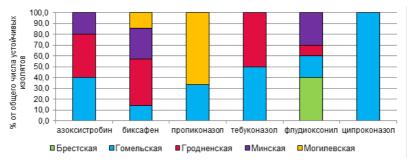


Рисунок 1— Распределение устойчивых изолятов гриба *F. охуѕрогит* к фунгицидным действующим веществам в зависимости от места выделения

Следует отметить, что устойчивых к протиоконазолу изолятов в популяции гриба F. oxysporum не выявлено. А также все изоляты данного вида, выделенные из Витебской области, оказались чувствительными к изучаемым действующим веществам. Среди изолятов F. oxysporum, выделенных из Гомельской области, встречаются резистентные к 5 изучаемым действующим веществам. В то же время для изолятов из Брестской области отмечено снижение чувствительности только к флудиоксонилу.

Резистентные к тебуконазолу, азоксистробину, пропиконазолу изоляты F. avenaceum встречались в Витебской области, к протиоконазолу — в Витебской и Минской, к биксафену — в Брестской области. Среди изолятов F. poae устойчивость к тебуконазолу и пропиконазолу проявили, выделенные из Витебской области, к азоксистробину — из Могилевской, к протиоконазолу — из Минской. Устойчивые к азоксистробину, ципроконазолу, пропиконазолу и биксафену изоляты F. equiseti отмечены в Могилевской области, к протиоконазолу — в Гродненской.

Заключение. Изучаемые популяции доминирующих видов грибов рода *Fusarium* являются гетерогенными по чувствительности к фунгицидным действующим веществам при оценке *in vitro*. Различий по чувствительности ко всем включенным в исследование фунгицидам не выявлено только в популяции *F. culmorum*. Среди изолятов *F. avenaceum* обнаружены резистентные к азоксистробину, биксафену,

пропиконазолу, протиоконазолу и тебуконазолу, $F.\ poae$ — к азоксистробину, пропиконазолу, протиоканазолу и тебуконазолу, $F.\ equiseti$ — к азоксистробину, биксафену, пропиконазолу, протиоконазолу и ципроконазолу. Снижение чувствительности к азоксистробину, биксафену, пропиконазолу, тебуконазолу, флудиоксонилу и ципроконазолу отмечено в популяции гриба $F.\ oxysporum$.

Таким образом, проведенные исследования по определению чувствительности доминирующих видов грибов рода Fusarium: F. avenaceum, F. culmorum, F. oxysporum, F. poae, F. equiseti — к наиболее широко применяемым в республике действующим веществам (азоксистробин, биксафен, протиоконазол, пропиконазол, тебуконазол, ципроконазол) свидетельствуют о начале формирования устойчивости у изолятов белорусской популяции.

Исследования выполнены по заданию «Изучение чувствительности грибов рода *Fusarium*, доминирующих в посевах озимой пшеницы, к действующим веществам фунгицидов из различных классов» в рамках Государственной программы научных исследований «Сельскохозяйственные технологии и продовольственная безопасность», подпрограммы «Плодородие почв и защита растений», номер Государственной регистрации 20250183.

Список литературы

- 1. Голышин, Н. М. Резистентность возбудителей болезней растений к фунгицидам / Н. М. Голышин // Агрохимия. 1992. N 5. С. 130–150.
- 2. Основные методы фитопатологических исследований / А. В. Чумаков [и др.]; под ред. А. В. Чумакова. М.: Колос, 1974. 190 с.
- 3. Differences between the succinate dehydrogenase sequences of isopyrazam sensitive Zymoseptoria tritici and insensitive Fusarium graminearum strains / T. Dubos, M. Pasquali, F. Pogoda [et al.] // Pesticide Biochem. and Physiol. 2013. Vol. 105, iss. 1. P. 28–35.
- 4. Modeling yield losses and fungicide profitability for managing Fusarium head blight in Brazilian spring wheat / M. R. Duffeck, K. Dos S. Alves, F. J. Machado [et al.] // Phytopathology. -2020. Vol. 110, iss. 2. P. 370–378.
- 5. Finney, D. J. Probit analysis / D. J. Finney 3 ed. Cambridge: Cambridge University Press, $1980.-333~\mathrm{p}.$
- 6. Gerlach, W. The genus Fusarium a pictorial atlas / W. Gerlach, H. Nirenberg. Berlin : Kommissionsverlag Parey, 1982.-406~p.
- 7. Derivation and testing of a model to predict selection for fungicide resistance / P. H. F. Hobbelen, N. D. Paveley, B. A. Fraaije [et al.] // Plant Pathology. 2011. Vol. 60, iss. 2. P. 304–313.
- 8. Jørgensen, L. N. Resistance situation with fungicides in cereals / L. N. Jørgensen // Zemdirbyste-Agriculture. 2008. Vol. 95, № 3. P. 373–378.
- 9. Real-time PCR for quantification of eleven individual Fusarium species in cereals / M. Nicolaisen, S. Suproniene, L. K. Nielsen [et al.] // J. of Microbiological Methods. 2009. Vol. 76, iss. 3. P. 234–240.
- 10. Wang, F. The Impact of Root Rot on Agricultural Productivity: Economic and Environmental Perspectives / F. Wang // J. of Plant Physiology and Pathology. 2024. Vol. 12, iss. 4. URL: https://www.scitechnol.com/peer-review/the-impact-of-root-rot-on-agricultural-productivity-economic-and-environmental-perspectives-qKIM.pdf (date of access: 20.04.2025).

T. G. Pilat, E. I. Zhuk, S. F. Buga, V. A. Radivon, A. A. Zhukovskaya, V. G. Leshkevich, N. A. Burnos, I. N. Odintsova, V. A. Kireichik, E. I. Rozhko RUE «Institute of Plant Protection», Priluki, Minsk region

STUDY OF THE SENSITIVITY OF FUSARIUM LINK SPECIES AFFECTING WINTER WHEAT IN THE REPUBLIC OF BELARUS TO FUNGICIDAL ACTIVE SUBSTANCES

Annotation. The article presents the results of a study on the sensitivity of dominant *Fusarium* species isolated from winter wheat plants (root system and grain) collected in six regions of the Republic of Belarus to fungicidal active substances widely used for protecting the crop from root rot and *Fusarium* head blight. A significant variation in the degree of sensitivity of *Fusarium* pathogens to all tested fungicides was revealed. It was found that the most common Fusarium species showed varying sensitivity to the fungicidal substances in in vitro conditions. Differences in sensitivity to all fungicides included in the study were not detected only in the *F. culmorum* population.

Keywords: winter wheat, *Fusarium* spp., fungicides, active ingredients, resistance, sensitivity.