

СЕКЦИЯ 4. БИОЛОГИЗИРОВАННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ФИТОСАНИТАРНОГО И ПРОДУКЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА МНОГОЛЕТНИХ АГРОЦЕНОЗОВ

УДК 632.4.01/.08:632.952:632.95.025.8

DOI 10.30679/2587-9847-2021-33-63-68

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ СОВРЕМЕННЫХ БИОФУНГИЦИДОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ГНИЛИ СЕРДЦЕВИНЫ ПЛОДОВ ЯБЛОНИ

Астапчук И.Л., канд. биол. наук, Якуба Г.В., канд. биол. наук,
Марченко Н.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»
(Краснодар, Россия)
irina_astapchuk@mail.ru

Реферат. В результате изучения антифунгальной активности биологических препаратов в отношении грибов *Alternaria alternata* и *Botrytis cinerea* возбудителей гнили плодов яблони, был отмечен как слабый, так и очень сильный микопаразитизм, но в большинстве вариантах опыта преобладала конкуренция за площадь питания. Под действием некоторых препаратов менялись форма, край и цвет колонии грибов. Первичный лабораторный скрининг показал, что из 6 выбранных биологических препаратов против возбудителей гнили плодов сработали с высокой и средней эффективностью: для *Alternaria alternata* штамм 1 – Биокомпозит, Ж, Алирин Б, СП и Трихоцин, СП; для штамма 2 – Биокомпозит, Ж, Алирин Б, СП и Ризоплан, Ж. Для *Botrytis cinerea*-Трихоцин, СП, Алирин Б, СП и Фитоспорин- М, П.

Ключевые слова: гнили плодов яблони, биопрепараты, *Alternaria alternata* (Fries: Fries) Keissler., *Botrytis cinerea* Pers.

Summary. As a result of studying of the antifungal activity of biological preparations against fungi *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*, pathogens of apple fruit rot, both weak and very strong mycoparasitism were noted, but in most variants of the experiment, competition for feeding area prevailed. Under the influence of some drugs, the shape, edge and color of the fungus colony changed. Primary laboratory screening showed that out of 6 selected biological preparations against pathogens of fruit rot, following preparations worked with high and medium efficiency: for *Alternaria alternata* strain 1 – Biocomposite, Liq, Alirin B, WP and Trichocin, WP; for strain 2 – Biocomposite, Liq, Alirin B, WP and Rizoplan, Liq. For *Botrytis cinerea*- Trichocin, WP, Alirin B, WP and Fitosporin- M, P.

Key words: rot of apple fruits, biological products, *Alternaria alternata* (Fries: Fries) Keissler., *Botrytis cinerea* Pers.

Введение. В производстве плодов яблоня занимает первое место, как в Северо-Кавказском регионе, так и в мире. Существенное снижение урожайности и качества продукции происходит, прежде всего, в результате поражения плодов микозами. В ходе ежегодных мониторинговых обследований садов Краснодарского края выявлено увеличение поражения гнилью сердцевин (семенной камеры) плодов, вызываемое патоконкомплексом полупаразитных грибов, среди которых преобладают в том числе и виды рода *Alternaria* Nees [1–2]. Симптомы болезни чаще всего обнаруживаются лишь при разрезании плодов. Заражение яблони еще в период цветения с дальнейшим, зачастую

бессимптомным, развитием болезни затрудняет своевременную выбраковку некачественной продукции. В последние годы наблюдается увеличение вредоносности гриба *Botrytis cinerea* Pers., вызывающего серую гниль плодов яблони в период хранения, потери урожая от которой могут достигать 24 % за шесть месяцев. Кроме того, данный микромицет входит в состав патоконплекса гнили сердцевинки плодов [3-4]. Рост вредоносности перечисленных грибов требует совершенствования защитных мероприятий для борьбы с ними. Для защиты от микозов, где уровень заболеваемости превышает допустимые нормы, применяют фунгициды различной природы. Однако, в настоящее время в РФ нет зарегистрированных фунгицидов для контроля гнили сердцевинки яблони.

Так, нами была изучена чувствительность к фунгицидам *in vitro* возбудителя гнили сердцевинки плодов яблони – *Alternaria alternata* (Fries: Fries) Keissler. Препарат Луна Транквилити, КС показал эффективность 95 %, фунгицид Грануфло, ВДГ – 70 %, Хорус, ВДГ – 75 % [5-6]. В исследованиях коллег наибольшей эффективностью в подавлении возбудителя альтернариозной пятнистости листьев винограда (*A. tenuissima* Wiltshire) *in vitro* обладали 8-оксихинолина сульфат, крезоксим-метил (аналоги стробилуринов), комплексные препараты из двух действующих веществ: дифеноконазол + флутриафол, ципродинил + ипродион (дикарбоксимиды). Достаточную антифунгальную активность проявили флуопирам, дифеноконазол, флудиоксанил + ципродинил в максимальных концентрациях; наименьшую – препарат на основе смеси тирам + дифеноконазол [7]. Многолетние данные коллег [8-9] показали, что препараты Скор (250 г/л дифеноконазола), КЭ, Максим (25 г/л флудиоксонил), КС, Зерокс (3000 мг/л коллоидного серебра), ВКР очень эффективно подавляли рост и развитие *A. solani* Sorauer, *A. alternata*, *F. solani* (картофель, томат); препарат Престиж (140 г/л имидаклоприда + 150 г/л пенцикурона) КС показал высокую эффективность в отношении альтернариоза (*A. solani*) (картофель, томат). Установлено, что серебро и медь подавляют *A. alternata* (томат) и *Botrytis cinerea* Pers. (земляника) [10].

Исследования фунгицидной активности *in vitro* тиазолидонов 1–4 [11], 1,2,3-триазолий-5-олатов и 1,1,3-тризамещенных триазенов [12] показали, что данные соединения обладают избирательным противогрибным действием в отношении *B. cinerea* на огурце. Для рода *Botrytis* sp. (фундук) наилучшую фунгицидную активность проявил Клад, КС (60 г/л имазалила + 60 г/л тебуконазола; 80 г/л тиабендазола) [13].

В последние годы большое внимание уделяется методам микробиологической защиты растений. Среди всех фунгицидов доля биологических препаратов в защите растений увеличивается: так, в США и Канаде эта величина достигает около 40 %, в Европе — 20 % [14]. В РФ эта цифра составляет лишь менее 10 % [15]. Помимо экологической составляющей, производство биофунгицидов на основе живых организмов экономически менее затратно, чем химических фунгицидов, следовательно, ведется тестирование биопрепаратов и непрерывный поиск перспективных биоагентов против различных болезней растений, в том числе и альтернариозов.

В качестве биологического метода защиты картофеля были испытаны восемь микроорганизмов, проявляющих воздействие на альтернариоз (*Alternaria solani* (Ell. et Mart.) Sor.); эти биоагенты были подвергнуты скринингу на их ингибирующую активность *A. solani* с помощью анализа *in vitro* и теста *in vivo* (целое растение). Исследования *in vitro* показали, что штаммы микроорганизма сильно ингибировали рост мицелия возбудителя болезни. Влияние штаммов микроорганизмов на рост мицелия возбудителя болезни оказалось наиболее высоким у *Trichoderma* sp. (0,55 мм), также активно подавляли патоген *Pseudomonas brassicacearum* (0,74 мм) и *Pseudomonas jessenii* (0,81 мм) по сравнению с контролем (2,30 мм). В исследованиях *in vivo* 9 штаммов *Bacillus mycoides* (2,14 мм) были испытаны в двух вариантах (листья и почва) и двух разных сортах картофеля (Labella и Romano). Результаты показали значительное снижение интенсивности заболевания при

использовании *Trichoderma* sp. (2 %), *Bacillus thuringiensis* (3 %) и *Bacillus mycoides* (5 %) по сравнению с контролем (46 %) на сорте Романо. На сорте Labela биоагенты-антагонисты проявили себя менее активно [16]. В связи с вышесказанным, изучение эффективности микробиологических препаратов *in vitro* против грибов рода *Alternaria* является перспективным и актуальным. Цель исследования: изучить антифунгальную активность микробиологических препаратов, зарегистрированных на яблоне для контроля парши, мучнистой росы, монилиоза, а также перспективных, по отношению к возбудителям гнили сердцевины плодов яблони.

Объекты и методы исследований. Исследования проведены в 2020-2021 гг. в лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов ФГБНУ СКФНЦСВВ. Объектами исследований являлись 3 моноконидиальных штамма возбудителей сердцевины плодов: *Alternaria alternata* (штаммы FR19I/13.2 и FR 20IV), и *Botrytis cinerea* (штамм SR20/1), которым присвоены номера 1, 2 и 3 соответственно.

В работе было изучено действие зарегистрированных на яблоне для контроля парши, мучнистой росы, монилиоза микробиологических препаратов Ризоплан, Ж (титр 1 млрд КОЕ/мл *Pseudomonas fluorescens* штамм AP-33), Биокомпозит, Ж (титр не менее 1x10⁹ КОЕ/мл штаммы и метаболиты живых бактерий), Фитоспорин- М, П (титр не менее 2 млрд живых спор и клеток на 1 г *Bacillus subtilis* штаммы 26D), Алирин Б, СП (титр 10⁹ КОЕ/г *Bacillus subtilis*, штамм В-10 ВИЗР), Витаплан, СП (титр 1010 КОЕ/г *Bacillus subtilis* штамм ВКМ-В-2604D, титр 1010 КОЕ/г *Bacillus subtilis* штамм ВКМ-В-2605D), Трихоцин, СП (титр 1010 КОЕ/г *Trichoderma harzianum*, штамм Г-30 ВИЗР). Контроль – дистиллированная, автоклавированная вода, стандартом служил препарат Зимошанс, КС (Карбендазим 500 г/л). Антифунгальную активность биопрепаратов в отношении грибов определяли методом штриха при совместном сращивании на среде КГА (картофельно-глюкозный агар). Посев двойных культур производили в стерильных условиях одновременно в трехкратной повторности. Через 7 суток инкубации при температуре 25°C отмечали рост патогена в диаметре (мм) в контрольном и опытном варианте и высчитывали биологическую эффективность. Типы взаимодействий между культурами оценивали по общепринятым методикам [17-18].

Обсуждение результатов. В результате проведенных исследований в лабораторных условиях, изученные биологические препараты проявили как высокую (62-69 %) так и очень низкую (менее 20 %) биологическую активность против изученных штаммов грибов (табл. 1). В целом для всех штаммов эффективность биологических препаратов была выше химического стандарта, что может свидетельствовать о наличии резистентности. Из всех исследованных препаратов высокие значения биологической эффективности в отношении всех штаммов патогенов имели Алирин Б, СП и Трихоцин, и для штаммов *A. alternaria* – Биокомпозит, Ж. Для остальных препаратов биологическая эффективность колебалась в широком пределе значений в зависимости от штамма. Были установлены разные типы взаимоотношений между патогенами и антагонистами препаратов (табл.).

Таблица – Влияние фунгицидов на рост грибов возбудителей гнили плодов яблони *in vitro*, 7-е сутки после посева

Штамм	Алирин Б	Био-композит	Фито-спорин- М	Ризо-план	Трихо-цин	Вита-план	Зимошанс, КС
	Биологическая эффективность, %						
1	61,1	62,5	23,9	35,0	45,9	16,6	5,0
2	47,9	55,5	3,5	48,1	61,5	10,1	40,3
3	59,6	0	45,4	0	69,6	35,3	3,2

Из 6-ти испытанных биологических препаратов наибольшую антагонистическую активность по отношению к возбудителю штамм 1 показали три: Алирин Б, СП, Биокомпозит, Ж и Трихоцин, СП. Культура патогена под действием этих препаратов – изменяла свои морфолого-культуральные характеристики, такие как форма, край колонии и цвет (рис.). Наименьшую эффективность (10-16 %) проявили препараты Витаплан, СП и стандарт. Наибольшую биологическую эффективность против штамма 2 проявили Алирин Б, СП, Биокомпозит, Ж и Ризоплан, Ж (48-61 %), а наименьшую Фитоспорин- М, П и Витаплан, СП (3-10 %).

Штамм 3 оказался самой быстрорастущей культурой в опыте. Культуральные характеристики штамма не изменялись, воздушный мицелий патогена в двойных культурах развивался нормально. Для антагониста препарата Трихоцин, СП и штаммов 1 и 2 обнаружено обоюдное подавление при контакте, через некоторое время антагонист продолжает расти с неизменной или меньшей скоростью поверх колонии подавляемого организма.



Рис. Антагонистическая активность биопрепаратов по отношению к некоторым штаммам возбудителей гнили плодов яблони (7-е сутки после посева)

Результаты оценки антифунгальной активности изученных биопрепаратов к изученным патогенам показали, что механизм действия антагонистов представлен тремя типами:

1) Антагонист образует зону нарастания на колонию патогена (гиперпаразитизм): Трихоцин, СП- штаммы 2 и 3;

2) Антагонист образует стерильную зону задержки роста мицелия патогена (антибиоз):

Алирин Б, СП –штамм 2

Фитоспорин- М, П-штамм 2

3) Антагонист занимает значительную поверхность питательной среды – более 50,0 % (конкуренция за площадь питания):

Алирин Б, СП –штаммы 1 и 3;

Биокомпозит, Ж –штаммы 1, 2;

Ризоплан, Ж–штаммы 1, 2;

Фитоспорин- М, П –штаммы 1, 3;

Трихоцин, СП–штамм 1;

Витаплан, СП –штаммы 1, 2, и 3;

У препаратов Биокомпозит, Ж и Ризоплан, Ж на 3 штамме не было выявлено никакой антифунгальной активности.

Необходимо отметить, что зафиксированные нами взаимоотношения между изученными патогенными штаммами и антагонистическими штаммами биопрепаратов отмечались рядом исследователей. Так, например, препарат гриба *Trichoderma lignorum* показал большую эффективность по отношению к комплексу патогенных микромицетов, распространенных на территории Республики Беларусь, в том числе и к *Alternaria humicola* [19]. Проведенные исследования показали, что препарат Ризоплан в перспективе (после регистрации на культуре) может быть использован не только для профилактики, но и для лечения болезни при уже имеющихся симптомах поражения на растениях томата в условиях высокого уровня инфекционного фона. Алирин-Б обладал менее выраженным фунгицидным действием и его применение целесообразно для профилактики развития альтернариоза томата [20].

Выводы. В результате изучения антифунгальной активности биологических препаратов в отношении грибов *Alternaria alternata* и *Botrytis cinerea* возбудителей гнили плодов яблони, был отмечен как слабый, так и очень сильный микопаразитизм, но в большинстве вариантах опыта преобладала конкуренция за площадь питания. Под действием некоторых препаратов менялись форма, край и цвет колонии грибов.

Первичный лабораторный скрининг показал, что из 6 выбранных биологических препаратов против возбудителей гнили плодов сработали с высокой и средней эффективностью: для *Alternaria alternata* штамм 1 – Биокомпозит, Ж, Алирин Б, СП и Трихоцин, СП; для штамма 2 – Трихоцин, СП, Биокомпозит, Ж, Алирин Б, СП и Ризоплан, Ж. Для штамма *Botrytis cinerea*- Трихоцин, СП, Алирин Б, СП и Фитоспорин- М, П.

Низкую эффективность для всей выборки показали Зимошанс, КС и Витаплан, СП, а лучшими биоагентами оказались антагонисты препарата Трихоцин, СП, который подавил изученные штаммы с БЭ 45-69 % и проявил максимальный гиперпаразитизм на штамме *Botrytis cinerea*; препарат Алирин Б, СП ингибировал рост 3-х штаммов с БЭ до 47-61 %, проявил антибиоз или фунгистатический антибиотический антагонизм с образованием «стерильной» зоны для штамма 2 *Alternaria alternata*. На последующих этапах работы предполагается продолжить исследования потенциальных биоагентов в лабораторных и полевых условиях.

Литература

1. Якуба Г.В., Астапчук И.Л., Насонов А.И. Видовая структура комплекса микромицетов, возбудителей гнили сердцевинки плодов яблони краснодарского края [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2019. № 60 (6). С. 148-162. DOI: 10.30679/2219-5335-2019-6-60-148-162 (дата обращения: 17.04.2021).

2. Якуба Г.В. Структура патогенного комплекса возбудителей микозов наземной части растений яблони в условиях изменения климата // Научные труды ГНУ СКЗНИИСИВ «Моделирование процессов обеспечения устойчивости агросистем плодовых культур и винограда». Краснодар. 2014. Т. 5. С. 151–157.

3. Якуба Г.В. Эмбрения и Геокс – качество хранения плодов яблони, начинающееся с цветения! // Защита и карантин растений. 2017. № 8. С. 37-39.

4. Astarchuk I.L., Yakuba G.V., Nasonov A.I. Efficacy of fungicides against pathogens of apple core rot from the genera *Fusarium* Link, *Alternaria* Nees and *Botrytis* (Fr.) under laboratory conditions // E3S Web of conferences. 2021. №285, P. 03015.

5. Yakuba G.V., Astarchuk I.L. Evaluation of the effectiveness of *in vitro* fungicides against the pathogen of rot of the core of apple fruit *Alternaria alternata* (fries: fries) keissler // Материалы Второй Международной научной конференции PLAMIC2020 "Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего". 2020. С. 280-284.

6. Якуба Г.В., Астапчук И.Л., Насонов А.И. Действие фунгицидов *in vitro* на грибы рода *Fusarium link*, вызывающие гниль сердцевины плодов яблони // Таврический вестник аграрной науки. 2020. №2 (22). С. 188-197.

7. Буровинская М.В., Юрченко Е.Г. Лабораторная оценка биологической эффективности фунгицидов в подавлении возбудителя альтернариоза винограда *Alternaria tenuissima* // [Электронный ресурс] Плодоводство и виноградарство Юга России. 2019. № 58 (4). С. 146-165. DOI: 10.30679/2219-5335-2019-4-58-146-165 (дата обращения: 23.05.21).

8. Мыца Е.Д., Еланский С.Н., Кокаева Л.Ю., Побединская М.А., Игнатов А.Н., М.А. Кузнецова, Козловский Б.Е., Денисов А.Н., Жеребин П.М., Крутяков Ю.А. Новый препарат Зерокс – оценка фунгицидного и бактерицидного эффекта *in vitro* // Достижения науки и техники АПК. 2014. № 12. С.16-19.

9. Мыца Е.Д. Влияние некоторых пестицидов на возбудителей грибных болезней картофеля (*solanum tuberosum* l.) и томата (*lycopersicon esculentum* mill.): авторефер. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.12 / Мыца Елена Дмитриевна. Москва, 2015. 24 с.

10. Sahar M. Ouda Antifungal activity of silver and copper nanoparticulates on two plant pathogens *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea* Research Journal of Microbiology. 2014. № 9 (1). P. 34- 42.

11. Котлованов А.А., Обыденнов К.Л., Калинина Т.А., Высокова О.А., Галушинский А.Н. Исследование фунгицидной активности 1,3-т и азолидин -4-онов в отношении фитопатогенов // Современные подходы и методы в защите растений. 2018. С. 25-27.

12. Мухаметкулова А.Р., Хасанова К.М., Калинина Т.А., Высокова О.А., Нейн Ю.И., Глухарева Т.В. Синтез и фунгицидная активность мезоионных производных 1,2,3-триазолов // Современные подходы и методы в защите растений. 2018 С. 49-51.

13. Рахмангулов Р.С., Уразбахтина Н.А., Симонян Т.А., Мацькив А.О., Цатурян Г.А. Влияние фунгицидных препаратов на введение побегов фундука в условия *in vitro* // Новые технологии. 2019. № 4, С. 191-199.

14. Bailey K.L., Boyetchko S.M., Langle T. Social and economic drivers shaping the future of biological control: A Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial biopesticides // Biological Control. 2010. № 52 (3). P. 221-229.

15. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Кузин А.И., Кузнецова Н.И., Николаенко М.А., Азизбекян Р.Р. Влияние бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* на рост и токсинообразование гриба *Fusarium sporotrichioides* // Биотехнология. 2014. № 1. С 32-37.

16. Алдиба А.Ш., Еськов И.Д., Мельников А.В. Биологический контроль альтернариоза картофеля (*Altrnaria solani*) микробными антагонистами // Аграрный научный журнал. 2019. № 9. С. 4-10.

17. Попова А.Д., Садыкова В.С. Антагонистические свойства штаммов *Trichoderma asperellum* в отношении токсинообразующих грибов рода *Fusarium* // Международный исследовательский журнал. 2014. № 5-1 (24). С. 33-35.

18. Маслиенко Л.В., Курилова Д.А., Шипиевская Е.Ю., Асатурова А.М. Первичный скрининг штаммов грибов и бактерий антагонистов к возбудителю фузариоза сои // Научно-технический вестник ВНИИ масличных культур. 2009. № 1 (140). С. 114-119.

19. Мазаник Н.В., Федосенко И.Г. Экологические аспекты защиты древесины от биологического повреждения Труды БГТУ. Серия 1: Лесное хозяйство, природопользование и переработка возобновляемых ресурсов. 2017. № 2 (198). С. 279-285.

20. Маслова М.В., Грошева Е.В. Эффективность биопрепаратов Алирин-Б и Ризоплан против альтернариоза томата // Защита и карантин растений. 2021. № 2. С. 26-27.