

УДК 632.952:532.4:633.1

ДЕЙСТВИЕ ФУНГИЦИДОВ НА РОСТ ГРИБОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ СНЕЖНУЮ ПЛЕСЕНЬ ЗЛАКОВ¹

© 2021 г. А. С. Орина^{1,*}, Т. Ю. Гагкаева¹, О. П. Гаврилова¹, М. Ю. Усольцева²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)
196608 Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3, Россия

² Группа ботанических исследований
41319 Гетеборг, ул. Карла Скоттберга, 22В, Швеция

*E-mail: orina-alex@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.10.2020 г.

После доработки 11.11.2020 г.

Принята к публикации 11.02.2021 г.

Анализировали чувствительность к 7-ми препаратам и тебуконазолу 22 штаммов *Microdochium majus*, *M. nivale* и *F. culmorum* при их культивировании на питательной среде, содержащей разные концентрации фунгицидов. Выявлена высокая и сходная чувствительность к тебуконазолу и пропиконазолу штаммов *F. culmorum* и *M. nivale*. Чувствительность *M. nivale* к содержащим стробилурины фунгицидам была выше, чем *F. culmorum* и *M. majus*. Флудиоксонил подавлял рост *F. culmorum* лучше, чем грибов *Microdochium*. Штаммы *M. majus* в среднем были менее чувствительными ко всем анализированным фунгицидам, из них 62.5% штаммов продемонстрировали резистентность к 1–2-м препаратам, содержащим стробилурины. В то же время 45% штаммов *M. nivale* показали резистентность к 1–4-м препаратам, содержащим стробилурины или триазолы. Штаммы *Microdochium*, выделенные из зерна, были достоверно менее чувствительны к триаколам и 2-м содержащим стробилурины препаратам, чем штаммы из листьев растений. Географическое происхождение штаммов грибов не оказывало влияния на их чувствительность к фунгицидам.

Ключевые слова: *Microdochium majus*, *Microdochium nivale*, фунгицид, эффективность, резистентность.

DOI: 10.31857/S0002188121050094

ВВЕДЕНИЕ

К вредоносному заболеванию злаковых трав относится снежная плесень, возбудителями которой являются грибы из разных таксономических групп, но наиболее часто выявляют представителей рода *Microdochium* Syd. & P. Syd. Недавние исследования показали, что в РФ на злаковых растениях встречаются несколько видов грибов этого рода, среди которых доминируют *M. nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett и *M. majus* (Wollenw.) Glynn & S.G. Edwards [1].

Грибы рода *Microdochium* относятся к эндофитным организмам, часто существующим бессимптомно в тканях растений и не наносящим им вреда. Присутствие этих грибов в семени не приводит к ухудшению прорастания, развития растений и не влияет на качество урожая. Однако такое “безболезненное” для растения сосуществование происходит только при благоприятных условиях

окружающей среды. При ослаблении хозяина грибы *Microdochium* вызывают снежную плесень, ожог листьев, паршу колосьев [2]. Анализ патогенности штаммов разных видов *Microdochium* на отрезках листьев зерновых культур показал их способность вызывать некрозы растительной ткани, величина которых зависела от штамма [3–5].

Кроме того, в комплексе возбудителей, вызывающих снежную плесень, гниль проростков, пятнистости листьев злаковых культур, а также инфицированность семян встречаются грибы рода *Fusarium* Link, из которых *F. culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc. является одним из наиболее агрессивных патогенов [6].

Снежная плесень на зерновых культурах, газонах городских парков и скверов, полей спортивных сооружений проявляется в весенний период. Зараженные растения отстают в росте, гибнут их надземная и подземная части, и в результате на растительном покрове появляются плесни различной величины и конфигурации. Основными путями оздоровления являются технологические

¹ Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ (проект № 19-76-30005).

приемы – выравнивание поверхности, посев качественных семян устойчивых видов и сортов трав, своевременное использование комплекса минеральных удобрений. На полях сельхозугодий опрыскивания растений фунгицидами применяют как профилактические (осенью) и лечебные (весной) меры для борьбы с заболеваниями [7, 8]. В отличие от посевов зерновых на газонных травах снежная плесень может быть активна и вызывать повреждение круглый год. Для создания ровного плотного покрова траву часто стригут, ограничивают азотные удобрения и полив, что создает благоприятные условия для развития снежной плесени [9]. Например, частое проявление снежной плесени газонных трав и необходимость борьбы с заболеванием объясняют массовое использование фунгицидов в Канаде [10].

Ассортимент разрешенных к применению на территории РФ коммерческих фунгицидов, направленных на борьбу со снежной плесенью в течение вегетации, ограничен. В 2020 г. на зерновых культурах для опрыскивания в период вегетации разрешены 5 препаратов на основе беномила и 3 препарата на основе карбендазима и его комбинации с флутриафолом [11]. Для защиты газонов от болезней разрешены 2 фунгицида: двухкомпонентный препарат на основе карбоксина и тирама и препарат на основе азоксистробина.

Ассортимент протравителей для обработки зерновых культур против снежной плесени значительно шире и включает 79 препаратов на основе 18 действующих веществ (д.в.) из разных классов и их комбинаций, а также 2 биопрепарата на основе *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393.

Цель работы – оценка чувствительности к фунгицидам широко распространенных грибов *M. nivale* и *M. majus*, а также *F. culmorum*, вызывающих вредоносные заболевания злаковых культур.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объектов исследования были выбраны 8 штаммов *M. majus*, 11 штаммов *M. nivale* и 3 штамма *F. culmorum*. Все анализированные штаммы выделены из зерновых культур и злаковых трав различного географического происхождения (19 штаммов из РФ – Белгородская, Брянская, Воронежская, Калининградская, Ленинградская, Пензенская обл., Краснодарский край, Ставропольский край, Республика Татарстан; 3 штамма из Финляндии) в период с 2012 по 2019 г. Из образцов зерна пшеницы и ячменя были выделены 12 штаммов, остальные 10 были изолированы из листьев растений пшеницы, ржи, тимофеевки луговой и

газонных трав, имевших симптомы снежной плесени или пятнистости.

Поскольку по морфологическим признакам видовую идентификацию грибов рода *Microdochium* проводить затруднительно, то предварительно принадлежность анализированных штаммов к видам *M. majus* и *M. nivale* была определена с помощью ПЦР с видоспецифичными праймерами [12–14].

Анализировали сравнительную эффективность подавления роста грибов 7-ми коммерческих фунгицидов, 4 из которых были однокомпонентными, 3 – двухкомпонентными и 1 – трехкомпонентным (табл. 1). В состав анализированных препаратов входило 14 д.в., среди которых по механизму действия можно выделить ингибиторы синтеза стеролов (SBI, тебуконазол, пропиконазол), ингибиторы митохондриального дыхания (QoI, азоксистробин, пираклостробин, трифлуксистробин), ингибиторы сукцинатдегидрогеназы (SDHI, боскалид, флуопирам), ингибиторы трансдукции осмотического сигнала (флудиоксонил), ингибиторы синтеза аминокислот и белков (AP, ципродинил) и мультисайтовые д.в. (хлороталонил). Исследованные препараты разрешены и используются в странах Европейского Союза для борьбы со снежной плесенью, на территории РФ зарегистрирован и разрешен к применению только один препарат – Signum (Сигнум). В эксперимент также был включен аналитический стандарт тебуконазол (CAS number 107534-96-3, Merck).

Препараты разводили в стерильной воде таким образом, чтобы получить концентрацию рабочего раствора для обработки 1 га (300 л воды), содержащего максимальную дозу д.в., рекомендованную для использования в странах ЕС. Тебуконазол применяли в дозе, рекомендованной для препарата Фоликур (1.0 л/га). В дальнейшем полученные рабочие растворы последовательно десятикратно разводили стерильной водой и вносили в картофельно-декстрозный агар 50% (КДА, Merck), остуженный до температуры 50°C. Конечные концентрации препарата в среде составили 1, 0.1, 0.01 и 0.001% исходного рабочего раствора. Максимальная концентрация д.в. была подобрана в предварительном тестировании по определению диапазона чувствительности выборки штаммов. После тщательного перемешивания смеси разливали по 20 мл в пластиковые чашки Петри диаметром 90 мм.

Культуры грибов 2-х видов *Microdochium* и *F. culmorum* выращивали на КДА в темноте при 24°C в течение 5-ти сут. Из выросших колоний стерильным микробиологическим сверлом выре-

Таблица 1. Фунгициды, использованные в исследовании

Коммерческое название	Содержание действующего вещества (д.в.)	Рекомендованная доза* на 1 га	Концентрация д.в. в рабочем растворе**, г/л
Banner Махх	Тебуконазол 250 г/л	1.0 л	0.83
	Пропиконазол 156 г/л	3.0 л	1.56
Exteris Stressgard	Трифлуксистробин 12.5 г/л + флуопирам 12.5 г/л	10.0 л	0.42 + 0.42
Heritage	Азоксистробин 500 г/кг	0.5 кг	0.83
Instrata	Хлороталонил 362 г/л + пропиконазол 57 г/л + флудиоксонил 14.5 г/л	3.0 л	3.62 + 0.57 + 0.15
Medallion TL	Флудиоксонил 125 г/л	3.0 л	1.25
Signum Сигнум	Боскалид 267 г/кг + пиракlostробин 67 г/кг	1.0 кг	0.89 + 0.22
Switch 62.5 WG	Ципродинил 375 г/кг + флудиоксонил 250 г/кг	1.0 кг	1.25 + 0.83

*По инструкции производителя. **Из расчета 300 л рабочего раствора/га обрабатываемой площади.

зали диски диаметром 5 мм, которые затем мицелием вниз помещали на КДА в центр каждой пластиковой чашки Петри. Через 5 сут инкубации (24°C, темнота) определяли диаметр колонии гриба как среднее из двух перпендикулярных измерений. Из полученной величины вычитали величину инокуляционного диска 5 мм. Диаметр колонии штаммов на КДА без фунгицида использовали в качестве контроля. Ингибирующее действие фунгицида на радиальный рост гриба определяли как отношение разницы диаметра колонии в контроле и в варианте к диаметру колонии в контроле, выраженное в %. Штаммы, чувствительность которых к фунгициду оказалась более чем в 2 раза меньше, чем средняя для вида, характеризовали как резистентные к данному фунгициду.

Эксперимент выполняли минимум двукратно. Для статистической обработки и визуализации полученных данных использовали программы Microsoft Excel 2010, Minitab 17 и STATISTICA 10.0. При попарных сопоставлениях использовали тест Тьюки, достоверность различий принимали при $p < 0.05$. Концентрации фунгицидов, приводящих к 50%-ному подавлению роста грибов – EC_{50} (полумаксимальная эффективная концентрация, half maximal effective concentration), рассчитывали с помощью программного обеспечения Quest Graph™ LD50 Calculator (<https://www.aatbio.com/tools/ld50-calculator/>).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 5-е сут культивирования на КДА в контрольных вариантах диаметр колоний штаммов *M. majus* варьировал от 38 до 60 мм и в среднем составил 50 ± 5 мм, тогда как диаметр колоний штаммов *M. nivale* оказался в диапазоне 50–71 мм и в среднем был достоверно больше – 60 ± 4 мм. Штаммы *F. culmorum* характеризовались наиболее интенсивным ростом – средний диаметр их колоний составлял 75 мм, без различий между штаммами.

Влияние препаратов на рост грибов. Влияние препаратов на рост большинства штаммов грибов при наименьшей анализированной концентрации в питательной среде проявлялось как в ингибировании, так и стимуляции роста штаммов грибов в сравнении с контролем (рис. 1).

Обнаружено стимулирующее действие минимальной 0.001%-ной концентрации препарата Banner Махх, содержащего пропиконазол, на рост 11 штаммов *Microdochium* (50% всех анализированных штаммов), размеры их колоний оказались в среднем на 17% больше, чем в контроле ($p = 0.0002$). Также было выявлено достоверное стимулирующее действие минимальной концентрации рабочего раствора препаратов Exteris Stressgard, Instrata, Switch 62.5 WG и Signum на штаммы *M. nivale*. Добавление в среду препаратов Heritage и Medallion TL, Switch 62.5 WG и тебуконазола в минимальной концентрации оказывало стимулирующее действие на единичные штаммы *M. majus*, которое проявлялось в увеличении диа-

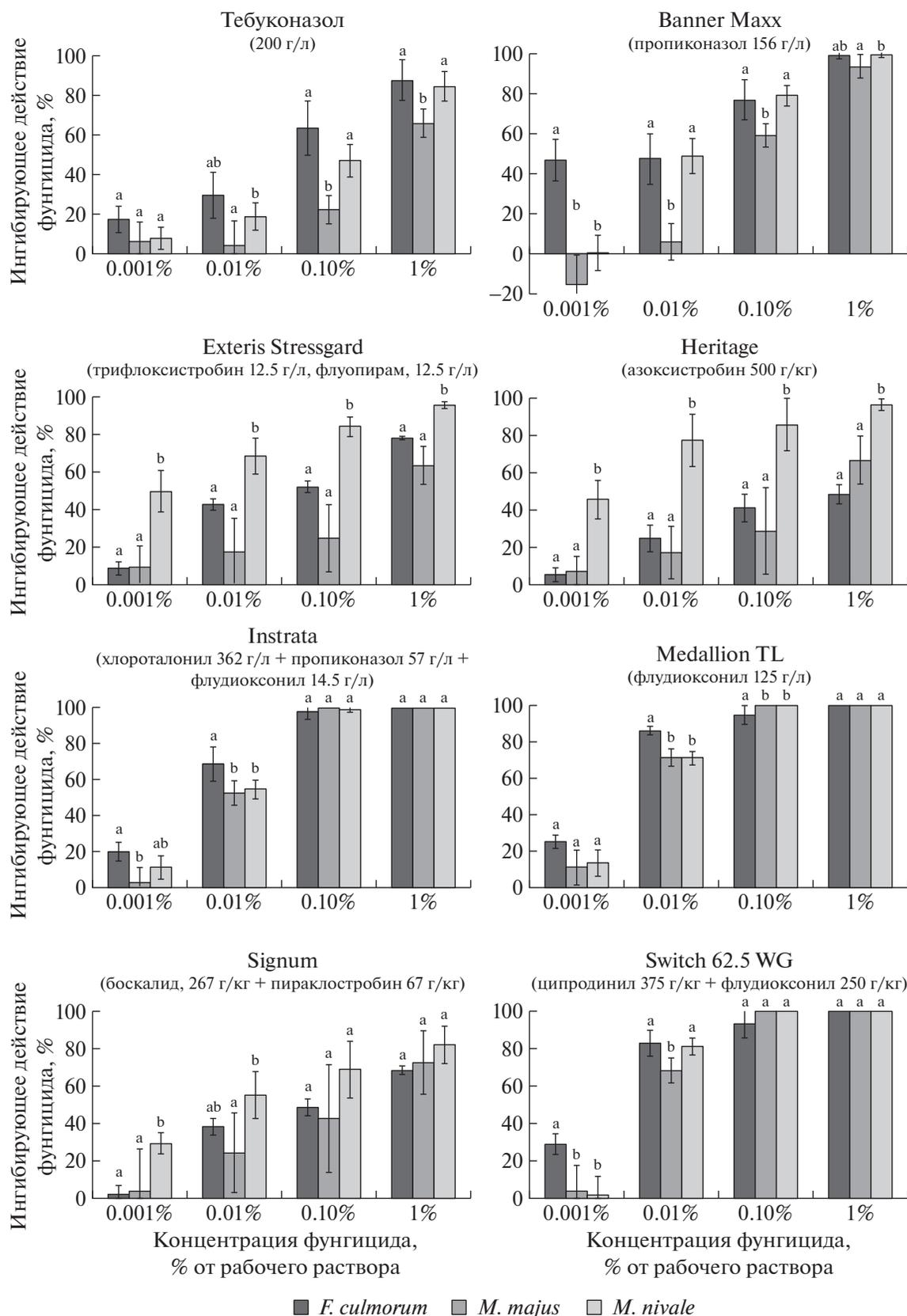


Рис. 1. Подавление фунгицидами радиального роста грибов при культивировании на КДА, содержащем препараты в различных концентрациях. Величины, обозначенные одной буквой, не имеют достоверных различий ($p < 0.05$) при определенной концентрации фунгицида.

Таблица 2. Концентрации фунгицидов в питательной среде, приводящие к полумаксимальному ингибированию роста грибов (EC_{50})

Коммерческое название	Действующее вещество (д.в.)	Концентрации фунгицидов EC_{50} для вида гриба, %* (мкг д.в./л питательной среды)		
		<i>F. culmorum</i>	<i>M. majus</i>	<i>M. nivale</i>
	Тебуконазол	0.041 (338)	0.487 (4041)	0.113 (936)
Banner Махх	Пропиконазол	0.004 (608)	0.063 (9812)	0.012 (1888)
Exteris Stressgard	Трифлуксистеробин + + флуопирам	0.047 (199 + 199)	0.565 (2373 + 2373)	0.001 (5 + 5)
Heritage	Азоксистробин	0.619 (5139)	0.406 (3366)	0.001 (10)
Instrata	Хлороталонил + + пропиконазол + + флудиоксонил	0.004 (159 + 25 + 7)	0.010 (344 + 54 + 14)	0.008 (297 + 47 + 12)
Medallion TL	Флудиоксонил	0.002 (30)	0.005 (63)	0.005 (59)
Signum	Боскалид + + пираклостробин	0.084 (751 + 245)	0.180 (1601 + 522)	0.013 (37 + 5)
Switch 62.5 WG	Ципродинил + + флудиоксонил	0.002 (29 + 19)	0.006 (78 + 51)	0.005 (63 + 42)

*% от концентрации рабочего раствора, приготовленного для обработки 1 га (300 л) и содержащего максимальную дозу, рекомендованную для использования в странах ЕС (табл. 1).

метра колоний на 8–19%. Не выявлено стимулирующее действие ни для одного из анализируемых препаратов на рост штаммов *F. culmorum*, включенных в исследование.

Концентрации фунгицидов EC_{50} , приводящих к 50%-ному подавлению радиального роста анализируемых видов грибов, приведены в табл. 2. В нашем исследовании установлено, что наибольшее ингибирующее действие на рост штаммов *M. majus* оказывали 3 препарата, содержащие флудиоксонил: их EC_{50} составили 0.005–0.010% концентрации рабочего раствора или 14–63 мкг д.в./л. В то же время остальные фунгициды менее эффективно подавляли рост штаммов этого вида (EC_{50} варьировали в диапазоне 0.063–0.565%).

Чувствительность штаммов *M. nivale* к препаратам, включенным в исследование, оказалась наиболее высокой в сравнении с *M. majus*. Максимальный ингибирующий эффект (средняя величина EC_{50} 0.001% или 10 мкг/л) на рост штаммов *M. nivale* оказывали препарат, содержащий азоксистробин (диапазон EC_{50} 0.001–0.258% концентрации рабочего раствора или 6.6–2140 мкг д.в./л), а также комбинированный препарат, включающий трифлуксистеробин в сочетании с флуопирамом

(EC_{50} 0.0001–0.029%, 0.4–121 мкг трифлуксистеробина/л). Другие фунгициды были менее эффективны – их EC_{50} варьировали от 0.002 до 0.426% для отдельных штаммов *M. nivale* и в среднем составляли 0.005–0.113%.

Все штаммы *F. culmorum* оказались высокочувствительными к содержащим пропиконазол и флудиоксонил препаратам, величина EC_{50} которых варьировала от 0.002 до 0.009%. Сходное, но менее эффективное действие продемонстрировали тебуконазол и стробилурин-содержащие препараты – диапазон величин EC_{50} составил 0.038–0.103%. Из всех анализируемых фунгицидов наименее эффективно ограничивал рост штаммов *F. culmorum* монопрепарат на основе азоксистробина (EC_{50} варьировала в диапазоне 0.341–1.407%).

Ранее показано, что флудиоксонил по сравнению со смесью битертанол + фуберидазол более эффективно подавлял рост грибов (анализировали содержание грибной ДНК в зерне), относящихся к роду *Microdochium*, чем *F. culmorum* [15]. Позже эти авторы провели эксперименты *in vitro* и установили, что соотношение средних величин EC_{50} флудиоксонила для видов *M. majus* / *M. nivale*

составляло 0.71, что свидетельствовало о меньшей чувствительности штаммов *M. nivale* в сравнении с *M. majus* к этому д.в. [16]. Высокая эффективность флудиоксонила против грибов *Microdochium*, выделенных из газонных трав и зерновых культур, была подтверждена норвежскими и литовскими учеными [17, 18]. Кроме этого, двухгодичные полевые испытания подтвердили положительное влияние обработки семян флудиоксонилом на их всхожесть и позволили значительно уменьшить потери урожая от болезней при использовании изначально сильно инфицированных грибами семян [19].

Значительный ингибирующий эффект тебуконазола на зараженность колосьев грибами *F. culmorum* и *F. avenaceum* показан ранее, при этом отмечено, что его эффективность в отношении *M. nivale* была низкой [20]. Наши результаты показали согласованность с ранее опубликованными данными – тебуконазол и пропиконазол эффективнее подавляли рост *F. culmorum* (диапазон EC_{50} составил 0.002–0.049% концентрации рабочего раствора, 332–1388 мкг д.в./л), чем *M. majus* (EC_{50} – от 0.033 до 1.031%, 2450–15850 мкг д.в./л) и *M. nivale* (EC_{50} – от 0.004 до 0.426%, 240–3537 мкг д.в./л). Чешские исследователи также установили, что тебуконазол и метконазол, добавленные в КДА, оказывали меньший ингибирующий эффект на рост 28 штаммов *M. nivale*, чем прохлораз и эпоксионазол [21].

Результаты полевых экспериментов показали, что применение азоксистробина снижало инфицированность колосьев пшеницы *M. nivale*, но увеличило их колонизацию грибами *Fusarium*, которые получали конкурентное преимущество [20, 22].

Согласно результатам норвежских исследователей, однократное использование пропиконазола (или смеси азоксистробин + пропиконазол) в октябре на 80% снижало проявление на полях для гольфа симптомов снежной плесени, вызванных грибами *Microdochium*, и эффект обычно превышал 90%, если опрыскивание одним из этих фунгицидов сопровождалось хотя бы одним применением флудиоксонила перед появлением снежного покрова [23].

Таким образом, в зависимости от доминирующего вида гриба в составе комплекса патогенов, вызывающих снежную плесень, необходимо использовать препараты, содержащие в своем составе целевое д.в. Согласно нашим результатам, следует применять флудиоксонил против *M. majus* и *F. culmorum*, а стробилурины – против *M. nivale*. Кроме того, системные фунгициды, проникающие в ткани растений, по всей видимости,

имеют преимущества, особенно в случае защиты газонных трав, которые подвергаются постоянному скашиванию в течение вегетационного сезона.

Внутривидовое разнообразие грибов по чувствительности к фунгицидам. Различий 3-х штаммов *F. culmorum* по чувствительности к включенным в исследование фунгицидам не выявлено, что, вероятно, связано с ограниченной выборкой штаммов данного вида. Ранее были отмечены существенные различия чувствительности к тебуконазолу и эпоксиконазолу 107 штаммов *F. culmorum*, а также обнаружена перекрестная резистентность этих штаммов к обоим триазиолам ($r = 0.61$), которая оставалась стабильной с течением времени [24]. Массовое использование фунгицидов может приводить к появлению резистентных популяций грибов в природе. Комитет по противодействию резистентности к фунгицидам (Fungicide Resistance Action Committee) отнес грибы *Microdochium*, вызывающие снежную плесень, к патогенам со средним риском развития резистентности к фунгицидам [25].

Из 8-ми анализированных в нашей работе штаммов *M. majus* 5 штаммов продемонстрировали резистентность к 1–2-м препаратам. Три штамма *M. majus* MFG 58971, MFG 58975 и MFG 59102, выделенные из зерна пшеницы в Калининградской обл., Ставропольском и Краснодарском краях соответственно, можно охарактеризовать как резистентные к азоксистробину (EC_{50} – от 0.915 до 2.022% концентрации рабочей жидкости или от 7.6 до 16.8 мг д.в./л). Штамм *M. majus* MFG 58971 также оказался резистентен к тебуконазолу: его чувствительность к этому д.в. оказалась в 2.4 раза меньше, чем в среднем для вида (EC_{50} – 1.031%, 8.6 мг д.в./л).

Два других штамма *M. majus* MFG 59023 и MFG 59108, выделенных из зерна пшеницы в Ленинградской обл. и Финляндии соответственно, продемонстрировали низкую чувствительность к препарату Signum на основе боскалида и пираклостробина: EC_{50} для этих штаммов составила 0.951 и 1.165% соответственно, что оказалось в 5.3–6.5 раза больше, чем в среднем для вида.

Среди 11-ти анализированных штаммов *M. nivale* 5 штаммов продемонстрировали резистентность к 1–4-м препаратам. Низкая чувствительность к 3-м препаратам, в состав которых входит азоксистробин, трифлуксистробин, пропиконазол, а также к тебуконазолу выявлена у штамма *M. nivale* MFG 59028, выделенного из зерна пшеницы в Ленинградской обл. Величина EC_{50} препарата Banner Махх, содержащего пропиконазол,

и тебуконазола для этого штамма составила 0.037 и 0.426% (3.5 и 5.8 мг д.в./л) соответственно и оказалась в 3.1–3.8 раза больше, чем в среднем для вида *M. nivale*. Для препаратов Exteris Stressgard и Heritage, содержащих трифлуксистробин и азоксистробин, EC_{50} в отношении *M. nivale* MFG 59028 была равна 0.029 и 0.258% (121 и 2144 мкг QoI д.в./л) соответственно и превышала средний показатель для вида в 26–215 раз.

У 3-х штаммов *M. nivale* MFG 59038, MFG 60223 и MFG 60231, выделенных из листьев злаковых растений в Санкт-Петербурге и Ленинградской обл., была выявлена резистентность хотя бы к одному из препаратов, содержащих пираклостробин (Signum) или трифлуксистробин (Exteris Stressgard): EC_{50} этих препаратов оказалась равна 0.004–0.935% (17–2712 мкг QoI д.в./л), что превышала средний показатель для вида *M. nivale* в 3–73 раза.

У штамма *M. nivale* MFG 59144, выделенного из зерна пшеницы в Краснодарском крае, отмечена низкая чувствительность как к препарату Signum, содержащему пираклостробин, (EC_{50} 4.527% или 13.1 мг QoI д.в./л), так и к тебуконазолу (EC_{50} 0.238% или 1.9 мг д.в./л).

Впервые информация о резистентности *M. nivale* к бензимидазолу была опубликована в 1983 г. [26]. Неоднократно были зарегистрированы лабораторно подтвержденные случаи полевой резистентности *M. nivale* к ипродиону – другому д.в. из класса имидазолов. Впервые в работе [27] в 1982 г. протестировали чувствительность к ипродиону изолятов, выделенных из травы полей для гольфа, где ипродион внезапно утратил эффективность после 3-х лет его активного использования против снежной плесени. Двадцать один из 24 изолятов *F. nivale* (в настоящее время *M. nivale sensu lato*) оказались резистентными и росли на КДА с добавлением ипродиона в концентрации ≥ 10 мкг/мл. Эти же изоляты были перекрестно-толерантными к винклозолину и процимидону. Позднее резистентные к ипродиону изоляты *M. nivale* были обнаружены на полях для гольфа в Новой Зеландии – их частота встречаемости составила 19%, и все изоляты, кроме одного, также были устойчивы к бензимидазолу [28]. Установлена связь между многократным ежегодным использованием ипродиона и пропиконазола в разных регионах Канады и выявлением высокой доли изолятов *M. nivale* (до 12–82 и 24–77% соответственно), которые проявили пониженную чувствительность к этим д.в. и более медленный рост на КДА в экспериментах *in vitro* [29]. Проведенное исследователями геномное сравнение

чувствительных и резистентных к ипродиону изолятов *M. nivale* выявило ряд новых мутаций в кодирующих последовательностях генов *mnos-1* и *mnos-4*, которые могли быть связаны с резистентностью к этому д.в.

В первом сообщении о резистентности к стробилуринам грибов *Microdochium* было показано, что половина штаммов *M. nivale* и особенно *M. majus*, собранных в полях 2007 г. во Франции, были нечувствительны к QoI фунгициду [30]. Большинство выявленных стробилуринов-резистентных изолятов также демонстрировали низкую чувствительность к бензимидазолам, в то время как положительной перекрестной резистентности к флудиоксонилу и ингибиторам биосинтеза стеролов (*SBI*) не установлено. В другом исследовании ожидаемой перекрестной резистентности штаммов *M. nivale* к 4-м анализированным фунгицидам из класса *DMI* не выявлено [21].

До недавнего времени не было ни одного лабораторно подтвержденного случая резистентности к *SBI* и *SDHI* фунгицидам [25]. С использованием ультрафиолетового излучения удалось индуцировать мутации у *M. nivale*, которые привели к появлению изолятов, устойчивых к *SBI* д.в., но полученные в лаборатории мутанты имели низкую жизнеспособность в полевых условиях [31].

В наш эксперимент были включены штаммы грибов широкого географического происхождения, чтобы охарактеризовать их индивидуальную чувствительность к фунгицидам. Априори предполагали нормальность распределения этого показателя, и что среди штаммов из контрастных регионов толерантными будут те, которые были выделены из растений, выращенных на полях южного региона европейской части России, где существует высокий фунгицидный прессинг. Однако результаты показали, что среди штаммов *Microdochium*, проявивших резистентность к препаратам, содержащим в своем составе разные д.в., оказались штаммы из географически отдаленных территорий, и какой-либо связи реакции чувствительности штамма с регионом его происхождения выявить не удалось.

В то же время анализ чувствительности штаммов грибов *Microdochium*, распределенных на 2 выборки (выделенные из зерна или из листьев с симптомами поражения) показал, что субстратное происхождение штамма достоверно влияло на чувствительность штаммов в случае половины анализированных фунгицидов – тебуконазола (при $p = 0.0107$), Banner Maxx (при $p = 0.0111$), Exteris Stressgard (при $p = 0.0125$) и Heritage (при $p =$

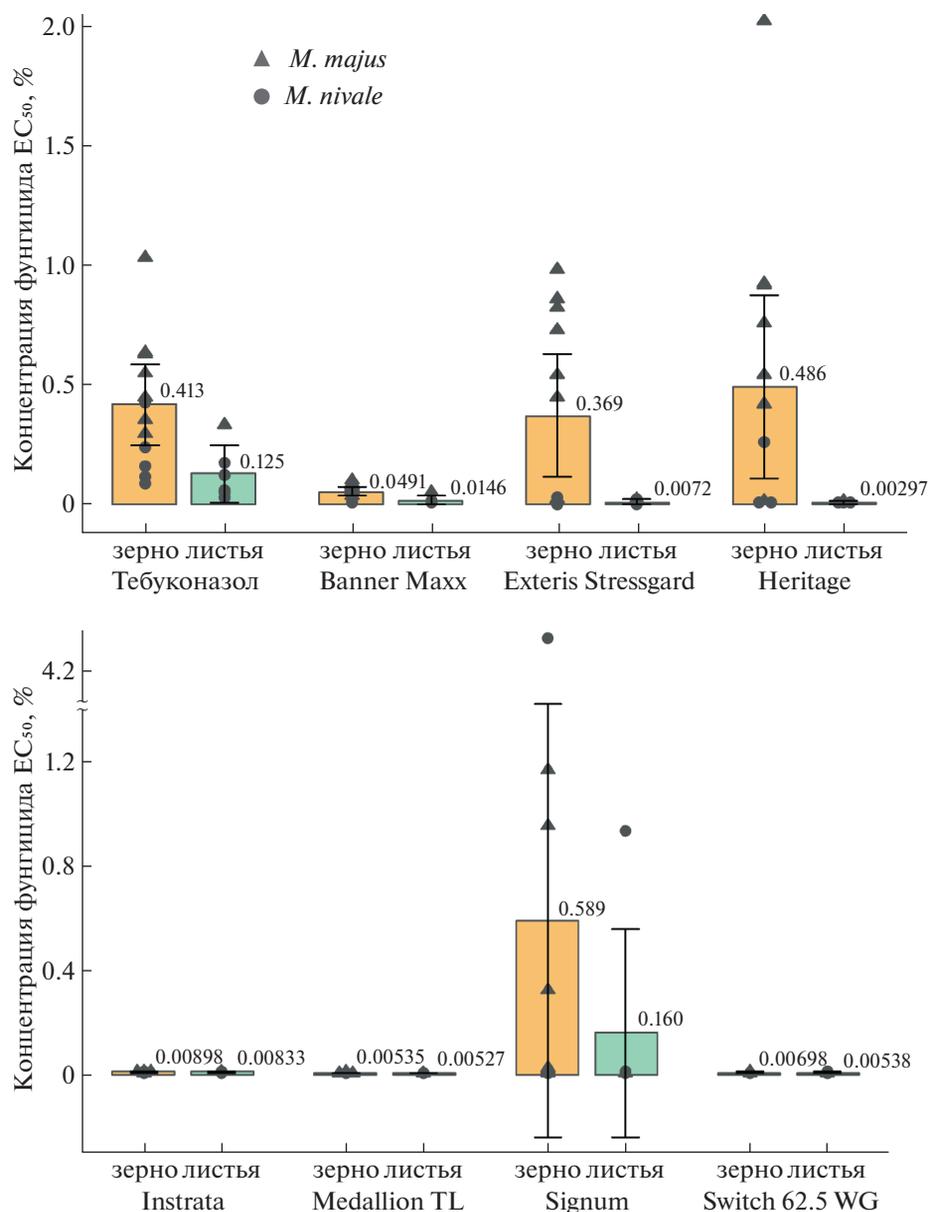


Рис. 2. Чувствительность штаммов грибов *M. majus* и *M. nivale*, выделенных из зерна и листьев, к анализируемым фунгицидам. Столбик и число – среднее для выборки штаммов, интервал – доверительный интервал при $p < 0.05$.

= 0.0215). Штаммы грибов *Microdochium*, выделенные из зерна, в среднем были менее чувствительны к этим фунгицидам по сравнению со штаммами, выделенными из листьев (рис. 2). Остальные 4 препарата такой существенной разницы не показали.

Комплекс видов грибов, обитающих на злаковых травах, может приводить не только к ухудшению внешнего вида растений, но и к снижению качества получаемого урожая семян.

Знание чувствительности различных видов грибов к тому или иному фунгициду чрезвычайно

важно при планировании систем защиты и помогает сформировать принципы стратегии при выборе мер борьбы с возбудителями заболеваний злаковых трав. Результаты нашего исследования позволили установить различное действие 7-ми коммерческих фунгицидов в отношении представителей 3-х видов грибов, широко распространенных представителей микобиоты злаковых трав, а также выявили меж- и внутривидовые различия грибов рода *Microdochium* и *F. culmorum* в чувствительности к разным препаратам.

ВЫВОДЫ

1. Выявлена высокая эффективность подавления роста грибов *M. majus* и *F. culmorum* препаратами, содержащими флудиоксонил, в случае *M. nivale* – препаратами, содержащими стробилурины. Тебуконазол и пропиконазол менее эффективно подавляли рост грибов *Microdochium*, чем *F. culmorum*.

2. Штаммы *M. majus* в среднем были менее чувствительными ко всем анализированным фунгицидам, чем штаммы 2-х других видов грибов. Среди включенных в исследование штаммов *M. majus* 62.5% продемонстрировали резистентность к 1–2-м препаратам, содержащим QoI д.в. (азоксистробин, пиракlostробин). В то же время 45% анализированных штаммов *M. nivale* проявили резистентность к 1–4-м препаратам, содержащим QoI и SBI д.в.

3. Влияния географического происхождения штаммов на их чувствительность к анализированным фунгицидам не выявлено.

4. Штаммы грибов, имеющие различное субстратное происхождение – листья или зерно, достоверно различались чувствительностью к 4-м фунгицидам. Штаммы, выделенные из зерна, оказались менее чувствительными к тебуконазолу и препаратам, содержащим пропиконазол, азоксистробин, а также к смеси трифлуксистробин + флуопирам по сравнению со штаммами грибов, выделенных из листьев растений с симптомами ожога или снежной плесени. Эти д.в. входят в состав протравителей, которые давно и активно используют для обработок семян зерновых культур, что могло привести к снижению чувствительности к ним грибов, обитающих на зерне.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гагкаева Т.Ю., Орина А.С., Гаврилова О.П. Разнообразие грибов рода *Microdochium*, выявленных на зерновых культурах в России // Микол. и фитопатол. 2020. Т. 54. № 5. С. 347–364.
2. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Орина А.С. Хорошая новость – грибы Микродохиум не продуцируют микотоксины! // Защита и карантин раст. 2017. № 5. С. 9–13.
3. Simpson D.R., Rezanoor H.N., Parry D.W., Nicholson P. Evidence for different host preference in *Microdochium nivale* var. *majus* and *Microdochium nivale* var. *nivale* // Plant Pathol. 2000. V. 49. P. 261–268.
4. Ren R., Yang X., Ray R.V. Comparative aggressiveness of *Microdochium nivale* and *M. majus* and evaluation of screening methods for Fusarium seedling blight resistance in wheat cultivars // Eur. J. Plant Pathol. 2015. V. 141. № 2. P. 281–294.
5. Gavrilova O.P., Orina A.S., Kessenikh E.D., Gustyleva L.K., Savelieva E.I., Gogina N.N., Gagkaeva T.Yu. Diversity of physiological and biochemical characters of the *Microdochium* fungi // Chem. Biodivers. 2020. V. 17. e2000294.
6. Scherm B., Balmas V., Spanu F., Pani G., Delogu G., Pasquali M., Migheli Q. *Fusarium culmorum*: causal agent of foot and root rot and head blight on wheat // Mol. Plant Pathol. 2012. V. 14. № 4. P. 323–341.
7. Smiley R.A., Dernoeden P.H., Clarke B.B. Compendium of turfgrass diseases. St. Paul: American Phytopathological Soc., 2005. 167 p.
8. Vincelli P.C., Munshaw G. Chemical control of turfgrass diseases 2015 // Agric. Nat. Resour. Publications. 2014. V. 179. P. 1–23.
9. Espevig T., Usoltseva M., Norman K. Effects of rolling and N-fertilization on dollar spot and *Microdochium* patch on golf greens in Scandinavia // BIO Web Conf. 2020. V. 18. 00008.
10. Hsiang T., Matsumoto N., Millett S.M. Biology and management of *Typhula* snow molds of turfgrass // Plant Dis. 1999. V. 83. № 9. P. 788–798.
11. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. Ч. 1. Пестициды. М.: Минсельхоз РФ, 2020. 808 с.
12. Nicholson P., Lees A.K., Maurin N., Parry D.W., Rezanoor H.N. Development of a PCR assay to identify and quantify *Microdochium nivale* var. *nivale* and *Microdochium nivale* var. *majus* in wheat // Physiol. Mol. Plant Pathol. 1996. V. 48. P. 257–271.
13. Nicholson P., Parry D.W. Development and use of a PCR assay to detect *Rhizoctonia cerealis*, the cause of sharp eyespot in wheat // Plant Pathol. 1996. V. 45. P. 872–883.
14. Doohan F.M., Parry D.W., Jenkinson P., Nicholson P. The use of species-specific PCR-based assays to analyse *Fusarium* ear blight of wheat // Plant Pathol. 1998. V. 47. P. 197–205.
15. Glynn N.C., Ray R., Edwards S.G., Hare M.C., Parry D.W., Barnett C.J., Beck J.J. Quantitative *Fusarium* spp. and *Microdochium* spp. PCR assays to evaluate seed treatments for the control of *Fusarium* seedling blight of wheat // J. Appl. Microbiol. 2007. V. 102. № 6. P. 1645–1653.
16. Glynn N.C., Hare M.C., Edwards S.G. Fungicide seed treatment efficacy against *Microdochium nivale* and *M. majus* *in vitro* and *in vivo* // Pest. Manag. Sci. 2008. V. 64. № 8. P. 793–799.
17. Aamlid T.S., Espevig T., Waalen W.M., Pettersen T. Fungicide for control of *Microdochium nivale* and *Typhula incarnata* // Eur. J. Turfgrass Sci. 2014. V. 45. № 2. P. 105–106.
18. Jonavičienė A., Supronienė S., Semaškienė R. *Microdochium nivale* and *M. majus* as causative agents of seedling blight in spring cereals // Zemdirbyste-Agriculture. 2016. V. 103. № 4. P. 363–368.
19. Jørgensen L.N., Nielsen L.K., Nielsen B.J. Control of seedling blight in winter wheat by seed treatments – impact on emergence, crop stand, yield and deoxynivalenol // Acta Agric. Scand. B Soil. Plant Sci. 2012. V. 62. № 5. P. 431–440.
20. Nicholson P., Turner J.A., Jenkinson P., Jennings P., Stonehouse J., Nuttall M., Dring D., Weston G., Thomsett

- M.* Maximising control with fungicides of *Fusarium* ear blight (FEB) in order to reduce toxin contamination of wheat. Project Report No. 297. HGSA, 2003. 85 p.
21. Tvarůžek L., Kraus P., Hrabalová H. Sensitivity behaviour of *Microdochium nivale* isolates to some DMI-fungicide commonly used in the Czech Republic // Plant Protect. Sci. 2000. V. 36. P. 7–10.
 22. Ioos R., Belhadj A., Menez M., Faure A. The effects of fungicides on *Fusarium* spp. and *Microdochium nivale* and their associated trichothecene mycotoxins in French naturally-infected cereal grains // Crop Protect. 2005. V. 24. № 10. P. 894–902.
 23. Aamlid T.S., Waalen W.M., Espevig T. Fungicide strategies for the control of turfgrass winter diseases // Acta Agric. Scand. B Soil. Plant Sci. 2014. V. 65. № 2. P. 161–169.
 24. Hellin P., Scauflaire J., VanHese V., Munaut F., Legrève A. Sensitivity of *Fusarium culmorum* to triazoles: impact of trichothecene chemotypes, oxidative stress response and genetic diversity // Pest. Manag. Sci. 2016. V. 73. P. 1244–1252.
 25. Fungicide Resistance Action Committee, FRAC. 2020. <https://www.frac.info/knowledge-database/downloads>
 26. Tanaka F., Saito I., Miyajima K., Tsuchiya S., Tsuboki K. Occurrence of thiophanate methyl tolerant isolates of *Fusarium nivale* synonymy *Gerlachia nivalis* a causal fungus of snow mold of winter wheat in Japan // Ann. Phytopathol. Soc. Japan. 1983. V. 49. P. 565–566.
 27. Chastagner G., Vassey W. Occurrence of iprodione-tolerant *Fusarium nivale* under field conditions // Plant Dis. 1982. V. 66. P. 112–114.
 28. Pennucci A., Beever R., Laracy E. Dicarboximide-resistant strains of *Microdochium nivale* in New Zealand // Austral. Plant Pathol. 1990. V. 19. P. 38–41.
 29. Gourlie R. Resistance to fungicides in the plant pathogen *Microdochium nivale*: A Thesis of master of science in environmental sciences. Guelph: The University of Guelph, 2018. 201 p.
 30. Walker A.S., Auclair C., Gredt M., Leroux P. First occurrence of resistance to strobilurin fungicides in *Microdochium nivale* and *Microdochium majus* from French naturally infected wheat grains // Pest. Manag. Sci. 2009. V. 65. № 8. P. 906–915.
 31. Cristani C., Gambogi P. Laboratory isolation of *Microdochium (Fusarium) nivale* mutants showing reduced sensitivity to sterol biosynthesis inhibitors // Rivista di Patologia Vegetale. 1993. V. 3. P. 49–57.

Effect of Fungicides on the Growth of Fungi Causing Snow Mold of Cereals

A. S. Orina^{a, #}, T. Yu. Gagkaeva^a, O. P. Gavrilova^a, and M. Usoltseva^b

^a All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR)
sh. Podbelskogo 3, St. Petersburg–Pushkin 196608, Russia

^b Botanisk Analysgrupp
Carl Skottbergs gata 22B, Göteborg 41319, Sweden

[#] E-mail: orina-alex@yandex.ru

The sensitivity of 22 *Microdochium majus*, *M. nivale* and *F. culmorum* strains to eight fungicides was evaluated. The inhibition of fungal growth was analyzed when strains were cultivated on potato dextrose agar containing different concentrations of active substances. High and similar sensitivity to tebuconazole and propiconazole of *F. culmorum* and *M. nivale* strains was revealed. The susceptibility of *M. nivale* to fungicides containing strobilurins is higher than that of *F. culmorum* or *M. majus*. Fludioxonil inhibits the growth of *F. culmorum* better than that of *Microdochium* fungi. On average *M. majus* strains were less sensitive to all analyzed fungicides than *M. nivale* and *F. culmorum* strains. Most of analyzed *M. majus* strains (62.5%) demonstrated resistance to 1–2 fungicides containing strobilurins. At the same time 45% of the analyzed *M. nivale* strains turned out to be resistant to 1–4 fungicide containing strobilurins or triazoles. The *Microdochium* strains isolated from grain were significantly less sensitive to SBI and two QoI fungicides than the strains isolated from infected plant leaves. The geographic origin of the fungal strains did not affect their susceptibility to fungicides.

Key words: *Microdochium majus*, *Microdochium nivale*, fungicides, efficiency, resistance.