

УДК 633.11: 632.934.1: 632.485.2

UDC 633.11: 632.934.1: 632.485.2

ВОЗДЕЙСТВИЕ ФУНГИЦИДОВ РАЗНЫХ ХИМИЧЕСКИХ КЛАССОВ НА ГЕНОФОНД ВИРУЛЕНТНОСТИ СЕВЕРОКАВКАЗСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ (ВОЗБУДИТЕЛЬ *Puccinia triticina* Eriks.) НА ЮГЕ РОССИИ

THE EFFECT OF FUNGICIDES FROM DIFFERENT CHEMICAL CLASSES ON THE VIRULENCE GENEPOOL OF WHEAT BROWN RUST NORTH CAUCASIAN POPULATION (PATHOGEN - *Puccinia triticina* Eriks.) IN THE SOUTH OF RUSSIA

Кольбин Дмитрий Александрович
аспирант

Kolbin Dmitriy Alexandrovich
postgraduate student

Волкова Галина Владимировна
д.б.н.
Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений, г. Краснодар, Россия

Volkova Galina Vladimirovna
Dr. Sci. Biol.
All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection, Krasnodar, Russia

Изучено влияние комбинированного фунгицида рекса дуо, кс (310+87 г/л) на структуру популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы на Северном Кавказе. Проведена сравнительная оценка влияния однокомпонентных препаратов различных классов на популяцию патогена

The article has covered the influence of the combined fungicide rex duo, suspension concentrate (310+87 g/l) on the population structure of wheat brown rust pathogen in the North Caucasus. The comparative assessment of effect of single-component preparations from different classes on the pathogen population was performed out

Ключевые слова: ФУНГИЦИД, ПОПУЛЯЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ, ГЕНЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ

Keywords: FUNGICIDE, BROWN RUST POPULATION, VIRULENCE GENES

Основной отраслью растениеводства Краснодарского края является производство зерна. Озимая пшеница – ведущая культура и занимает более 1 млн. га (около 30% пашни). Такое широкое распространение объясняется высокой питательностью и возможностью разностороннего использования и переработки пшеницы [1]. При внедрении интенсивных технологий возделывания, как пшеницы, так и зерновых культур в целом, из-за микроклимата в посевах резко возрастает вредоносность листостебельных патогенов [2,3].

Селекция на устойчивость к болезням сталкивается со сложным характером взаимодействия двух биологических систем — растения-хозяина и патогена. Поэтому для успешной селекции на иммунитет необходимо знание генетического состава популяции патогена. В первую очередь это относится к таким пластичным патогенам, как бурая ржавчина пшеницы

[4]. Бурая ржавчина наносит большой вред посевам озимой пшеницы. По данным сотрудников Всероссийского НИИ защиты растений, в центрально-черноземной зоне частота эпифитотийных вспышек этого заболевания составляет 4-5 раз в течении 10 лет, что при раннем поражении приводит к существенному недобору урожая зерна [5].

Для борьбы с бурой ржавчиной пшеницы предлагается ряд фунгицидов системного действия. К их числу относятся такие препараты как рекс с, альто, тилт и т. д. Однако широкое применение пестицидов приводит к изменению устойчивости к ним вредных организмов. Сегодня резистентность выступает как фактор, масштабно дестабилизирующий фитосанитарную обстановку агроэкосистем. Резистентность к фунгицидам разных классов зарегистрирована в популяции 220 видов патогенов [6]. Для сравнения 10 лет назад эта цифра была вдвое меньше, что свидетельствует о прогрессирующем развитии устойчивости возбудителей болезней к пестицидам. Как правило, наибольшее число резистентных форм регистрируется в регионе, где широко применяются фунгициды. Северный Кавказ является зоной активного применения пестицидов. Только на Кубани ежегодно против ржавчинных заболеваний на пшенице обрабатывается порядка 700 тысяч га [7]. С появлением резистентности возможно изменение частот генотипов в популяции грибов, обусловленное их сцеплением с чувствительностью к фунгицидам [8].

В последние годы достаточно большой объем обработок зерновых культур проводится комбинированными препаратами, состоящими из двух и более действующих веществ, такими как альто супер, рекс дуо, фалькон и др. Они обладают широким спектром фунгицидной активности и длительным периодом защитного действия [9]. Контроль за чувствительностью популяции возбудителя болезни к используемым на значительной площади пестицидов - один из основных направлений в иммунологических исследованиях [10].

В связи с этим целью наших исследований стало определение влияния применяемого для защиты посевов пшеницы фунгицида рекс дуо, кс (310+87 г/л) на генофонд вирулентности популяции возбудителя бурой ржавчины.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Действие фунгицида рекс дуо изучали при развитии популяции фитопатогена на взрослых растениях восприимчивого к возбудителю бурой ржавчины сорта озимой пшеницы Краснодарская 99. Весной брали монолиты с растениями в поле, которые затем выращивали в теплице. Инокуляцию проводили популяцией гриба в фазе колошения. При появлении первых признаков болезни проводили обработку растений фунгицидом рекс дуо, кс в норме расхода 0,5 л/га. Контрольные растения опрыскивали водой. На обработанных фунгицидом растениях болезнь проявилась пустулами с типом реакции 0; 1 балл. Собранный биоматериал размножали на восприимчивом сорте по общепринятой методике [11].

С целью обеспечения лучших условий прорастания урединиоспор и проникновения возбудителя в ткани растения-хозяина инокулированные растения помещали во влажную камеру на 24 часа. Оптимальной температурой для развития бурой ржавчины является 18-22 °С с продолжительностью светового дня не более 16 ч. Латентный период болезни составлял от 10 до 14 дней (в зависимости от условий). Собирали споры днем, когда они несколько подсушены. Технически это осуществлялось путем легкого встряхивания урединиоспор в пробирки.

При получении биоматериала в достаточном количестве определяли вирулентность образцов урединиоспор по реакции 38 близкоизогенных линий сорта *Thatcher* с известными генами устойчивости. Для этого растения пшеницы выращивали в 25 мл вазончиках, набитых песком, на гидропонике с применением питательного раствора Кнопа (маточного) - на 1 л воды: 100 г азотнокислого кальция, 25 г фосфорного калия, 25 г серно-

кислого магния, 12,5 г хлористого калия, 0,1 г хлорного железа. При поливе растений 100 мл маточного раствора разбавляли в 10 л воды [12]. Инокуляцию растений проводили смесью урединоспор со спорами ликоподия в соотношении 1:400 [13]. Частоты генов вирулентности рассчитывали вероятностным методом по отношению числа пустул с типом реакции 3-4 балла на линиях с известными генами устойчивости к числу пустул на универсально восприимчивом сорте *Michigan Amber* [14]. Среднюю вирулентность определяли по Мартенсу [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования по изучению влияния пестицидов на генофонд вирулентности возбудителя бурой ржавчины пшеницы впервые начаты во ВНИИБЗР в 1990 году Т.П. Алексеевой [16] и продолжены Г.В. Волковой [17,18]. За эти годы испытания прошли самые различные препараты для защиты растений. Так препарат рекс с, кс (125г/л), относящийся к классу триазолов, содержит в своем составе эпоксиконазол, а фундазол, сп (500 г/кг), представитель класса бензимидазолов, беномил. Интересным представляется изучение действия комбинированного фунгицида рекс дуо, который содержит в своем составе два действующих вещества: эпоксиконазол (класс триазолы) и тиофанат-метил (класс бензимидазолы). Эпоксиконазол блокирует образование эргостерина в клетках гриба, что ведет к гибели патогена. Тиофанат-метил нарушает нормальное деление ядра клетки, подавляет образование ростковых трубок при прорастании спор и конидий [19]. Результаты изучения влияния фунгицида рекс дуо на генетическую структуру северокавказской популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Частота изолятов с генами вирулентности (pp) в северокавказской популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы под воздействием комбинированного фунгицида рекс дуо, кс (310+187 г/л)

(камера искусственного климата, 2009 г.)

Линии с генами Lr	Частота изолятов (%) в образцах урединиоспор	
	без обработки фунгицидом	после обработки рекс дуо
1	2	3
1	23	17
2a	10	28
2c	53	65
3	49	49
3ka	19	23
3bg	40	10
9	0	0
10	30	28
11	60	60
14a	35	36
14b	52	60
15	12	0
16	43	60
17	13	11
18	48	22
19	0	0
20	13	0
21	16	0
23	28	5
24	0	0
25	3	0
26	62	61
28	35	15
29	1	0
30	50	53
32	0	0
33	42	17
36	6	0
38	0	0
39	0	0
40	58	52
1	2	3
41	0	0
42	0	0
43+24	0	0
44	25	18
45	0	0
52(W)	0	0
B	45	38
Средняя вирулентность, %	22,9	19,1

Полученные данные показывают, что применение фунгицида сопровождалось элиминацией изолятов, вирулентных к Lr15, Lr20, Lr21, Lr25,

Lr29, Lr36 и снижением частоты встречаемости генов р3bg, р18, р23, р28, р33. Средняя вирулентность популяции под влиянием фунгицида снижалась от 22,9 % до 19,1 %.

Мы провели сравнительную оценку действия одно- и двухкомпонентных препаратов на популяцию патогена (таблица 2). Рекс дуо, как двухкомпонентный препарат, должен обладать свойствами и триазолов, и бензимидазолов, а его влияние на популяцию возбудителя бурой ржавчины должно складываться из действия однокомпонентных фунгицидов. Анализ данных позволил установить, что рекс дуо, кс подобно рексу с, кс способствовал снижению в популяции патогена изолятов, вирулентных к Lr33 и увеличению частоты встречаемости изолятов, вирулентных Lr3ка. Подобно фундазолу, сп рекс дуо, кс способствовал увеличению в популяции патогена изолятов с геном р16. Все три фунгицида одинаково действовали на изоляты с геном вирулентности р20, вызывая их элиминацию.

Таблица 2 – Направление отбора по вирулентности в северокавказской популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы под воздействием фунгицидов различных химических классов (2005, 2006, 2009 гг.)

Препарат	Гены вирулентности, pp																		
	1	2a	2c	3	3ka	3bg	9	10	11	14a	14b	15	16	17	18	19	20	21	23
Фундазол, сп (500 г/кг)	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Рекс с, кс (125 г/л)	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Рекс дуо, кс (310+187 г/л)	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Препарат	Гены вирулентности, pp																		
	24	25	26	28	29	30	32	33	36	38	39	40	41	42	43	44	45	52	В
Фундазол, сп (500 г/кг)	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Рекс с, кс (125 г/л)	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Рекс дуо, кс (310+187 г/л)	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

Обозначения:

-  Без изменений
-  Увеличение
-  Снижение
-  Элиминация

Однако фунгициды имели и различное действие на ряд генов вирулентности. Так, рекс дуо, кс и фундазол, сп по-разному влияли на отбор генов pp: 1, 2a, 2c, 3ka, 3bg, 10, 11, 14b, 15, 17, 18, 21, 23, 25, 26, 28, 29, 33, 36, B; а рекс дуо, кс и рекс с, кс - на гены pp: 2a, 2c, 3bg, 15, 16, 18, 21, 23, 26, 28, 29, 36, 39, 40. Возможно такие различия можно объяснить различным количеством действующего вещества. Так, фундазол, сп содержит 500 г/кг бенонила, а рекс дуо, кс – только 187 г/л тиофанат-метила; рекс с, кс содержит 125 г/л эпоксиконазола, а рекс дуо, кс – 310 г/л эпоксиконазола.

По-разному фунгициды действовали на изоляты, вирулентные к Lr23. При контакте с 500 г/кг бенонила происходило увеличение частоты гена p23 в популяции. Воздействие 125 г/л эпоксиконазола вызывало их элиминацию. А комплексное действие различных по направлению отбора веществ вызвало снижение частоты изолятов с этим геном. Вероятно, эффект от применения 310 г/л эпоксиконазола сильнее, чем от 187 г/л тиофанат-метила.

Еще одно предположение можно сделать, сославшись на работы сотрудников кафедры микологии и альгологии МГУ им. М.В. Ломоносова [20], которые изучали влияние фунгицидов на структуру популяции *Phytophthora infestans*. Ими установлено, что популяция, подвергнутая обработке системным фунгицидом, будет состоять из двух групп штаммов *P. infestans*: не контактировавшие с фунгицидом, и поэтому не изменившие первоначальных признаков, и штаммов, контактировавших с

сублетальными концентрациями фунгицида. Возможно, и в популяции бурой ржавчины под влиянием обработки системными фунгицидами формировалось подобные две группы изолятов: контактировавшие и не контактировавшие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты по влиянию комбинированного фунгицида рекс дуо, кс (310+87 г/л) на структуру популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia triticina* имеют как важное теоретическое значение в плане познания микроэволюционных процессов, происходящих в популяции гриба под действием фунгицидов, так и большую практическую ценность. Проведенные исследования позволяют прогнозировать изменения в генофонде вирулентности популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы под действием фунгицида и могут быть использованы для учреждающей селекции устойчивых сортов и их территориальном размещении.

Благодарность. Сотрудникам лаборатории иммунитета зерновых культур к грибным болезням к.б.н. Алексеевой Т.П. и Добрянской М.В. за помощь в проведении исследований.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Губанов Я.В., Иванов И.И. Озимая пшеница. / М.: Агропромиздат, 1988. – 303 с.
2. Горленко М. В., Рубин. Б. А. Иммуитет растений // Защита и карантин растений, 2001. - №8. - С. 16-19.
3. Лебедев В.Б. Ржавчина пшеницы // Саратовский государственный аграрный университет. 1998. - С. 295.
4. Маркелова Т.С. Изучение структуры и изменчивости популяции бурой ржавчины пшеницы в Поволжье. // АГРОХХІ. – 2007. № 4–6. – С. 4-8.
5. Попова О.В. Эффективность отечественных фунгицидов на озимой пшенице и ячмене // Защита и карантин растений, 2009. - №1. - С. 29.
6. Волкова Г. В. Изучение резистентности возбудителя ржавчины пшеницы к триазольным фунгицидам // Современное состояние проблемы ре-

- зистентности вредителей, возбудителей болезней и сорняков к пестицидам в России и сопредельных странах на рубеже XXI века: Материалы девятого совещания / ВНИИБЗР, РАСХН, С-Пб.- 2000 – С. 66-67.
7. Санин С.С. Защита пшеницы от бурой ржавчины. // Приложение к журналу защита и карантин растений. – 2007 - №11. – С. 64-65.
 8. Дьяков Ю. Т. Популяционная биология фитопатогенных грибов. // М. Издательский дом «Муравей», 1998. – 381 с.
 9. Юсупов Д.А., Лебедев В.Б., Кудинова А.М. Фунгициды фирмы БАСФ для защиты озимой пшеницы // Защита и карантин растений - 2008 - №7. – С. 43.
 10. Волкова Г.В. Структура и изменчивость популяций возбудителей бурой и желтой ржавчины пшеницы на Северном Кавказе и обоснование приемов управления внутривидовыми процессами. Автореф. дис. на соиск. науч ст. д.б.н. – Спб. – 2006. – 40 с.
 11. Шопина В. В. Определение рас бурой, стеблевой и желтой ржавчины пшеницы. (Методическое пособие для селек.-опытн. учреждений), Л. – 1967.- С. 1-47.
 12. Смирнова Л.А., Алексеева Т.П. Усовершенствованный метод выращивания всходов зерновых культур для иммунологических исследований // Селекция и семеноводство, 1988. - №4. - С.25-27.
 13. Parlevliet I. E., Variation for latent period one of the component of partial resistance in barley to yellow rust by *P. striiformis*. // Cereal rust. Rull., 1980. – 81. – v.8. – PP. 2-17.
 14. Wolfe M. S., Schwarzbach E. The use of virulence analysis in cereal mildews // Phytopath. Ztschr. – 1975. – 82. - 4: PP. 297-307.
 15. Михайлова Л.А., Гуляева Е.И., Мироненко Н.В. (2003) Методы исследования структуры популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f.sp. *tritici* // Иммуногенетические методы создания устойчивых к вредным организмам сортов. (Методические рекомендации). СПб: ВИЗР. - 26 с.
 16. Алексеева Т.П., Павлова Т.В., Измалкова А.Г. Влияние тилта на структуру популяции бурой ржавчины // Защита и карантин растений. – 1990. - №9. – С.18-19.
 17. Волкова Г. В., Алексеева Т. П. Динамика генотипов в популяции ржавчины грибов под влиянием фунгицидов / Современная микология в России: Материалы первого съезда микологов. – М. – 2002. -№1. –С. 247.
 18. Волкова Г. В., Алексеева. Т. П. Влияние пестицидной защиты посевов пшеницы на состояние вирулентности ржавчинных грибов // Материалы первой всероссийской конференции по иммунитету растений к болезням и вредителям. Научные материалы. – С.-Пб.- 2002-С.75-76.
 19. Тютюрев С.Л. Механизмы действия фунгицидов на фитопатогенные грибы. СПб. ИПК «Нива» - 2010 – 172 с.

20. Еланский С.Н., Смирнов А.Н., Кузнецов С.А., Апрышко В.П., Дьяков Ю.Т. Возможные причины изменения структуры популяций *Phytophthora infestans* в европейской части России на рубеже 20-21 веков// Материалы международной научной конференции "Биология, систематика и экология грибов в природных экосистемах и агрофитоценозах". Минск. – 2004. - С. 96- 100.