

Мамиев Мухиддин Саламович

к.б.н., профессор кафедры Биотехнологии
Ташкентский государственный аграрный университет
Mamiev Mukhiddin Salomovich
Candidate of Biological Sciences,
Professor of the Department of Biotechnology
Tashkent State Agrarian University

Жуманазаров Гайрат Хусан угли

к.с.-х.н., доцент кафедры Биотехнологии
Ташкентский государственный аграрный университет
Jumanazarov G'ayrat Khusanovich
Candidate of Agricultural Sciences,
Associate Professor of the Department of Biotechnology
Tashkent State Agrarian University

Хамдамова Захрохон Оловуддин кизи, магистрант

Ташкентский государственный аграрный университет
Khamdamova Zakhrokhon Olovuddin qizi, Master Student
Tashkent State Agrarian University

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ФУНГИЦИДОВ ПРОТИВ BOTRYTIS CINEREA В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ EVALUATION OF THE ACTIVITY OF FUNGICIDES AGAINST BOTRYTIS CINEREA UNDER LABORATORY CONDITIONS

Аннотация. Томат, перец, виноград и другие сельскохозяйственные культуры значительно повреждаются серой гнилью. В статье приведены данные по изучению действия различных фунгицидов на изоляты возбудителя серой гнили в условиях *in vitro*, т.е. в искусственных питательных средах, на гриб *Botrytis cinerea*, выделенных из различных пораженных органов растений томата (листья, стебли, плоды). Использовали фунгициды с действующими веществами: дифеноконазол и ципродинил. Определяли устойчивость грибных изолятов *B.cinerea* с учетом их роста и развития на питательных средах, в которые были добавлены различные концентрации фунгицидов. Согласно полученным результатам эксперименты показали, что естественная популяция гриба *B.cinerea* содержит изоляты, устойчивые к фунгицидам в той или иной степени. Фунгициды с действующее вещество – дифеноконазол, Дифен супер, 55% с.п. в концентрации 0,08% и Скор 250 г/л к.э. при концентрациях фунгицида 0,05% и 0,07% устойчивые изоляты не были зарегистрированы, с действующим веществом ципродинил – Хорус, 750 г / кг в концентрациях 0,07 и 0,13% показали высокую устойчивость к фунгицидам.

Abstract. Tomato, pepper, grape, and other agricultural crops are significantly damaged by gray mold. The article presents data on the study of the effects of various fungicides on isolates of the gray mold pathogen under *in vitro* conditions, i.e., in artificial nutrient media, on the fungus *Botrytis cinerea* isolated from different infected organs of tomato plants (leaves, stems, fruits). Fungicides with the active ingredients difenoconazole and cyprodinil were used. The resistance of *B. cinerea* fungal isolates was determined based on their growth and development on nutrient media supplemented with different concentrations of fungicides. According to the obtained results, the experiments showed that the natural population of *B. cinerea* includes isolates with varying degrees of resistance to fungicides. Fungicides with the active ingredient difenoconazole – Difen Super, 55% WP at a concentration of 0.08%, and Skor 250 g/L EC at concentrations of 0.05% and 0.07% – showed no resistant isolates. In contrast, the fungicide with the active ingredient cyprodinil -- Chorus, 750 g/kg – at concentrations of 0.07% and 0.13% demonstrated a high level of resistance to fungicides.



Ключевые слова: In vitro, *Botrytis cinerea*, фунгицид, эффективность, серая гниль, томат

Keywords: In vitro, *Botrytis cinerea*, fungicide, efficacy, gray mold, tomato.

Томаты, как и другие сельскохозяйственные культуры, подвержены ряду болезней, вызываемых вирусами, бактериями и грибами во время роста и хранения, и эти болезни снижают их урожай, а также их качество. Эти болезни томатов поражают все их органы в течение вегетационного периода, в том числе известны болезни рассады, фузариозное увядание, вертициллезное увядание, фитофтороз, бурая пятнистость листьев (кладоспориоз), альтернариоз, серая гниль, вирусные заболевания, неинфекционные заболевания, а также заболевания вызываемые нематодами. В числе этих болезней в условиях теплиц значительный ущерб наносит *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. возбудитель болезни – серая гниль [1, 8, 19].

Botrytis cinerea Pers.: Fr. является одним из основных возбудителей болезней винограда и тепличных культур, вызывающим серую гниль. Патоген повреждает листья, стебли, цветы и плоды тепличных культур, нанося значительный ущерб урожайности и качеству продукции [12, 13].

Томаты, выращенные в неотапливаемых теплицах, повреждают цветы, плоды и листья, а затем переходят на стебли [14, 28]. В отапливаемых теплицах повреждение томатов серой гнилью в основном ограничивается повреждением стебля. Длина стеблей томатов, выращиваемых в теплицах, достигает 20-30 метров, а листья и боковые ветви вокруг плодов, выращенных на этих стеблях, обрезаются. В отапливаемых теплицах *B.cinerea* в основном попадает раны на стебле этого растения, поражая стебель и вызывая гибель растения. В некоторых случаях инфекция в стебле может находиться в неактивном состоянии до 12 недель, то есть может не проявляться [16, 17].

Химические меры борьбы с серой гнилью сельскохозяйственных культур остаются основным способом снижения ущерба от болезней. В большинстве случаев обрабатывают фунгицидами поверхностные части растения. Фунгициды, применяемые против серой гнили, используют в концентрациях 0,4-0,5 кг на гектар (например, беномил, флудиоксонил, пириметанил), до 2-3 кг у препаратов – манеб, тирам, дихлофлуанид. Количество обработок в течение всего вегетационного периода может составлять от 1-2 до 10 раз. Семена или луковицы также обрабатывают протравителями [13, 22].

Применение химических мер борьбы с серой гнилью определяет появление устойчивости *Botrytis* ко многим фунгицидам и проявление негативных мнений о безопасности пестицидов. В результате в некоторых странах существуют ограничения на использование новых и рекомендованных пестицидов [15].

Были проведены многочисленные исследования устойчивости изолятов *B.cinerea* к фунгицидам. В Израиле изучалась фунгицидная устойчивость изолятов *B.cinerea*, выделенных из базилика душистого, винограда и томатов [20, 21, 26]. Появление устойчивых к фунгицидам штаммов в разных странах неодинаково. Появление изолятов гриба *B.cinerea*, устойчивого к дикарбоксимам, было обнаружено через три года после применения этих фунгицидов в Великобритании [29], а в Японии штаммы, устойчивые к беномилу, также были обнаружены на полях, где эти фунгициды не использовались [10]. В Венгрии появление устойчивых изолятов *B.cinerea* к бензимидазолам происходило медленнее, чем во Франции, и такая ситуация почти не наблюдалась в регионах, где применялся дикарбоксимид [18]. В канадской провинции Онтарио встречаемость устойчивых изолятов *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. на виноградниках и полях, где бензимидазолы применялись против патогена *B.cinerea*, была намного ниже, чем в Европе [27].

В Германии фунгицид ботрицид на основе дикарбоксима применялся на виноградниках с 1978 года, а с 1979 наблюдались устойчивые изоляты. Встречаемость устойчивых к фунгицидам изолятов различалась в разных регионах [23, 24]. Эффективность полевого применения фунгицидов ронилана, роврала и проксимицина неуклонно снижается с 1981 г [11].



В Италии устойчивые изоляты гриба *B.cinerea* появляются медленно. Однако сообщалось о наличии устойчивых к патогенам изолятов в теплицах и виноградниках в отношении препаратов, активными ингредиентами которых являются дикарбоксимид и бензимидазол.

Изоляты гриба *B.cinerea*, выделенные из разных регионов Англии, показали разную степень устойчивости к различным концентрациям ипродиона и беномила. Было обнаружено, что штаммы *B.cinerea*, выделенные из различных теплиц в Нидерландах, имеют устойчивые формы в диапазоне от 0 до 100% относительно беномила. Было отмечено, что устойчивые к беномилу изоляты *B.cinerea* устойчивы к фунгицидам, активным ингредиентом которых является бензимидазол.

Многие системные фунгициды инактивируются грибными ферментами [5]. Под влиянием мутаций фунгициды не действуют на них. Таким образом, было обнаружено, что устойчивость к патогенам к системным фунгицидам увеличивается из-за изменений метаболитов в грибной клетке.

На основании анализа вышеуказанных научных публикаций можно указать, что виды *Botrytis* показали разную устойчивость к разным фунгицидам. Специальные исследования по изучению эффективности фунгицидов против серой гнили и их устойчивости ранее в Узбекистане не проводилось. В связи с чем, было протестировано несколько фунгицидов против серой гнили томатов.

Научно-исследовательская работа по изучению серой гнили томатов проводилась в 2018-2019 годах на посевах томатов, выращиваемых в теплицах ГУП (государственное унитарное предприятие) «Центр инновационных разработок и консультирования в сельском хозяйстве» при Ташкентском государственном аграрном университете и ООО (общество с ограниченной ответственностью) «Fresh rose» Уртачирчикского района Ташкентской области. Эксперименты по определению эффективности фунгицидов и лабораторному изучению заболевания проводились в лаборатории кафедры агробиотехнологии Ташкентского государственного аграрного университета.

Для выделения чистой культуры грибов, вызывающих серую гниль и дальнейших исследований использовали картофельный агар с глюкозой и питательную среду Чапека. Изоляты *B.cinerea*, выделенные из цветов, плодов и стеблей томата, использовали для тестирования в условиях *in vitro* [2, 3, 6, 9].

Различные концентрации фунгицидов в питательных средах против изолятов *B.cinerea*, в частности: Дифен супер, 55% с.п. (200 г/кг, д.в.- дифеноконазола), Скор, 250 г/л к.э. (250 г/л дифеноконазола) и Хорус, 750 г/кг, в.д.г. (750 г/кг, ципродинила) были испытаны в лаборатории в условиях *in vitro*.

Для проведения опытов по выявлению возможности применения различных концентраций фунгицидов взятых для эксперимента, фунгициды добавляли в питательную среду перед заливкой среды КГА в стерильные чашки Петри. В ламинарном боксе в стерильных условиях на них высевали изоляты *B.cinerea*, выделенных из различных органов растения томата. После затвердевания агаризованной среды чашки Петри, в которых были посеянные изоляты, помещали в термостат при 24-26° С, а выявление и учет роста грибов на поверхности питательной среды проводили на 3, 5 и 7 сутки.

Степень устойчивости изолятов *B.cinerea*, выделенных из разных пораженных органов (органов) томатов, определяли путем сравнения опытных и контрольных вариантов. В экспериментальных вариантах с использованием фунгицидов диаметр роста колоний изолятов *B.cinerea*, выращенных на поверхности питательной среды, сравнивали с контрольным вариантом.

Возбудитель серой гнили *B.cinerea* поражает все поверхностные органы томатов. При выделении *B.cinerea* использовали растения томатов выращенных в теплице ГУП «Центр инновационного развития и консультирования в сельском хозяйстве» (ГУП) Ташкентского государственного аграрного университета. Учет влияния фунгицидов на рост и развитие колоний грибных изолятов *B.cinerea* проводили на 3, 5 и 7 сутки.



В экспериментах устойчивость штаммов *B.cinerea*, выделенных из различных органов томата, к фунгицидам варьировала. При этом наблюдалось, что в варианте Ногус, 750 г/кг в.д.г. (ципродинил) изоляты *B.cinerea* оказались устойчивым к фунгициду. Изоляты, выделенные из стеблей томатов при концентрации фунгицида 0,07% составили 29,6%, изоляты из листьев – 20,4% и изоляты, изолированные из плодов, оказались устойчивыми на 18,8%, соответственно. В варианте, в котором использовалась 0,13% концентрация фунгицида Ногус, 750 г/кг в.д.г., этот показатель составлял 17,5%, 12,5%, 11,3% соответственно, и среди штаммов, выделенных из цветка, устойчивости не наблюдалось (таблица 1). При изучении влияния концентраций фунгицида 0,07% и 0,13% в среде Хорус, 750 г/кг в.д.г., отмечено, что в концентрации 0,07% диаметр колоний, образовавшихся в 29 из 32 изолятов на 7 день не превышал 1-34 мм в диаметре.

Таблица

**Устойчивость штаммов *Botrytis cinerea* выделенных
из растения томата, к фунгицидам**

№	Фунгициды	Концентрация фунгицидов, %	Изоляты, выделенные из инфицированных органов растений томата	Устойчивость изолятов, %
1	Дифен супер, 55% с.п.	0,07	листья	1.3
			бутоны	1.4
			плоды	1.1
		0,08	листья	0
			бутоны	0
			плоды	0
2	Скор, 250 г/л к.э.	0,05	листья	0
			бутоны	0
			плоды	0
		0,07	листья	0
			бутоны	0
			плоды	0
3	Хорус, 750 г/кг в.д.г.	0,07	листья	20.4
			бутоны	29.6
			плоды	18.8
		0,13	листья	12.5
			бутоны	17.5
			плоды	11.3

В вариантах опыта с фунгицидом Дифен супер, 55% с.п. изоляты устойчивые к этому препарату, наблюдались в варианте с концентрацией фунгицида 0,07%, что составляет 1,4% среди штаммов, выделенных из стебля, 1,3% из листьев и 1,1% из плодов (таблица). Так, под действием 0,07% -ной концентрации фунгицида Дифен супер, 55% с.п. только три изолята образовали колонию размером 1-3 мм в питательной среде. Рост грибных штаммов не наблюдался ни в одном из вариантов экспериментов, к которым добавляли 0,08% концентрацию этого фунгицида.

Было обнаружено, что все изоляты патогена, выделенные из цветов были устойчивы к фунгициду Дифен супер, 55% с.п. в вариантах с концентрациями фунгицида и при концентрациях фунгицида Скор, 250 г/л – 0,05% и 0,07% не было отмечено резистентных изолятов, рост мицелия в питательной среде не наблюдался.



В контрольном варианте, в котором фунгициды не применялись, диаметр колоний, которые образовали все тестируемые изоляты, достигал в среднем 60 мм за 7 дней.

На основании данных, полученных в результате экспериментов, можно сделать вывод, что естественная популяция гриба вида *B.cinerea* содержит изоляты, устойчивые к фунгицидам в той или иной степени.

Для фунгицида Дифен супер, 55% с.п. где действующее вещество- дифеноконазол, при концентрации фунгицида 0,08% и Скор 250 г / л к.э. с концентрацией 0,05% и 0,07% резистентных изолятов не отмечено.

В случае с фунгицидом Хорус, 750 г/кг в.д.г. с действующим веществом – ципродинил, в концентрациях 0,07 и 0,13% наличие грибных изолятов *B.cinerea*, показали высокую устойчивость к фунгицидам Это, в свою очередь, предполагает, что гриб *B.cinerea* более устойчив к ципродинилу по сравнению с фунгицидами с действующим веществом дифеноконазол.

Список литературы:

1. Ахатов, А.К., Джалилов Ф.С., Белошапкина О.О. Защита растений от болезней в теплицах: справочник. Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2002. – 464с.
2. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. Киев: "Наукова думка" 1973. - С.240.
3. Билай В.И. Фузариин. Киев: Наукова думка. 1977
4. Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. и др. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. Под ред. Билай В.И. Киев, «Наукова думка», 1988. – 552с.
5. Гольшин Н.М. Механизмы действия фунгицидов. Защита растений, 1990, №11., С. 13-15.
6. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. и др. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. -552 с.
7. Морозов А.И., Тимофеев А.А. Разведение грибов. Мицелий. Москва: Изд. АСТ, Донецк: Сталкер, 2002. -43 с
8. Хасанов Б.А., Очилов Р.О., Гулмуродов Р.А. Сабзавот, картошка ҳамда полиз экинларининг касалликлари ва уларга қарши кураш. -Тошкент: Voris-Nashriyot, 2009. – 244 б.
9. Хохряков М.К. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов / сост.. Ленинград, 1974. 69 с.
10. Akutsu K., Irino T., Tsukamoto T., Okuyama S. Relationship between development of Benomyl-Resistant Strains and Hyfal Fusion in Botrytis cinerea // Annals of the Phytopathological Society of Japan, 1987, Vol. 53 (4), P. 495-506.
11. Dieter A. Die Entwicklung der Botrytisresistenz gegen dicarboximide im Weinbaugebiet Franken // Bayerisches landwirtschaftliches Jahrbuch, 1983. Vol. 60 (3), P. 346-349.
12. Elad Y. Biological control of Botrytis cinerea // 9th General Assembly, Ascona, IOBC/wprs Bulletin, 2003. Vol. 26 (9), P. 7-8.
13. Elad Y., Williamson B., Tudzynski P., Delen N. Botrytis: biology, pathology and control // Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 2007.
14. Elad Y., Yunis H. Effect of microclimate and nutrients on development of cucumber gray mold (Botrytis cinerea) // Phytoparasitica, 1993. Vol. 21, P. 257-268.
15. Gullino M.L., Kuijpers, L.A.M. Social and political implications of managing plant diseases with restricted fungicides in Europe // Annual Review of Phytopathology, 1994. Vol. 32, P. 559-579.
16. Jarvis W.R. Managing diseases in greenhouse crops // Plant Disease, 1989. Vol. 73, P. 190-194.
17. Jarvis W.R. Managing Diseases in Greenhouse Crops // The American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota, USA, 1992.
18. Kaptas T., Dula B. Uj tapasztalok a szőlőszürke rothadás fungicidekkel ezembeni rezisztenciajara. Növényvédelem, 1988, 24, 116-119.



19. Khakimov A.A., Omonlikov A.U., Utaganov S.B. Current status and prospects of the use of biofungicides against plant diseases // GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 2020. Vol. 13 (03), P. 119-126. DOI: 10.30574/gscbps.2020.13.3.0403
20. Korolev N., Mamiev M., and Elad, Y. Monitoring for resistance to fungicides in *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*, the pathogens of sweet basil // Communications in agricultural and applied biological sciences, 2010. Vol. 75 (4), P.705-707.
21. Korolev N., Mamiev M., Zahavi T., Elad Y. Screening of *Botrytis cinerea* isolates from vineyards in Israel for resistance to fungicides. European Journal of Plant Pathology, 2011. Vol. 129 (4), P. 591-608.
22. Korolev N., Mamiev M., Zahavi T., Elad Y. Resistance to fungicides among *botrytis cinerea* isolates from tomato and other hosts in Israel // Acta Horticulturae, 2009. Vol. 808, P. 367-375.
23. Lorenz G., and Eichorn K. Resistenz von *Botrytis cinerea* gegenüber dicarboximid fungiziden // Mitt. Biol. Bundesanst. Land und Forst-wirt. Berlin- Dalem, 1981. 203.
24. Lorenz G.L., Pommer E.H. Morphological and physiological characteristics of dicarboximide-sensitive and resistant isolates of *Botrytis cinerea* // Bulletin OEPP, 1985. Vol. 15, P. 353-360.
25. Mamiev M.S. Khakimov A.A., Zuparov M.A., Rakhmonov U.N. Effectiveness of different fungicides in controlling botrytis grey mould of tomato // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020. Vol. 614. P. 012112.
26. Mamiev M., Korolev N., Elad Y. Resistance to polyoxin AL and other fungicides in *Botrytis cinerea* collected from sweet basil crops in Israel // European Journal of Plant Pathology, 2013. Vol. 137 (1), P. 79-91.
27. Northover J., Matteoni J.A. Resistance of *Botrytis cinerea* to benomyl and iprodione in vineyards and greenhouses after exposure to the fungicides alone or mixed with captan. Plant Disease, 1986. Vol. 70 (5), P. 398-402.
28. Shtienberg D., Elad Y., Niv A., Nitzani Y., Kirshner B. Significance of leaf infection by *Botrytis cinerea* in stem rotting of tomatoes grown in non-heated greenhouses. European Journal of Plant Pathology, 1998. Vol. 104, P. 753-763.
29. Staub T., Diriwaechter G. Status and handling of fungicide resistance in pathogens of grapevine // Proceedings of the... British Crop Protection Conference-pests and Diseases., 1986. Vol. 2, P. 771-780.
30. Zuparov M.A., Khakimov A.A., Mamiev M.S., Allayarov A.N. In vitro efficacy testing of fungicides on *Botrytis cinerea* causing gray mold of tomato // International Journal on Emerging Technologies, 2020. Vol. 11 (5), P. 50-55.

