

## ИЗСЛЕДВАНЕ ЕФЕКТИВНОСТТА НА НЯКОИ АКТИВНИ ВЕЩЕСТВА ВЪРХУ МИЦЕЛНИЯ РАСТЕЖ НА *FUSARIUM GRAMINEARUM*

Йорданка Станоева, Илия Илиев

Добруджански земеделски институт – Генерал Тошево

### Резюме

Фузариозата по класа на пшеницата се причинява от комплекс от фитопатогенни гъби от р. *Fusarium*, като най-често разпространение има вида *F. graminearum* (teleomorph *Gibbirella zeae*). Проучен е *in vitro* ефекта от действието на някои активни субстанции на фунгициди и имунофита (етил естер на арахидоновата киселина) върху мицелния растеж на *F. graminearum*. Изпитана е ефективността на следните активни субстанции: тебуконазол, триадименол, тиофанатметил+епоксиконазол, епоксиконазол+фенпропиморф, спироksamин + тебуконазол+триадименол, прохлораз и етиларахидонат. Ефикасността на активните субстанции на фунгицидите е определена въз основа на инхибиране на мицелния растеж. Използваният изолат на *F. graminearum* показва различна чувствителност към използваните продукти, които редуцират значително растежа на мицела в сравнение с контролата. Всички използвани в изследването активни вещества инхибират в различна степен растежа на мицела на *F. graminearum*. Най-висок ефект при инхибиране на растежа на мицела имат активните вещества прохлораз и тебуконазол. Намаляването на дозата на епоксиконазол+фенпрофиморф води до намаляване на ефективността на препарата.

**Ключови думи:** *F. Graminearum*, фунгицид, етиларахидонат, *in vitro*

### Abstract

Stanoeva Y., I. Iliev, 2013. Investigation on the efficiency of some active substances on the mycelium growth of *Fusarium graminearum*

*Fusarium* head blight is caused by a complex of phyto pathogenic fungi of genus *Fusarium* most widespread of which is the species *F. graminearum* (teleomorph *Gibbirella zeae*). The *in vitro* effect of some active substances of fungicides and immunophytes (ethyl ester of arachidonic acid) on the mycelium growth of *F. Graminearum* was studied. The efficiency of the following active substances was tested: tebuconazole, triadimenol, thiophatane-methyl + epoxyconazole, epoxyconazole + fenpropimorph, spiroxamine + tebuconazole + triadimenol, prochloraz and ethyl arachidonate. The efficiency of the active substances of the fungicides and the immunophyte was determined on the basis of mycelium growth inhibition. The *F. graminearum* isolate used showed variable susceptibility to the applied products which significantly reduced the mycelium growth in comparison to the check variant. All active substances involved in this investigation inhibited to various degrees the growth of *F. graminearum* mycelium. The active substances prochloraz and tebuconazole had highest inhibiting effect on mycelium growth. The lower dose of epoxyconazole + fenpropimorph reduced the efficiency of the preparation.

**Key words:** *F. Graminearum*, fungicide, ethyl arachidonate, *in vitro*

## УВОД

Фузариумът е сред най-широко разпространените фитопатогенни и токсикогенни гъби, причиняващи икономически важни болести, коренови гниенета или увяхвания. Една от най-сериозните болести в света е фузариозата по класа на пшеницата. Болестта се причинява от комплекс от фитопатогенни гъби от р. *Fusarium*, като най-често разпространение има вида *F. graminearum* (*teleomorph Gibbirella zeae*) (Караджова, Й., 2001; Младенов и Караджова, 1982; Lević, 2008). Епидемиите от фузариоза по класа не са редки случаи в България, тъй като голяма част от отглежданите сортове са чувствителни на болестта. Освен това често се наблюдава монокултурно отглеждане на пшеницата или участие в сеитбооборот с царевицата, която също се напада от този патоген. За появата и развитието на болестта спомага и влажното и хладно време във фаза цъфтеж. При такива условия основен метод за борба с болестта остава химическият. Използването на фунгицидите в борбата срещу фузариозата по класа става по-интензивно през последните две десетилетия, откакто изследванията показват, че химическият контрол допринася за по-слабото замърсяване на зърното с микотоксини (Ellner, 1997; Matthies and Buchenauer, 2000; Menniti et al. 2003; Pirgozliev et al., 2002). През 70-те години на миналия век за борба срещу фузариозата по класа основно се е използвало карбендазим. През 80-те години обаче най-използваните фунгициди стават ДМІ фунгицидите (De Methylation inhibitors). ДМІ фунгицидите се характеризират с широк спектър на действие, в това число и срещу фузариозите по житните култури (Ivić et al., 2011).

Целта на това изследване е да се проучи *in vitro* ефекта от действието на някои химични активни вещества на фунгициди и имунофита (етилов естер на арахидоновата киселина) върху мицелния растеж на *F. graminearum*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОД

След предварително проучване на патогенността на три изолата на *Fusarium graminearum*, за целите на изследването е избран един изолат. Изпитана е ефективността на следните активни субстанции: тиофанатметил+епоксиконазол, епоксиконазол +фенпропиморф, спироksamин+тебуконазол+триадименол, тебуконазол, прохлораз, триадименол и етиларакхидонат (Таблица 1). Препаратите са използвани в концентрация препоръчвана от завода производител, като за два от тях са изпитани по две концентрации. Това са активните субстанции: епоксиконазол+фенпропиморф (80 и 100 ml/da) и спироksamин+тебуконазол+триадименол (50 и 60 ml/da). Необходимото количество от всеки фунгицид е разтворено в 100 ml дестилирана вода. От така приготвения разтвор с помощта на пипета е поставяно по 0.11 ml върху блюда с PDA (MERCK) и с помощта на шпатула разтворът е разпределен равномерно по цялата повърхност на хранителната среда.

Преди инокулиране на PDA с активните вещества, патогенът е култивиран върху PDA за няколко дни (4-5 дни). Мицелни дискове с ш 10 mm са отрязвани от растящите колонии и поставяни върху хранителната среда PDA със съответният препарат. За контрола са използвани блюда с хранителната среда PDA без препарати.

Таблица 1. Характеристика на препаратите  
Table 1. Characteristics of preparations

Активна съставка Active ingredient	Формула Formula	Начин на действие Mode of action
310g/l тιοфанатметил + 187 g/l епоксиконазол		Системен / systematic
84 g/l епоксиконазол + 250 g/l фенпропиморф		системен / systematic
250 g/l спирокамин + 167 g/l тебуконазол + 43 g/l триадименол	460 ЕК	системен / systematic
250 g/kg тебуконазол	25 ВГ	системен / systematic
450 g/l прохлораз	45 ЕК	системен / systematic
250 g/l триадименол	250 ЕК	системен / systematic
20 g/kg етиларахидонат		системен / systematic

Опитът е заложен в петриеви блюда с диаметър 90 mm в три повторения. Блюдата са инкубирани на тъмно при температура 25°C. Растежът на колонията е измерван в mm с помощта на линия от долната страна на блюдата по дължината на две перпендикулярни линии. Измерването е направено след седмия ден от поставянето на дисковете с патогена. Ефикасността на активните вещества е определена въз основа на инхибиране на мицелния растеж (Wong and Midland, 2007; Wong, and Wilcox, 2002). За целта е използвана следната формула: % инхибиране =  $[(D_c - D_t) / D_c] \times 100$ , където:

$D_c$  – диаметър на мицелния растеж на контролата;

$D_t$  – диаметър на мицелния растеж на третирания вариант (Jagtap and Sontakke, 2007).

За установяване на различията между отделните варианти е извършен статистически анализ.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Анализът на варианса за влиянието на активните съставки върху радиалния растеж на колонията на *Fusarium graminearum* показва наличието на статистически достоверно взаимодействие между проучваните фактори (Таблица 2).

Таблица 2. Анализ на дисперсията  
Table 2. Analysis of variance

Причини за дисперсията Reasons for variance	SQ	FG	$s^2$	F
Общо / Total	30.99	26		
Блоково / Bloc	0.23	2		
Фунгициди Fungicides	28.51	8	$s_v^2=3.5638$	25.35 (2.59 табл.)
Грешки / Error	2.25	16	$s_e^2=0.1406$	

GD<sub>5%</sub>=0.65; GD<sub>1%</sub>=0.89; GD<sub>0.1%</sub>=1.23

Резултатите получени от *in vitro* теста за определяне на фунготоксичния ефект на използваните в изследването препарати върху развитието на *Fusarium graminearum* са представени в Таблица 3. След седем дни на инкубиране развитието на мицела на *F. graminearum* при различните варианти варира от 2 до 27 mm, а средния диаметър на контролата е 56 mm. Най-слабо развитие на мицела спрямо контролата има при активните субстанции прохлораз и тебуконазол, при които средния диаметър на колонията е 2 mm. При фунгицидната комбинация спироксамин+тебуконазол+триадименол, която участва в изследването с две дози, диаметърът на колонията е 5 mm и при двете дози. Сравнително по-силно развитие на мицела има при комбинацията тиофанатметил+епоксиконазол, при която диаметъра на колонията е 10 mm. Комбинацията епоксиконазол+фенпрофиморф при доза 100 ml/da има диаметър на колонията 20 mm, а при доза 80 ml/da – 25 mm. Най-силен растеж на мицела се наблюдава при активните субстанции триадименол, с диаметър на колонията 26 mm и етиларахидонат, с диаметър на колонията 27 mm.

Таблица 3. Ефект на някои активни вещества върху радиалния растеж на *Fusarium graminearum*  
Table 3. Effect of some active substances on the radial growth of *Fusarium graminearum*

Активна съставка Active ingredient	Доза Dose	Диаметър на колонията mm Column diameter mm	Коефициент на инхибиране % Ratio% Inhibition
тиофанатметил + епоксиконазол	60 ml/dka	10***	82.14
епоксиконазол + фенпропиморф	80 ml/dka	25***	55.40
епоксиконазол + фенпропиморф	100 ml/dka	20***	64.30
спироксамин + тебуконазол + триадименол	50 ml/dka	5***	91.07
спироксамин + тебуконазол + триадименол	60 ml/dka	5***	91.07
тебуконазол	100 g/dka	2***	96.43
прохлораз	100 ml/dka	2***	96.43
триадименол	50 ml/dka	26***	53.60
етиларахидонат	1 табл./ha	27***	51.8
контрола		56	0

\*\*\* - доказаност на разликите при  $p=0.001$

Използваният изолат на *F. graminearum* показва различна чувствителност към използваните активни вещества, които редуцират значително растежа на мицела в сравнение с контролата, като разликите са статистически доказани при  $p=0.001$ .

Сравнявайки данните за инхибиране растежа на мицела (Таблица 3) се установява, че с най-висока ефективност се отличават активните вещества прохлораз и тебуконазол. Подобни резултати получават и Ivić et al. (2011), които установяват, че прохлораз има най-висока ефективност при инхибиране растежа на мицела на *F. graminearum*, *F. avenaceum* и *F. verticillioides*, а Matthies et al. (1999) съобщават, че тебуконазола инхибира растежа на *F. graminearum* над 90 %. Amini and Dzhililov (2010) посочват, че прохлоразата показва най-висока ефективност и при инхибиране на радиалния растеж на

*Fox. f.sp. lycopersici*. Комбинацията спироksamин+тебуконазол+триадименол приложена в изследването с две дози (50 и 60 ml/da) показва еднакъв коефициент на инхибиране (91.07 % ) и при двете дози. Използването на епоксиконазол+фенпрофиморф в дози 80 и 100 ml/da, инхибира растежа на мицела различно. При ниската доза коефициентът на инхибиране е 55.40%, а при високата концентрация той достига до 64.30 %. При намаляне дозата на фунгицидната комбинация се намалява и коефициентът на инхибиране на растежа, което показва, че не е желателно да се намаля дозата на приложение на препарата, за да се запази по-добрата му ефективност. Със сравнително висока ефективност се отличава и комбинацията тиофанатметил+ епоксиконазол, показваща коефициент на инхибиране 82.14 %. С най-ниска ефективност се отличават етиларахидонат и тридиаменол, които имат коефициент на инхибиране съответно 51.80% и 53.60 %, което показва, че редуцират развитието на патогена на половина.

### ИЗВОДИ

- Използваните в изследването активни вещества инхибират растежа на мицела на *F. graminearum*;
- Най-висок ефект при инхибиране на растежа на мицела имат активните вещества прохлораз и тебуконазол;
- Намаляне дозата на епоксиконазола+фенпрофиморфа води до намаляне на ефективността на препарата към патогена.

### ЛИТЕРАТУРА

- Караджова, Й., 2001.** Проучване отношението на сортове пшеница към два вида *Fusarium*, причинител на фузариоза по класа. Растениевъдни науки 38, 275-178.
- Младенов, М., Й. Караджова., 1982.** Проучване отношението на сортове и линии пшеница към четири вида *Fusarium*, причиняващи фузариоза по класа. Доклад на II-ри. национален симпозиум по имунитет на растенията, Пловдив, Т.1, 155-161.
- Amini, J., Dzhaliilov, F.S., 2010.** The effects of fungicides on *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* associated with fusarium wilt of tomato. Journals of Plant Protection Research, vol.50, 2: 172-178.
- Ellner, F. M., 1997.** Influence of fungicide treatment on deoxynivalenol content in winter wheat artificially infected with *Fusarium culmorum*. Cereal Research Communications 3/2: 735-737.
- Ivić, D., Sever, Z. Kuzmanvska, B., 2011.** In vitro sensitivity of *Fusarium graminearum*, *F. avenaceum* and *F. verticillioides* to carbendazim, tebuconazole, flutriafol, metconazole and prochloraz. Pestic. Phytomed. (Belgrade), 26(1), 2011, 35-42.
- Jagtap, G. P., Sontakke P. L., 2007.** Management of chickpea wilt caused by *Fusarium oxysporium* f. sp. *ciceri* Afr. J. of Agric. Res., 2(12): 692-697.
- Lević, J. T., 2008.** Vrste roda *Fusarium* u oblasti poljoprivrede, Veterinarske i humane medicine. Institut za kukuruz „Zemun Polje”, Beograd, Srbija, 2008, pp. 1-1230.

- Matthies, A., Walker F., Buchenauer H., 1999.** Interference of selected fungicides, plant growth retardants as well as piperonyl butoxide and 1-aminobenzotriazole in trichothecene production of *Fusarium graminearum* (strain 4528) in vitro. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 106: 198-212
- Matthies, A., Buchenauer, H., 2000.** Effect of tebuconazole (FolicurR) and prochloraz (SportakR) treatments on *Fusarium* head scab development, yield and deoxynivalenol (DON) content in grains of wheat following artificial inoculation with *Fusarium culmorum*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 107: 33-52.
- Menniti, A. M., Pancaldi D., Maccaferri M., Casalini L., 2003.** Effect of fungicides on *Fusarium* head blight and deoxynivalenol content in durum wheat grain. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 109-115.
- Pirgozliev, S. R., Edwards S. G., Hare M. C., Jenkinson P., 2002.** Effect of dose rate of azoxystrobin and metconazole on the development of *Fusarium* head blight and the accumulation of deoxynivalenol (DON) in wheat grain. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 469-478.
- Wong, F. P., Wilcox W. F., 2002.** Sensitivity to azoxystrobin among isolates of *Ucinula necator*: Baseline distribution and relationship to myclobutanil sensitivity. *Plant Disease*, 86: 394-404.
- Wong, F. P., Midland S. L., 2007.** Sensitivity distributions of California populations of *Colletotrichum cereale* to the DMI fungicides propiconazole, myclobutanil, tebuconazole, and triadimefon. *Plant Disease*, 91: 1547-1555.