

УДК 632.4.01/.08 : 632.952 : 632.95.025.8

DOI 10.30679/2219-5335-2023-1-79-186-202

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
К ЦИПРОДИНИЛУ ПОПУЛЯЦИЙ
ВОЗБУДИТЕЛЯ ПАРШИ ЯБЛОНИ
ИЗ КРАСНОДАРСКИХ САДОВ
IN VITRO***

Насонов Андрей Иванович
канд. биол. наук
заведующий лабораторией
биотехнологического контроля
фитопатогенов и фитофагов
e-mail: nasoan@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4927-2192>

Якуба Галина Валентиновна
канд. биол. наук
старший научный сотрудник
лаборатории биотехнологического
контроля фитопатогенов
и фитофагов
e-mail: galyayaku@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-7735-960X>

Астапчук Ирина Леонидовна
канд. биол. наук
научный сотрудник
лаборатории биотехнологического
контроля фитопатогенов
и фитофагов
e-mail: irina_astapchuk@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9713-0383>

Степанов Илья Владимирович
младший научный сотрудник
селекционно-биотехнологической
лаборатории
e-mail: ivsterpanof@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6251-300X>

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия*

UDC 632.4.01/.08 : 632.952 : 632.95.025.8

DOI 10.30679/2219-5335-2023-1-79-186-202

**CYPRODINIL
SENSITIVITY OF APPLE SCAB
POPULATIONS
FROM KRASNODAR ORCHARDS
IN VITRO ***

Nasonov Andrei Ivanovich
Cand. Biol. Sci.
Head of Biotechnological Control
of Phytopathogens and Phytophages
Laboratory
e-mail: nasoan@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4927-2192>

Yakuba Galina Valentinovna
Cand. Biol. Sci.
Senior Research Associate
of Biotechnological Control
of Phytopathogens and Phytophages
Laboratory
e-mail: galyayaku@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-7735-960X>

Astapchuk Irina Leonidovna
Cand. Biol. Sci.
Research Associate
of Biotechnological Control
of Phytopathogens and Phytophages
Laboratory
e-mail: irina_astapchuk@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9713-0383>

Stepanov Ilya Vladimirovich
Junior Research Associate
of Breeding and Biotechnology
laboratory
e-mail: ivsterpanof@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6251-300X>

*Federal State Budget
Scientific Institution
"North Caucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making»,
Krasnodar, Russia*

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края, грант № 19-416-230070 р_а.

* The reported study was funded by RFBR and administration of Krasnodar Territory according to the research project № 19-416-230070

Развитие резистентности

Venturia inaequalis к фунгицидам со специфическим механизмом действия ставит под угрозу эффективный контроль садов против парши яблони. Была изучена чувствительность популяции возбудителя парши яблони к ципродинилу в экспериментах «доза-эффект» для трёх популяций патогена из садов Краснодарского края. Одна из популяций была собрана в заброшенном саду и являлась исходной. Остальные популяции собраны в коммерческих садах с ежегодным использованием фунгицидов, в том числе и ципродинила. Определяли влияние 7 концентраций ципродинила: 0,001, 0,01; 0,10; 0,50; 1,00; 10,00 и 50,00 мг/л на рост моноспоровых изолятов патогена на синтетической среде Леру (Leroux). Всего проанализировано 63 изолята гриба. Рост мицелия на фунгициде выражали относительно контрольного варианта среды в процентах. Концентрацию действующего вещества фунгицида, которая приводила к двукратному торможению роста, называемую эффективной 50 % концентрацией ($ЭК_{50}$), находили с использованием пробит регрессионного преобразования величины относительного роста мицелия на действующем веществе. Анализ кривых «доза-эффект», показал горметические реакции при низких концентрациях фунгицида. По результатам исследования выявили, что чувствительность исходной популяции была значительно выше, чем в двух фунгицидных популяциях на уровне значимости $p < 0,001$. Среднее значение $ЭК_{50}$ для исходной популяции составило 0,35 мг/л, а для фунгицидных популяций – 1,92 и 2,72 мг/л. Фактор резистентности этих популяций составил около 7. Полученные результаты являются первыми для Краснодарского края и указывают на необходимость детального мониторинга чувствительности к анилинопириимидиновым фунгицидам с использованием большей выборки популяций *V. inaequalis* из различных коммерческих садов.

The ability to effectively protect orchards against apple scab is threatened by *Venturia inaequalis* developing resistance to fungicides with a particular mode of action. Three pathogen populations from orchards in the Krasnodar region were used in dose-effect tests to examine the susceptibility of the apple scab pathogen population to cyprodinil. One of the populations was collected in an abandoned garden and was the baseline. The rest of the populations are collected in commercial gardens with the annual use of fungicides, including cyprodinil. The effect of 7 concentrations of cyprodinil was determined: 0.001, 0.01; 0.10; 0.50; 1.00; 10.00 and 50.00 mg/l for the growth of monospore pathogen isolates on Leroux synthetic medium. A total of 63 fungus isolates were analyzed. The growth of mycelium on the fungicide was expressed as a percentage relative to the control variant of the medium. The concentration of fungicide active ingredient that resulted in a two-fold inhibition of growth, called the effective 50 % concentration (EC_{50}), was found using a probit regression transformation of the relative mycelial growth on the active ingredient. Analysis of dose-effect curves showed hormetic responses at low fungicide concentrations. The results of the study revealed that the sensitivity of the original population was significantly higher than that of the two fungicidal populations at a significance level of $p < 0.001$. The mean EC_{50} for the original population was 0.35 mg/l, and for the fungicide populations it was 1.92 and 2.72 mg/l. The resistance factor of these populations was about 7. The obtained results are the first for the Krasnodar region and highlight the necessity for careful monitoring of anilinopyrimidine fungicide susceptibility using a larger sample of *V. inaequalis* populations from various commercial orchards.

Ключевые слова: ПАРША ЯБЛОНИ,
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ,
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ, ЦИПРОДИНИЛ,
ИСХОДНАЯ ПОПУЛЯЦИЯ ЭК₅₀

Key words: APPLE SCAB,
SENSITIVITY, RESISTANCE,
CYPRODINIL, BASELINE
POPULATION EC₅₀

Введение. Развитие резистентности *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter к фунгицидам со специфическим механизмом действия ставит под угрозу эффективный контроль садов против парши яблони. Это может привести к снижению урожая и товарных качеств плодов при эпифитотийном развитии заболевания. Своевременная информация об уровне чувствительности патогена к действующему веществу пестицида позволяет продлить срок его эффективной работы в поле. Недавние исследования в регионе показали развитие резистентности или снижение чувствительности у возбудителя парши яблони к ряду системных фунгицидов: дифеноконазолу [1, 2] и карбендазиму [3], относящихся к различным группам химических веществ, триазолам и бензимидазолам. Однако отсутствуют данные об уровне чувствительности патогена к широко используемым против него фунгицидам из группы анилинопиримидинов (далее – АП) и, в частности, ципродинилу.

Класс анилинопиримидиновых фунгицидов, представленный пириметанилом, ципродинилом и мепанипиримом, появился на мировом рынке СЗР в начале 1990-х годов [4]. В настоящее время Хорус ВДГ, 750 г/кг ципродинила, в Российской Федерации используется для защиты от болезней плодовых деревьев, таких как парша яблони, альтернариоз, мучнистая роса, монилиоиз, кластероспориоз, коккомикоз и плодовая гниль [5, 6]. Было показано, что АП действуют как слабые ингибиторы прорастания спор, образования апрессорий и проникновения в кутикулу растения, приводя к остановке дальнейшего процесса инфицирования хозяина. Биохимический механизм действия АП был исследован на *Botrytis cinerea*. Их ингибирующая активность в условиях испытаний *in vitro* была низкой на средах для выращивания, содержащих сложные компоненты, такие, как дрожжи или соло-

довый экстракт, тогда как рост на «голодных» средах повышал чувствительность изолятов *B. cinerea* к анилинопиримидинам более чем в 100 раз. В таких условиях метионин и предшественник метионина гомоцистеин подавляют действие АП, что указывает на присутствие сайта-мишени в биосинтезе этой аминокислоты [4, 7]. В качестве альтернативного механизма были идентифицированы 9 различных митохондриальных белков, придающих устойчивость к АП-фунгицидам, что позволяет предположить гипотезу о митохондриальной мишени. Это парадоксальный факт, учитывая отсутствие более ранних сообщений о каком-либо влиянии на дыхательную функцию митохондрий этого класса фунгицидов [8]. С другой стороны, снижение чувствительности микроорганизмов на пестицид может быть связано с неспецифическими механизмами клеточной детоксикации, что играет определённую роль в проявлении количественной резистентности [9].

Хотя относительная важность этих различных моделей действия не выяснена, строгая перекрестная устойчивость среди всех членов класса АП предполагает общий механизм действия для *B. cinerea*. Развитие практической устойчивости к АП для этого гриба постоянно фиксируется и в настоящее время [10-12]. Сообщения, описывающие устойчивость других патогенов к АП, немногочисленны по сравнению с информацией, доступной для *B. cinerea* [13-15]. На сайте FRAC сообщается, что эта группа фунгицидов характеризуется средним риском развития резистентности, которая за многолетний период мониторинга была зафиксирована только для родов *Botrytis* и *Venturia* и спорадически для *Oculimacula* [16]. Некоторые исследователи в различных частях мира провели работы по оценке уровня чувствительности возбудителя парши яблони к анилинопиримидиновым фунгицидам [17-22].

В Краснодарском крае парша на яблоне ежегодно вредоносна, и защита от болезни требует большого количества обработок фунгицидами.

Препараты с действующим веществом ципродинил обязательно включаются в систему с максимально разрешенным регламентом применения: двукратно за сезон. В связи с тем, что информация о чувствительности региональной популяции *Venturia inaequalis* к ципродинилу (Хорус ВДГ, 750 мг/л) отсутствует, нами были проведены исследования по её оценке на моноспоровых изолятах возбудителя парши яблони из нескольких коммерческих садов яблони.

Объекты и методы исследований. Объект исследования – моноспоровые изоляты *Venturia inaequalis*, полученные из разных коммерческих насаждений яблони, и химический препарат Хорус, ВДГ (750 г/кг ципродинила), производитель компания ООО «Сингента». Предметом изучения была чувствительность изолятов патогена к различным концентрациям действующего вещества фунгицида. Исследования проводились в лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов ФГБНУ СКФНЦСВВ.

Было собрано 3 популяции патогенного гриба, общим размером в 58 моноспоровых изолятов. Популяции различались местом отбора, сортом-хозяином, историей применения препарата Хорус, ВДГ (табл. 1).

Таблица 1 – Особенности популяций *Venturia inaequalis*

Название	Тип	Кол-во изолятов	Сорта яблони	Местоположение сада	Применение фунгицида, кратность
ГорКлюч	исходная	15	неизвестно	г. Горячий ключ	нет
НовДм	фунгицидная	24	Айдаред, Прикубанское, Ренет Симиренко, Голден	Северский район	2х
Агр	фунгицидная	24	Жеромин	Динской район	2х

Популяция «ГорКлюч» была отобрана в заброшенном саду в 2018 г. в окрестностях г. Горячий Ключ на левобережье р. Псекупс. Эта выборка является базовой или исходной, так как воздействие фунгицидов на патоген на этом участке не было длительным, и чувствительность этой популяции микромицета являлась отправной точкой для оценки чувствительности двух других популяций. Популяции «НовДм» и «Агр» происходили из промышленных насаждений яблони, располагающихся в Северском и Динском районах Краснодарского края, в которых применялись системы химической защиты против парши яблони, в том числе препарат Хорус, ВДГ с кратностью не более 2 раз за сезон. Также эти выборки отличались сортовым составом растения-хозяина: для «НовДм» отбор проводили на различных сортах, таких как Айдаред, Прикубанское, Ренет Симиренко и Голден Делишес, тогда как для «Агр» – только в одном насаждении сорта Жеромин (Jeromine). Отбор этих популяций производили в 2020 и 2021 гг.

Выделение изолятов патогена производили с поражённых свежих листьев или с листового опада, несущего половую стадию гриба. Листья в садовом насаждении отбирали рандомизированно, при этом с одного дерева отбирался только один лист. Образцы хранили в холодильнике в бумажном пакете.

Получение моноспоровых изолятов проводили с использованием двух методов в зависимости от типа листообразца. Из опада патоген выделяли методом модифицированных спороловушек, предложенных в работе Насонова [23]. Дезинфицированный лист опада помещали в крышку перевернутой вверх дном чашки Петри с 2 %-м агаром и инкубировали 16-18 часов при 20 °С. Далее поверхность агара просматривали при 40х увеличении для поиска проросших аскоспор, которые переносили энтомологической иглой на картофельно-глюкозную питательную среду (КГА). Полученный посев инкубировали при 20 °С в течение месяца.

Второй метод использовали для выделения чистой культуры гриба из свежих листьев; он общепризнан и подробно описан [24].

Для получения изолятов использовали питательную среду КГА, следующего состава (на 1 л): картофельный отвар, 20 г глюкозы и 20 г микробиологического агар-агара. Картофельный отвар готовили следующим образом: 200 г очищенных клубней на 1 л воды варили на медленном огне в течение получаса с момента закипания и процеживали через хлопчатобумажную ткань или четырехслойную марлю. Для оценки влияния фунгицида на рост мицелия использовали синтетическую среду – адаптированную Леру с соавторами (далее по тексту – среда Леру), как рекомендовано в работе Ларсена с соавторами [20]. Синтетическая среда имела следующий состав: 10 г глюкозы, 1,5 г K_2HPO_4 , 2 г KH_2PO_4 , 1 г $(NH_4)_2SO_4$, 0,5 г $MgSO_4$ и 15 г агар-агара 1 л H_2O .

Чувствительность изолятов определяли по росту мицелия на питательной среде Леру, с добавлением различных концентраций действующего вещества ципродинила: 0,001, 0,01; 0,10; 0,50; 1,00; 10,00 и 50,00 мг/л. Стоковый раствор фунгицида готовили на стерильной воде, тщательно перемешивая навеску водорастворимых гранул Хорус до получения гомогенного раствора. Питательную среду стерилизовали. После этого в охлажденную до 55 °С среду добавляли стоковый раствор ципродинила для опытных вариантов, а в контрольный вариант среды вносили равный объем стерильной воды. Кроме этого, в среду добавляли антибиотики тетрациклин и стрептомицин в конечной концентрации 50 мг/л. Инокуляцию полученных сред производили блоком колонии размером 5-6 мм, который вырезали пробковым буром из активно растущего края тридцатидневной чистой культуры патогена. Посевы инкубировали при 20 °С в темноте 40 суток и далее измеряли диаметр выросших колоний во взаимно перпендикулярных направлениях. Выражали рост мицелия на различных концентрациях ципродинила относительно контрольного варианта среды в процентах. Концентрацию действующего вещества фунгицида, которая приводила к двухкратному торможению роста, называемую эффективной 50 %-й концентрацией

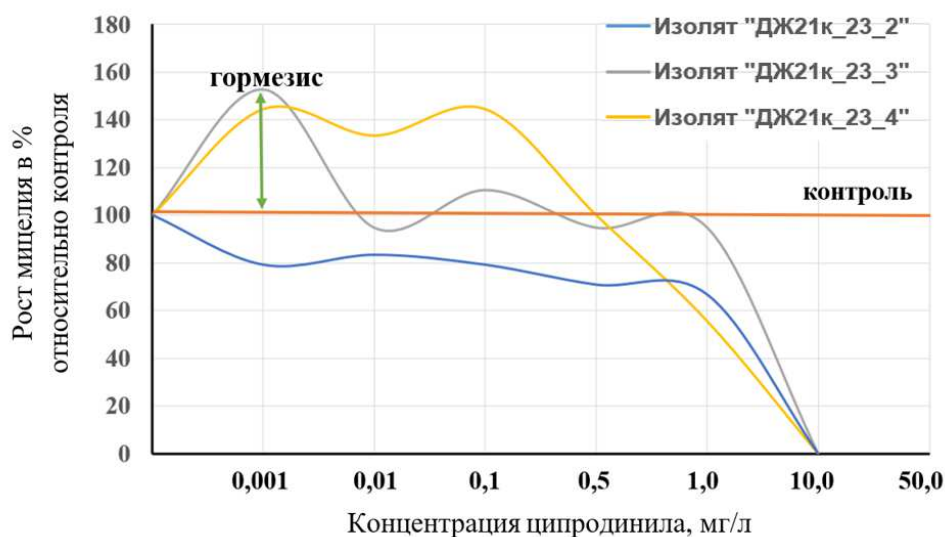
(ЭК₅₀), находили с использованием пробит-регрессионного преобразования [24]. Для каждого изолята получали значение ЭК₅₀, для популяции в целом рассчитывали его среднюю величину.

Статистическое подтверждение разницы между средними значениями ЭК₅₀ осуществляли с использованием непараметрического анализа – тест Краскела–Уоллиса для множественного сравнения и U-критерий Манна – Уитни для попарного сравнения популяций. Расчёты производили с использованием онлайн калькуляторов статистической интернет-платформы Statistics Kingdom: «Kruskal Wallis Test Calculator» [25] и «Mann Whitney U test calculator (Wilcoxon rank-sum)» [26]. Выбор непараметрической статистики обусловлен размером выборок сравниваемых популяций – меньше 50 изолятов. Графики были построены с использованием выше указанных калькуляторов и графических пакетов программы Excel Microsoft.

Обсуждение результатов. Анализ кривых «доза-эффект» показал, что изоляты патогена по различному реагировали на различные дозы ципродинала. Как ожидалось, часть изолятов постепенно реагировала на увеличение дозы фунгицида в среде ингибированием роста мицелия относительно контрольного варианта, начиная с первых его концентраций. При определённых концентрациях изменение роста мицелия было кратным, и далее снова выходило в нижней точке на плато, что выражалось в виде сигмовидной кривой «доза-ответ». Однако такая картина наблюдалась не у всех изученных чистых культур. Значительная часть изолятов показала более сложную зависимость, когда при низких значениях концентрации ципродинала происходила стимуляция роста мицелия в диапазоне 110-180 % от роста на контрольном варианте среды (рис. 1).

Этот факт свидетельствует о наличии явления гормезиса. Гормезис – это стимуляция роста контролируемого организма низкими концентраци-

ями пестицида. По литературным данным, в большинстве случаев горметический эффект наблюдали в диапазоне от 120 до 160 % [27]. Ранее сообщалось о наблюдении гормезиса при оценке чувствительности *V. inaequalis* к флуксапироксаду, фунгициду из химической группы карбоксамидов [28].



Примечание: оранжевая прямая линия – величина роста каждого изолята на варианте среды без добавления фунгицида, принятая за 100 %; зелёная линия со стрелками на обоих концах – величина горметического эффекта.

Рис. 1. Кривые зависимости относительного роста мицелия трёх изолятов *Venturia inaequalis* от концентраций ципродинила

Нами было отмечено, что горметический эффект в разных группах изолятов проявлялся при различных концентрациях в диапазоне от 0,001 до 10,0 мг/л. Так, в популяциях «Агр» и «НовДм», которые подвергались обработкам фунгицидами, стимуляция роста мицелия в горметической зоне происходила при более высоких концентрациях ципродинила, чем в исходной популяции. Для изолятов из обрабатываемых садов эффект возникал в диапазоне концентраций от 0,1 до 10,0 мг/л, тогда как для исходных – от 0,001 до 1,0 мг/л. Такой же факт был зафиксирован в работе Чжоу с соавторами на грибе *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary [29]. При изучении стимулирующего действия сублетальных доз диметахлона на скорость роста мице-

лия этого фитопатогена гормезис был показан для всех устойчивых штаммов, тогда как у исходных штаммов эффект наблюдался только у 24 %. Диапазон концентраций, при которых происходило стимулирование, для исходных штаммов составлял 1,0-5,0 мкг/мл (мг/л), для резистентных штаммов – 1,0-25,0 мкг/мл (мг/л).

Также нами было выявлено, что чем выше была концентрация, при которой проявлялся горметический эффект, тем более высокие значения ЭК₅₀ имел изолят.

Встречаемость различных значений ЭК₅₀ различалась в изученных популяциях возбудителя парши яблони (рис. 2)

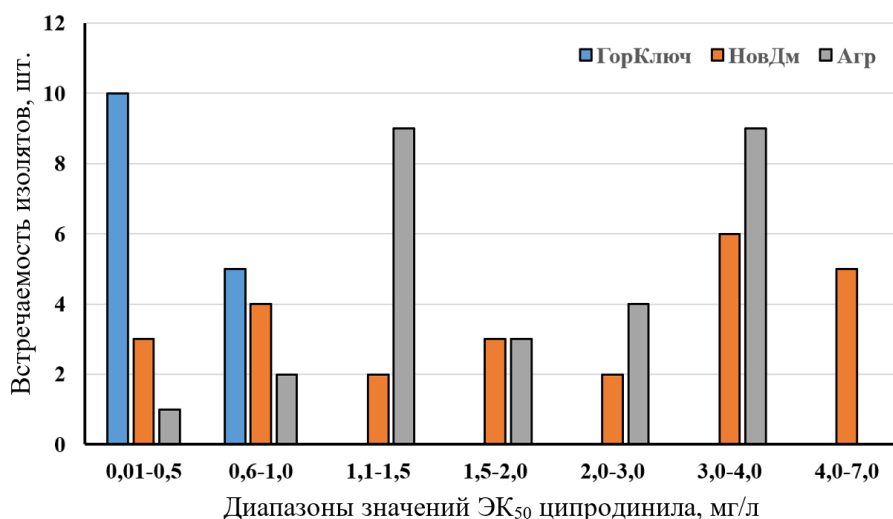
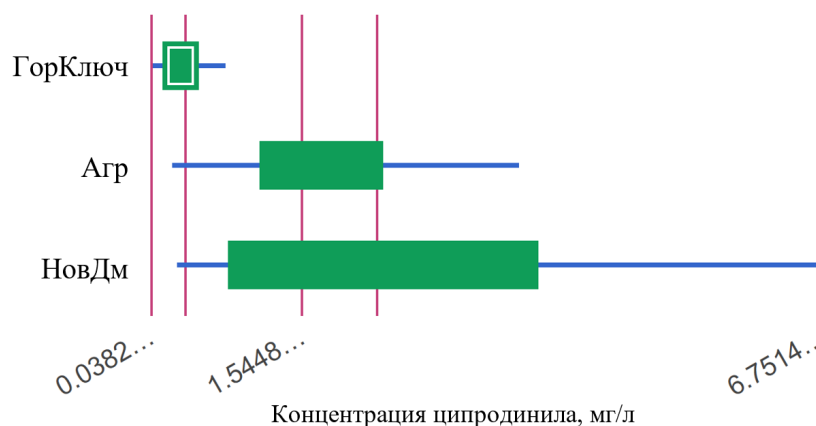


Рис. 2. Встречаемость изолятов *Venturia inaequalis* с различными значениями ЭК₅₀

Практически все изоляты из популяции «ГорКлюч» встречались в диапазоне концентраций от 0,01 до 1,0 мг/л, тогда как изоляты из популяций «Агр» и «НовДм» в основном имели более высокие значения ЭК₅₀ – в диапазоне 1,1-7,0 мг/л.

Анализ данных с использованием теста Краскела–Уоллиса, показал наличие существенной разницы между средними значениями ЭК₅₀ популяций патогена со значениями $p < 0,001$. Однако, как можно видеть

на рисунке 3, существенное различие в медианных значениях этого показателя наблюдается только между популяциями фунгицидными популяциями («Агр» и «НовДм») и исходной популяцией («ГорКлюч»).



Примечание: «ГорКлюч» – исходная популяция; «Агр» и «НовДм» – популяции из обрабатываемых садов

Рис. 3. Характеристика распределения значений $ЭК_{50}$ в трёх популяциях *Venturia inaequalis* с использованием графика «ящик с усами»

Это подтвердилось при попарном сравнении популяций тестом Манна-Уитни. Различия между популяциями из обрабатываемых садов были незначительными ($p=0,671$), тогда как различия между ними и исходной были на уровне значимости меньше 0,001. Полученный результат показывает, что воздействие фунгицида приводит к существенному изменению структуры популяции, приводя к увеличению доли изолятов с более высоким значением $ЭК_{50}$. Ранее такое же существенное влияние применения фунгицидов на структуру популяции *V. inaequalis* в регионе было показано на примере дифеноконазола и карбендазима [2, 3].

Среднее значение $ЭК_{50}$ для исходной популяции составило 0,35 мг/л, а для фунгицидных популяций «Агр» и «НовДм» – 1,92 и 2,72 мг/л (табл. 2). Ранее в Италии для дикого типа местной популяции патогена был выявлен средний $ЭК_{50}$ 0,03 мг/л, такое же значение определено в Новой Зеландии для популяции патогена из органического сада [19, 20], то есть в 10 раз меньше,

чем значение в изученной нами исходной популяции. Также в этих исследованиях автор сравнил чувствительность изолятов из садов с «хорошим» и «плохим» (с низкой эффективностью защиты) контролем парши яблони в Италии. Средняя величина ЭК₅₀ для «плохо» контролируемых садов составила 1,68 мг/л, в то время как в садах с «хорошей» (эффективной) защитой – 0,74 мг/л [19]. Для новозеландской популяции *V. inaequalis* из садов с обработками АП была высока доля изолятов с величиной ЭК₅₀ >0,5 мг/л [20]. В нашем исследовании значения ЭК₅₀, для промышленных насаждений яблони с ежегодной системой защиты против парши оказались выше.

Таблица 2 – Характеристика ЭК₅₀ для трёх популяций *Venturia inaequalis*, мг д. в./л

Популяция	Среднее ЭК ₅₀	Min ЭК ₅₀	Max ЭК ₅₀	Размах	RF
ГорКлюч	0,35	0,04	0,79	20,84	-
НовДм	2,72	0,29	6,75	23,40	7,77
Агр	1,92	0,23	3,72	15,97	5,49

Условные обозначения: RF – фактор резистентности

Более высокие значения ЭК₅₀, определённые в наших исследованиях, могут быть объяснены расхождениями в деталях методики, используемой другими учёными для детекции чувствительности к АП. Например, такими деталями в методике могут быть различия в составе питательной среды или время детекции чувствительности в эксперименте *in vitro*. В наших экспериментах детекция проводилась на 40-е сутки; в иностранных источниках приводятся различные данные о дате проведения оценки. Ларсен с соавторами показали, что некоторые из изолятов, рост которых оценивали на синтетической среде Леру, показывали разный уровень чувствительности в зависимости от времени детекции результата. При оценке роста мицелия такие изоляты были чувствительными на 21-е сутки, показывали более высокие значения ЭК₅₀ на 42-й день и переходили в разряд устойчивых на 80-й

день оценки [20]. Было показано, что такая устойчивость изолятов, наблюдаемая после 21-го дня роста, не связана с приобретённой устойчивостью: в экспериментах *in vivo* доказана их чувствительность к анилинопиримидинам. По мнению авторов, наиболее точный результат оценки чувствительности на синтетической среде Леру наблюдается при детекции уровня роста на 21-е сутки.

В исследованиях Фьяккадори в качестве питательной среды был использован 2,5 %-й солодовый агар с 12 г мальтозы [19], в то время как учёные из Новой Зеландии использовали синтетический агар Леру [20]. Ранее Коллер наблюдал изменчивость чувствительности *V. inaequalis* к фунгицидам АП на картофельно-декстрозном агаре, объясняя данный эффект неспособностью их ингибировать рост на сложных питательных средах, которые содержат аминокислоты [4].

По результатам наших экспериментов, фактор резистентности (RF), показывающий степень сдвига чувствительности изолятов из обрабатываемых фунгицидом садов относительно базовой (исходной) чувствительности, был 5,49 для популяции «Агр» и 7,77 для «НовДм» (табл. 2). Показатель RF для итальянской и американской популяций возбудителя парши яблони был ниже или на уровне краснодарской популяции, 3 и 6 соответственно [4, 19].

Заключение. Впервые для Краснодарского края в лабораторных условиях была оценена чувствительность исходной популяции *V. inaequalis* к ципродинилу, действующему веществу из химического класса анилинопиримидинов. Среднее значение ЭК₅₀ исходной популяции составило 0,35 мг/л. Характер реакции изолятов патогена на малые дозы действующего вещества выявил горметические ответы. Для двух популяций из садовых насаждений с ежегодной системой защиты против парши яблони был выявлен сдвиг чувствительности к ципродинилу ($p < 0,001$), пока без конста-

тации формирования резистентности. Фактор резистентности этих популяций составил около 7. Полученные результаты указывают на необходимость детального мониторинга чувствительности к анилинопиримидиновым фунгицидам с использованием большей выборки популяций *V. inaequalis* в садах Краснодарского края, а также ежегодного его проведения.

Литература

1. Лободина Е.В., Астапчук И.Л., Насонов А.И. Чувствительность популяции возбудителя парши яблони *Venturia inaequalis* к дифеноконазолу // Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. Т. 26. Краснодар: СКФНЦСВВ, 2019. С. 165-169.
2. Насонов А.И., Якуба Г.В., Астапчук И.Л. Чувствительность краснодарской популяции *Venturia inaequalis* к дифеноконазолу, ингибитору деметилирования стериннов // Микология и фитопатология. 2021. Т. 55. № 4. С. 297-308. <http://doi.org/10.31857/S0026364821040103>
3. Насонов А.И., Якуба Г.В., Лободина Е.В. Длительное сохранение резистентности к карбендазиму у *Venturia inaequalis* в Краснодарском крае (Россия) // Микология и фитопатология. 2022. Т. 56. № 5. С. 374-378. DOI: <http://doi.org/10.31857/S0026364822050087>
4. Köller W., Wilcox W.F., Parker D.M. Sensitivity of *Venturia inaequalis* populations to anilinopyrimidine fungicides and their contribution to scab management in New York // Plant disease. 2005. Vol. 89. № 4. P. 357-365. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0357>
5. Хорус для защиты плодовых деревьев. Режим доступа: <https://www.syngenta.ru/lawn-and-garden/plant-protection-against-diseases/chorus>
6. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, по состоянию на 27 января 2022 г. Часть I пестициды. Москва. 2022. Режим доступа: <https://mcx.gov.ru/ministry/departments/departament-rastenievodstva-mekhanizatsii-khimizatsii-i-zashchity-rasteniy/industry-information/info-gosudarstvennaya-usluga-pogosudarstvennoy-registratsii-pestitsidov-i-agrokhimikatov/>
7. Cox K.D. Fungicide resistance in *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, in the United States // Fungicide Resistance in Plant Pathogens. 2015. P. 433-447. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55642-8_27
8. Mosbach A., Edel D., Farmer A.D., Widdison S., Barchietto T., Dietrich R.A., Corran A., Scalliet G. Anilinopyrimidine resistance in *Botrytis cinerea* is linked to mitochondrial function // Frontiers in microbiology. 2017. Vol. 8. 2361. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02361>
9. Hu M., Chen S. Non-target site mechanisms of fungicide resistance in crop pathogens: A review // Microorganisms. 2021. Vol. 9. № 3. P. 502. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030502>
10. Saito S., Xiao C.L. Fungicide resistance in *Botrytis cinerea* populations in California and its influence on control of gray mold on stored mandarin fruit // Plant disease. 2018. V. 102. № 12. P. 2545-2549. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0766-RE>
11. Bertetti D., Monchiero M., Garibaldi A., Gullino M.L. Monitoring activities on fungicide resistance in *Botrytis cinerea* carried out in vineyards in North-West Italy in 2018 // Journal of Plant Diseases and Protection. 2020. Vol. 127(1). P. 123-127. <https://doi.org/10.1007/s41348-019-00263-3>

12. Nielsen B.J., Jensen N.L., Hartvig P., Hjelmroth L., Weber R.W. Fungicide Resistance in *Botrytis* in Danish Strawberry Production // *Erwerbs-Obstbau*. 2021. Vol. 63(1). P. 1-6. <https://doi.org/10.1007/s10341-021-00541-1>
13. Bauske M.J., Gudmestad N.C. Parasitic fitness of fungicide-resistant and-sensitive isolates of *Alternaria solani* // *Plant disease*. 2018. Vol. 102. № 3. P. 666-673. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1268-RE>
14. Wang F., Saito S., Michailides T.J., Xiao C.L. Fungicide resistance in *Alternaria alternata* from blueberry in California and its impact on control of *Alternaria* rot // *Plant Disease*. 2022. Vol. 106(5). P. 1446-1453. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-1971-RE>
15. Zhang Y., Fu Y., Luo C., Zhu F. Pyrimethanil sensitivity and resistance mechanisms in *Penicillium digitatum* // *Plant Disease*. 2021. Vol. 105(6). P. 1758-1764. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1739-RE>
16. AP fungicides – Introduction and General Information. Anonymous 2018. Available at: www.frac.info/working-group/ap-fungicides (accessed data: 5.3.2019).
17. Jaklova P., Hortova B., Kloutvorova J. Testing sensitivity of *Venturia inaequalis* populations to pyrimethanil from selected orchards in Czech Republic // *Modern Fungicides and Antifungal Compounds*. 2020. Vol. IX. P. 45-47.
18. Schwabe W. A Chorus tolerant population of *Venturia inaequalis* found in a South African apple orchard // *IOBC WPRS BULLETIN*. 2006. Vol. 29(1). P. 59-65.
19. Fiaccadori R. *In vitro*, *in vivo* and in field sensitivity of *Venturia inaequalis* to anilinopyrimidine fungicides with different types of scab management and degree of control // *Open Access Library Journal*. 2018. Vol. 5. № 12. P. e5092. <https://doi.org/10.4236/oalib.1105092>
20. Larsen N.J., Beresford R.M., Wood P.N., Wright P.J., Fisher B.M. A synthetic agar assay for determining sensitivity of *Venturia inaequalis* to anilinopyrimidine fungicides in New Zealand apple orchards // *New Zealand Plant Prot.* 2013. Vol. 66. P. 293-302. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2013.66.5665>
21. Kunz S., Lutz B., Deising H., Mendgen K. Assessment of sensitivities to anilino-pyrimidine- and strobilurin-fungicides in populations of the apple scab fungus *Venturia inaequalis* // *J. Phytopathol.* 1998. Vol. 146. P. 231-238. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1998.tb04684.x>
22. Chatzidimopoulos M., Zambounis A., Lioliopoulou F., Vellios E. Detection of *Venturia inaequalis* Isolates with Multiple Resistance in Greece // *Microorganisms*. 2022. Vol. 10(12). 2354. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122354>
23. Насонов А.И. Новый способ получения культуры *Venturia inaequalis* из аско-спор. Микология и фитопатология. 2019. Т. 53. №. 1. С. 46-48. <https://doi.org/10.1134/S0026364819010094>
24. Mondino P., Casanova L., Celio A. et al. Sensitivity of *Venturia inaequalis* to Tri-floxystrobin and Difenconazole in Uruguay. *Journal of Phytopathology*. 2015. Vol. 163 (1). P. 1–10. <https://doi.org/10.1111/jph.12274>
25. Kruskal Wallis Test Calculator. Statistics Kingdom. Режим доступа: <https://www.statskingdom.com/kruskal-wallis-calculator.html>
26. Mann Whitney U test calculator (Wilcoxon rank-sum). Statistics Kingdom. Режим доступа: https://www.statskingdom.com/170median_mann_whitney.html
27. Calabrese E. J. Hormesis: principles and applications // *Homeopathy*. 2015. Vol. 104, № 2. P. 69-82. <https://doi.org/10.1016/j.homp.2015.02.007>
28. Zhou F., Liang H.-J., Di Y.-L., You H., Zhu F.-X. Stimulatory effects of sublethal doses of dimethachlon on *Sclerotinia sclerotiorum* // *Plant disease*. 2014. Vol. 98, №. 10. P. 1364-1370. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-13-1059-RE>
29. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Marchenko N., Lobodina E.V., Astapchuk I.L. Evaluation of sensitivity of apple scab pathogen to difenoconazole using the discriminatory dose technique // *Bio Web Conf.* 2022. Vol. 47. 10002. <https://doi.org/10.1051/bio-conf/20224710002>

Reference

1. Lobodina E.V., Astapchuk I.L., Nasonov A.I. The sensitivity of the population of the causative agent of the scab of the apple tree *Venturia inaequalis* to difenoconazole // Scientific Works of the North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, Winemaking. 2019. Vol. 26. Krasnodar, NCFSCHVW. 2019. P. 165-169. https://www.kubansad.ru/media/uploads/files/nauchnye_trudy_skzniisiv/tom_26/31.pdf (in Russian)
2. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Astapchuk I.L. Sensitivity of the Krasnodar population of *Venturia inaequalis* to difenoconazole, an inhibitor of sterol demethylation // Mycology and phytopathology. 2021. Vol. 55. № 4. P. 297-308. <http://doi.org/10.31857/S0026364821040103> (in Russian)
3. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Lobodina E.V. The long-term resistance to carbendazim in *Venturia inaequalis* in the Krasnodar region (Russia) // Mycology and phytopathology. 2022. Vol. 56. № 5. P. 374-378. DOI: <http://doi.org/10.31857/S0026364822050087> (in Russian)
4. Köller W., Wilcox W.F., Parker D.M. Sensitivity of *Venturia inaequalis* populations to anilinoypyrimidine fungicides and their contribution to scab management in New York // Plant disease. 2005. Vol. 89. № 4. P. 357-365. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0357>
5. Chorus to protect fruit trees. Available at: <https://www.syngenta.ru/lawn-and-garden/plant-protection-against-diseases/chorus>
6. "State Catalog of Pesticides and Agrochemicals" approved for use on the territory of the Russian Federation, as of January 27, 2022. Part I pesticides. Moscow. 2022. Available at: <https://mcx.gov.ru/ministry/departments/departament-rastenievodstva-mekhanizatsii-khimizatsii-i-zashchity-rasteniy/industry-information/info-gosudarstvennaya-usluga-po-gosudarstvennoy-registratsii-pestitsidov-i-agrokhimikatov/> (in Russian)
7. Cox K.D. Fungicide resistance in *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, in the United States // Fungicide Resistance in Plant Pathogens. 2015. P. 433-447. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55642-8_27
8. Mosbach A., Edel D., Farmer A.D., Widdison S., Barchietto T., Dietrich R.A., Corran A., Scalliet G. Anilinoypyrimidine resistance in *Botrytis cinerea* is linked to mitochondrial function // Frontiers in microbiology. 2017. Vol. 8. 2361. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02361>
9. Hu M., Chen S. Non-target site mechanisms of fungicide resistance in crop pathogens: A review // Microorganisms. 2021. Vol. 9. № 3. P. 502. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030502>
10. Saito S., Xiao C.L. Fungicide resistance in *Botrytis cinerea* populations in California and its influence on control of gray mold on stored mandarin fruit // Plant disease. 2018. Vol. 102. № 12. P. 2545-2549. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0766-RE>
11. Bertetti D., Monchiero M., Garibaldi A., Gullino M.L. Monitoring activities on fungicide resistance in *Botrytis cinerea* carried out in vineyards in North-West Italy in 2018 // Journal of Plant Diseases and Protection. 2020. Vol. 127(1). P. 123-127. <https://doi.org/10.1007/s41348-019-00263-3>
12. Nielsen B.J., Jensen N.L., Hartvig P., Hjelmroth L., Weber R.W. Fungicide Resistance in *Botrytis* in Danish Strawberry Production // Erwerbs-Obstbau. 2021. Vol. 63(1). P. 1-6. <https://doi.org/10.1007/s10341-021-00541-1>
13. Bauske M.J., Gudmestad N.C. Parasitic fitness of fungicide-resistant and-sensitive isolates of *Alternaria solani* // Plant disease. 2018. Vol. 102. № 3. P. 666-673. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1268-RE>
14. Wang F., Saito S., Michailides T.J., Xiao C.L. Fungicide resistance in *Alternaria alternata* from blueberry in California and its impact on control of *Alternaria* rot // Plant Disease. 2022. Vol. 106(5). P. 1446-1453. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-1971-RE>

15. Zhang Y., Fu Y., Luo C., Zhu F. Pyrimethanil sensitivity and resistance mechanisms in *Penicillium digitatum* // Plant Disease. 2021. Vol. 105(6). P. 1758-1764. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1739-RE>
16. AP fungicides – Introduction and General Information. Anonymous 2018. Available at: www.frac.info/working-group/ap-fungicides (accessed data: 5.3.2019).
17. Jaklova P., Hortova B., Kloutvorova J. Testing sensitivity of *Venturia inaequalis* populations to pyrimethanil from selected orchards in Czech Republic // Modern Fungicides and Antifungal Compounds. 2020. Vol. IX. P. 45-47.
18. Schwabe W. A Chorus tolerant population of *Venturia inaequalis* found in a South African apple orchard // IOBC WPRS BULLETIN. 2006. Vol. 29(1). P. 59-65.
19. Fiaccadori R. *In vitro*, *in vivo* and in field sensitivity of *Venturia inaequalis* to anilinopyrimidine fungicides with different types of scab management and degree of control // Open Access Library Journal. 2018. Vol. 5. № 12. P. e5092. <https://doi.org/10.4236/oalib.1105092>
20. Larsen N.J., Beresford R.M., Wood P.N., Wright P.J., Fisher B.M. A synthetic agar assay for determining sensitivity of *Venturia inaequalis* to anilinopyrimidine fungicides in New Zealand apple orchards // New Zealand Plant Prot. 2013. Vol. 66. P. 293-302. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2013.66.5665>
21. Kunz S., Lutz B., Deising H., Mendgen K. Assessment of sensitivities to anilino-pyrimidine- and strobilurin-fungicides in populations of the apple scab fungus *Venturia inaequalis* // J. Phytopathol. 1998. Vol. 146. P. 231-238. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1998.tb04684.x>
22. Chatzidimopoulos M., Zambounis A., Lioliopoulou F., Vellios E. Detection of *Venturia inaequalis* Isolates with Multiple Resistance in Greece // Microorganisms. 2022. Vol. 10(12). 2354. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122354>
23. Nasonov A.I. New method of producing of *Venturia inaequalis* culture from ascospores // Mycology and phytopathology. 2019. Vol. 53 (1). P. 46-48. <https://doi.org/10.1134/S0026364819010094> (in Russian)
24. Mondino P., Casanova L., Celio A. et al. Sensitivity of *Venturia inaequalis* to Trifloxystrobin and Difenoconazole in Uruguay. Journal of Phytopathology. 2015. Vol. 163 (1). P. 1–10. <https://doi.org/10.1111/jph.12274>
25. Kruskal Wallis Test Calculator. Statistics Kingdom. Available at: <https://www.statskingdom.com/kruskal-wallis-calculator.html>
26. Mann Whitney U test calculator (Wilcoxon rank-sum). Statistics Kingdom. Available at: https://www.statskingdom.com/170median_mann_whitney.html
27. Calabrese E. J. Hormesis: principles and applications // Homeopathy. 2015. Vol. 104, № 2. P. 69-82. <https://doi.org/10.1016/j.homp.2015.02.007>
28. Zhou F., Liang H.-J., Di Y.-L., You H., Zhu F.-X. Stimulatory effects of sublethal doses of dimethachlon on *Sclerotinia sclerotiorum* // Plant disease. 2014. Vol. 98, №. 10. P. 1364-1370. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-13-1059-RE>
29. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Marchenko N., Lobodina E.V., Astapchuk I.L. Evaluation of sensitivity of apple scab pathogen to difenoconazole using the discriminatory dose technique // Bio Web Conf. 2022. Vol. 47. 10002. <https://doi.org/10.1051/bio-conf/20224710002>