

**М.Ю. Русакова, Б.Н. Галкин, Т.О. Филиппова, Л.Н. Вострова,
М.В. Гренадерова**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, ул. Дворянская, 2,
Одесса, 65058, Украина, тел.: 8 (0482) 635761, e-mail: rusamariya@yandex.ru

ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРАЗИДОВ ФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ ПО ОТНОШЕНИЮ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ПРИКОРНЕВОЙ ГНИЛИ

*Изучена фунгицидная активность некоторых гидразидов феноксиуксусной кислоты по отношению к *Fusarium oxysporum* v. *arth.*, *F. sporotrichiella* var. *poae* и *F. graminearum*. В ходе исследования было установлено, что чувствительность возбудителей прикорневых гнилей к действию веществ зависела от концентрации соединений, а также штамма микроорганизма. Наиболее активным оказался хиноксалиновый гидразид феноксиуксусной кислоты, вызывающий 2–3-кратное подавление развития *F. sporotrichiella* var. *poae*.*

К л ю ч е в ы е с л о в а: гидразиды феноксиуксусной кислоты, *Fusarium* spp., фунгицидная активность.

Грибы рода *Fusarium* широко распространены в природе и представлены большим количеством видов. Они могут развиваться на различных органических субстратах, в почве, воде и т. д. [1]. Большинство видов рода *Fusarium* являются возбудителями болезней культурных и дикорастущих растений [2]. Поражение зерновых культур возбудителями фузариоза в значительной степени зависит от экологических условий региона, от их патогенности и видового состава [5]. На территории восточной Европы ядро фузариозного комплекса среди зерновых культур в основном состоит из *F. oxysporum* v. *arth.*, *F. sporotrichiella* var. *poae* и *F. graminearum* [4]. В настоящее время ведутся активные поиски фунгицидных средств, которые позволили бы снизить частоту возникновения фузариозов, не вызывая токсического поражения самих растений. Среди наиболее перспективных соединений можно выделить класс гидразидов. Так, гидразид малеиновой кислоты используется как экологически безопасное химическое вещество для предотвращения прорастания картофеля и лука, а также в качестве гаметоцидов некоторых других сельскохозяйственных культур [3].

Целью данного исследования являлось изучение активности некоторых гидразидов феноксиуксусной кислоты по отношению к основным возбудителям фузариозов.

Материалы и методы

В качестве объектов исследований были использованы штаммы 3 видов грибов рода *Fusarium*: *F. oxysporum* v. *arth.* ПНДЛ-1, *F. sporotrichiella* var. *poae* ПНДЛ-2

© М.Ю. Русакова, Б.Н. Галкин, Т.О. Филиппова, Л.Н. Вострова, М.В. Гренадерова, 2009



и *F. graminearum* ПНДЛ-3, полученных из коллекции ИТИ «Биотехника». Хранение и выращивание культур проводилось при температуре 5 °С и 22 °С, соответственно, на скошенном картофельном агаре (КА), содержащем 2 % D-глюкозы [6].

Исследуемые вещества относятся к производным гидразидов феноксиуксусной кислоты (рис. 1). Ряд данных соединений, синтезированных в Проблемной лаборатории синтеза лекарственных препаратов Одесского национального университета им. И.И. Мечникова, представлен производными с различными гетероциклическими радикалами: пиридиновым (I), хинолиниловым (II) и хиноксалиновым (III). Диапазон концентраций, изучаемый в работе, составлял 10^{-5} – 10^{-3} М; исходные растворы веществ, полученные с использованием диметилсульфоксида (ДМСО), автоклавировали при 0,5 атм [3, 9].

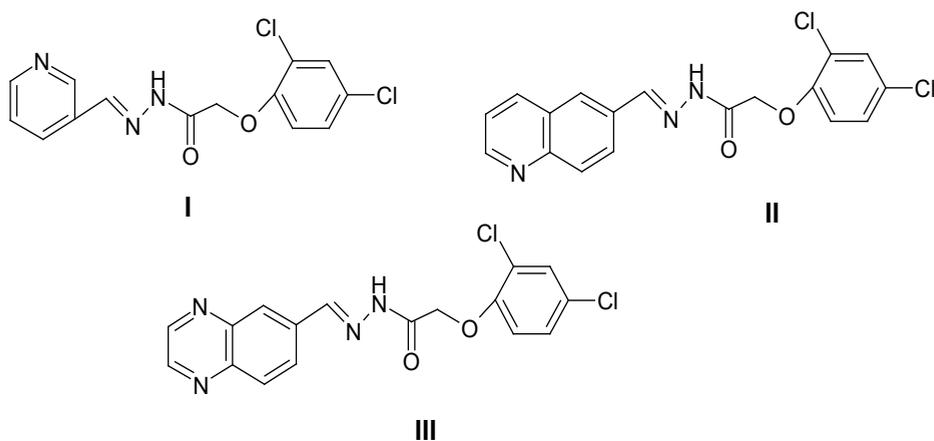


Рис. 1. Структура исследуемых гидразидов феноксиуксусной кислоты

Fig. 1. The studied phenoxyacetic acid hydrazide structures

Для определения эффективности данных производных в отношении *Fusarium spp.* был использован метод агаровых блоков [8]. При этом 7-суточную культуру микроорганизмов заливали 10 мл стерильного физиологического раствора, встряхивали, после чего отбирали 2 мл. Полученную суспензию вносили в расплавленный и охлажденный до 40–45 °С КА, затем разливали по чашкам Петри. После застывания в среде вырезали лунки, куда вносили соответствующие количества исследуемых соединений. Через 24 часа инкубации при температуре 22 °С определяли диаметр зоны отсутствия роста (в мм). В качестве контроля были использованы ДМСО (контроль отрицательный, К⁻) и тетраметилтиурамидсульфид (ТМТД) (контроль положительный, К⁺) [7]. Соединение считалось перспективным для дальнейших исследований, если коэффициент торможения роста (К_{тр}) превышал 1,0. Количество повторов для каждой концентрации составило 6.

На втором этапе проводимых исследований была определена динамика роста *Fusarium spp.* в присутствии отобранных соединений. Так, после застывания КА, содержащего 2 % глюкозы и соответствующее количество исследуемого вещества, на его поверхность помещался мицелиальный диск [9]. Данный диск, диаметр которого составлял 7 мм, был вырезан из края колонии соответствующего штамма *Fusarium spp.*, предварительно выращенной на КА в течение 7 суток

при температурі 22 °С. Скорість росту (мм/сутки) определяли каждые 24 часа в течение 12 суток, измеряя диаметр растущей колонии. Величину диаметра колонии рассчитывали как среднее арифметическое трех измерений случайно выбранных проекций. Для каждого соединения эксперимент проводили дважды, количество повторов в каждом составляло три.

Статистическую обработку результатов, полученных в ходе экспериментов, проводили общепринятыми методами с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В таблице представлены данные, полученные в результате сравнения фунгицидной активности исследуемых соединений с положительным контролем — ТМТД — препаратом, используемым в сельском хозяйстве для подавления фузариозной гнили [3, 7].

Среди грибов наиболее чувствительным к действию веществ оказался *F. sporotrichiella var. poae*. Большинство соединений способствовало угнетению роста данной культуры уже в минимальной концентрации. Что касается 0,1 мМ и 1,0 мМ, то $K_{тр}$ по сравнению с положительным контролем составил 1,2–3,0. Наибольшей активностью характеризовалось производное III, которое способствовало 2–3-кратному подавлению *F. sporotrichiella var. poae*.

Таблица

Кoeffициент торможения роста тест-культур ($K_{тр}$) в присутствии исследуемых соединений

Table

The growth inhibition coefficient of cultures (C_{gin}) in the studied compound presence

Штамм	Вещество	Концентрация, мМ		
		0,01	0,1	1,0
<i>F. oxysporum v. arth.</i> ПНДЛ-1	I	0,2	0,2	1,4
	II	0,2	0,2	1,0
	III	0,3	0,2	0,2
<i>F. sporotrichiella var. poae</i> ПНДЛ-2	I	1,1	1,4	1,2
	II	0,9	1,1	1,1
	III	1,8	3,1	2,5
<i>F. graminearum</i> ПНДЛ-3	I	0,1	0,2	0,2
	II	0,1	0,2	0,2
	III	0,2	0,3	0,8

Изучение влияния соединений на другие штаммы *Fusarium spp.* позволило установить, что для *F. oxysporum v. arth.* и *F. graminearum* характерна устойчивость к действию данных веществ. Так, определяемый $K_{тр}$ практически не превышал 0,3 для всех исследуемых концентраций гидразидов. Исключение составило только воздействие 1,0 мМ соединений I и II на *F. oxysporum v. arth.*, для которых подавление роста культуры происходило на уровне положительного контроля.



В дальнейшем для соединения III (хиноксалинового гидразида феноксиуксусной кислоты), осуществлявшего максимальное подавление *F. sporotrichiella var. poae*, было проведено более подробное изучение влияния на рост тест-штаммов (рис. 2). Вещество добавляли в КА, после чего на поверхность среды помещали диск, содержащий мицелий 7-суточной культуры.

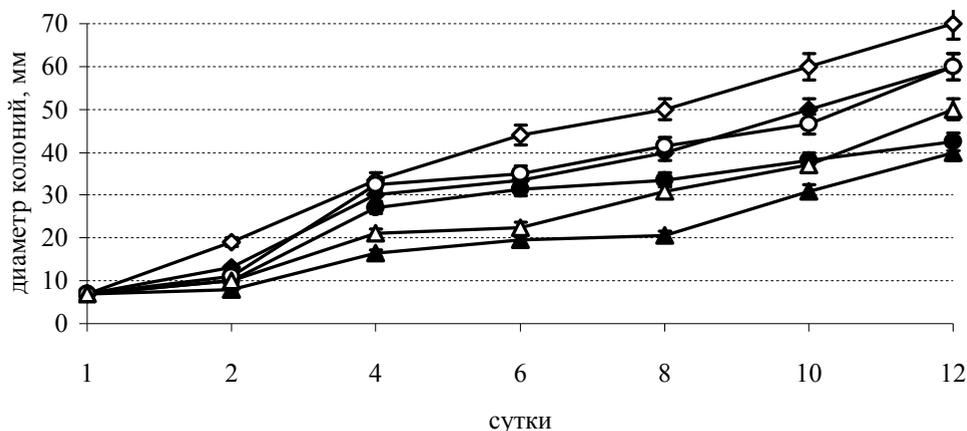


Рис. 2. Характеристика роста тест-штаммов в присутствии хиноксалинового гидразида феноксиуксусной кислоты

Примечание: рост *F. oxysporum v. arth.* ПНДЛ-1 (-◆-), *F. sporotrichiella var. poae* ПНДЛ-2 (-●-), *F. graminearum* ПНДЛ-3 (-▲-) в присутствии хиноксалинового гидразида феноксиуксусной кислоты; контроль роста *F. oxysporum v. arth.* ПНДЛ-1 (-◇-), *F. sporotrichiella var. poae* ПНДЛ-2 (-○-), *F. graminearum* ПНДЛ-3 (-△-).

Fig. 2. The characteristics of test strain growth rate in the quinoxalin-hydrazide of phenoxyacetic acid presence

Note: *F. oxysporum v. arth.* PNDL-1 (-◆-), *F. sporotrichiella var. poae* PNDL-2 (-●-), *F. graminearum* PNDL-3 (-▲-) growth in the quinoxalin-hydrazide of phenoxyacetic acid presence; the control growth of *F. oxysporum v. arth.* PNDL-1 (-◇-), *F. sporotrichiella var. poae* PNDL-2 (-○-), *F. graminearum* PNDL-3 (-△-).

Как показали проведенные исследования, данные штаммы микроорганизмов характеризовались различной скоростью роста на КА. Так, уже на вторые сутки культивирования значение диаметра колоний *F. oxysporum v. arth.* практически в 2 раза превышало для *F. sporotrichiella var. poae* и *F. graminearum*. Различие в скорости роста двух последних штаммов было отмечено только спустя 4 суток, составляя 10–15 мм диаметра колоний. К концу культивирования в соответствии со значениями диаметра колоний исследованные виды *Fusarium spp.* были распределены следующим образом: *F. oxysporum v. arth.* > *F. sporotrichiella var. poae* > *F. graminearum*.

Добавление соединения III в КА вызвало существенные изменения динамики роста тест-культур. В течение первых 48 часов наблюдалось резкое снижение скорости роста *F. oxysporum v. arth.* — в 2 раза по сравнению с контролем. В дальнейшем разница линейных размеров колоний сохранялась на уровне 10 мм. Для *F. sporotrichiella var. poae* и *F. graminearum* было установлено практически

полное замедление роста на четвертые-восьмые сутки от начала культивирования. Впоследствии рост тест-микроорганизмов возобновился, при этом средняя скорость составила от 3 до 5 мм/сутки. Максимальная разница диаметра колоний — в 1,5 раза по сравнению с контролем — была зафиксирована для *F. sporotrichiella* var. *poae* на 12-е сутки.

Таким образом, изучение фунгицидной активности по отношению к *Fusarium* spp. позволило выделить наиболее перспективные для исследований гидразиды феноксиуксусной кислоты. Исследуемые *Fusarium* spp. характеризовались различной степенью чувствительности к гидразидам феноксиуксусной кислоты: *F. sporotrichiella* var. *poae* > *F. oxysporum* v. *arth.* > *F. graminearum*, уровень которой зависел от концентрации данных производных. Наиболее активным соединением оказалось вещество III (хиноксалиновый гидразид феноксиуксусной кислоты), которое вызывало 2–3-кратное снижение скорости развития *F. sporotrichiella* var. *poae* в концентрации 1,0 мМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беккер З.Э. Физиология и биохимия грибов. — М., 1988. — 230 с.
2. Буга С.Ф., Артемова О.В., Ильюк А.Г. Особенности патогенеза колоса озимой пшеницы при инокуляции грибами *Fusarium* spp. // Вести Национальной Академии Наук Беларуси: Серия Аграрных Наук. — 2005. — № 4. — С. 45-48.
3. Горовой Л.Ф., Кошевский И.И. Препараты нового поколения для защиты растений // VI конференция «Защита растений» (Москва—Щелково, октябрь, 2001 г.): тез. докл. — М.: «ВНИРО», 2001. — С. 85-87.
4. Пересыпкин В.Ф. Сельскохозяйственная фитопатология. — М., 1992. — 245 с.
5. Рудаков В.О., Рудаков О.Л. Природа почвенных фитотоксикозов и проблема защиты растений // АГРО XXI. — 2009. — № 1 — 3. — С. 12-16.
6. Сэги Й. Почвенная микробиология. — М.: Мир, 1985. — 370 с.
7. Desjardins A.E., Hohn T.M. Mycotoxins in plant pathogenesis // Mol. Plant-Microbe Interact. — 1997. — 2. — P. 147-152.
8. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H. Compendium of soil fungi. London: Academic Press, 1992. — 590 p.
9. Guarro J., Llop C., Aguilar C. Comparison of *in vitro* antifungal susceptibilities of conidia and hyphae of filamentous fungi // Antimicrob. Agents Chemother. — 1997. — 41. — P. 2760-2762.



М.Ю. Русакова, Б.М. Галкін, Т.О. Філіпова, Л.М. Вострова, М.В. Гренадъорова

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, вул. Дворянська, 2,
Одеса, 65058, Україна, тел. 8 (0482) 635761, e-mail: rusamariya@yandex.ru

ФУНГІЦИДНА АКТИВНІСТЬ ГІДРАЗИДІВ ФЕНОКСІОЦТОВОЇ КИСЛОТИ ЩОДО ЗБУДНИКІВ ПРИКОРЕНЕВОЇ ГНИЛІ

Реферат

Вивчено фунгіцидну активність деяких гідразидів феноксиоцтової кислоти щодо *Fusarium oxysporum* v. *arth.*, *F. sporotrichiella* var. *poae* та *F. graminearum*. Під час дослідження було встановлено, що чутливість збудників прикореневої гнилі залежала від концентрації сполук, а також штама мікроорганізма. Найбільш активною виявилася сполука III (хіноксалиновий гідразид феноксиоцтової кислоти), яка спричиняла 2–3-кратне пригнічення росту *F. sporotrichiella* var. *poae*.

К л ю ч о в і с л о в а: гідразиди феноксиоцтової кислоти, *Fusarium* spp., фунгіцидна активність.

**М.Ю. Rusakova, B.N. Galkin, T.O. Filippova, L.M. Vostrova,
M.V. Grenadjorova**

I.I. Mechnykov Odesa National University, Dvoryanska str., 2, Odesa, 65058,
Ukraine, phone: 8 (0482) 635761, e-mail: rusamariya@yandex.ru

THE FUNGICIDAL ACTIVITY OF SOME PHENOXYACETIC ACID HYDRAZIDES WITH RESPECT TO ROOT ROT AGENTS

Summary

The fungicidal activity of some phenoxyacetic acid hydrazides with respect to *Fusarium oxysporum* v. *arth.*, *F. sporotrichiella* var. *poae* и *F. graminearum* was studied. The sensitivity of deuteromycetes that caused root rots to the substance action depended on the compound concentration and microorganism strain. The most active compound was derivative III (quinoxalin-hydrazide of phenoxyacetic acid) that inhibited *F. sporotrichiella* var. *poae* growth in 2–3 times.

К e y w o r d s: phenoxyacetic acid hydrazides, *Fusarium* spp., fungicidal activity.

