

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ *Stagonospora cirsii* S-47 ПРОТИВ ОСОТА ПОЛЕВОГО НА ПОСАДКАХ КАРТОФЕЛЯ

А.С. ГОЛУБЕВ ✉, Т.А. МАХАНЬКОВА, В.Г. ЧЕРНУХА, С.И. РЕДЮК,
П.И. БОРУШКО, А.С. ТКАЧ, Н.А. ПАВЛОВА, А.О. БЕРЕСТЕЦКИЙ

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) — одна из культур, на которой перспективно использование биологического метода борьбы с многолетними сорными растениями (например, с осотом полевым *Sonchus arvensis* L.) из-за недостаточного ассортимента химических гербицидов. Гриб *Stagonospora cirsii* J.J. Davis., будучи продуцентом гербицидных метаболитов, способен поражать растения осота полевого. В настоящей работе впервые показана возможность использования штамма *Stagonospora cirsii* S-47 для борьбы с осотом полевым в условиях мелкоделяночного опыта. Целью настоящего исследования стала оценка эффективности применения *Stagonospora cirsii* S-47 в виде измельченного мицелия против растений осота полевого на посадках картофеля в условиях полевого мелкоделяночного опыта. Полевые мелкоделяночные опыты проводили в течение вегетационных периодов 2020 и 2021 годов на опытном поле Всероссийского НИИ защиты растений (ФГБНУ ВИЗР, Ленинградская обл.). Опыты закладывали на посадках картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Невский, относящегося к группе среднеранних сортов. Почва участка — дерново-подзолистая, суглинистая, с содержанием гумуса в пахотном слое 3-4 %, pH 6,3. Обработка почвы осенью заключалась в проведении вспашки, а в весенний период участок дисковали, культивировали и нарезами борозды. Норма посадки клубней составляла 25 ц/га. Удобрения не вносили. Для исключения влияния нецелевых объектов на результаты опыта проводили фоновую обработку опытного участка гербицидом Гезагард, КС (2,0 л/га) (ООО «Сингента», Россия) до всходов растений картофеля. В работе использовали штамм *Stagonospora cirsii* S-47. Посевной материал получали посредством культивирования гриба в течение 3 сут в жидкой сахарозо-соевой питательной среде. Для выращивания биомассы *S. cirsii* S-47 использовали стеклянный ферментер с рабочим объемом 5 л («Applikon Biotechnology», Голландия). Ферментационную среду (4,8 л) инокулировали 200 мл посевной культуры. Через 6 сут сырую биомассу отделяли от культуральной жидкости, центрифугированием и взвешивали. К сырому мицелию добавляли 0,01 % раствор Tween 80 до концентрации 50 г/л и измельчали при помощи блендера в течение 1 мин. Обработку посадок картофеля проводили с помощью ручного ранцевого опрыскивателя RESISTENT 3610 («MESTO Spritzenfabrik Ernst Stockburger GmbH», Германия) в соответствии со схемой опыта. В качестве эталона использовали гербицид Агритокс, ВК (1,2 л/га; «Nufarm GmbH & Co KG», Австралия), содержащий 500 г/л МЦПА (2-метил-4-хлорфеноксисукусная кислота) в форме смеси диметиламинной, калиевой и натриевой солей. Схема опыта включала следующие варианты: 1 — *S. cirsii* S-47 (50 кг/га; расход рабочей жидкости 1000 л/га), 2 — *S. cirsii* S-47 (100 кг/га; 2000 л/га), 3 — *S. cirsii* S-47 + Агритокс, ВК (50 кг/га + 0,6 л/га; 1000 л/га), 4 — Агритокс, ВК (0,6 л/га; 300 л/га), 5 — Агритокс, ВК (1,2 л/га; 300 л/га), 6 — контроль (без обработки). Во время обработки высота ботвы растений картофеля составляла 10-15 см, а растения осота полевого находились в фазах от розетки до стеблевания, высотой не превышая 10 см. Учеты проводили количественно-весовым методом через 14 и 28 сут после обработки. Биологическую эффективность (БЭ) рассчитывали по отношению к необработанному контролю. Учет урожая картофеля осуществляли вручную с каждой делянки опыта. В отсутствие экстремальных погодных условий внесение 50 кг/га мицелия *S. cirsii* S-47 существенно (на 53,9-59,2 %) снижало массу растений осота полевого. Однако гриб, как правило, не обеспечивал полной гибели сорного растения, чем уступал гербициду Агритокс, ВК в дозе 0,6 л/га. Двукратное увеличение нормы применения *S. cirsii* S-47 приводило к усилению его действия на количество осота полевого в среднем на 13 %. Использование *S. cirsii* S-47 совместно с Агритокс, ВК (0,6 л/га) позволяло повысить эффективность обработки в среднем на 15 % по сравнению с самостоятельным применением гербицида. Это давало возможность сократить количество вносимого препарата в 2 раза без снижения эффективности подавления растений осота полевого. В 2020 году использование микробиологического и химического препаратов способствовало увеличению урожайности на 4,7-10,1 %. Статистически значимым ($p < 0,05$) было увеличение урожайности в вариантах с индивидуальным применением 100 кг/га мицелия *S. cirsii* S-47 и 1,2 л/га гербицида Агритокс, ВК. В 2021 году в обработанных вариантах урожайность увеличилась на 6,8-8,3 %, однако статистически значимых различий между опытными вариантами и контролем выявлено не было. Для обеспечения максимального эффекта от использования микогербицида его не следует применять в засушливых условиях (при недостатке увлажнения и высоких температурах).

Ключевые слова: микогербицид, *Stagonospora cirsii*, картофель, *Sonchus arvensis*, МЦПА, 2-метил-4-хлорфеноксисукусная кислота.

Развитие биологического метода борьбы с вредными организмами — важнейшее направление совершенствования защиты растений последних десятилетий. Однако кроме очевидных успехов, которых удалось добиться в отношении использования энтомофагов в тепличном растениеводстве, а также продуктов микроорганизмов, составляющих основу инсектицидных и фунгицидных препаратов, приходится признать некоторое отставание, связанное с применением этого метода в борьбе с сорными растениями (1). Для развития этого направления необходимы испытания новых разработок с учетом потребностей рынка и сложившегося к настоящему времени ассортимента гербицидов. На наш взгляд, картофель (*Solanum tuberosum* L.) — это одна из наиболее перспективных культур для практического внедрения на ее посадках биологических и биорациональных гербицидов. Она широко возделывается и востребована у населения Российской Федерации, а на рынке представлено значительное количество химических средств защиты этой культуры (2).

Современный ассортимент гербицидов для защиты картофеля от сорных растений может быть условно разделен на группы в зависимости от вредных объектов, с которыми они позволяют бороться. Узко специфичные противозлаковые гербициды на основе клетодима, квизалофоп-П-тефурила, флуазифоп-П-бутила и хизалофоп-П-этила позволяют эффективно контролировать однолетние и многолетние злаковые сорняки в посадках картофеля (3, 4). К самой многочисленной группе относятся препараты, предназначенные для борьбы с однолетними двудольными и однолетними злаковыми сорными растениями, на основе метрибузина, прометрина, просульфокарба, флуорохлоридона, кломазона и диквата (5-10). Наиболее широким спектром действия обладают препараты на основе римсульфуруна. Они могут оказывать влияние как на однолетние и многолетние злаковые, так и на некоторые двудольные виды сорных растений (11, 12).

Анализ ассортимента современных средств защиты картофеля от сорняков позволяет сделать вывод о том, что вакантным направлением для внедрения в него биопрепаратов остается контроль многолетних корнеотпрысковых сорных растений, таких как осот полевой *Sonchus arvensis* L. и бодяк полевой *Cirsium arvense* (L.) Scop. (2).

Обычно для борьбы с такими видами применяют гербициды на основе глифосата (13), но использование этих препаратов возможно лишь в послеуборочный период (в конце лета или осенью) на полях, предназначенных под посадку картофеля, или после посадки (за 2-5 сут до появления всходов культуры). То есть это превентивная мера, что не вполне соответствует современным представлениям об экологическом направлении развития защиты растений. В настоящее время также необходимо принимать во внимание ограничения в использовании глифосата (14).

В связи с этим представляется актуальной разработка биологических средств борьбы с многолетними двудольными сорными растениями, в частности с осотом полевым, в посадках картофеля.

Для борьбы с сорными растениями могут быть использованы их патогены либо разнообразные природные фитотоксины (15, 16). Например, для подавления корнеотпрысковых сорных растений бодяка полевого и осота полевого перспективны штаммы гриба *Stagonospora cirsii* J.J. Davis, выделенные из соответствующих растений-хозяев, и его фитотоксины (17, 18). Однако полевые испытания их эффективности еще не проводились.

В лабораторных опытах было показано, что измельченный глубинный мицелий *S. cirsii* С-163 более эффективно заражает листья бодяка

полевого, чем конидии (19). Была подобрана жидкая питательная среда с использованием соевой муки в качестве источника азота и установлена длительность культивирования этого гриба, которые позволяют значительно повысить патогенность мицелия (20, 21).

Установлено, что штаммы *S. cirsii* С-163 и S-47 служат продуцентами фитотоксичных десятичленных лактонов стагонолида А и гербарумина I в технологически значимых количествах. Предположительно они отвечают за гербицидную активность *S. cirsii* (22, 23). В качестве вероятного механизма действия стагонолида А рассматривается ингибирование фотосинтеза у чувствительных растений (24), тогда как гербарумин I предположительно ингибирует фосфодиэстеразу цАМФ (25).

В настоящей работе впервые показана возможность использования штамма *Stagonospora cirsii* S-47 для борьбы с осотом полевым в условиях мелкоделяночного опыта.

Целью настоящего исследования стала оценка эффективности применения *Stagonospora cirsii* S-47 в виде измельченного мицелия против растений осота полевого на посадках картофеля.

Методика. Полевые мелкоделяночные опыты проводили в течение вегетационных периодов 2020 и 2021 годов на опытном поле Всероссийского НИИ защиты растений (ФГБНУ ВИЗР, Ленинградская обл.; 59,74 'N, 30,42 'E).

Опыты закладывали на посадках картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Невский, относящегося к группе среднеранних сортов, с товарной урожайностью 380-500 ц/га. Почва участка была типичной для Северо-Западного региона — дерново-подзолистая, суглинистая, с содержанием гумуса в пахотном слое 3-4 %, рН 6,3. Обработка почвы осенью заключалась в проведении вспашки, а в весенний период участок дисковали, культивировали и нарезали борозды. Норма посадки клубней составляла 25 ц/га. Удобрения не вносили.

Для исключения влияния нецелевых объектов на результаты опыта до всходов растений картофеля проводили фоновую обработку опытного участка гербицидом Гезагард, КС (2,0 л/га) (ООО «Сингента», Россия) против однолетних двудольных и злаковых сорняков.

В работе использовали штамм *S. cirsii* S-47 из коллекции лаборатории фитотоксикологии и биотехнологии ВИЗР. Штамм хранили в пробирках на скошенном картофельно-глюкозном агаре при 4 °С. Для глубинного культивирования *S. cirsii* применяли жидкую сахарозо-соевую питательную среду (СС) следующего состава: сахароза — 60 г/л, соевая мука — 15 г/л, K₂HPO₄ — 1 г/л, MgSO₄ · 7H₂O — 0,5 г/л, KCl — 0,5 г/л, рН 6,0. Посевной материал получали посредством культивирования гриба на среде СС в течение 3 сут в конических колбах объемом 500 мл с 100 мл среды на орбитальной качалке при 180 об/мин и 24 °С. Для выращивания биомассы *S. cirsii* S-47 использовали стеклянный ферментер с рабочим объемом 5 л («Applikon Biotechnology», Голландия) с системой управления процессами ez-Control и программным обеспечением BioXpert. Ферментационную среду (4,8 л) инокулировали 200 мл посевной культуры, полученной на среде СС. Параметры ферментации были следующими: температура — 24 °С, скорость подачи воздуха — 5 л/мин, скорость перемешивания — 200 об/мин в течение 2 сут и 400 об/мин до завершения процесса ферментации. Пеногаситель (рафинированное подсолнечное масло, 1 % от объема среды) добавляли в среду до посева гриба. Через 6 сут культивирования сырую биомассу отделяли от культуральной жидкости центрифугированием при 4000 об/мин

(центрифуга SL40, «Thermo FS», США) и взвешивали. Выход сырой биомассы составил примерно 200 г/л. К сырому мицелию добавляли 0,01 % раствор Tween 80 до концентрации 50 г/л и измельчали при помощи блендера (МахоМихх, «Bosch», Германия) в течение 1 мин. До начала эксперимента измельченный биоматериал хранили без потери жизнеспособности 5 сут при 5 °С.

Обработку посадок картофеля проводили с помощью ручного ранцевого опрыскивателя RESISTENT 3610 («MESTO Spritzenfabrik Ernst Stockburger GmbH», Германия) в соответствии со схемой опыта. Для полного покрытия растений препаратом и обеспечения достаточной влаги для заражения осота полевого использовали повышенную норму расхода жидкости — 2000 л/га (100 кг сырого мицелия/га). Для применения совместно с гербицидом расход жидкости и норму применения препарата снижали до 1000 л/га (50 кг мицелия/га).

В качестве эталона использовали гербицид Агритокс, ВК (1,2 л/га; «Nufarm GmbH & Co KG», Австралия), содержащий 500 г/л МЦПА (2-метил-4-хлорфеноксиуксусная кислота) в форме смеси диметиламинной, калиевой и натриевой солей. Выбор эталона был обусловлен тем, что это действующее вещество используют в борьбе с вредными двудольными сорняками (в том числе многолетними корнеотпрысковыми, к которым относится осот полевой) на сенокосных угодьях и пастбищах, и оно уже было задействовано в качестве эталона в опытах с микрогербицидами (26, 27). Важная особенность гербицида Агритокс, ВК заключается в том, что на посадках картофеля полной гибели осота от этого гербицида, как правило, не наблюдается (ввиду меньшей нормы применения, обусловленной разрешенным регламентом). Это дало возможность не создавать слишком жесткие условия для оценки биопрепарата, поскольку использование патогенов в борьбе с сорными растениями в реальных полевых условиях по эффективности, как правило, существенно уступает применению химического метода. Компенсировать этот недостаток позволяет совместное использование биологического и химического методов. Такая технология предполагает комплексное внесение патогенов с гербицидами, для чего необходимо проведение опытов по их совместному внесению в полевых условиях. Руководствуясь таким подходом, мы дополнили схему опыта вариантом с применением 50 кг/га *Stagonospora cirsi* в баковой смеси с 0,6 л/га гербицида Агритокс, ВК.

В целом схема опыта включала следующие варианты: 1 — *S. cirsi* S-47 (50 кг/га; расход рабочей жидкости 1000 л/га), 2 — *S. cirsi* S-47 (100 кг/га; 2000 л/га), 3 — *S. cirsi* S-47 + Агритокс, ВК (50 кг/га + 0,6 л/га; 1000 л/га), 4 — Агритокс, ВК (0,6 л/га; 300 л/га), 5 — Агритокс, ВК (1,2 л/га; 300 л/га), 6 — контроль (без обработки).

Через 14 сут после обработки проводили реинокуляцию фитопатогена в чистую культуру, чтобы убедиться, что симптомы поражения вызваны *S. cirsi*, а не природной инфекцией. Во время обработки высота ботвы растений картофеля составляла 10-15 см, а растения осота полевого находились в фазах от розетки до стеблевания, высотой не превышая 10 см. Учеты проводили количественно-весовым методом через 14 и 28 сут после обработки, на четырех учетных площадках размером 0,25 м² на каждой делянке опыта в соответствии с «Методическими указаниями по регистрационным испытаниям гербицидов в сельском хозяйстве» (28) и «Методическими рекомендациями по проведению регистрационных испытаний гербицидов» (29).

Биологическую эффективность (БЭ) рассчитывали по формуле:

$$\text{БЭ} = (K - O) / K \times 100 \%,$$

где К — число (сырая масса) растений осота полевого в контроле, экз/м² (г/м²); О — число (сырая масса) растений осота полевого в варианте с обработкой, экз/м² (г/м²).

Учет урожая картофеля осуществляли вручную с каждой деланки опыта.

Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Excel. На основании полученных данных вычисляли среднее значение выборки (*M*) и стандартное отклонение средней (\pm SEM). Данные об урожае обрабатывали однофакторным дисперсионным анализом (критерий *F*) с расчетом НСР₀₅.

Результаты. Метеорологические условия в оба года проведения опытов в целом были более жаркими и засушливыми по сравнению со среднемноголетними (табл. 1). Однако в 2020 году температура воздуха в вегетационный период оказалась лишь на 7 % выше среднемноголетнего значения, а влажность воздуха — на 8 % ниже. Показатели в 2021 году отличались от среднемноголетних значений сильнее: температура была выше на 21 %, влажность воздуха — ниже на 16 %, количество осадков — ниже на 23 %. Все это оказало непосредственное влияние на результаты опытов: действие *S. cirsii* S-47 на растения осота полевого в первый год было значительно более сильным, чем во второй.

1. Метеорологические условия в период проведения опытов по оценке эффективности применения мицелия *Stagonospora cirsii* S-47 против растений осота полевого (*Sonchus arvensis* L.) на посадках картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Невский (Ленинградская обл.)

Показатель	Месяцы и декады											
	май			июнь			июль			август		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Температура воздуха, С:												
средняя многолетняя	8,5	11,1	12,3	14,3	15,7	16,6	17,3	17,8	17,9	17,2	16,0	14,4
2020 год	9,1	6,5	11,8	16,1	19,8	20,1	17,1	17,4	16,6	18,2	16,0	16,1
2021 год	5,7	17,6	11,4	18,0	19,8	24,2	23,4	24,2	19,6	17,3	18,0	13,9
Осадки, мм:												
средние многолетние	10,3	12,2	14,7	13,8	17,0	24,5	22,1	21,2	22,7	24,2	20,4	24,8
2020 год	7,0	27,6	8,8	13,6	8,5	10,0	17,6	5,3	43,9	15,5	0,3	78,7
2021 год	45,0	40,9	38,1	0,0	5,8	19,6	7,9	10,1	25,9	87,4	51,6	27,2
Влажность воздуха, %:												
средняя многолетняя	67	73	71	66	68	71	72	74	76	77	79	82
2020 год	58	68	52	68	62	56	70	67	75	73	67	77
2021 год	73	60	69	51	55	61	52	54	59	74	71	80

В оба года предшественником для картофеля был участок под паром, что позволило выполнять опыты при существенной засоренности осотом полевым: число растений этого вида при отсутствии обработок достигало 24 экз/м² в 2020 году и 32 экз/м² в 2021 году.

Через 4 сут после обработки опытного участка препаратами начинало проявляться действие *S. cirsii* S-47. На начальном этапе на листьях сорных растений появлялись округлые пятна желтого и бурого цвета. С течением времени число пятен увеличивалось, и они сливались, охватывая край листовой пластинки, что приводило к отмиранию листьев (рис. 1, А). Вследствие такого действия *S. cirsii* S-47 уменьшение массы растений осота по отношению к контролю было более выраженным, чем снижение числа сорных растений, что подтвердилось результатами учетов, проведенных позднее (через 14 и 28 сут).

Визуально различимые симптомы действия химического препарата на основе МЦПА на растения осота полевого обнаруживали позднее, на 7-10-е сут после обработки. Они заключались в поражении точек роста и скручивании верхних частей стеблей. Поврежденные МЦПА растения осота

заметно отставали в росте от растений в контроле. Среди последних к первому учету массы обнаруживались экземпляры, достигшие фазы бутонизации и цветения (см. рис. 1, Б).

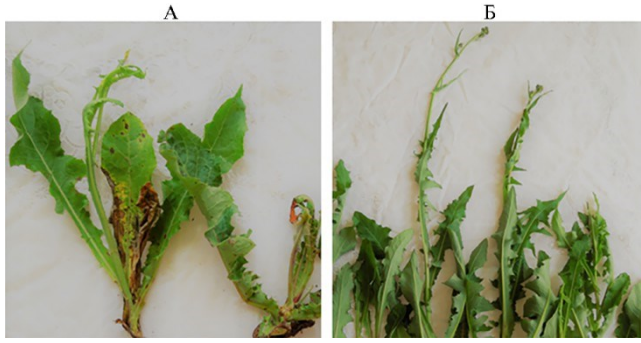


Рис. 1. Растения осота полевого (*Sonchus arvensis* L.) в посадках картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Невский через 14 сут после проведения защитных мероприятий: А — *Stagonospora cirsii* (50 кг/га) + Агритокс, ВК (0,6 л/га); Б — контроль (без обработки) (Ленинградская обл., 14 июля 2020 года; мелкоделаяночные опыты).

Фитоэкспертиза отобранных листьев показала, что из пораженных листьев *Stagonospora cirsii* реизолировался, а из контрольных — нет.

Результаты учетов, выполненных нами в оба года исследований, продемонстрировали снижение ($p < 0,05$) числа и массы растений осота полевого во всех вариантах опытов по сравнению с необработанным контролем (табл. 2). Исключением оказалось только

число растений осота через 28 сут после обработки 50 кг/га *S. cirsii* S-47 в 2020 году.

В условиях вегетационного периода 2020 года применение 50 кг/га *S. cirsii* S-47 обеспечивало биологическую эффективность по снижению массы растений осота полевого на 53,9–59,2 % и числа экземпляров этого сорного растения — на 37,5–39,1 % (см. табл. 2). Действие 50 кг/га *S. cirsii* S-47 на массу сорных растений было сопоставимо с биологической эффективностью гербицида Агритокс, ВК в количестве 0,6 л/га, но уступало эталону при сравнении числа растений осота полевого.

2. Биологическая эффективность (БЭ) измельченного мицелия *Stagonospora cirsii* S-47 против растений осота полевого (*Sonchus arvensis* L.) на посадках картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Невский ($M \pm SEM$, $N = 4$; Ленинградская обл., 2020–2021 годы; мелкоделаяночные опыты)

Вариант	Время после обработки, сут	Число растений осота полевого				Масса растений осота полевого			
		экз/м ²		БЭ, %		г/м ²		БЭ, %	
		2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021
1-й	14	14±3,0	24±1,9	39,1	20,0	173,2±64,0	265,0±104,3	59,2	43,5
	28	15±3,9 ^a	25±1,2	37,5	21,9	244,2±58,6	453,2±142,1	53,9	44,0
2-й	14	12±1,9	19±2,9	47,8	36,7	158,4±34,0	105,4±21,0	62,6	77,5
	28	11±2,2	21±3,5	54,2	34,4	179,9±34,5	243,0±51,6	66,0	70,0
3-й	14	11±1,2	22±3,0	52,2	26,7	134,1±31,2	247,9±70,5	68,4	47,1
	28	11±3,9	18±4,0	54,2	43,8	128,7±29,1	242,4±88,5	75,7	70,1
4-й	14	12±2,7	23±2,2	47,8	23,3	199,7±58,7	229,7±64,1	52,9	51,0
	28	11±2,2	22±3,0	54,2	31,3	229,9±20,4	326,0±63,4	56,6	59,8
5-й	14	11±2,2	15±3,5	52,2	50,0	150,6±16,7	110,3±35,2	64,5	76,5
	28	10±3,0	16±3,8	58,3	50,0	192,4±53,4	203,3±75,8	63,7	74,9
6-й (контроль)	14	23±4,8	30±3,0			424,0±20,4	469,0±61,4		
	28	24±7,3	32±1,9			529,8±184,4	810,0±56,1		

Примечание. Описание вариантов опыта см. в разделе «Методика». Размер учетных площадок — 0,25 м². Во всех вариантах обработок различия с контролем (кроме значения, отмеченного буквой ^a) были статистически значимыми ($p < 0,05$), достоверные различия между вариантами обработок отсутствовали.

Двукратное увеличение нормы применения микогербицида способствовало повышению его БЭ по действию на количество растений осота полевого в среднем на 13 %, по действию на массу — на 8 %, что было сопоставимо с эффективностью 1,2 л/га гербицида Агритокс, ВК.

Использование 50 кг/га мицелия *S. cirsii* S-47 в смеси с 0,6 л/га

препарата Агритокс, ВК было эффективнее, чем применение микогербицида в чистом виде, в среднем на 15 % (по действию и на число, и на массу сорных растений). В этом варианте снижение числа растений осота полевого через 28 сут после обработки составляло 54,2 % (как и в вариантах с раздельным использованием 100 кг/га *S. cirsii* S-47 и 0,6 л/га гербицида Агритокс, ВК), тогда как снижение массы сорных растений достигало 75,7 %, что было выше БЭ при применении 0,6 л/га гербицида в чистом виде.

В экстремально жарких и засушливых условиях вегетационного сезона 2021 года микогербицид слабее действовал на растения осота полевого (см. табл. 2). При норме применения 50 кг/га в чистом виде он снижал их число на 20,0–21,9 %, массу — менее чем на 44 %, что мало отличалось от БЭ гербицида Агритокс, ВК, использованного в количестве 0,6 л/га. Увеличение нормы применения *S. cirsii* S-47 до 100 кг/га значительно повышало его эффективность: по действию на число сорных растений — до 36,7–37,5 %, по действию на их массу — до 70,0–77,5 %. Такую же БЭ отмечали у препарата Агритокс, ВК при норме применения 1,2 л/га.

Баковая смесь 50 кг/га мицелия *S. cirsii* S-47 с 0,6 л/га Агритокс, ВК действовала на растения осота полевого постепенно. При первом учете через 2 нед после обработки показатели снижения числа и массы сорных растений статистически соответствовали БЭ при раздельном использовании 50 кг/га мицелия *S. cirsii* S-47 и 0,6 л/га гербицида. Через 4 нед после обработки эффективность баковой смеси повысилась до БЭ от применения 100 кг/га *S. cirsii* S-47 и 1,2 л/га гербицида в чистом виде.

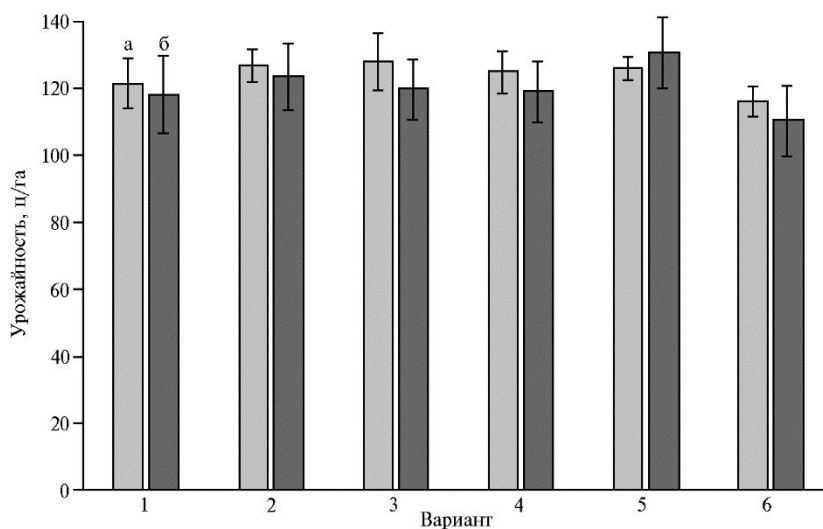


Рис. 2. Урожайность картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Невский после проведения защитных мероприятий против растений осота полевого (*Sonchus arvensis* L.) в 2020 (а) и 2021 годах (б): 1 — обработка *Stagonospora cirsii* S-47 (50 кг/га; расход рабочей жидкости 1000 л/га), 2 — *S. cirsii* S-47 (100 кг/га; 2000 л/га), 3 — *S. cirsii* S-47 + Агритокс, ВК (50 кг/га + 0,6 л/га; 1000 л/га), 4 — Агритокс, ВК (0,6 л/га; 300 л/га), 5 — Агритокс, ВК (1,2 л/га; 300 л/га), 6 — контроль (без обработки). НСР₀₅ 2020 год = 16,0 ц/га, НСР₀₅ 2021 год = 26,4 ц/га ($M \pm SEM$, $N = 4$, размер учетных площадок — 0,25 м²; Ленинградская обл., 2020–2021 годы; мелколдольные опыты).

Несмотря на подавление растений осота полевого и проведение фоновой обработки против других видов однолетних двудольных и злаковых сорных растений, растения картофеля не смогли полностью реализовать по-

тенциал урожайности, предусмотренный сортовыми характеристиками, в первую очередь из-за существенного зарастания опытного участка однолетними сорняками к концу вегетационного периода. Тем не менее в условиях 2020 года в свободном от обработок контроле урожайность картофеля составила 116,0 ц/га (рис. 2). Использование микробиологического и химического препаратов способствовало увеличению урожайности культуры на 4,7-10,1 %. Статистически значимым ($p < 0,05$) было увеличение урожайности в вариантах с применением 100 кг/га мицелия *S. cirsii* S-47 и 1,2 л/га гербицида Агритокс, ВК по отдельности. В 2021 году урожайность картофеля в контроле составила 110,5 ц/га. В обработанных вариантах она увеличилась на 6,8-8,3 %, однако статистически значимых различий между опытными вариантами и контролем выявлено не было.

Полученные результаты позволяют предположить, что *S. cirsii* S-47 представляет определенный интерес для разработки на его основе микогербицида против осота полевого в посадках картофеля. При этом, как и зарубежные исследователи, мы получили данные, свидетельствующие о предпочтительности использования агента биологического контроля в сочетании с химической обработкой (30-33). В наших опытах совместное использование микробиологического и химического препаратов позволило двукратно снизить норму применения гербицида Агритокс, ВК, содержащего 500 г/л МЦПА, без потери его эффективности. Это особенно важно в условиях кислых почв, распространенных на северо-западе Российской Федерации. Установлено, что деградация МЦПА в кислых почвах затруднена (34), что усугубляет неблагоприятное воздействие использования этого действующего вещества на окружающую среду, а в перспективе может приводить к ингибированию развития растений, усилению токсичности почвы и загрязнению поверхностных и грунтовых вод (35, 36).

Важным результатом проведенных исследований также было выявленное нами снижение эффективности *Stagonospora cirsii* в условиях сухой и жаркой погоды. Ранее аналогичные тенденции отмечали зарубежные исследователи в отношении *Phoma herbarum* Westend, *Sclerotinia minor* Jagger, *Phytophthora palmivora* Butler и *Colletotrichum gloeosporioides* Penzig (37-39).

Таким образом, в отсутствие экстремальных погодных условий внесение 50 кг/га мицелия *Stagonospora cirsii* S-47 существенно (на 53,9-59,2 %) снижало массу растений осота полевого в посадках картофеля сорта Невский. Однако гриб, как правило, не обеспечивал полной гибели сорного растения, чем уступал гербициду Агритокс, ВК в дозе 0,6 л/га. Двукратное увеличение нормы применения *S. cirsii* S-47 приводило к усилению его действия на число растений осота полевого в среднем на 13 %. Использование *S. cirsii* S-47 совместно с 0,6 л/га Агритокс, ВК позволило повысить эффективность обработки по действию и на число, и на массу растений осота полевого в среднем на 15 % по сравнению с применением только гербицида (без *S. cirsii* S-47). Это давало возможность сократить количество вносимого препарата в 2 раза без снижения эффективности подавления растений осота полевого. Прибавки урожайности картофеля сорта Невский после осуществления защитных мероприятий составляли от 4,7 до 10,1 %. Эффективность *S. cirsii* S-47 находилась в сильной зависимости от погодных условий в период проведения опыта, особенно во время обработки. Для обеспечения максимального эффекта от использования микогербицида его не следует применять в засушливых условиях (при недостатке увлажнения и высоких температурах).

EFFICACY OF *Stagonospora cirsii* S-47 AGAINST PERENNIAL SOWTHISTLE IN POTATO CROPS

A.S. Golubev ✉, T.A. Makhankova, V.G. Chernukha, S.I. Redyuk, P.I. Borushko,
A.S. Tkach, N.A. Pavlova, A.O. Berestetskiy

All-Russian Research Institute of Plant Protection, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail
golubev100@mail.ru (✉ corresponding author), mahankova@icZR.ru, pitergrad@list.ru, rostoks9090@mail.ru,
linarushko@yandex.ru, andrew_tka4@mail.ru, n.pavlova@vizr.spb.ru, aberestetskiy@vizr.spb.ru

ORCID:

Golubev A.S. orcid.org/0000-0003-0303-7442

Borushko P.I. orcid.org/0000-0002-4020-7669

Makhankova T.A. orcid.org/0000-0001-6924-8053

Tkach A.S. orcid.org/0000-0001-7235-1596

Chernukha V.G. orcid.org/0000-0003-4610-5329

Pavlova N.A. orcid.org/0000-0002-8356-4543

Redyuk S.I. orcid.org/0000-0001-9886-0735

Berestetskiy A.O. orcid.org/0000-0002-0612-6996

The authors declare no conflict of interests

Final revision received February 15, 2023

doi: 10.15389/agrobiology.2023.3.447eng

Accepted May 26, 2023

Abstract

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is a crop that needs biological control of perennial weeds (for example, perennial sowthistle *Sonchus arvensis* L.) due to the insufficient assortment of post-emergent chemical herbicides. The fungus *Stagonospora cirsii* J.J. Davis from the VIZR culture collection (All-Russian Institute of Plant Protection), being a producer of herbicidal metabolites, is able to infect *Sonchus arvensis* plants. In the present work, the possibility of using strain *Stagonospora cirsii* S-47 to control perennial sowthistle in small-scale field experiments was shown for the first time. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of the use of *Stagonospora cirsii* S-47 in the form of chopped mycelium against perennial sowthistle on potato plantings in small-scale field trials. The trials were conducted during the growing seasons of 2020 and 2021 at the experimental field of the All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR, Leningrad Province). Experiments were conducted on plantings of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) of Nevsky variety belonging to the medium-early group. Soil of the experimental site is sod-podzolic, loamy, with a humus content in the arable layer of 3–4 %, pH 6.3. The soil was ploughed in the autumn, and in the spring, the site was disked, cultivated, and furrows were cut. The planting rate of tubers was 25 per ha. Fertilizers were not applied. To exclude the influence of non-target objects on the results of the experiments, the treatment of the experimental plots with the herbicide Gezagard (2.0 l/ha) (OOO Syngenta, Russia) was carried out before the emergence of potato plants. The starter inoculate of *Stagonospora cirsii* S-47 was obtained by culturing the fungus for 3 days in liquid sucrose-soybean meal nutrient medium. The biomass was grown in a glass fermenter with a working volume of 5 l (Applikon Biotechnology, the Netherlands). The fermentation medium (4.8 l) was inoculated with 200 ml of the starter culture. After 6 days, the raw biomass was separated from the culture liquid by centrifugation (4000 rpm, SL40, Thermo FS, USA) and weighed. A 0.01 % solution of Tween 80 was added to the raw mycelium to a concentration of 50 g/l, and the mycelium was chopped with a blender (MaxoMixx, Bosch, Germany) for 1 min. Potato plantings were treated using a Mesto RESISTENT 3610 manual knapsack sprayer (MESTO Spritzenfabrik Ernst Stockburger GmbH, Germany) in accordance with the experimental scheme. The herbicide Agritox (1.2 l/ha; Nufarm GmbH & Co. KG, Australia) containing 500 g/l MCPA (2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid) in the form of a mixture of dimethylamine, potassium and sodium salts was used as a standard. We used the treatments: 1 — *S. cirsii* S-47 (50 kg/ha; working fluid consumption was 1000 l/ha), 2 — *S. cirsii* S-47 (100 kg/ha; 2000 l/ha), 3 — *S. cirsii* S-47 + Agritox (50 kg/ha + 0.6 l/ha; 1000 l/ha), 4 — Agritox (0.6 l/ha; 300 l/ha), 5 — Agritox (1.2 l/ha; 300 l/ha), 6 — untreated control. During the treatments, the height of potato plants was 10–15 cm, and perennial sowthistle plants were in the stages from rosette to stalking, not exceeding 10 cm in height. The counts were performed on day 14 and day 28 after treatment by quantitative weight method. Biological efficacy (BE) was calculated vs. untreated control. Potato tubers were harvested manually from each plot to quantify the yield. In the absence of extreme weather conditions, the application of 50 kg/ha of *S. cirsii* mycelium significantly (by 53.9–59.2 %) reduced the weight of perennial sowthistle plants. However, the fungus did not completely eliminate the weed and was less effective than the herbicide Agritox at a dose of 0.6 l/ha. A twofold increase in the rate of application of *S. cirsii* led to an increase in its

effect on the number of perennial sowthistle by 13 % on average. The use of *S. cirsi* in combination with Agritox (0.6 l/ha) improved treatment efficiency by an average of 15 % compared to the use of the herbicide alone. This made it possible to reduce the amount of the applied chemical by half without reducing the effectiveness of perennial sowthistle suppression. In 2020, the use of microbiological and chemical products contributed to an increase in crop yield by 4.7-10.1 %. The statistically significant ($p < 0.05$) increase in crop yield was with an individual application of 100 kg/ha of *S. cirsi* S-47 mycelium and 1.2 l/ha of herbicide Agritox. In 2021, the crop yield from the treated plots increased by 6.8-8.3 %, however there were no statistically significant differences between the treatments and the untreated control. To ensure maximum effect from the mycoherbicide, it should not be used in dry conditions (with a lack of moisture and high temperatures).

Keywords: mycoherbicide, *Stagonospora cirsi*, potato, *Sonchus arvensis*, MCPA, 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid.

REFERENCES

1. Duke S.O., Pan Z., Bajsa-Hirschel J., Boyette C.D. The potential future roles of natural compounds and microbial bioherbicides in weed management in crops. *Adv. Weed Sci.*, 2022, 40(spe1): e020210054 (doi: 10.51694/AdvWeedSci/2022;40:seventy-five003).
2. Golubev A.S., Berestetskiy A.O. Future directions for use of biological and biorational herbicides in Russia (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2021, 56(5): 868-884 (doi: 10.15389/agrobio.2021.5.868rus).
3. Ivany J.A., Sanderson J.B. Quackgrass (*Elytrigia repens*) control in potatoes (*Solanum tuberosum*) with clethodim. *Phytoprotection*, 2003, 84(1): 27-35 (doi: 10.7202/007442ar).
4. Hoogar R., Jayaramaiah R., Bhairappanavar S.T., Tambat B., Pramod, G. Effect of different pre and post emergent herbicides on growth and yield of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Int. J. Pure App. Biosci.*, 2017, 5(5): 1030-1034 (doi: 10.18782/2320-7051.5847).
5. Kalkhoran E.S., Alebrahim M.T., Abad H.R.M.C., Streibig J.C., Ghavidel A., Tseng T.-M.P. The joint action of some broadleaf herbicides on potato (*Solanum tuberosum* L.) weeds and photosynthetic performance of potato. *Agriculture*, 2021, 11(11): 1103 (doi: 10.3390/agriculture11111103).
6. Fonseca L.F., Luz J.M., Duarte I.N., Wangen D.R. Weeds control with herbicides applied in pre-emergence in potato cultivation. *Biosci. J.*, 2018, 34(2): 279-286 (doi: 10.14393/BJ-V34N2A2018-38261).
7. Gitsopoulos T., Damalas C., Georgoulas I. Herbicide mixtures for control of water smartweed (*Polygonum amphibium*) and wild buckwheat (*Polygonum convolvulus*) in potato. *Weed Technology*, 2014, 28(2): 401-407 (doi: 10.1614/WT-D-13-00166.1).
8. Jovović Z., Popović T., Velimirović A., Milić V., Dolijanović Ž., Šilj M., Poštić D. Efficacy of chemical weed control in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Agroznanje*, 2013, 14(4): 487-495 (doi: 10.7251/AGREN1304487J).
9. Baranowska A., Mystkowska I., Zarzecka K., Gugala M. Efficacy of herbicides in potato crop. *J. Ecol. Eng.*, 2016, 17(1): 82-88 (doi: 10.12911/22998993/61194).
10. Wei L. A new herbicide flurochloridone in potato field on Qinghai Plateau: application and safety. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(9): 149-154.
11. Khatami A., Al-e-Ebrahim M., Mohebodini M., Majd R. Evaluating rimsulfuron efficiency on controlling weeds in potato at different growth stages. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 2017, 31(1): 152-165 (doi: 10.22067/jpp.v31i1.58418).
12. Hajjaj B., El Oualkadi A. Evaluation of the effect of rimsulfuron and linuron on weed infestation and potato yield. *International Journal of Environment Agriculture and Biotechnology*, 2019, 4(4): 1092-1095 (doi: 10.22161/ijeab.4430).
13. Redyuk S.I. *Vestnik zashchity rasteniy*, 2017, 2(92): 55-58 (in Russ.).
14. Golubev A.S., Makhan'kova T.A. *Novye i netraditsionnye rasteniya i perspektivy ikh ispol'zovaniya*, 2018, 13: 504-506.
15. Berestetskiy A.O. *Vestnik zashchity rasteniy*, 2017, 91(1): 5-12 (in Russ.).
16. Berestetskiy A. Development of mycoherbicides. In: *Encyclopedia of mycology*. O. Zaragoza, A. Casadevall (eds.). Elsevier, 2021.
17. Berestetskiy A.O., Kashina S.A., Sokornova S.V. *Shtamm griba Stagonospora cirsi Davis 1.41, obladayushchiy gerbitsidnoy aktivnost'yu protiv bodyaka polevogo. Vserossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy institut zashchity rasteniy (RF). Zayavl. 07.05.13. № 2515899C1. Opubl. 20.05.2014* [The fungus strain *Stagonospora cirsi* Davis 1.41, which has herbicidal activity against the wild thistle. All-Russian Research Institute of Plant Protection (RF). Appl. 05/07/13. № 2515899C1. Publ. 05/20/2014] (in Russ.).
18. Berestetskiy A.O., Dalinova A.A., Dubovik V.R. *Shtamm griba Stagonospora cirsi G-51 VIZR — produtsent gerbarumina I i stagonolida A. Vserossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy institut zashchity*

- rasteniy (RF). Zayavl. 28.12.18. № 2701817[EK1] S1. Opubl. 01.10.2019 [Stagonospora cirsi strain G-51 VIZR is a producer of herbarumin I and stagonolide A. All-Russian Research Institute of Plant Protection (RF). Appl. 12/28/18. № 2701817[EK1] S1. Publ. 10/01/2019] (in Russ.).
19. Sokornova S.V., Khyutti A.V., Berestetskiy A.O. *Vestnik zashchity rasteniy*, 2011, 3: 53-57 (in Russ.).
 20. Sokornova S.V., Berestetskiy A.O. Liquid fermentation of *Stagonospora cirsi* C-163, a potential mycoherbicide for *Cirsium arvense* (L.) Scop. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2018, 53(5): 1054-1061 (doi: 10.15389/agrobiology.2018.5.1054eng).
 21. Frolova G.M., Kotlova E.R., Sokornova S.V., Senik S.V., Shavarda A.L., Misharev A.D., Berestetskiy A.O. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2021, 57(2): 152-162 (doi: 10.31857/S0555109921020033) (in Russ.).
 22. Yuzikhin O., Mitina G., Berestetskiy A. Herbicidal potential of stagonolide, a new phytotoxic nonenolide from *Stagonospora cirsi*. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55(19): 7707-7711 (doi: 10.1021/jf070742c).
 23. Dalinova A., Dubovik V., Petrova M., Berestetskiy A., Chisty L., Kochura D., Ivanov A., Smirnov S., Zolotarev A., Evidente A. Stagonolides J and K and stagochromene A, two new natural substituted nonenolides and a new disubstituted chromene-4,5-dione isolated from *Stagonospora cirsi* S-47 proposed for the biocontrol of *Sonchus arvensis*. *J. Agric. Food Chem.*, 2019, 67(47): 13040-13050 (doi: 10.1021/acs.jafc.9b04573).
 24. Berestetskiy A., Dmitriev A., Mitina G., Lisker I., Andolfi A., Evidente A. Nonenolides and cytochalasins with phytotoxic activity against *Cirsium arvense* and *Sonchus arvensis*: a structure-activity relationships study. *Phytochemistry*, 2008, 69(4): 953-960 (doi: 10.1016/j.phytochem.2007.11.003).
 25. Rivero-Cruz J.F., Macías M., Cerda-García-Rojas C.M., Mata R. A new phytotoxic nonenolide from *Phoma herbarum*. *J. Nat. Prod.*, 2003, 66(4): 511-514 (doi: 10.1021/np020501t).
 26. Fogelfors H., Lundkvist A. Selection in *Cirsium arvense* (L.) Scop. and *Sonchus arvensis* L.: Susceptibility to MCPA on different types of farmland in Sweden. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 2008, 58(1): 82-87 (doi: 10.1080/09064710701228346).
 27. Bourdôt G.W., Hurrell G.A., Saville D.J. Variation in the efficacy of a mycoherbicide and two synthetic herbicide alternatives. *Proc. XII International Symposium on Biological Control of Weeds*. La Grande Motte, 2007: 507-511 (doi: 10.1079/9781845935061.0507).
 28. *Metodicheskie ukazaniya po registratsionnym ispytaniyam gerbitsidov v sel'skom khozyaystve* /Pod redaktsiyey V.I. Dolzhenko [Guidelines for registration trials of herbicides in agriculture. V.I. Dolzhenko (ed.)]. St. Petersburg, 2013 (in Russ.).
 29. Golubev A.S., Makhan'kova T.A. *Metodicheskie rekomendatsii po provedeniyu registratsionnykh ispytaniy gerbitsidov* [Guidelines for conducting registration trials of herbicides]. St. Petersburg, 2020 (in Russ.).
 30. Harding D.P., Raizada M.N. Controlling weeds with fungi, bacteria and viruses: a review. *Front. Plant Sci.*, 2015, 6: 659 (doi: 10.3389/fpls.2015.00659).
 31. Chalak-Haghighi M., Van Ierland E.C., Bourdôt G.W., Leathwick D. Management strategies for an invasive weed: A dynamic programming approach for Californian thistle in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 2008, 51(4): 409-424 (doi: 10.1080/00288230809510471).
 32. Grant N., Prusinkiewicz E., Mortensen K., Makowski R. Herbicide Interactions with *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* a bioherbicide for round-leaved mallow (*Malva pusilla*) control. *Weed Technology*, 1990, 4(4): 716-723 (doi: 10.1017/S0890037X00026282).
 33. Gressel J. Herbicides as synergists for mycoherbicides, and vice versa. *Weed Science*, 2010, 58(3): 324-328 (doi: 10.1614/WS-09-071.1).
 34. López-Piñeiro A., Peña D., Albarrán A., Sánchez-Llerena J., Becerra D. Behavior of MCPA in four intensive cropping soils amended with fresh, composted, and aged olive mill waste. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2013, 152: 137-146 (doi: 10.1016/j.jconhyd.2013.07.003).
 35. Pereira T., Cerejeira M.J., Espírito-Santo J. Use of microbiotests to compare the toxicity of water samples fortified with active ingredients and formulated pesticides. *Environmental Toxicology*, 2000, 15(5): 401-405 (doi: 10.1002/1522-7278(2000)15:5<401::AID-TOX7>3.0.CO;2-H).
 36. Mierzejewska E., Baran A., Urbaniak M. The influence of MCPA on soil phytotoxicity and the presence of genes involved in its biodegradation. *Archives of Environmental Protection*, 2018, 44(4): 58-64.
 37. TeBeest D., Templeton G.E. Mycoherbicides: progress in the biological control of weeds. *Plant Disease*, 1985, 69: 6-10.
 38. Stewart-Wade S.M., Boland G.J. Oil emulsions increase efficacy of *Phoma herbarum* to control dandelion but are phytotoxic. *Biocontrol Science and Technology*, 2005, 15(7): 671-681 (doi: 10.1080/09583150500136873).
 39. Siva C. *Alternative strategies for broadleaf weed management in residential lawns*. Guelph, Ontario, Canada, 2014.