



**IN VITRO СКРИНИНГ НА ФУНГИЦИДИ СПРЯМО *TAPHRINA DEFORMANS* /BERK./ TUL.  
IN VITRO SCREENING OF FUNGICIDES FOR YEAST LIKE FORM OF  
*TAPHRINA DEFORMANS* /BERK./ TUL.**

**Нешка Пиперкова  
Neshka Piperkova**

Аграрен университет – Пловдив  
Agricultural University – Plovdiv

**E-mail: npiperkova@abv.bg**

**Резюме**

Тествани са в *in vitro* условия 12 фунгицида спрямо *Taphrina deformans*. От направения скрининг е установено, че най-силен инхибиращ ефект върху развитието на дрождевидната форма на патогена имат Тирам (Тирам 80%) – 89%, следван от Дитан М-45 (Манкоцеб) и Скор (Дифеноконазол) – по 79,2%, Флинт Макс 75 ВГ (Тебуконазол + Трифлуксистробин) – 78%, Шавит (Фолпет + Триадименол) – 63,3%, и Витра 50 ВП (87,7% меден хидроксид) – 50,2%. Те може да се приложат при пролетно профилактично третиране за ограничаване на проявите на къдравостта по прасковата.

По метода на Торнбъри, метода на насрещните колонии и щриховия разсев е констатирана антагонистична активност на *Trichoderma viride* (Триходермин) спрямо дрождевидната форма на *Taphrina deformans*.

**Abstract**

A screening was carried out under laboratory conditions. It showed that the most efficient fungicides against *T. deformans* were Tiram 80% (as Tiram) – 89%, followed by Mancozeb (as Ditan M45) and difenoconazole (as Scor 250 EC) – 79.2%, Tebukonazole + Trifloxistrobin (as Flint Max 75WG) - 78%, Folpet+Triadimenol (as Shavit) – 63.3% and Copper hydrooxyde 87.7% (as Vitra 50 HR) – 50.2% inhibition. The results revealed that the fungicides might be applied in preventive sprays in spring to control peach leaf curl.

It was observed that *Trichoderma viride* (Trichodermin) reduced significantly the growth of *Taphrina deformans* *in vitro*, using Thornberry method, the opposite culture method and the streak plate culture.

**Ключови думи:** *Taphrina deformans*, *in vitro* скрининг, фунгициди, *Trichoderma viride*.

**Key words:** *Taphrina deformans*, *in vitro* screening, fungicides, *Trichoderma viride*.

**ВЪВЕДЕНИЕ**

Къдравостта по прасковата (*Taphrina deformans*) притежава мощен потенциал за епифитотийно развитие в години с влажна хладна пролет и некачествено изведени третираня. У нас се явява ежегодно и често засяга 90-100% от листната маса. Това се отразява върху устойчивостта на растенията към измръзване (Наков et al., 1999).

Напролет по новообразуващите се органи, най-често по листата, а в някои случаи по латораслите и плодовете, се появяват хипертрофирани, бледозелени или розово-червени участъци. Листата стареят и окапват преждевременно.

Презимувалите в пъпките и върху латораслите дрождевидни клетки на патогена при валож се смиват и се разпределят из цялата корона на дърветата. Заразяват младите тъкани директно през кутикулата и през устицата (Mih, 1935; Agrios, 1988).

Основното направление при контрола на къдравостта по прасковата е профилактиката. Добър предпазен ефект има есенното третиране с 2%-ов бордолезов разтвор и пролетното - с 1%-ов бордолезов разтвор или 1:10 серо-варов разтвор (Karov and Petkov, 1976; Mihailova, 1978). Karov и Petkov (1976) доказват, че тирамните препарати опазват прасковите от патогена, "освобождават" растенията от значителни количества син камък и намаляват материалните разходи.

Редица автори (Follas et al., 1993; Rigo et al., 2007) смятат, че дифеноконазол (Скор) ефективно контролира къдравостта по прасковата. Smolyakova и Kovtun (2004) установяват, че силното проявление на *Taphrina deformans* в Русия може да се редуцира чрез прилагане на бордолезов разтвор и комбинациите на Делан със Скор и с меден сулфат. Spada et al. (2005) отчитат доброто действие на Цирам и Додин, а Ceredi et al. (2007) доказват висока ефективност на каптана при контрола на къдравостта.

Борбата срещу къдравостта по прасковата е изкореняваща и е насочена срещу зимуващата форма на *Taphrina deformans*. В условията на биологично производство средствата за контрол са ограничени. Прилага се зимно пръскане с 2%-ов бордолезов разтвор в края на листопада и пролетно, преди разпукване на пъпките – със серо-варов разтвор 1:10 (Karov and Andreev, 2000; Karov et al., 2007; Mitov et al., 2006).

При интегрирано производство се предпочитат схема, която включва 2%-ов бордолезов разтвор – наесен, Делан 750 СК – 0,1% и ТМТД 0,35 – 0,5% рано напролет, които имат решаващо значение срещу причинителите на синдромите "язви, раковини и смолоизтичане" и "опожаряване на цветовете" (Karov and Andreev, 2000).

Thomidis (2010), при изпитване на ефективността на прогнозен модел при къдравостта по прасковата, констатира, че основна роля има третирането на растенията един ден преди прогнозирания валеж след разпукването на пъпките.

Traquair (2008) успешно прилага Serenade Max (*Bacillus subtilis*, щам 84) при контрола на *Taphrina deformans*, което е добра алтернатива при биологично земеделие.

Силното, често епифитотийно развитие на къдравостта по прасковата през последните години ни мотивираха да потърсим нови възможности за контрол на болестта.

#### МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Успешният контрол на къдравостта по прасковата зависи от навременното и правилно приложение на сигурно действащо средство с химичен или с биологичен произход. Досега ограничаването на тази болест се базираше само на полски експерименти. След успешното изолиране на дроздевидната форма на *Taphrina deformans* стана възможно у нас да се осъществи *in vitro* скрининг на фунгициди за контрол на къдравостта.

Инхибиращото действие на 12 фунгицида върху дроздевидната форма на *Taphrina deformans* (*Lalaria deformans*) беше проучено по метода на Thornberry (Thornberry, 1950), модификация - кладенчета. Тествани бяха Флинт Макс (Тебуконазол + Трифлуксизробин) – 0,02%, Тирам (Тирам 80%) – 0,35%, Хорус (Ципродинил) – 0,05%, Акоидал (80% Сяра) – 0,25%, Витра (87,7% меден хидроксид) - 0,15%, Шавит (Фолпет + Триадименол) - 0,2%, Дитан (Манкоцеб) - 0,3%, Суич (37,5% Ципродинил + 25% Флудиоксонил) – 0,08%, Банко (Хлороталонил) - 0,2%, Скор (Дифеноконазол) – 0,02%), Корсейт (4,2% Симоксанил+39,75% меден оксихлорид) – 0,3%. На първичен скрининг също беше подложен Триходермин на база *Trichoderma viride*, изолат Т6 (любезно предоставен от проф. Георги Нешев). Използваната хранителна среда картофено-декстрозен

агар (КДА) беше инокулирана с дроздевидна суспензия ( $10^8$  кл/ml), подготвена от 10-дневна култура на *Taphrina deformans* (изолат ИТ6). В кладенчетата, оформени в средата на петриевите блюда, беше поставен по 1 ml работен разтвор от фунгицид с определена концентрация.

Въздействието на *Trichoderma viride* (Триходермин) беше експериментално изпитано по метода на Thornberry (Thornberry, 1950), по метода на насрещните култури (Khare et al., 2010) и шриховия разсев (Black, 1999). Вариантите бяха поставени в хладилник за 12 часа (за инфилтриране на фунгицидите и Триходермина в хранителната среда), а след това при 22°C. Отчитането се извърши на 5-ия, 7-ия и 9-ия ден чрез измерване на диаметъра на стерилната зона.

Коефициентът на инхибиране на дроздевидната колония на *Taphrina deformans in vitro* (I%) беше определен като относителен дял на инхибираната от съответния фунгицид зона към общата площ на петриевото блюдо.

#### РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

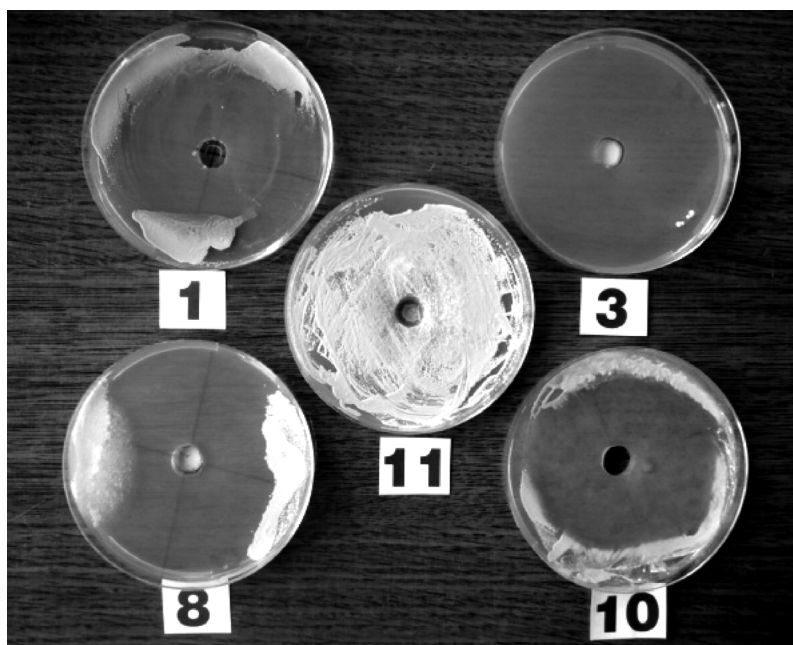
С най-силен инхибиращ ефект в условията на експеримента *in vitro* се открие Тирам ( $i = 89\%$ ), който силно потиска развитието на дроздевидната форма на *Taphrina deformans* и формира най-чиста стерилна зона. Отчетените стойности при Дитан М45 и Скор са еднакви  $i = 79, 2\%$ , а при Флинт Макс  $i = 78\%$  ефективност (табл.1; фиг.1). Шавит с коефициент на инхибиране  $i = 63,3\%$  не е за подценяване и може да се изпита при полски условия. Инхибиращият ефект на Витра ( $i = 50,2\%$ ) като медсъдържащ фунгицид също ограничава значително развитието на дроздевидната форма на патогена (фиг. 2). В условията на нашия експеримент Банко ( $I = 29,2\%$ ), сочен от някои автори (Ko et al., 1998) за високоефективен срещу къдравостта по прасковата, не прояви силно инхибиращо действие (табл. 1; фиг. 1, 2), а такава напълно отсъства при вариантите с Корсейт, Хорус и Суич.

След приключване на експеримента част от стерилната зона във вариантите, показали положителен резултат, беше прехвърлена върху свежа хранителна среда (КДА). След седемдневно култивиране започна развитие на колонии, с изключение на варианта с Тирам. Може да се приеме, че Тирам упражнява фунгициден ефект върху *Lalaria deformans* (*Taphrina deformans*), а останалите изпитани фунгициди – фунгистатичен.

Получените резултати от проведения за първи път у нас лабораторен скрининг на фунгициди спрямо дроздевидната форма на причинителя на къдравостта по прасковата разширява възможностите за приложение на ефикасен фунгицид при контрола на болестта. Освен тези с изкореняващо действие, като бордолезов разтвор, други медни фунгициди, приложени след листо-

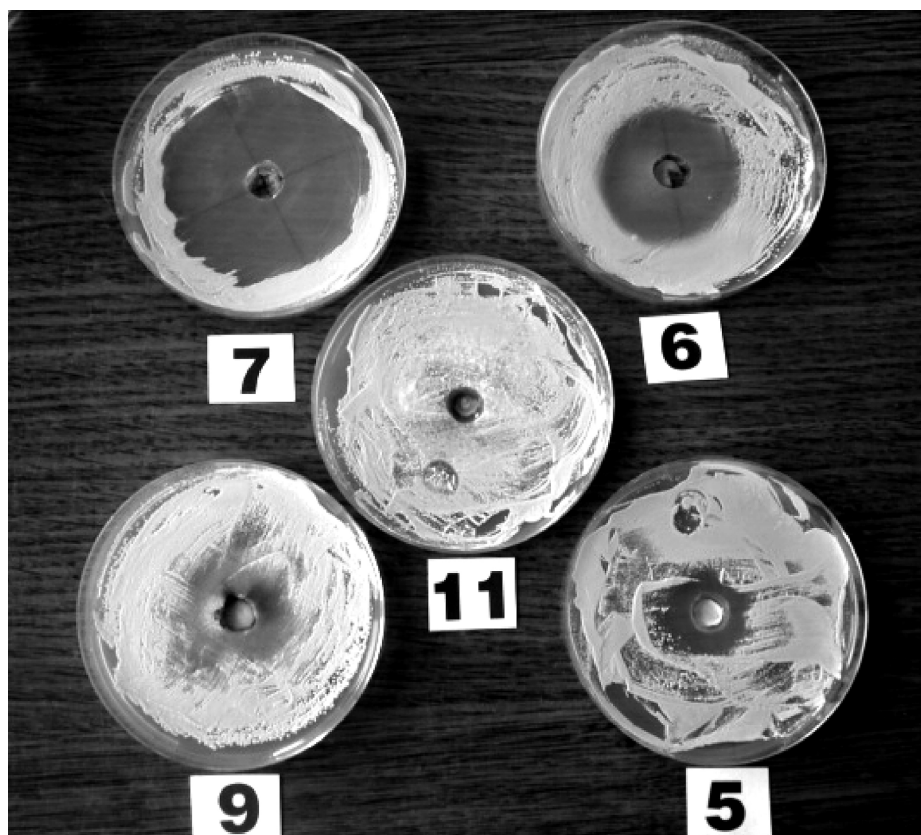
**Таблица 1.** Скрининг на фунгициди спрямо дрождевидната колония на *Taphrina deformans* in vitro  
**Table 1.** Screening of the fungicides for yeast like form of *Taphrina deformans* in vitro

№	Фунгициди Fungicides	Инхибиране на дрождевидната колония (%) Per cent inhibition of yeast like culture
1.	Флинт Макс 75 ВГ (тебуконазол + трифлуксистробин) – 0,02% Flint Max 75WG (tebukonazol + trifloxistrobin – 0,02%	78
2.	Суич (37,5 % ципродинил + 25 % флудиоксонил) – 0,08% Switch (37,5% ciprodinil + 25% fludioxonil) – 0,08%	0
3.	Тирам 80 ВГ (тирам 80%) – 0,35% Tiram 80 WG (tiram 80%) – 0,35%	89
4.	Хорус 50 ВГ (ципродинил) – 0,05% Horus 50 WG (ciprodinil) – 0,05%	0
5.	Акоидал ВГ (80% сяра) – 0,25% Acoidal WG (80 % sulphur) – 0,25%	28,3
6.	Витра 50 ВП (87,7% меден хидроксид) – 0,15% Vitra 50 (87,7% copper hydroxide) – 0,15%	50,2
7.	Шавит Ф 72 ВДГ (фолпет + триадименол) – 0,2% Shavit F 72 WP (folpet + triadimenol) – 0,2%	63,3
8.	Дитан М-45 (манкоцеб) 0,3% Dithane M-45 (mancozeb) – 0,3%	79,2
9.	Банко 500 (хлороталонил) – 0,02% Banco 500 (chlorothalonil) – 0,02%	29,2
10.	Скор 250 ЕК (дифеноконазол) – 0,02% Scor 250 EC (difenoconazole) – 0,02%	79,2
11.	Контрола Control	0
12.	Триходермин Trichodermin	100
13.	Корсейт Р ДФ (4,2% симоксанил+39,75% меден оксихлорид) -0,3% Corseit (4,2% simoksaniil+39,75% copper oxychloride) - 0,3%	0



**Фиг. 1.** In vitro инхибиращ ефект на фунгициди върху *T. deformans*:  
 1 - Флинт Макс, 3 - Тирам, 8 - Дитан М-45, 10 - Скор, 11 - контрола  
**Fig. 1.** Inhibition effect of the fungicides of yeast like culture on *T. deformans*:  
 1 - Flint Max, 3 - Tiram, 8 - Ditan M-45, 10 - Scor, 11 - control





**Фиг. 2.** *In vitro* инхибиращ ефект на фунгициди върху *Taphrina deformans*:  
5 - Акоидал, 6 - Витра, 7 - Шавит, 9 - Банко, 11 - контрола  
**Fig. 2.** Inhibition effect of the fungicides of yeast like culture on *Taphrina deformans*:  
5 - Acoidal, 6 - Vitra, 7 - Shavit, 9 - Banco, 11 - Control



**Фиг. 3.** Антагонистичен ефект на *Trichoderma viride* спрямо дрождевидната форма на *T. deformans*,  
*Trichoderma viride* - вляво, контрола - вдясно (метод на Торнбъри)  
**Fig. 3.** Effect of antagonist *Trichoderma viride* of yeast like culture of *T. deformans*, Control - left,  
*Trichoderma viride* - right (Thornberry method)

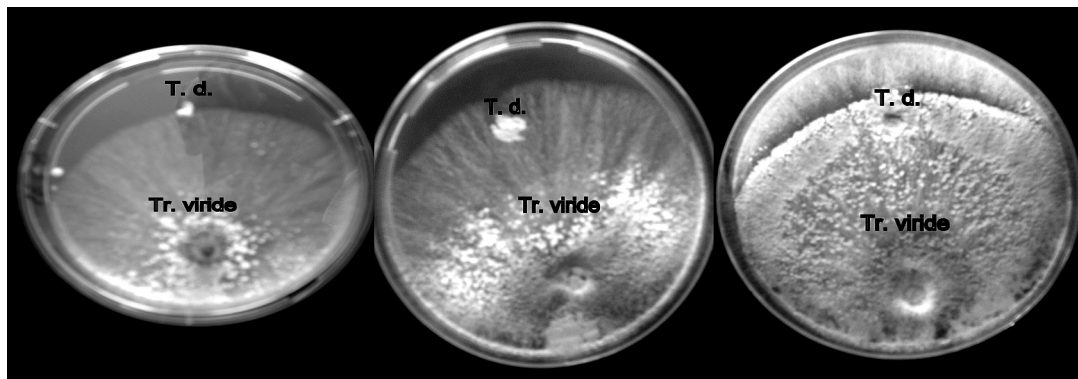
пада, и/или Тирам рано напролет, след полско изпитване може да се предложи и друга алтернатива. Пролетното третиране на растенията до показване на зелените връхчета и след първите прояви на болестта преди прогнозираните валежи с Дитан М 45, Флинт Макс 75 ВГ, Скор 250 Е и Шавит може да се окаже печеливша стъпка при контрола на къдравостта по прасковата.

Антагонистичната активност на *Trichoderma viride* спрямо *Taphrina deformans* в условията на нашия експеримент е очевидна (табл.1). Тя се визуализира добре при трите използвани метода. При метода на Торнбъри цялата повърхност на петриевото блюдо е покрита с колонията на антагониста (фиг. 3). Не се открива развитие на дрождевидните клетки на патогена. При метода на насрещните култури се установява прогресивно развитие на *Trichoderma viride* до пълно колонизиране на повърхността на хранителната среда и дрождевидната колония на *Taphrina deformans*

(фиг. 4). При щриховия разсев отново се установява „покриване“ на колонията на патогена с тази на антагониста (фиг. 5).

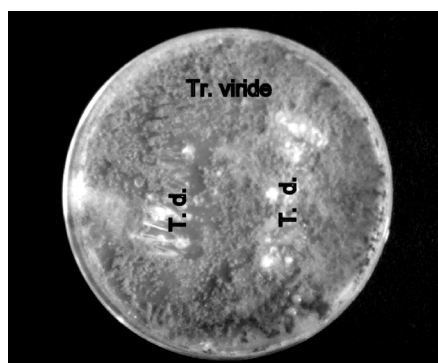
Известна е добрата ефективност на Триходермина срещу трудно контролирани почвени патогени. В литературата се среща информация за успешното му приложение и срещу други причинители на болести като *Phomopsis amygdali* (Rhouma, 2008) и *Botrytis cinerea* (Elad, 1999). Това разширява възможностите на неговото приложение.

Резултатите от първичния скрининг на Триходермин (*Trichoderma viride*) върху *Taphrina deformans* in vitro дава основание да се проучи механизма на действие и възможността за използването му срещу къдравостта по прасковата при полски условия. Средствата с биологичен произход може да се явят добра алтернатива или допълващи разнообразието от възможности за контрол на болестта както при интегрирано, така и при органично производство на праскови.



**Фиг. 4.** Антагонистичен ефект на *Trichoderma viride* спрямо дрождевидната форма на *T. deformans*, 5-ти ден - вляво, 7-ми ден - в средата, и 9-ти ден – вдясно (метод на насрещните култури)

**Fig. 4.** Effect of antagonist *Trichoderma viride* on the growth of yeast like culture of *T. deformans*, 5-th day - left, 7-th day – middle, 9-th day - right (opposite culture method)



**Фиг. 5.** Антагонистичен ефект на *Trichoderma viride* върху дрождевидната форма на *Taphrina deformans* (щрихов посея)

**Fig. 5.** Effect of antagonist *Trichoderma viride* on the growth of yeast like culture of *Taphrina deformans* (streak plate culture)

### ИЗВОДИ

1. В резултат на извършения за първи път у нас *in vitro* скрининг на 12 фунгицида спрямо дроздевидната форма на *Taphrina deformans* най-силен инхибиращ ефект е отчетен при Тирам (Тирам 80%) - 89%, следван от Дитан М45 (Манкоцеб) и Скор (Дифеноконазол) – по 79,2%, Флинт Макс 75 ВГ (Тебуконазол+Трифлуксисробин) - 78%, Шавит (Фолпет+Триадименол) - 63,3%, и Витра 50ВП (87,7% меден хидроксид) - 50,2%.

2. Констатирана е добре проявена антагонистична активност на *Trichoderma viride* (Триходермин) спрямо дроздевидната форма на *Taphrina deformans*, която може да бъде добра алтернатива или допълнителна възможност за контрол на къдравостта по прасковата.

### LITERATURE

- Karov, S., V. Petkov, 1976. Tiram fungicides against peach leaf curl. *Plant protection*, 1, 28–29.
- Karov, S., R. Andreev, 2000. *Plant Protection in Organic and Integrated Gardening*. AEZ, „Ecofarm” Plovdiv.
- Karov, S., R. Andreev, S. Karov, 2007. *Handbook of plant protection*. AEC „Ecofarm”, Plovdiv.
- Mihailova, P., 1978. Control of peach leaf curl., *Pomiculture*. 11, 32-33.
- Mitov, P., S. Karov, R. Andreev, A. Trifonov, 2006. Organic growth of peaches. AEC „Ecofarm”, Plovdiv.
- Nakov, B., A. Popov, S. Karov, G. Neshev, 1999. *Phytopathology*, Sofia, 225-226.
- Agrios, G., 1988. *Plant Pathology*, IV Edition, 333–337.
- Black, J., 1999. *Microbiology: Principles and Explorations* Marymount University.
- Ceredi, G., M. Scannavini, F. Cavazza, F. Franceschelli, M. R. Ceroni, A. Pollini, 2007. *Informatore Agrario* 63 (7) Verona 70-75.
- Elad, Y, A. Kapat, 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Eur. J. Plant Pathol.* 105: 177-189.
- Follas, G, RD. Welsh, 1993. Control of leaf curl in stone fruit with difenoconazole. *Proc. NZ Plant Protect. Conf.* 46: 18-20.
- Khare, A., BK Singh; RS Upadhyay. *Journal of Agricultural Technology*, 2010, 6(2), 231-243.
- Ko, Y., S. K. Sun., C. M. Pan, 1998. Fungicide evaluation and timing for control of peach leaf curl disease. *Plant Protection Bulletin (Taipei)* 40 (4), 361-370.
- Mix, A. J., 1935. The life history of *Taphrina deformans*. *Phytopathology*, 25, 41–66.
- Rhouma, A., M. A. Triki, K. Ouerteni, M. Mezghanni, 2008. Chemical and Biological Control of Phomopsis amygdali the Causal Agent of Constriction Canker of Almond in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection* 3: 69-77.
- Rigo, G., L. Tosi, P. Calvi, 2007. Efficacy of anti – Monilia fungicides in control of peach leaf curl. *Informatore Agrario* 63 (27) Verona: Edizioni Informatore Agrario, Srl, 74-76.
- Smolyakova, V. M., I. L. Kovtun, 2004. Protection of peach from leaf curl. *Zashchita I Karantin Rastenii* (6) Moscow: Izdatelstvo Kolos, 46-47.
- Spada, G., G. Ceredi, A. Brunelli, P. Gianati, R. Bernardi, F. Mazzini, R. Rossi, I. Ponti, 2005. Old and new fungicides to protect against peach leaf curl. *Informatore Agrario*, 61 (10), Verona, 68-72.
- Thomidis, T., V. Rossi and E. Exadaktylou, 2010. Evaluation of a disease forecast model for peach leaf curl in the Prefecture of Imathia, Greece. *Crop Protection*, 29, 12, 1460–1465.
- Thornberry, H. H., 1950. A paper-disc method for quantitative evaluation of fungicides and bactericides. *Phytopathology*, 40: 419-429.
- Traquair, J. A., A. Svircev, and B. Singh, 2008. Biological control of peach leaf curl with *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*, 98, s. 158.

Статията е приета на 25.02.2014 г.  
Рецензент – проф. д-н Стойчо Каров  
E-mail: profkarov@yahoo.com.uk