

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 632.4.01/.08+632.952+632.95.025.8

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.23-37

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ УСТОЙЧИВЫХ И ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ К ФУНГИЦИДАМ ИЗОЛЯТОВ *Venturia inaequalis* IN VITRO

А.И. Насонов¹, Г.В. Якуба¹, М.В. Бардак², И.Л. Астапчук¹,
Н.А. Марченко¹

¹Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства,
виноделия, г. Краснодар, 350901, Россия

²Кубанский государственный университет, г. Краснодар, 350040, Россия

Аннотация

Снижение эффективности системных фунгицидов против парши яблони связано с возникновением устойчивости *Venturia inaequalis* к применяемым токсикантам, что приводит к серьезным потерям в производстве. Для результативного управления устойчивостью необходимо всестороннее изучение приспособительного потенциала различных биотипов патогена, в том числе устойчивых к фунгицидам. Проведена оценка роста мицелия *in vitro* у изолятов с исходной чувствительностью и устойчивостью к одному или нескольким фунгицидам при четырех температурах (6, 18, 27 и 30 °C) и трех вариантах концентрации агара в питательной среде (2, 4 и 6%, масс./об.). Установлено, что за исключением роста мицелия при 27 °C, показатели прогнозируемой в лабораторных условиях приспособленности для изолятов *V. inaequalis* с множественной устойчивостью к фунгицидам и биотипов с исходной чувствительностью отличаются статистически незначимо.

Ключевые слова: *Venturia inaequalis*, триазолы, анилинопиримидины, SDHI, множественная резистентность, «плата» за приспособленность, исходные изоляты, мицелиальный рост, тепловой стресс, концентрация агара, питательная среда.

1. Введение

Парша яблони, вызываемая грибным облигатным патогеном *Venturia inaequalis* (Cook) G. Winter, – экономически значимое заболевание яблони домашней (*Malus x domestica* Borkh.) во всех зонах возделывания культуры в Российской Федерации. Поскольку немногие коммерчески востребованные сорта яблони обладают устойчивостью, наиболее эффективной тактикой борьбы с заболеванием является применение фунгицидов. На современном этапе развития защиты растений применяются препараты различного генеза, в том числе и микробиологические, сортимент которых увеличивается [1], а уровень применения химических системных препаратов достаточно высок. Против парши яблони широко используются действующие вещества из химических классов: триазолы, стробилурины, ингибиторы сукцинатдегидрогеназы или карбоксамида и анилинопиримидины. Однако высокая изменчивость и приспособительный потенциал

патогена могут приводить к развитию у него устойчивости к фунгицидам. Впервые устойчивость к системным фунгицидам у *V. inaequalis* была зафиксирована 60 лет назад для додина, а спустя некоторое время и для бензимидазолов [2]. В настоящее время устойчивость или значительное снижение чувствительности у патогена зарегистрированы для триазолов и стробилуринов во многих странах мира, в том числе и в России [3, 4]. Недавно сообщалось о факте качественной устойчивости краснодарской популяции *V. inaequalis* к карбендазиму (химический класс: бензимидазолы) и снижении чувствительности к дифеноконазолу (триазолы) [5–7], в то время как чувствительность к анилинопиримидинам остается на высоком уровне [8].

Развитие устойчивости к фунгицидам в полевых условиях зависит от ряда факторов, включая наличие давления отбора, восприимчивого хозяина, нормы применения фунгицида, интервалов между обработками, стойкости фунгицида и способа его применения. Однако одним из наиболее важных факторов, который следует учитывать при развитии устойчивости к фунгицидам, является паразитарная приспособленность устойчивых изолятов в присутствии и в отсутствие давления отбора. Приспособленность может быть определена как относительная способность генотипа или популяции сохраняться с течением времени и вносить вклад в будущий генофонд и поддается количественной оценке с использованием различных параметров, включая эффективность заражения и количество вызванных заболеваний, или агрессивность. «Плата» за приспособленность также может быть измерена с точки зрения как прогнозируемой приспособленности (рост мицелия, прорастание и производство спор *in vitro*), так и фактической приспособленности (эксперименты *in vivo* и эксперименты по конкурентному исключению) [9]. Мутации, связанные с устойчивостью к фунгицидам, могут иметь отрицательный плеiotропный эффект или «плату» за приспособленность, которые проявляются в отсутствие фунгицидов [10]. Многие исследования, направленные на характеристику снижения приспособленности, связанной с развитием устойчивости к фунгицидам, имеют противоречивые результаты, что затрудняет окончательные выводы о резистентности к фунгицидам [10]. В некоторых работах [10, 11] выявлена низкая приспособленность устойчивых изолятов как в лабораторных, так и в полевых экспериментах. Однако большинство исследований показало, что «плата» за приспособленность незначительна или полностью отсутствует в популяциях, устойчивых к фунгицидам [9, 12–16].

2. Материалы и методы

2.1. Отбор изолятов. В ходе исследований оценено 40 моноспоровых изолятов *Venturia inaequalis*. Изоляты отличались устойчивостью или сниженной чувствительностью к различным фунгицидам и были собраны в промышленных садовых насаждениях яблони сортов Ренет Симиренко, Жеромин и Мутсу, а также в естественных произрастаниях *Malus orientalis* в Выселковском, Красноармейском и Северском районах Краснодарского края (табл. 1) с 2019 по 2022 г. в рамках предыдущих исследований [5–7]. Получение чистых культур мы осуществляли согласно описанной ранее методике [17]. Изоляты, ранее оцененные по чувствительности к трем химическим группам фунгицидов

(бензимидазолы, триазолы и анилинопиримидины) *in vitro*, группировали для анализа на основе их чувствительности и устойчивости к действующим веществам. Первые три группы характеризовались одновременной устойчивостью к одному, двум или трем фунгицидам соответственно, а группа 4 содержала изоляты с исходной чувствительностью ко всем фунгицидам (табл. 1). Все изоляты первых трех групп были устойчивы к фунгицидам из класса бензимидазолов. Изоляты из группы 2, кроме этого, имели сниженную чувствительность или устойчивость к триазолам или к анилинопиримидинам. В группе 3 представлены изоляты, показавшие сниженную чувствительность или устойчивость ко всем трем классам фунгицидов.

Табл. 1

Характеристика различных групп изолятов *Venturia inaequalis*

Группа	Множественная устойчивость	Растение-хозяин	Место отбора
1	1	сорта <i>Malus x domestica</i> Borkh.	Красноармейский и Выселковский районы
2	2		
3	3		
4	0	<i>Malus orientalis</i> Uglitzk.	Северский район

2.2. Оценка роста мицелия. Агаровые блоки, содержащие мицелий микоспорных культур, с помощью пробковых буров переносили на среду картофельно-глюкозного агара (КГА) в чашки Петри и инкубировали при температуре 18 °С в течение 20 сут. С полученных культур соскабливали стерильным скальпелем воздушный мицелий и переносили в пробирки типа Эппендорф емкостью 1.5 мл, содержащие 1 мл стерильной воды. Полученную суспензию встряхивали и переносили в чашки Петри со свежим КГА и равномерно распределяли L-образным шпателем (Дригальского) по поверхности питательной среды. Посев инкубировали в течение 15 сут при температуре 18 °С. Полученные газонные культуры изолятов использовали для посева в экспериментах. Экспериментальные чашки Петри засеивали агаровыми блоками диаметром 5 мм с использованием пробковых буров и инкубировали в течение 30 сут. После этого диаметр каждой культуры измеряли линейкой в двух взаимоперпендикулярных направлениях и получали среднее значение. Из полученных значений размеров изолятов вычитали 5 мм, соответствующих размеру посевного блока. Каждый изолят высевался в четырехкратной повторности.

Для оценки роста мицелия при различных температурах экспериментальные посевы инкубировали в термостате при 6, 18, 27 и 30 °С. Для оценки влияния концентрации агара в агаровом геле (2, 4 и 6%, масс./об.) на рост мицелия при приготовлении экспериментальной среды КГА вносили различное количество (20, 40 и 60 г/л) агара сухого микробиологического (С.Е. Роергер GmbH, Германия).

2.3. Статистическая обработка данных. Эксперименты проведены для каждого изолята в четырехкратной повторности. Данные представлены как средние значения величин для каждой группы с их стандартными ошибками. В связи с тем, что не для всех групп соблюдалось нормальное распределение значений

размера изолятов, для статистической проверки данных использовали непараметрический метод Краскела – Уоллиса. Для выявления различий между отдельными группами проводили апостериорный тест Данна. Для снижения вероятности ошибки первого рода при множественных сравнениях использовали поправку Бонферрони. Статистическую обработку данных проводили с применением онлайн-калькулятора Statistics Kingdom [18]. Различия между средними значениями групп считали значимыми при $p < 0.05$.

3. Результаты

3.1. Оценка роста мицелия при различных температурах. Рост изолятов при различных температурах существенно различался (табл. 2).

Табл. 2

Вариации средних значений зоны роста мицелия изолятов *Venturia inaequalis* при различных температурах в группах, различающихся чувствительностью и устойчивостью к одному или нескольким фунгицидам одновременно, мм

Группа	Среднее значение диаметра изолята \pm стандартная ошибка		
	$t = 6\text{ }^{\circ}\text{C}$	$t = 18\text{ }^{\circ}\text{C}$	$t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$
1	5.5 ± 0.7^a	12.8 ± 2.1^{ab}	2.3 ± 1.4^{ab}
2	5.1 ± 0.4^a	12.8 ± 0.7^a	1.9 ± 1.0^a
3	5.8 ± 0.4^a	13.5 ± 1.1^a	1.8 ± 0.5^a
4 (исходная)	3.2 ± 0.3^b	9.8 ± 1.0^b	5.4 ± 1.2^b

Примечание: буквы показывают наличие достоверных различий между средними значениями диаметра изолятов по данным апостериорного теста множественных сравнений Данна с учетом поправки Бонферрони при $p < 0.05$.

При температуре $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ рост мицелия полностью ингибировался у всех изолятов (данные не приведены). Наибольший рост для всех групп отмечался при температуре $18\text{ }^{\circ}\text{C}$, которая оказалась оптимальной для грибной культуры (рис. 1). Стрессовые температуры, равные 6 и $27\text{ }^{\circ}\text{C}$, приводили к значительному торможению скорости роста мицелия во всех группах в среднем на 60 и 77% соответственно относительно скорости роста при $18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Однако для каждой из групп степень этого снижения была различной. Так, в группе 4 при низкой положительной температуре размер изолятов был меньше на 68% относительно размера изолятов при оптимальной температуре, а при $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ – всего на 45% .

Для всех рассмотренных температур зафиксировано существенное различие в скорости роста между группой с исходной чувствительностью и группами с устойчивостью к двум и трем фунгицидам одновременно и только при $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ – с группой 1. Эти факты указывают на наличие «платы» за приспособленность у некоторых изолятов. Однако при низкой положительной и оптимальной температуре исходные изоляты отличались пониженной приспособленностью по сравнению с изолятами с устойчивостью. При $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ наблюдается обратная картина, что может говорить о наличии «платы» за приспособленность у изолятов с устойчивостью к нескольким фунгицидам одновременно в условиях возможного теплового стресса.

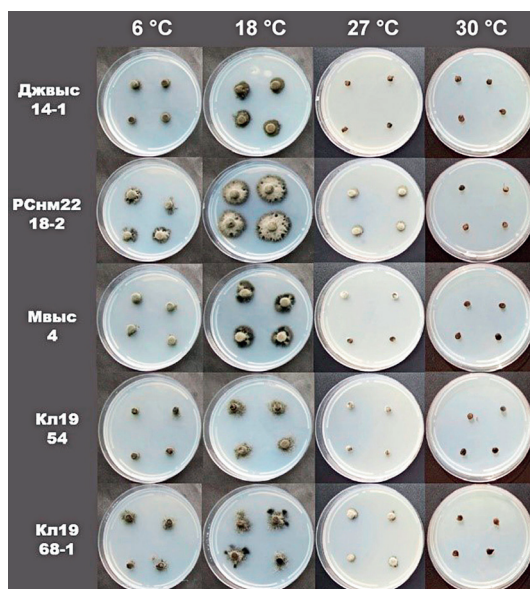


Рис. 1. Рост изолятов *Venturia inaequalis*, характеризующихся разной чувствительностью или устойчивостью к одному или нескольким фунгицидам одновременно, при различных температурах. Изоляты Джвыс-14-1, РСнм22-18-2 и Мвыс-4 устойчивы к 1, 2 и 3 фунгицидам соответственно, изоляты Кл19-54 и Кл19-68-1 обладают исходной чувствительностью к фунгицидам

3.2. Оценка роста мицелия при различной концентрации агара в питательной среде. Концентрация агара, которая обуславливает плотность агаровой пластины, влияет на скорость роста мицелия в разных группах (рис. 2).

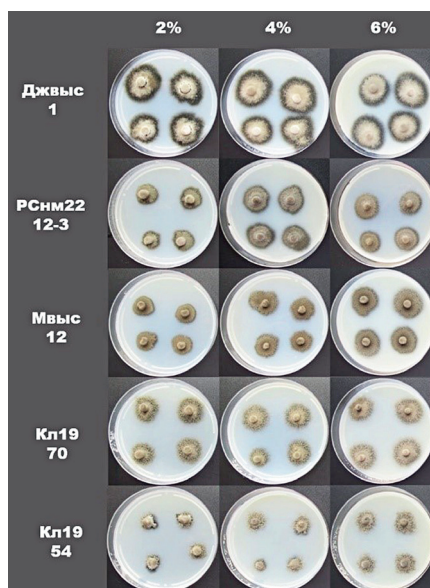


Рис. 2. Рост изолятов *Venturia inaequalis*, характеризующихся различной чувствительностью или устойчивостью к одному или нескольким фунгицидам одновременно, в зависимости от концентрации агара в питательной среде. Изоляты Джвыс-1, РСнм22-12-3 и Мвыс-12 устойчивы к 1, 2 и 3 фунгицидам соответственно, изоляты Кл19-70 и Кл19-54 обладают исходной чувствительностью к фунгицидам

Размер изолятов во всех группах при концентрации агара 4% был больше, чем при 2%. При этом для изолятов с устойчивостью к фунгицидам размер больше в среднем на 11%, а для чувствительных – всего на 2% относительно варианта питательной среды с менее плотным гелем. Однако достоверное различие наблюдается только в группе 2 (табл. 3).

Табл. 3

Средние значения размера изолятов *Venturia inaequalis* в группах, различающихся множественной устойчивостью к фунгицидам, в зависимости от концентрации агара в питательной среде, мм

Группа по устойчивости к фунгицидам	Концентрация агара в питательной среде, %		
	2	4	6
1	18.6 ± 1.9 ^a	20.8 ± 1.8 ^a	18.7 ± 1.6 ^a
2	17.5 ± 1.0 ^{a*}	20.1 ± 0.8 ^{b*}	18.4 ± 1.5 ^a
3	18.1 ± 1.3 ^a	20.2 ± 1.0 ^b	18.7 ± 1.6 ^a
4 (исходная)	15.6 ± 1.3 ^a	16.4 ± 1.1 ^a	17.8 ± 1.4 ^a

Примечание: буквы показывают наличие достоверных различий между средними значениями размера изолятов в столбцах, а звездочка – между столбцами, по данным апостериорного теста множественных сравнений Данна с учетом поправки Бонферрони при $p < 0.05$.

Размер изолятов при концентрации агара 6% незначительно выше или находится на одном уровне у всех групп с устойчивостью. Для группы с исходной чувствительностью увеличение среднего размера изолятов для самой плотной среды выше на 12% относительно предыдущих вариантов сред, но эта разница недостоверна.

4. Обсуждение результатов

Это первое исследование по оценке феномена «платы» за приспособленность для изолятов *Venturia inaequalis* с множественной устойчивостью к фунгицидам трех различных химических классов. Результаты, представленные в недавних научных публикациях о широком распространении устойчивости к фунгицидам в популяциях возбудителя парши яблони в Краснодарском крае [6, 7], требуют разработки и внедрения стратегии управления, которая может функционально сдерживать дальнейшее развитие устойчивости. Чтобы успешно реализовать эту стратегию и определить ее эффективность для сдерживания селекции устойчивых штаммов, необходимы знания об адаптациях паразитов, поскольку резистентность может сопровождаться «платой» за приспособленность, которая влияет на риск нарастания резистентности в отсутствие давления отбора [19, 20]. Таким образом, характеристика устойчивых изолятов с точки зрения приспособленности может позволить предсказать поведение популяции патогена [21]. В текущем исследовании на основе измерения параметров *in vitro* паразитарная приспособленность оценена с точки зрения так называемой прогнозируемой приспособленности, которая, возможно, будет проявляться в естественных условиях обитания патогена [22].

Полученные данные показали, что в зависимости от температуры роста изоляты, чувствительные и устойчивые к двум и более фунгицидам, существенно различались по своим размерам, но направление этих различий было неодинаковым. При оптимальной и низкой положительной температуре изоляты с исходной чувствительностью имели меньшие размеры, чем устойчивые, т. е. при этих температурах изоляты с множественной устойчивостью показали большую приспособленность, чем чувствительные. При температуре 27 °С зависимость была обратной, чувствительные изоляты имели в среднем более крупные размеры. Этот факт может указывать на наличие прогнозируемой «платы» за приспособленность у биотипов *V. inaequalis* с множественной устойчивостью к фунгицидам в условиях теплового стресса.

Ранее в исследованиях отечественных ученых оптимальная для роста возбудителя парши яблони температура в искусственных условиях была определена в диапазоне от 15 до 22 °С [23–25]. В исследованиях Р.Н. Федоровой сообщалось, что при температуре 12 °С рост изолятов *V. inaequalis* был ограничен, а при 32 °С некоторые географические расы патогена (дальневосточная и сахалинская) не росли вообще [24]. Для рассматриваемых нами изолятов рост отсутствовал уже при 30 °С.

Изучению феномена «платы» за приспособленность на возбудителе парши яблони посвящены лишь единичные работы. В работе [13] показано отсутствие значимых различий в росте чувствительных и резистентных изолятов на КГА при 19 °С. Группа французских ученых, изучавшая *in vitro* ряд приспособительных характеристик, определяющих способность патогена к распространению, показала, что форма *V. inaequalis*, представлявшая собой популяцию из интенсивных садов, имела достоверно большие размеры спор и выше уровень споруляции, чем форма возбудителя парши из естественных произрастаний дикой яблони *Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem. на северных склонах Тянь-Шаня [26]. Это свидетельствует о том, что садовая популяция патогена имеет более высокий приспособительный потенциал, чем дикая. В наших исследованиях в качестве популяции с исходной чувствительностью также были использованы изоляты *V. inaequalis*, выделенные из симптоматизированных листьев дикой яблони *Malus orientalis*, собранных в предгорьях Западного Предкавказья. Полученные данные показывают, что дикая популяция характеризуется достоверно более низкой приспособленностью при росте на среде КГА при оптимальной и низкоположительной субоптимальной температуре, чем садовая популяция.

Более обширные исследования «платы» за приспособленность были проведены на других фитопатогенных грибах. Для устойчивых к тебуконазолу, флудиоксонилу и ипродиону изолятов *Penicillium expansum*, возбудителя гнили плодов при хранении, выявлено достоверное снижение роста мицелия по сравнению с исходными изолятами. При этом изоляты со сниженной чувствительностью к ципродинилу не имели нарушений в адаптации [10]. Устойчивые к дикарбоксимидам изоляты *Alternaria brassicicola* не имели существенных отличий от дикого типа при росте *in vitro* в оптимальных условиях, в то время как температурный и осмотический стрессы значительно снижали приспособительный потенциал устойчивых мутантов [11]. Эти результаты согласуются с выявленным нами фактом о сниженном росте изолятов *V. inaequalis* с множественной

устойчивостью при тепловом стрессе (рост при 27 °С). В работе [14] показано наличие ограничений в приспособленности устойчивых к флуксапироксаду изолятов *Botrytis cinerea*, возбудителя серой гнили, при росте на агаровой среде с добавлением глицерина, но не на среде КДА. При этом у возбудителя гнили картофеля *Alternaria solani* между изолятами дикого типа и резистентными к фунгицидам, ингибирующим сукцинатдегидрогеназу и внешние хиноны, *in vitro* не наблюдалось существенных различий в зонах роста мицелия ($p = 0.51$) [9]. В некоторых исследованиях *in vivo* и *in vitro* выявлено не столько отсутствие различий в приспособленности между чувствительной и устойчивой популяциями, сколько большая приспособленность последней. Так, устойчивые изоляты *Pyricularia oryzae* имеют больший рост мицелия и продукцию спор в лабораторных условиях и большую патогенность в экспериментах по заражению растений в сравнении с чувствительными [12]. Эти наблюдения согласуются с полученными нами результатами о преобладающей приспособленности резистентных культур при росте при температуре 6 и 18 °С.

Впервые при анализе прогнозируемой приспособленности фитопатогенов использован эксперимент по оценке зоны роста субстратного мицелия в питательной среде с разной концентрацией агара. Установлено, что увеличение концентрации агара до 4% вызывает усиление роста мицелия *V. inaequalis*, а при увеличении концентрации до 6% рост колонии тормозится и соответствует росту колонии в среде с 2%-ным гелем. Однако эта зависимость наблюдается только для устойчивых изолятов. Для чувствительных изолятов происходит равномерное усиление роста при увеличении плотности агарового геля. Однозначно предсказать наличие «платы» за приспособленность у устойчивых изолятов не представляется возможным, так как отмеченный феномен имеет характер тенденции и не подтвержден на уровне значимости $p < 0.05$.

Ранее среды с различной концентрацией агара в питательной среде использовали для выявления значимости в патогенезе меланизированнойности индуцированных гиф у возбудителя дерматомикоза человека и животных *Wangiella dermatitidis*. Показано, что дикий меланизированный биотип лучше проникает в среду с более высокой концентрацией агара (2–8%), чем мутантный немеланизированный штамм. Авторы предположили важность биомеханических характеристик гиф, определяемых наличием меланина, для проникновения паразита в ткани хозяина [27].

Роль меланина на начальных этапах патогенеза *V. inaequalis* была показана в работе [28]. Позже установили более широкое влияние меланина на приспособительные характеристики патогена. Так, потеря функции продуцировать меланин у меланин-дефицитного мутанта *V. inaequalis* SW01 приводила к частичной утрате жесткости клеточной стенки, снижению агрессивности по отношению к растению-хозяину и повышенной уязвимости к некоторым ксенобиотикам. При этом лабораторный мутант был способен заражать растение-хозяина и выживать в естественных условиях [29].

В некоторых случаях признак роста мицелия *in vitro* оказался менее информативным, чем показатели приспособленности *in vivo* при оценке эффекта «плат» у резистентных штаммов фитопатогенов. Изоляты *Sclerotinia homoeocarpa*, вызывающей склеротиниоз газона (долларовая пятнистость), которые имели устойчивость к пропиконазолу, существенно не отличались по скорости роста

мицелия в лабораторных условиях, но в полевых условиях при исключении из системы защиты фунгицида отмечено нарастание доли чувствительных форм гриба [30]. С другой стороны, долговременный мониторинг чувствительности к стробилуринам *V. inaequalis* в экспериментальных садах с отсутствием обработки препаратами с действующими веществами из этого класса фунгицидов в течение одного сезона и шести лет показал стабильно высокий уровень устойчивых форм патогена [15, 16].

Как отмечают некоторые авторы, оценка феномена «платы» за приспособленность *in vivo* является более информативной и чувствительной, чем лабораторные эксперименты [31]. Анализ экспериментов, проведенных на бактериях, показывает, что индивидуальные различия в степени роста культур *in vitro* должны быть более 5% на генерацию, чтобы их можно было обнаружить, тогда как конкурентные анализы могут выявить различия в 1% или даже 0.1% в зависимости от методов обнаружения частот генотипов [32].

Полученные в нашем исследовании данные о приспособительных характеристиках изолятов *V. inaequalis*, устойчивых к фунгицидам из одного или нескольких химических классов, имеют важное значение для контроля парши яблони в саду. Показано, что изоляты *V. inaequalis*, устойчивые к бензимидазолам, триазолам и анилинопиримидинам, имеют схожую или даже лучшую паразитарную приспособленность по большинству изученных *in vitro* параметров по сравнению с чувствительными изолятами. Это позволяет предположить, что устойчивые изоляты могут успешно конкурировать с чувствительными изолятами в полевых условиях.

Заключение

Впервые для возбудителя парши яблони в экспериментах *in vitro* была оценена приспособленность его изолятов, отличающихся чувствительностью или множественной устойчивостью к фунгицидам, к росту при различной температуре, включающей нижний и верхний пороги субоптимальных значений, а также при трех уровнях концентрации агара в питательной среде. Проведенные исследования показали, что за исключением роста мицелия при 27 °C по показателям прогнозируемой *in vitro* приспособленности изоляты *V. inaequalis* со множественной устойчивостью к фунгицидам значимо не отличались от биотипов с исходной чувствительностью или имели более высокие ее значения. Это позволяет предположить, что устойчивые изоляты могут успешно конкурировать с чувствительными в полевых условиях. Информация о «плате» за приспособленность может играть ключевую роль в определении стратегии дальнейшего использования химического препарата для контроля возбудителя парши яблони при создании антирезистентных программ защиты. Если резистентность не связана с «платой» за приспособленность, то соответствующий потерявший эффективность фунгицид должен быть исключен из программы защиты и, более того, использование его в качестве одного из компонентов в смесевых препаратах будет нецелесообразно вследствие развития устойчивости.

Дальнейшие исследования будут посвящены оценке конкуренции с использованием смешанных инокулятов изолятов в различных соотношениях. Эксперименты по инокуляции *in vivo* с использованием смесей чувствительных изолятов

и изолятов, обладающих устойчивостью к фунгицидам, и определение их доли после реинокуляции из зараженных растений обеспечат дополнительную оценку конкурентоспособности за счет более точного моделирования полевых условий.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/98.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Якуба Г.В. Оценка биологической эффективности биофунгицидов в защите от парши и биологизированный контроль основных микозов в агроценозах яблони // Научные труды СКЗНИИСиВ. 2016. Т. 9. С. 193–200.
2. Cox K.D. Fungicide resistance in *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, in the United States: Ch. 27 // Ishii H., Hollomon D. (Eds.) Fungicide Resistance in Plant Pathogens: Principles and a Guide to Practical Management. Tokyo: Springer, 2015. P. 433–447. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55642-8_27.
3. Cox K.D., Russo N.L., Villani S.M., Parker D.M., Köller W. QoI qualitative resistance and CYP51A1 upstream anomalies in NY populations of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* // Phytopathology. 2008. V. 98, No S6. Suppl. S. P. S42. (Proc. 100th Annu. Meet. of the American Phytopathological Society, July 26–30, 2008. Minneapolis, MN: Am. Phytopathol. Soc., 2008).
4. Тютепеев С.Л. Проблемы устойчивости фитопатогенов к новым фунгицидам // Вестник защиты растений. 2001. № 1. С. 38–53.
5. 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 // Proc. Int. Sci. Pract. Conf. “Innovative Technologies in Agriculture” (ITIA 2022). 2022. V. 47. Art. 10002. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224710002>.
6. Насонов А.И., Якуба Г.В., Астапчук И.Л. Чувствительность краснодарской популяции *Venturia inaequalis* к дифеноконазолу, ингибитору деметилирования стерина // Микология и фитопатология. 2021. Т. 55, № 4. С. 297–308. <https://doi.org/10.31857/S0026364821040103>.
7. 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. <https://doi.org/10.31857/S0026364822050087>.
8. Насонов А.И., Якуба Г.В., Астапчук И.Л., Степанов И.В. Чувствительность к ципродинулу популяций возбудителя парши яблони из краснодарских садов *in vitro* // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2023. № 79 (1). С. 186–202. <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2023-1-79-186-202>.
9. Bauske M.J., Gudmestad N.C. Parasitic fitness of fungicide-resistant and -sensitive isolates of *Alternaria solani* // Plant Dis. 2018. V. 102, No 3. P. 666–673. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1268-RE>.
10. Karaoglanidis G.S., Markoglou A.N., Bardas G.A., Doukas E.G., Konstantinou S., Kalampokis J.F. Sensitivity of *Penicillium expansum* field isolates to tebuconazole, iprodione, fludioxonil and cyprodinil and characterization of fitness parameters and patulin production // Int. J. Food Microbiol. 2011. V. 145, No 1. P. 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.017>.
11. Iacomi-Vasilescu B., Bataille-Simoneau N., Campion C., Dongo A., Laurent E., Serandat I., Hamon B., Simoneau P. Effect of null mutations in the AbNIK1 gene

- on saprophytic and parasitic fitness of *Alternaria brassicicola* isolates highly resistant to dicarboximide fungicides // Plant Pathol. 2008. V. 57, No 5. P. 937–947. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01864.x>.
12. Dorigan A.F., Moreira S.I., Ceresini P.C., Pozza E.A., Belan L.L., da Silveira P.R., Alves E. Higher fitness and competitive advantage of *Pyricularia oryzae* *Triticum* lineage resistant to QoI fungicides // Pest Manage. Sci. 2022. V. 78, No 12. P. 5251–5258. <https://doi.org/10.1002/ps.7144>.
 13. Chapman K.S., Sundin G.W., Beckerman J.L. Identification of resistance to multiple fungicides in field populations of *Venturia inaequalis* // Plant Dis. 2011. V. 95, No 8. P. 921–926. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0899>.
 14. Liu K., Wen Z., Ma Z., Shao W. Biological and molecular characterizations of fluxapyroxad-resistant isolates of *Botrytis cinerea* // Phytopathol. Res. 2022. V. 4, No 1. Art. 2. <https://doi.org/10.1186/s42483-022-00107-3>.
 15. Lesniak K.E., Proffer T.J., Beckerman J.L., Sundin G.W. Occurrence of QoI resistance and detection of the G143A mutation in Michigan populations of *Venturia inaequalis* // Plant Dis. 2011. V. 95, No 8. P. 927–934. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0898>.
 16. Fiaccadori R. Persistence of *Venturia inaequalis* populations resistant to strobilurins in the field and in the glasshouse // Am. J. Plant Sci. 2018. V. 9, No 4. P. 552–560. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.94042>.
 17. Насонов А.И. Новый способ получения культуры *Venturia inaequalis* из аскоспор // Микология и фитопатология. 2019. Т. 53, № 1. С. 46–48. <https://doi.org/10.1134/S0026364819010094>.
 18. Mann–Whitney U test calculator // Statistics Kingdom. 2017. URL: <http://www.statskingdom.com>.
 19. Mikaberidze A., McDonald B.A., Bonhoeffer S. Can high-risk fungicides be used in mixtures without selecting for fungicide resistance? // Phytopathology. 2014. V. 104, No 4. P. 324–331. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-13-0204-R>.
 20. Milgroom M.G., Levin S.A., Fry W.E. Population genetics theory and fungicide resistance // Leonard K.J., Fry N.E. (Eds.) Plant Disease Epidemiology. N. Y., NY: McGraw-Hill Co., 1989. V. 2: Genetics, resistance and management. P. 340–367.
 21. Avenot H.F., Michailides T.J. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi // Crop Prot. 2010. V. 29, No 7. P. 643–651. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.019>.
 22. Antonovics J., Alexander H.M. The concept of fitness in plant-fungal pathogen systems // Leonard K.J., Fry N.E. (Eds.) Plant Disease Epidemiology. N. Y., NY: McGraw-Hill Co., 1989. V. 2: Genetics, resistance and management. P. 185–214.
 23. Комардина В.С. Особенности культурально-морфологических признаков возбудителя парши яблони *Venturia inaequalis* (Coock.) Wint. (конидиальная стадия *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck.), выделенных из садов различных типов // Защита растений: сборник научных трудов. Минск: Институт защиты растений НАН Беларуси, 2006. Вып. 30, ч. 2. С. 121–129.
 24. Федорова П.Н. Парша яблони. Л.: Колос, 1977. 64 с.
 25. Kavak H., Celik A. Comparison of some morphological and physiological characters of apple scab pathogen (*Venturia inaequalis*) in two different agricultural ecology of Turkey // Erwerbs-Obstbau. 2021. V. 63. P. 47–52. <https://doi.org/10.1007/s10341-020-00540-8>.
 26. De Gracia M., Cascales M., Expert P., Bellanger M.-N., Le Cam B., Lemaire C. How did host domestication modify life history traits of its pathogens? // PLoS ONE. 2015. V. 10, No 6. Art. e0122909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122909>.

27. Brush L., Money N.P. Invasive hyphal growth in *Wangiella dermatitidis* is induced by stab inoculation and shows dependence upon melanin biosynthesis // Fungal Genet. Biol. 1999. V. 28, No 3. P. 190–200. <https://doi.org/10.1006/fgbi.1999.1176>.
28. Hignett R.C., Roberts A.L., Larder J.H. Melanoprotein and virulence determinants of *Venturia inaequalis* // Physiol. Plant Pathol. 1984. V. 24, No 3. P. 321–330. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(84\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0048-4059(84)90005-5).
29. Steiner U., Oerke E.-C. A melanin-deficient isolate of *Venturia inaequalis* reveals various roles of melanin in pathogen life cycle and fitness // J. Fungi. 2022. V. 9, No 1. Art. 35. <https://doi.org/10.3390/jof9010035>.
30. Hsiang T., Yang L., Barton W. Relative virulence of isolates of *Sclerotinia homoeocarpa* with varying sensitivity to propiconazole // Eur. J. Plant Pathol. 1998. V. 104. P. 163–169. <https://doi.org/10.1023/A:1008614832692>.
31. Насонов А.И., Якуба Г.В. К вопросу об изучении феномена «платы» за приспособленность у фитопатогенных грибов // Современная микология в России. Материалы пятого съезда микологов России: сборник научных трудов. М.: Национальная академия микологии, 2022. Т. 9, вып. 4. С. 282–283.
32. Andersson D.I., Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: Is it possible to reverse resistance? // Nat. Rev. Microbiol. 2010. V. 8. P. 260–271. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2319>.

Поступила в редакцию 19.07.2023

Принята к публикации 15.09.2023

Насонов Андрей Иванович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов

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

ул. им. 40-летия Победы, д. 39, г. Краснодар, 350901, Россия

E-mail: nasovan@mail.ru

Якуба Галина Валентиновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов

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

ул. им. 40-летия Победы, д. 39, г. Краснодар, 350901, Россия

E-mail: galyayaku@gmail.com

Бардак Мария Владимировна, магистрант биологического факультета

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный университет»

ул. Ставропольская, д. 149, г. Краснодар, 350040, Россия

E-mail: maria.brd1405@mail.ru

Астапчук Ирина Леонидовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов

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

ул. им. 40-летия Победы, д. 39, г. Краснодар, 350901, Россия

E-mail: irina_astapchuk@mail.ru

Марченко Никита Александрович, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов

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

ул. им. 40-летия Победы, д. 39, г. Краснодар, 350901, Россия

E-mail: marchekonikita@yandex.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.23-37

***In Vitro* Study of Fitness Parameters
in Fungicide-Resistant and -Sensitive *Venturia inaequalis* Isolates**A.I. Nasonov^{a*}, G.V. Yakuba^{a**}, M.V. Bardak^{b***}, I.L. Astapchuk^{a****}, N.A. Marchenko^{a*****}^aNorth Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-Making,
Krasnodar, 350901 Russia^bKuban State University, Krasnodar, 350040 RussiaE-mail: ^{*}nasoan@mail.ru, ^{**}galyayaku@gmail.com, ^{***}maria.brd1405@mail.ru,
^{****}irina_astapchuk@mail.ru, ^{*****}marchekonikita@yandex.ru

Received July 19, 2023; Accepted September 15, 2023

Abstract

The developing resistance of *Venturia inaequalis* to toxicants commonly used in systemic fungicides against apple scab has reduced their effectiveness, causing substantial fruit loss in orchards. To improve the situation and manage the resistance, a thorough analysis of the fitness potential among different pathogen biotypes, particularly those resistant to fungicides, is needed. In this study, the mycelial growth of *V. inaequalis* isolates with baseline sensitivity and resistance to one or more fungicides was assessed *in vitro* at four temperatures (6, 18, 27, and 30°C) and three agar concentrations in the nutrient medium (2, 4, and 6% m/V). Except for the mycelial growth at 27°C, the indicators of fitness predicted *in vitro* did not differ significantly between the *V. inaequalis* isolates with multiple resistance to fungicides and the biotypes with baseline sensitivity.

Keywords: *Venturia inaequalis*, triazoles, anilinopyrimidines, SDHI, multiple resistance, fitness cost, baseline isolates, mycelial growth, heat stress, agar concentration, nutrient medium

Acknowledgements. This study was supported by the Kuban Science Foundation (project no. MFI-20.1/98).

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure captions

Fig. 1. Growth of the *Venturia inaequalis* isolates with varying sensitivity or resistance to one or more fungicides simultaneously at different temperatures. The Jvys-14-1, RSnm22-18-2, and Mvys-4 isolates are resistant to one, two, and three fungicides, respectively; the K119-54 and K119-68-1 isolates have baseline sensitivity to fungicides.

Fig. 2. Growth of the *Venturia inaequalis* isolates with varying sensitivity or resistance to one or more fungicides simultaneously, depending on the concentration of agar in the nutrient medium. The Jvys-1, RSnm22-12-3, and Mvys-12 isolates are resistant to one, two, and three fungicides, respectively; the K119-70 and K119-54 isolates have baseline sensitivity to fungicides.

References

1. Yakuba G.V. Assessing the biological efficiency of biofungicides in scab combating and biological control of the main mycoses in apple agrocenoses. *Nauchn. Tr. SKZNIISiV*, 2016, vol. 9, pp. 193–200. (In Russian)
2. Cox K.D. Fungicide resistance in *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, in the United States. In: Ishii H., Hollomon D. (Eds.) *Fungicide Resistance in Plant Pathogens*:

- Principles and a Guide to Practical Management*. Ch. 27. Tokyo, Springer, 2015. pp. 433–447. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55642-8_27.
3. Cox K.D., Russo N.L., Villani S.M., Parker D.M., Köller W. QoI qualitative resistance and CYP51A1 upstream anomalies in NY populations of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 2008, vol. 98, no. 6, suppl. S, p. S42. Proc. 100th Annu. Meet. of the American Phytopathological Society, July 26–30, 2008. Minneapolis, MN, Am. Phytopathol. Soc., 2008.
 4. Tyuterev S.L. Problems of phytopathogen resistance to new fungicides. *Vestn. Zashch. Rast.*, 2001, no. 1, pp. 38–53. (In Russian)
 5. 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. *Proc. Int. Sci. Pract. Conf. "Innovative Technologies in Agriculture" (ITIA 2022)*, 2022, vol. 47, art. 10002. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224710002>.
 6. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Astapchuk I.L. Sensitivity of the Krasnodar population of *Venturia inaequalis* to difenoconazole, an inhibitor of sterol demethylation. *Mikol. Fitopatol.*, 2021, vol. 55, no. 4, pp. 297–308. <https://doi.org/10.31857/S0026364821040103>. (In Russian)
 7. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Lobodina E.V. The long-term resistance to carbendazim in *Venturia inaequalis* in the Krasnodar region (Russia). *Mikol. Fitopatol.*, 2022, vol. 56, no. 5, pp. 374–378. <https://doi.org/10.31857/S0026364822050087>. (In Russian)
 8. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Astapchuk I.L., Stepanov I.V. *In vitro* sensitivity to cyprodinil in apple scab populations from Krasnodar orchards. *Plodovod. Vinograd. Yuga Ross.*, 2023, no. 79 (1), pp. 186–202. <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2023-1-79-186-202>. (In Russian)
 9. Bauske M.J., Gudmestad N.C. Parasitic fitness of fungicide-resistant and -sensitive isolates of *Alternaria solani*. *Plant Dis.*, 2018, vol. 102, no. 3, pp. 666–673. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1268-RE>.
 10. Karaoglanidis G.S., Markoglou A.N., Bardas G.A., Doukas E.G., Konstantinou S., Kalampokis J.F. Sensitivity of *Penicillium expansum* field isolates to tebuconazole, iprodione, fludioxonil and cyprodinil and characterization of fitness parameters and patulin production. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011, vol. 145, no. 1, pp. 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.017>.
 11. Iacomi-Vasilescu B., Bataille-Simoneau N., Campion C., Dongo A., Laurent E., Serandat I., Hamon B., Simoneau P. Effect of null mutations in the AbNIK1 gene on saprophytic and parasitic fitness of *Alternaria brassicicola* isolates highly resistant to dicarboximide fungicides. *Plant Pathol.*, 2008, vol. 57, no. 5, pp. 937–947. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01864.x>.
 12. Dorigan A.F., Moreira S.I., Ceresini P.C., Pozza E.A., Belan L.L., da Silveira P.R., Alves E. Higher fitness and competitive advantage of *Pyricularia oryzae* *Triticum* lineage resistant to QoI fungicides. *Pest Manage. Sci.*, 2022, vol. 78, no. 12, pp. 5251–5258. <https://doi.org/10.1002/ps.7144>.
 13. Chapman K.S., Sundin G.W., Beckerman J.L. Identification of resistance to multiple fungicides in field populations of *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.*, 2011, vol. 95, no. 8, pp. 921–926. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0899>.
 14. Liu K., Wen Z., Ma Z., Shao W. Biological and molecular characterizations of fluxapyroxad-resistant isolates of *Botrytis cinerea*. *Phytopathol. Res.*, 2022, vol. 4, no. 1, art. 2. <https://doi.org/10.1186/s42483-022-00107-3>.
 15. Lesniak K.E., Proffer T.J., Beckerman J.L., Sundin G.W. Occurrence of QoI resistance and detection of the G143A mutation in Michigan populations of *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.*, 2011, vol. 95, no. 8, pp. 927–934. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0898>.
 16. Fiaccadori R. Persistence of *Venturia inaequalis* populations resistant to strobilurins in the field and in the glasshouse. *Am. J. Plant Sci.*, 2018, vol. 9, no. 4, pp. 552–560. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.94042>.
 17. Nasonov A.I. New method of producing of *Venturia inaequalis* culture from ascospores. *Mikol. Fitopatol.*, 2019, vol. 53, no. 1, pp. 46–48. <https://doi.org/10.1134/S0026364819010094>. (In Russian)
 18. Mann–Whitney U test calculator. *Statistics Kingdom*, 2017. URL: <http://www.statskingdom.com>.
 19. Mikaberidze A., McDonald B.A., Bonhoeffer S. Can high-risk fungicides be used in mixtures without selecting for fungicide resistance? *Phytopathology*, 2014, vol. 104, no. 4, pp. 324–331. <https://doi.org/10.1094/PHTO-07-13-0204-R>.

20. Milgroom M.G., Levin S.A., Fry W.E. Population genetics theory and fungicide resistance. In: Leonard K.J., Fry N.E. (Eds.) *Plant Disease Epidemiology*. Vol. 2: Genetics, resistance and management. New York, NY, McGraw-Hill Co., 1989, pp. 340–367.
21. Avenot H.F., Michailides T.J. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Prot.*, 2010, vol. 29, no. 7, pp. 643–651. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.019>.
22. Antonovics J., Alexander H.M. The concept of fitness in plant–fungal pathogen systems. In: Leonard K.J., Fry N.E. (Eds.) *Plant Disease Epidemiology*. Vol. 2: Genetics, resistance and management. New York, NY, McGraw-Hill Co., 1989. P. 185–214.
23. Komardina V.S. Culture and morphological characteristics of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* (Cock.) Wint. (conidial stage *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck) identified from different types of orchards. In: *Zashchita Rastenii: Sbornik Nauchnykh Trudov* [Plant Protection: A Collection of Scientific Articles]. Minsk, Inst. Zashch. Rast. Nats. Akad. Nauk Belarusi, 2006, no. 30, pt. 2, pp. 121–129. (In Russian)
24. Fedorova R.N. *Parsha yabloni* [Apple Scab]. Leningrad, Kolos, 1977. 64 p. (In Russian)
25. Kavak H., Celik A. Comparison of some morphological and physiological characters of apple scab pathogen (*Venturia inaequalis*) in two different agricultural ecology of Turkey. *Erwerbs-Obstbau*, 2021, vol. 63, pp. 47–52. <https://doi.org/10.1007/s10341-020-00540-8>.
26. De Gracia M., Cascales M., Expert P., Bellanger M.-N., Le Cam B., Lemaire C. How did host domestication modify life history traits of its pathogens? *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 6, art. e0122909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122909>.
27. Brush L., Money N.P. Invasive hyphal growth in *Wangiella dermatitidis* is induced by stab inoculation and shows dependence upon melanin biosynthesis. *Fungal Genet. Biol.*, 1999, vol. 28, no. 3, pp. 190–200. <https://doi.org/10.1006/fgbi.1999.1176>.
28. Hignett R.C., Roberts A.L., Larder J.H. Melanoprotein and virulence determinants of *Venturia inaequalis*. *Physiol. Plant Pathol.*, 1984, vol. 24, no. 3, pp. 321–330. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(84\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0048-4059(84)90005-5).
29. Steiner U., Oerke E.-C. A melanin-deficient isolate of *Venturia inaequalis* reveals various roles of melanin in pathogen life cycle and fitness. *J. Fungi*, 2022, vol. 9, no. 1, art. 35. <https://doi.org/10.3390/jof9010035>.
30. Hsiang T., Yang L., Barton W. Relative virulence of isolates of *Sclerotinia homoeocarpa* with varying sensitivity to propiconazole. *Eur. J. Plant Pathol.*, 1998, vol. 104, pp. 163–169. <https://doi.org/10.1023/A:1008614832692>.
31. Nasonov A.I., Yakuba G.V. Exploring the phenomenon of “fitness cost” associated with the adaptation of phytopathogenic fungi. *Sovremennaya mikologiya v Rossii. Materialy pyatogo s”ezda mikologov Rossii: sbornik nauchnykh trudov* [Current Mycology in Russia. Proc. 6th Congr. of Russian Mycologists: A Collection of Scientific Articles]. Moscow, Nats. Akad. Mikol., 2022, vol. 9, no. 4, pp. 282–283. (In Russian)
32. Andersson D.I., Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: Is it possible to reverse resistance? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2010, vol. 8, pp. 260–271. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2319>.

⟨ **Для цитирования:** Насонов А.И., Якуба Г.В., Бардак М.В., Астапчук И.Л., Марченко Н.А. Характеристика приспособленности устойчивых и чувствительных к фунгицидам изолятов *Venturia inaequalis* in vitro // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 23–37. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.23-37>. ⟩

⟨ **For citation:** Nasonov A.I., Yakuba G.V., Bardak M.V., Astapchuk I.L., Marchenko N.A. In Vitro study of fitness parameters in fungicide-resistant and -sensitive *Venturia inaequalis* isolates. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 23–37. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.23-37>. (In Russian) ⟩