

KATARZYNA PIECZUL
*Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Mikologii*

PRZYCZYNY ODPORNOŚCI NA FUNGICYDY GRZYBÓW PATOGENICZNYCH DLA ROŚLIN

1. Wstęp

Intensywna uprawa roślin rolniczych może sprzyjać rozwojowi chorób roślin wywoływanych przez grzyby patogeniczne. Wpływa na to dostępność roślin żywielskich uprawianych w monokulturach, brak właściwego zmianowania upraw, obecność zarodników grzybów patogenicznych znajdujących się np. w pozostawianych na polach resztkach porażonych roślin lub glebie oraz niedostatecznie lub nieprawidłowo prowadzona chemiczna ochrona roślin. Kolejnym zagrożeniem upraw jest możliwość nabywania przez patogeny odporności na stosowane w fungicydach substancje czynne.

W pracy przedstawione zostały zagadnienia związane z problemem odporności grzybów na fungicydy, szczególnie należące do grup: MBC (Methyl Benzimidazole Carbamates), QoI (Quinone outside Inhibitors), SDHI (Succinate Dehydrogenase Inhibitors) i DMI (DeMethylation Inhibitors). Wymienione grupy należą do fungicydów o wysokim lub średnim ryzyku powstawania szczepów odpornych, a jednocześnie należą do substancji powszechnie używanych w Polsce w ochronie roślin.

2. Historia fungicydów

Choroby roślin wywoływane przez grzyby, bakterie i wirusy przez stulecia rozwoju rolnictwa pozostawały poza wszelką kontrolą. Pierwszymi substancjami chemicznymi, które wykorzystywane były przez ludzi do ochrony roślin przed patogenami były związki miedzi, siarki, chloru oraz rtęci [Deising i wsp. 2008; Russell 2005]. Za początek racjonalnego stosowania substancji chemicznych

w ochronie roślin często uznaje się wynalezienie w roku 1885 mieszaniny miedzi i wapna tzw. cieczy bordoskiej. Preparat ten, służący początkowo ochronie winorośli przed mączniakiem rzekomym (*Plasmopara viticola*) jest nadal stosowany, głównie w uprawach sadowniczych i ogrodniczych [Russell 2005].

Szybszy rozwój ochrony roślin nastąpił dopiero na początku XX wieku, kiedy wraz z rozwojem nauk biologicznych rozpoczęto produkować i powszechnie używać fungicydy syntetyczne. Pierwsze z substancji należały do inhibitorów typu multi-site, czyli działających nieselektywnie na wiele procesów życiowych zachodzących w komórkach grzyba, powodując ich destabilizację i zniszczenie. Do preparatów, które powstały w ówczesnych latach i nadal są używane należą np.: tiram (1942), kaptan (1952), dodyna (1957), mankozeb (1961) oraz chlorotalonil (1964). Fungicydy typu multi-site najczęściej charakteryzują się kontakto- wym oddziaływaniem, nie należą więc do substancji zapewniających długotrwałą ochronę roślin. Preparaty te wymagają często stosowania dość wysokich dawek, mogą posiadać także niekorzystny wpływ na organizmy nie będące przedmiotem zwalczania. Do ich niewątpliwych zalet należy niewielkie ryzyko powstawania odporności u grzybów [Ma i Michailides 2005; Russell 2005].

Dalszy, znaczący rozwój ochrony roślin następował od lat 60-tych XX wieku. Związany był on z wprowadzeniem do rolnictwa fungicydów nowej generacji, tak zwanych inhibitorów single-site. Działanie fungicydów typu single-site polega na zablokowaniu przez substancję aktywną funkcjonowania konkretnego rodzaju białka, prowadzące do zatrzymania wybranych procesów fizjologicznych zachodzących w komórce grzyba. Wśród mechanizmów grzybobójczego działania fungicydów typu single-site wymienia się między innymi zaburzenia: syntezy kwasów nukleinowych (fenyloamidy), mitozy i podziałów komórkowych (benzimidazole), oddychania (strobiluryny), syntezy aminokwasów i białek (anilino-pirymidyny), steroli (imidazole, triazole), składników ścian komórkowych (karbamaty), czy sygnalizacji komórkowej (fenylopirole, dikarboksymidy) [FRAC 2012]. Fungicydy typu single-site są obecnie podstawą większości systemów ochrony roślin. Najczęściej są to substancje bezpieczne dla roślin, o działaniu wgłębnym lub systemicznym, zapewniającym długi okres ochrony roślin przed szerokim spektrum grzybów chorobotwórczych. Ze względu na ich silne, kierunkowe działanie przeciugrzybicze stosowane są w stosunkowo niewielkich ilościach [Ma i Michailides 2005; Russell 2005]. Niestety, mimo wielu zalet fungicydy single-site posiadają też swoje wady. Do jednej z najważniejszych należy możliwość powstawania u grzybów szczepów odpornych. Z tego względu coraz większe znaczenie odgrywa racjonalne stosowanie środków grzybobójczych, które ma zapewnić maksymalnie długą skuteczność stosowanych preparatów przez minimalizację możliwości rozwoju tego zjawiska [Ma i Michailides 2005].

3. Przyczyny odporności grzybów na fungicydy

Poszczególne gatunki grzybów różnią się pomiędzy sobą fizjologią. Wpływa to na zdolność wytwarzania szczepów odpornych. Wyższe ryzyko powstawania odporności występuje u patogenów o dużej zmienności genetycznej, krótkim cyklu rozwojowym, obfitej sporulacji, bezbarwnych zarodnikach mogących szybko rozprzestrzeniać się np: *Botrytis*, *Blumeria*, *Cercospora*, *Erisiphe* [Deising i wsp. 2008]. Ryzyko powstawanie szczepów grzybów odpornych na fungicydy może różnić się także między regionami upraw. Spowodowane jest to innymi warunkami do rozwoju grzybów (np. częstszymi opadami, wyższą wilgotnością oraz temperaturą sprzyjającą rozwojowi poszczególnych gatunków grzybów), oraz związaną z tym inną intensywnością ochrony roślin. Zjawisku sprzyja długotrwałe stosowanie tych samych substancji czynnych lub substancji o podobnym mechanizmie działania grzybobójczego na dużych obszarach upraw. Należy podkreślić, że ryzyko uodporniania się patogenów jest różne dla poszczególnych klas fungicydów. Do grup fungicydów charakteryzujących się wysokim ryzykiem możemy zaliczyć np. benzimidazole (MBC), fenyloamidy (PA) i strobiluryny (QoI), średnim DMI (triazole) i SDHI, a niskim morfoliny [FRAC 2012].

Przyczyny nabywania odporności na fungicydy przez grzyby patogeniczne dla roślin są różne. Najczęściej odporność wywołana jest zmianą w strukturze białka docelowego dla fungicydu (targetowego), wynikającą z pojawienia się w DNA kodującym to białko mutacji. Mutacje w komórkach grzybów powstają spontanicznie lub pod wpływem czynników zewnętrznych jak światło UV, czy substancje chemiczne [Deising i wsp. 2008; Ma i Michailides 2005]. Wśród innych czynników mogących powodować wzrost odporności izolatów grzybów na fungicydy wymienia się zwiększenie ekspresji (syntezy) białek targetowych dla fungicydów oraz syntezę alternatywnych enzymów, zastępujących funkcję tych, które blokowane są przez fungicydy [Deising i wsp. 2008; Ma i Michailides 2005, Pieczul i Perek 2015]. Kolejne przyczyny dotyczą wzrostu ekspresji białek, które powodują usunięcie fungicydów z komórek grzyba na zewnątrz. Uczestniczą w tym białka transportowe ABC i MFS. Transportery ABC (ATP-Binding Cassette) są dużą grupą, konserwatywnych białek umiejscowionych w błonie komórkowej, błonach organelli np. wakuoli, reticulum endoplazmatycznego, peroksy-somów oraz mitochondriów. Transportery MFS (Major Facilitator Superfamily) są białkami umiejscowionymi wyłącznie w błonie komórkowej. Obydwie grupy transporterów wychwytyują i usuwają szeroki zakres substratów (alkaloidy, peptydy, sterole, flawonoidy). Ich udział w usuwaniu fungicydów z komórek opisany został u wielu gatunków grzybów (*Aspergillus*, *Botrytis*, *Penicillium*). Działalność białek transportowych często związana jest ze zjawiskiem jednoczesnej, podwyż-

szanej odporności na wiele substancji, należących do różnych grup chemicznych fungicydów (odporność MDR – multi-drug resistance) [Deising i wsp. 2008; Ma i Michailides 2005]. Zjawisko to obserwuje się coraz częściej u grzybów patogenicznych dla roślin i może stanowić zagrożenie dla skutecznej kontroli patogenów. Szczepy odporne na fungicydy, posiadające podobne cechy fizjologiczne jak izolaty wrażliwe (ilości powstających zarodników, stopień patogeniczności, przeżywalności sezonu zimowego) mogą bardzo długo utrzymywać się w środowisku rolniczym. Odporność może być potem dziedziczona i stać się cechą populacji [Deising i wsp. 2008; Ma i Michailides 2005]. Zjawisko takie jest doskonale widoczne w przypadku powszechnie występującej odporności na benzimidazole u *Oculimacula yallundae* i *Oculimacula acuformis* (łamliwość źdźbła zbóż) czy *Cercospora beticola* (chwościk buraka) [Pieczul i Perek 2013, Pieczul i Korbas 2014]. Kolejnym niekorzystnym zjawiskiem coraz częściej obserwowanym u izolatów grzybów patogenicznych jest odporność krzyżowa. Zjawisko polega na jednoczesnym wykształceniu odporności na wiele fungicydów, których działanie dotyczy tego samego mechanizmu oporu. Zjawisko to w znacznym stopniu wyklucza zastępowanie środków chemicznych w obrębie grupy chemicznej, np. triazoli innymi triazolami [Avenot i Michailides 2007; Karaoglanidis i Thanassoulououlos 2003, Pieczul i Łacka 2015].

FUNGICYDY MBC (benzimidazole)

Fungicydy z grupy MBC - Metyl Benzimidazole Carbamates (benzimidazole oraz tiofanaty) są niewielką grupą fungicydów wprowadzonych do rolnictwa pod koniec lat 60-tych (tiabendazol 1964, benomyl 1968) oraz w latach 70-tych (fuberidazol 1970, tiofanat metylu 1970, karbendazym 1976). Początkowo, ze względu na szerokie działanie grzybobójcze wykorzystywane były chętnie do ochrony wielu rodzajów upraw roślin rolniczych, sadowniczych i ogrodniczych. Fungicydy MBC działają poprzez połączenie fungicydu z białkiem b-tubuliny, co hamuje budowę centromeru, transport chromosomów, podziały komórkowe oraz funkcjonowanie cytoszkieletu komórkowego [Davidse 1986]. Niestety wiele gatunków grzybów bardzo szybko uodporniło się na substancje czynne z tej grupy. Szczepy gatunków grzybów charakteryzujące się dużą liczbą cykli infekcyjnych jak *Venturia inaequalis* (parch jabłoni), czy *Botrytis cinerea* (szara pleśń) potrzebowały około 2 lat od momentu zastosowania benomulu na wykształcenie pełnej odporności [Deising i in. 2008]. U patogenów o mniejszej liczbie cykli infekcyjnych w ciągu roku odporność na benzimidazole pojawiła się później np. u *O. acuformis* i *O. yallundae* po około 10 latach od momentu rozpoczęcia stosowania benomylu, a u *Rhynchosporium secalis* (rynchosporioza zbóż) po 15 latach [Albertini i wsp. 1999; FRAC 2013].

Obecnie wśród gatunków, u których stwierdzono obecność szczepów odpornych na fungicydy MBC wymienia się ważne gospodarczo patogeny jak: *Alternaria alternata* (alternarioza), *Ascochyta pinodes*, *A. pisi* (askochytoza liści grochu), *B. cinerea*, *C. beticola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. lindemuthianum* (antraknoza) *Erisiphe graminis* (mączniak prawdziwy zbóż), *Fusarium* spp. (zgorzele podstawy źdźbła i fuzariozy), *Microdochium nivale* (pleśń śniegowa), *O. acufomis*, *O. yallundae*, *Pyrenophora teres* (plamistość siatkowa jęczmienia), *Pyrenophora tritici-repentis* (brunatna plamistość liści), *Rhizoctonia solani* (rizoktonioza ziemniaka), *Rhynchosporium secalis* (rynchosporioza), *Sclerotinia sclerotiorum* (zgnilizna twardzikowa), *Septoria tritici* (septorioza paskowana liści pszenicy), *Ustilago hordei* (głownia zwarta jęczmienia), *V. inequalis* i inne [FRAC 2013]. Badania laboratoryjne prowadzone w Zakładzie Mikologii Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu wskazują, że odpornych na benzimidazole było: 90% izolatów *C. beticola*, 98% izolatów *O. acufomis* i 70% izolatów *O. yallundae* (izolaty zbierane w latach 2010-2014) [Pieczul i Perek 2013, Pieczul i Korbas 2014].

Podstawową przyczyną powstawania odporności na fungicydy z grupy benzimidazoli są mutacje punktowe, które powodują zmianę sekwencji aminokwasów w miejscu wiązania fungicydu z białkiem b-tubuliny [Albertini i wsp. 1999; Davidson i wsp. 2006; Ma i Michailides 2005]. Wśród najczęstszych mutacji wymienia się: Glu198Ala/Gln/Gly/Lys/Val, Phe200Tyr, i Leu240Phe [Albertini i wsp. 1999; Ma i Michailides 2005, Pieczul i Piszczek 2012]. Różne substytucje w tym samym kodonie mogą wpływać na różnice w zakresie odporności [Albertini i wsp. 1999]. U izolatów *Monilinia fructicola* (brunatna zgnilizna drzew pestkowych) mutacja w kodonie 6 powoduje niski, a w 198 wysoki stopień odporności [Ma i wsp. 2003]. W rzadkich wypadkach odporność na benzimidazole nie jest związana z mutacjami w genie b-tubuliny [Kawchuk i wsp. 2002]. Mutanty odporne na benzimidazole często są zdolne do funkcjonowania w środowisku rolniczym, nawet po zaprzestaniu stosowania benzimidazoli [Karaoglanidis i wsp. 2003; Leroux i wsp. 2013].

FUNGICYDY QoI (strobiluryny)

Fungicydy QoI – Quinone outside Inhibitors potocznie nazywane strobilurynami są jedną z nowszych, a zarazem częściej używanych w ochronie roślin grup fungicydów. Na rynek preparatów służących ochronie roślin wprowadzone zostały po roku 1990. Strobiluryna jest substancją pochodzenia naturalnego. Jest syntetyzowana przez grzyb kapeluszowy *Strobilurus tenacellus*, co ma zapewnić zahamowanie rozwoju w jego otoczeniu grzybów konkurencyjnych. Ze względu na szybki rozkład na świetle substancja ta nie jest stosowana w ochronie roślin. Firmy chemiczne zastąpiły ją substancjami trwalszymi o podobnej budowie

chemicznej i właściwościach. Fungicydy te ze względu na swoje właściwości wykorzystywane są do zwalczania wielu patogenów roślin uprawnych, przynosząc dodatkowe korzyści w postaci stymulacji wzrostu roślin. Do substancji czynnych z tej grupy należą m.in.: azoksystrobina (1992), piraklostrobina (2000), dimoksy-strobina (2003), fluoksyastrobina (2002), pikoksystrobina (2001), piraklostrobina (2000), krezoksym metylu (1996). Niestety strobiluryny należą do fungicydów o wysokim ryzyku powstawania odporności u grzybów. Już po 2 latach stosowania strobiluryn w zwalczaniu *E. graminis*, czy *P. viticola* wykryto pierwsze, szczepy odporne [Deising i wsp. 2008; Haeney i wsp. 2000].

Działanie fungicydów QoI polega na hamowaniu procesów oddechowych zachodzących w mitochondriach, przez połączenie się z cytochromem b, należącym do III kompleksu oddechowego. Powoduje to zablokowanie transferu elektronów oraz zahamowanie syntezy ATP. Wywołany niedobór energetyczny skutkuje zahamowaniem wielu procesów życiowych jak wzrostu grzybni, wytwarzania zarodników konidialnych i ich kiełkowania [Fernandez-Ortuno i wsp. 2008].

Obecnie pojawia się coraz więcej doniesień na temat identyfikacji szczepów odpornych u kolejnych gatunków grzybów chorobotwórczych. Wśród patogenów, u których wykryto odporność na strobiluryny wymienia się między innymi: *A. alternata*, *A. solani* (alternarioza ziemniaka), *B. cinerea*, *C. beticola*, *C. gloeosporioides* *E. graminis*, *M. nivale*, *P. teres*, *P. tritici-repentis*, *R. secalis*, *S. tritici*, *Ustilago maydis* (głównia kukurydzy) oraz *V. inequalis* [FRAC. 2013]. W Polsce do patogenów, u których coraz częściej obserwowana jest odporność na strobiluryny należą *M. graminicola* i *V. inaequalis* [Broniarek-Niemiec i Bielenin 2007; Pieczul 2015]

Głównym mechanizmem nadającym odporność patogenom na strobiluryny są mutacje w genie cytochromu b: Gly143Ala, Fen129Leu lub Gly137Ala [Bolton i wsp. 2013; Fernandez-Ortuno i wsp. 2008; Malandrakis i wsp. 2011, Pieczul 2015]. Mutacje w kodonie 129 i 137 powodują mniejszy stopień odporności, niż w kodonie 143. Wśród innych mechanizmów wzrostu odporności grzybów na strobiluryny wymienia się usuwanie fungicydów z wnętrza komórek przy pomocy białek transportowych ABC i MNS lub wzrost aktywności alternatywnej oksydazy (AOX) [Fernandez-Ortuno i wsp. 2008, Pieczul i Perek 2015]. AOX jest enzymem łańcucha transportu elektronów u roślin i grzybów, związanym z wewnętrzną błoną mitochondrialną. Stanowi alternatywną do szlaku oksydazy cytochromu c trasę przepływu elektronów w łańcuchu oddechowym. Szlak ten generuje 60% mniej energii niż zwykły szlak oddechowy, przez co mutanty mogą być w gorszej kondycji fizjologicznej (wytwarzają mniej zarodników i są mniej patogeniczne) [Fernandez-Ortuno i wsp. 2008; Wood i Hollomon 2003].

FUNGICYDY SDHI

Fungicydy SDHI – Succinate Dehydrogenase Inhibitors, podobnie jak QoI są stosunkowo nową grupą fungicydów. W Polsce do najczęściej wykorzystywanych substancji należą: bixafen (2006), boskalid (2002), fluopyram (2008), izopyrazam (2008) pentiopyrad (2003). Działanie grzybobójcze fungicydów polega na hamowaniu procesów oddechowych zachodzących na II kompleksie oddechowym, konkretnie działanie dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) [Horsefield i wsp. 2006]. Niestety fungicydy SDHI należą do substancji, na które grzyby mogą dość szybko nabywać odporność. Spowodowane jest to mutacjami punktowymi w genach podjednostek B, C i D dehydrogenazy bursztynianowej [Avenot i Michailides 2010].

U grzybów opisany został szereg mutacji odpowiedzialnych za to zjawisko. Do dotychczas zidentyfikowanych należą w podjednostce B: Pro225Leu/Thr/Phe, Asn230Ile, His249Tyr/Leu/Asn, His252Leu, His267Tyr/Arg/Leu, His272Leu/Tyr/Arg, His277Tyr/Arg, w podjednostce C: Thr90Ile, His134Arg, His152Arg i Ile269Val/Cys oraz w podjednostce D: Asp123Glu, Asp124Glu, Asp132Arg, Asp/His133Arg, Asn230Ile [Avenot i Michailides 2010]. Badania modelowania białek wykazują, że wszystkie mutacje umieszczone są wewnątrz lub w pobliżu miejsca wiążącego ubiquinon i prowadzą do zmniejszenia lub utraty jego powinowactwa do fungicydów. Zazwyczaj szczepy odporne na SDHI wykazują oporność krzyżową na pozostałe fungicydy z grupy. Wrażliwość na poszczególne fungicydy może się znacznie różnić, w zależności od miejsca mutacji i podjednostki SDH. Badania parametrów fizjologicznych mutantów odpornych na fungicydy SDHI wykazują, że nie zawsze posiadają one zredukowaną zdolność sporulacji, kiełkowania zarodników i wytwarzania form przetrwalnikowych [Avenot i Michailides 2007].

Do patogenów, u których wykryto odporność na tą grupę fungicydów należą patogeny roślin uprawnych takie jak: *A. alternata*, *Corynespora cassiicola* (korynesporoza dyniowatych) *Didymella bryoniae* (czarna zgnilizna zawiązków i pędów roślin dyniowatych), *S. tritici*, *S. sclerotiorum*, *Ustilago maydis* (głownia kukurydzy) oraz *Ustilago nuda* (głownia pyląca jęczmienia) [Avenot i Michailides 2007; FRAC 2013].

FUNGICYDY DMI (triazole)

Fungicydy DMI – DeMethylation Inhibitors (triazole) należą do dużej grupy fungicydów wykorzystywanej w rolnictwie od lat 70-tych. Do substancji czynnych zarejestrowanych w Polsce należą m.in.: cyprokonazol (1989), epoksykonazol (1993), flusilazol (1984), imazalil (1977), metkonazol (1994), propikonazol (1980), tebukonazol (1988), terakonazol (1990) i prochloraz (1977). Działanie fungicydów DMI polega na specyficznym wiązaniu z 14-dimetylazą sterolu, enzy-

mem uczestniczącym w syntezie prekursora ergosterolu. Ergosterol jest głównym składnikiem błony komórkowej grzybów, uczestniczy w utrzymywaniu płynności oraz stabilności membran. Skutkiem zahamowania prawidłowego funkcjonowania dimetylazy jest gromadzenie intermediatów ergosterolu, takich jak lanosterol, co prowadzi do zmian funkcjonowania i struktury błony komórkowej [Lepesheva i Waterman 2007].

Pojawienie się odporności grzybów na fungicydy DMI może być spowodowane mutacjami punktowymi w genie dimetylazy sterolu (*Cyp51*). Dotychczas opisanych zostało kilkanaście mutacji (Val136Ala, Val136Cyt, Tyr137Phe, Phe180Leu, Ile138Val, Ala379Gly, Ser 524Thr) warunkujących wzrost odporności na fungicydy DMI, u różnych gatunków grzybów [Cools i Fraje 2008; Wynard i Brown 2005]. Inną przyczyną odporności jest wzrost poziomu ekspresji genu *Cyp51* [Bolton i wsp. 2012; Ma i Michailides 2005; Nikou i wsp. 2009]. Zjawisko takie obserwowane jest u grzybów z rodzaju *Penicillium*, *Venturia*, *Monilinia* [Schnabel i Jones 2001]. Kolejną z przyczyn wzrostu odporności grzybów na DMI jest efektywne działanie białek transportowych ABC i MFS [Deising i wsp. 2008]. Izolaty o zwiększonej odporności na triazole mogą być upośledzone w funkcjach fizjologicznych, co zapobiega w niektórych wypadkach wzrostowi ich występowania w populacji.

Do gatunków grzybów patogenicznych dla roślin, u których stwierdzono obecność szczepów o zwiększonej odporności na fungicydy DMI zalicza się: *B. cinerea*, *C. beticola*, *C. gloeosporioides*, *E. graminis*, *F. graminearum*, *M. fructicola*, *O. acufiformis*, *O. yallundae*, *P. teres*, *P. tritici-repentis*, *R. secalis*, *S. tritici*, *U. maydis*, *V. inequalis* i inne [FRAC 2013]. Badania wykonane w Zakładzie Mikologii IOR-PIB wskazują, że około 20-30% izolatów *C. beticola* charakteryzuje się podwyższoną odpornością na triazole. Do innych gatunków, u których zidentyfikowano szczepy charakteryzujące się podwyższoną odpornością na triazole w Polsce należą *Oculimacula* spp., *M. graminicola* [Pieczul i Korbas 2014, Pieczul i Perek 2013].

4. Podsumowanie

Stosowanie fungicydów jest niezbędne dla utrzymania wysokiej jakości plonów. Grzyby dostosowują się jednak do niekorzystnych dla nich czynników takich jak stosowanie fungicydów, co prowadzi do zmniejszenia ich wrażliwości na stosowane substancje czynne. Pojawianie się odporności na fungicydy jest zjawiskiem powszechnym u wielu gatunków grzybów patogenicznych dla roślin. Zwiększenie odporności wywołane jest najczęściej mutacjami w genach białek targetowych dla fungicydów lub zmianami ekspresji genów tych białek, syntezą białek zastępujących funkcję blokowanych przez fungicyd lub usuwających toksyny z wnętrza komórek.

Mutanty odporne na fungicydy mogą być trwale obecne w populacji patogena, jeżeli nie wykazują obniżenia kondycji fizjologicznej. Wprowadzenie monitorowania odporności, znajomość jego przyczyn oraz stosowanie praktyk mających na celu przeciwdziałanie temu zjawisku jak np. stosowanie preparatów złożonych, zawierających substancje czynne należące do różnych grup fungicydów, czy też naprzemienne używanie tych substancji, pozwala na lepsze zarządzanie ochroną upraw i zapewnia dłuższą skuteczność stosowanych substancji czynnych.

LITERATURA

1. Albertini C., Gredt M., Leroux P. (1999): Mutations of the b-tubulin gene associated with different phenotypes of benzimidazole resistance in the cereal eyespot fungi *Tapesia yallundae* and *Tapesia acuformis*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 64: 17-23.
2. Avenot H.F., Michailides T.J. (2010): Resistance to boskalid fungicide in *Alternaria alternata* isolates from pistachio in California. *Plant Dis.* 91: 1345-1350.
3. Avenot H.F., Michailides T.J. (2010): Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Protection* 29: 643-651.
4. Bolton M.D., Birla K., Rivera-Varas V., Rudolph K.D., Secor G.A. (2012): Characterization of *CbCyp51* from field isolates of *Cercospora beticola*. *Phytopathology* 102: 298-305.
5. Bolton M.D., Riviera V., Secor G. (2013): Identification of the G143A mutation associated with Qol resistance in *Cercospora beticola* field isolates from Michigan, United States. *Pest Manag. Sci.* 69: 35-39.
6. Broniarek-Niemiec A., Bielenin A. (2007): Odporność *Venturia inaequalis* na fungicydy strobilurynowe w sadach jabłoniowych w Polsce. *Progress in Plant Protection/ Postępy w Ochronie Roślin.* 47(2): 62-65.
7. Cools H.J., Mullins J.G.L., Fraaije B.A., Parker J.E., Kelly D.E., Lucas J.A., Kelly S.L. (2011): Impact in recently emerged sterol 14-demethylase (*Cyp51*) variants of *Mycosphaerella graminicola* on azole fungicide sensitivity. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 3830-3837.
8. Davidse L.C. (1986): Benzimidazole fungicides: mechanism of action and biological impact. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24: 43-65.
9. Davidson R.M., Hanson L.E., Franc G.D., Panella L. (2006): Analysis of β -tubulin gene fragments from benzimidazole-sensitive and tolerant *Cercospora beticola*. *J. Phytopathology* 154 (6): 321-328.
10. Deising H.B., Reiman S., Pascholati S.F. (2008): Mechanism and significance of fungicide resistance. *Braz. J. Microbiol.* 39: 286-295.
11. Fernandez-Ortuno D., Tores J.A., de Vicente A., Perez-Garcia A. (2008): Mechanism of resistance to Qol fungicides in phytopathogenic fungi. *Int. Microbiol.* 11: 1-9.
12. FRAC (2012): FRAC Code List. Fungicide sorted by mode of action. www.frac.info
13. FRAC (2013): List of Plant Pathogenic organisms Resistant to Disease Control Agents. www.frac.info

14. Horsefield R., Yankovskaya V., Sexton G., Whittingham W., Shiomi K., Omura S., Byrne B., Cecchini G., Iwata S. (2006): Structural and computational analysis of the quinone-binding site of complex II (succinate-ubiquinone oxidoreductase): a mechanism of electron transfer and proton conduction during ubiquinone reduction. *J. Biol. Chem.* 281: 7309-7316.
15. Karaoglanidis G.S., Thanassouloupoulos C.C. (2003): Cross-resistance patterns among sterol biosynthesis inhibiting fungicides (SBIs). *Eur. J. Plant. Pathol.* 109 (9): 929–934.
16. Kawchuk L.M., Hutchison L.J., Verhaeghe C.A., Lunch D.R., Bains P.S., Holley J.D. (2002): Isolation of the b-tubulin gene and characterization of thiabendazole resistance in *Gibberella pulicaris*. *Can. J. Plant Pathol.* 24: 233-238.
17. Lepesheva G.I., Waterman M.R. (2007): Sterol 14-demethylase cytochrome P450 (Cyp51), a P450 in all biological kingdoms. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1770: 467-477.
18. Leroux P., Gredt M., Remuson F., Micoud A., Sophie-Walker A. (2013): Fungicide resistance status in French populations of the wheat eyespot fungi *Oculimacula acuformis* and *Oculimacula yallundae* *Pest Manag. Sci.* 69(1): 15–26.
19. Ma Z., Michailides T.J. (2005): Advances in understanding molecular mechanism of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Prot.* 24: 853–863.
20. Malandrakis A., Markoglou A., Nikou D., Vontas J., Ziogas B. (2011): Molecular diagnostic for detecting the cytochrome b G143S – QoI resistance mutation in *Cercospora beticola*. *Pest. Biochem. Physiol.* 100: 87–92.
21. Nikou D., Malandrakis A., Konstantakaki M., Vontas J., Markoglou A., Ziogas B. (2009): Molecular characterization and detection of overexpressed C-14 alpha-demethylase-based DMI resistance in *Cercospora beticola* field isolates. *Pest. Biochem. Physiol.* 95: 18–27.
22. Pieczul K, Korbias M. (2014): Stopień odporności na fungicydy izolatów *Oculimacula acuformis* i *O. yallundae* – sprawców łamliwości źdźbła zbóż. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin.* 54(3): 339-344.
23. Pieczul K. (2015): Identyfikacja szczepów *Mycosphaerella graminicola* odpornych na strobiluryny w Polsce. *Streszczenia 55 Sesji Naukowej Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego.* s 73.
24. Pieczul K., Łacka A. (2015): Odporność krzyżowa *Cercospora beticola* na fungicydy DMI. *Streszczenia 55 Sesji Naukowej Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego.* s 58.
25. Pieczul K, Perek A. (2013): Odporność na fungicydy izolatów *Cercospora beticola* pochodzących z terenu Wielkopolski. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin.* 53(4): 796-800.
26. Pieczul K, Perk A. (2015): Przyczyny odporność izolatów *Cercospora beticola* (chwościk buraka) na strobiluryny w Wielkopolsce. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin.* 55(1): 45-48.
27. Pieczul K, Piszczek J. (2012): Identyfikacja szczepów *Cercospora beticola* odpornych na benzimidazole metodą RFLP. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin.* 52(4): 781-783.
28. Russell P.E. (2005): A century of fungicide evolution. *Journal of Agricultural Science.* 143: 11-25.

29. Schnabel G., Jones A.L. (2001): The 14-demethylase (*Cyp51*) gene is overexpressed in *Venturia inaequalis* strains resistance to myclobutanil. *Phytopathology* 91: 102-110.
30. Wood P.M., Hollomon D.W. (2003): A critical evaluation of the role of alternative oxidase in the performance of strobilurin and related fungicides acting at the Qo site of complex III. *Pest Manag Sci.* 59: 499-511.
31. Wynard R.A., Brown J.K.M. (2005): Sequence variation in the *Cyp51* gene of *Blumeria graminis* associated with resistance to sterol demethylase inhibiting fungicides. *Fungal Genet. Biol.* 42: 726-735.

KATARZYNA PIECZUL

PRZYCZYNY ODPORNOŚCI NA FUNGICYDY GRZYBÓW PATOGENICZNYCH DLA ROŚLIN

Słowa kluczowe: *odporność na fungicydy, grzyby patogeniczne*

STRESZCZENIE

Ochrona upraw przed grzybami patogenicznymi dla roślin jest jednym z podstawowych elementów zapewniających wysokie plony. Niestety, odporność na fungicydy jest zjawiskiem coraz częściej występującym u patogenów. Przyczyną zaniku ochronnego działania stosowanych substancji czynnych są najczęściej mutacje w genach białek docelowych dla fungicydów. Do innych czynników powodujących wzrost odporności grzybów na fungicydy zalicza się m.in. zwiększenie ekspresji w/w białek, syntezę alternatywnych enzymów zastępujących funkcje blokowanych enzymów lub usuwanie z komórek fungicydów przez transportery ABC i MFS. Obecnie, ze względu na wzrost częstości tego zjawiska coraz większe znaczenie odgrywa stosowanie fungicydów zgodnie z praktykami zapobiegającymi powstawaniu odporności u grzybów.

KATARZYNA PIECZUL

THE REASONS OF FUNGICIDE RESISTANCE OF PLANT PATHOGENIC FUNGI

Keywords: *fungicide resistance, pathogenic fungi*

SUMMARY

Crop protection against plant pathogenic fungi is one of the basics ensuring high yields. Unfortunately, resistance to fungicides has the tendency to occur more frequently. The causes of the decline of active substances protective effect are usually mutations in genes of fungicide target proteins. The other factors of increasing resistance level include overexpression of target protein, synthesis of alternative enzymes replacing functions of inhibited enzymes or removal of fungicides from cells by ABC and MFS protein transporters. Currently, due to the increased incidence of this phenomenon is important to use fungicides according to practices preventing the formation of fungi resistance.

e-mail: k.pieczul@iorpib.poznan.pl