

## MONITORING ODPORNOŚCI *VENTURIA INAEQUALIS* NA FUNGICYDY STROBILURYNOWE I DODYNOWE

### Monitoring of *Venturia inaequalis* resistance to strobilurin and dodine fungicides

Agata Broniarek-Niemiec, Anna Bielenin  
Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa Skierniewice

#### ABSTRACT

Monitoring of *Venturia inaequalis* resistance to dodine and strobilurin fungicides was conducted in selected orchards in 2004, where severe apple scab symptoms on leaves and fruits had been observed before. High levels (30-80%) of forms resistant to dodine in fungus populations were found in 9 of the 15 orchards under observation. In 10 other orchards, forms resistant to strobilurins were also identified. In 2 of those orchards, the percentage of resistant forms in the whole fungus population was more than 60%, while in the other 8 orchards it varied between 1 and 20%. Moreover, the effectiveness of strobilurin fungicides in controlling apple scab was evaluated in 2 orchards in which high levels of resistant forms (about 70%) were found. In these orchards, the effectiveness of the fungicide Zato 50 WG was very low (16-44%). In contrast, the effectiveness of the mixtures of strobilurin with contact fungicides was higher (41-96.6%).

**Key words:** apple scab, *Venturia inaequalis*, resistance to dodine and strobilurin fungicides

#### WSTĘP

Grzyb *Venturia inaequalis*, sprawca parcha jabłoni, charakteryzuje się dużą zmiennością, co powoduje, że formy odporne na stosowane fungicydy pojawiają się stosunkowo łatwo. Na szybkość występowania odporności wpływa także intensywność ochrony chemicznej oraz monokulturowa forma uprawy jabłoni. Obecnie w sadach jabłoniowych zarówno w Polsce, jak i w innych krajach zjawisko odporności *V. inaequalis* dotyczy większości stosowanych grup fungicydów (Broniarek-Niemiec, Bielenin 2003). Stwierdzono powszechne występowanie odporności na benzimidazole, inhibitory biosyntezy ergosterolu, dodynę i strobiluryny. W Polsce pojawienie się odporności na fungicydy dodynowe zanotowano pod koniec lat osiemdziesiątych ubiegłego stulecia

i prawdopodobnie było ono wynikiem bardzo intensywnego stosowania tych związków, często w zaniżonych dawkach. W ostatnich latach w niektórych sadach zanotowano także obniżenie skuteczności najnowszej grupy fungicydów, jaką są strobiluryny. Mechanizm grzybobójczego działania tych związków polega na hamowaniu oddychania poprzez blokowanie transportu elektronów przez błonę mitochondrialną grzyba. Jest to mechanizm wysoce specyficzny, który sprzyja szybkiemu uodpornieniu się grzyba. Strobiluryny zaliczono więc do grupy związków o wysokim ryzyku powstawania odporności (Fungicide Resistance Action Committee - FRAC).

Celem przeprowadzonych badań było określenie występowania form *V. inaequalis* odpornych na fungicydy dodynowe i strobilurynowe w wybranych sadach jabłoniowych w Polsce oraz ocena skuteczności fungicydów strobilurynowych i ich mieszanin ze środkami powierzchniowymi w zwalczaniu parcha jabłoni.

## MATERIAŁ I METODY

### **Monitoring występowania form *V. inaequalis* odpornych na fungicydy dodynowe**

Badania przeprowadzono w 2004 roku w 15 sadach jabłoniowych w Polsce centralnej, w których pomimo stosowanego standardowego programu ochrony, stwierdzono znaczne porażenie liści i owoców przez parcha jabłoni. Z każdego sadu pobrano próby 50 liści z wyraźnymi świeżymi objawami parcha. Następnie z miejsca plamy wycinano korkoborem krążki liścia, połowę krążka umieszczano na szkiełku podstawowym w zawiesinie wodnej dodyny (Syllit 65 WP), o stężeniu  $1,0 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ , a drugą połowę krążka w wodzie. Ocenę kiełkowania zarodników konidialnych *V. inaequalis* przeprowadzano po 24 godzinach inkubacji w mikrokamerach, na wilgotnej bibule, w temperaturze pokojowej. Ocenę kiełkowania zarodników wykonano w 10 powtórzeniach dla każdego z badanych sadów. W każdym powtórzeniu (krążki liścia z plamą) liczone w zawiesinie po 100 zarodników i oceniano procent zarodników kiełkujących w zawiesinie dodyny i w kontroli (woda) oraz obliczano wskaźnik form odpornych (WFO), który wyrażony jest wzorem  $\text{WFO}\% = (a : b) \times 100\%$ , gdzie a – procent form odpornych w dodynie, b – procent kiełkujących zarodników w kontroli.

### **Monitoring występowania form *V. inaequalis* odpornych na fungicydy strobilurynowe**

Wrażliwość *V. inaequalis* na fungicydy strobilurynowe oceniano w teście kiełkowania zarodników na odciętych liściach. W 2004 roku, z 10 sadów, w których nasilenie parcha było wysokie, pobrano próby po 50 liści z objawami chorobowymi. Zawiesinę zarodników konidialnych, uzyskaną przez zmywanie wodą porażonych liści, nanoszono kroplami na młode liście, opryskane wcześniej preparatem strobilurynowym Discus 500 WG w stężeniu 200 mg/dm<sup>3</sup>. Po 24 godzinach inkubacji liści w mikrokamerach, na wilgotnej bibule, w temperaturze pokojowej zdejmowano za pomocą taśmy klejącej zarodniki konidialne z powierzchni liści, a następnie przy użyciu mikroskopu sprawdzano ich kiełkowanie. Liście traktowane wodą stanowiły kontrolę, która pozwalała na ocenę żywotności zarodników konidialnych pochodzących z poszczególnych sadów. Ocenę kiełkowania zarodników i obliczenie wskaźnika form odpornych – WFO% wykonano jak w opisie metodycznym dla dodyny.

### **Półowa ocena skuteczności fungicydów strobilurynowych i ich mieszanin ze środkami powierzchniowymi w zwalczaniu parcha jabłoni**

Doświadczenia przeprowadzono w 2004 r., w 2 sadach jabłoniowych, w których w poprzednim sezonie obserwowano obniżoną skuteczność strobiluryn. W sadzie A badania przeprowadzono na 16-letnich jabłoniach odmiany 'Lobo', natomiast w sadzie B na 8-letnich jabłoniach odmiany 'Jonagored'. W badaniach oceniano efektywność działania fungicydu Zato 50 WG (trifloksystrobina), oraz mieszanin strobiluryny z preparatem o działaniu powierzchniowym: Zato 50 WG + Euparen Multi 50 WG (tolylfluanid), Zato 50 WG + Antracol 70 WG (propineb), Discus 500 WG (krezoksym metylowy) + Delan 700 WG (dithianon). Fungicydy stosowano zapobiegawczo, co 7-10 dni, czterokrotnie, począwszy od fazy różowego pąka. Ocenę porażenia liści i owoców wykonano po 3 tygodniach od ostatniego zabiegu na próbie losowo pobranych 800 liści i 400 owoców (4 powtórzenia po 200 liści i 100 owoców w każdym powtórzeniu). Dla każdego powtórzenia obliczano procent porażonych liści lub owoców. Dla wartości średnich obliczano wskaźnik efektywności (WE%) w odniesieniu do kontroli według następującej formuły  $(WE\%) = 100 - a:b \times 100\%$ , gdzie a – procent porażenia w kombinacji doświadczalnej, b – w kontroli.

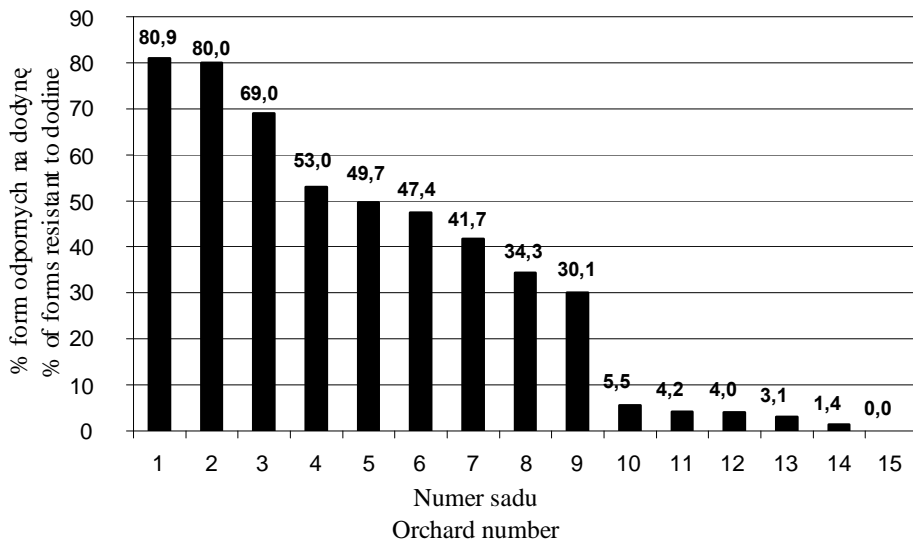
### **Statystyczny sposób opracowania wyników**

Wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji, którą wykonano na wartościach przekształconych wg funkcji Bliss. Istotność

różnic między średnimi oceniano testem t-Duncana, przyjmując poziom istotności 5%.

## WYNIKI

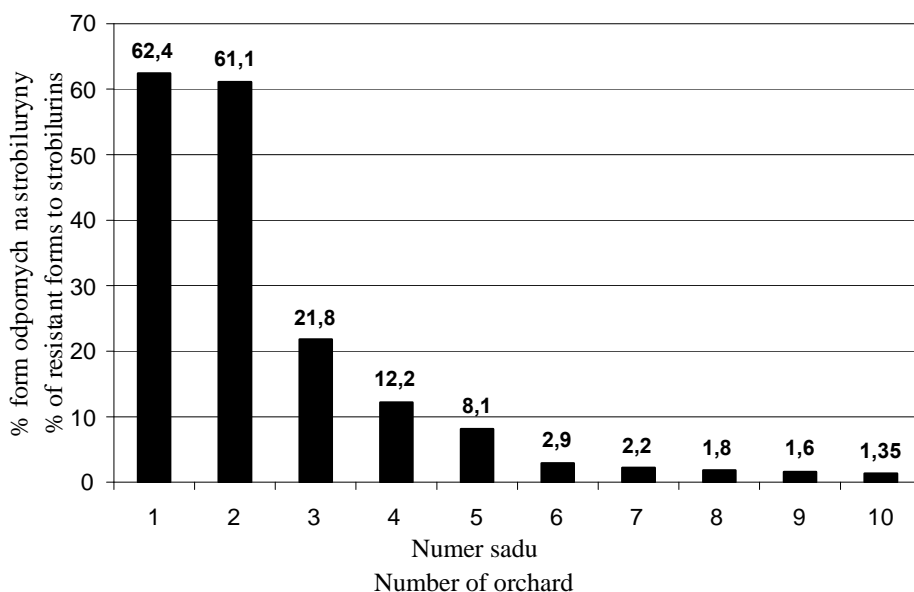
Przeprowadzone badania populacji *V. inaequalis* wykazały, że udział form odpornych na dodinę w większości testowanych sadów (w 9 z nich) był wysoki i wynosił od 30 do 80%. W pozostałych 6 sadach nie wykryto form odpornych lub ich udział w populacjach grzyba był niski i nie przekraczał 5,5% (rys. 1).



Rys. 1. Procentowy udział form odpornych na dodinę w populacjach *V. inaequalis* w 15 sadach produkcyjnych – Percentage of dodine-resistant forms in *V. inaequalis* populations in 15 commercial orchards.

Formy *V. inaequalis* odporne na strobiluryny stwierdzono we wszystkich monitorowanych sadach. Ich udział w populacjach grzyba był bardzo zróżnicowany, w 5 sadach stanowił od 1 do 3%, w 3 od 8 do 22%, a w 2 sadach był wysoki i wynosił ponad 60% (rys. 2).

Badania populacji *V. inaequalis* przeprowadzone w dwóch sadach, w których testowano skuteczność fungicydów strobilurynowych i ich mieszanin ze środkami kontaktowymi w zwalczaniu parcha jabłoni, wykazały duży udział form odpornych na strobiluryny (ok. 70%).



Rys. 2. Procentowy udział form odpornych na strobiluryny w populacjach *V. inaequalis* w 10 sadach produkcyjnych. Test na odciętych liściach – Percentage of strobilurin-resistant forms in *V. inaequalis* populations in 10 commercial orchards. Test of detached leaves

W sadach tych skuteczność związków strobilurynowych, szczególnie zastosowanych bez mieszania ich z innymi fungicydami, była bardzo niska, zarówno w ochronie liści, jak i owoców. Efektywność fungicydu Zato 50 WG w zwalczaniu parcha jabłoni na liściach wyniosła 16 i 40%, a na owocach 22,7 i 44%. Znacznie wyższa była efektywność działania zastosowanych mieszanin, szczególnie mieszaniny fungicydów Zato 50 WG i Euparenu Multi 50 WG (na liściach 89 i 97%, a na owocach 76 i 86%) oraz mieszaniny fungicydów Discus 500 WG i Delan 700 WG (na liściach 82 i 96%, a na owocach 91 i 95%). Najniższa była natomiast efektywność mieszaniny Zato 50 WG i Antracolu 70 WG, która wynosiła na liściach 42 i 67%, a na owocach 71 i 76% (tab. 1).

Tabela 1

Skuteczność strobiluryn w zwalczaniu parcha jabłoni w sadach, w których występowały formy *V. inaequalis* odporne na strobiluryny  
Effectiveness of strobilurin fungicides in controlling apple scab in orchards with strobilurin-resistant forms of *V. inaequalis*

Fungicyd i dawka na 1 ha Fungicide and dose per 1 ha	Sad A (Orchard A)				Sad B (Orchard B)			
	Procent porażenia % of infected		WE %*		Procent porażenia % of infected		WE %*	
	liści leaves	owoców fruits	liście leaves	owoce fruits	liści leaves	owoców fruits	liście leaves	owoce fruits
Kontrola (Untreated)	17,5 d	11,0 c	-	-	17,5 e	10,9 e	-	-
Zato 50 WG 0,15 kg	10,5 c	8,5 c	40	22,7	14,7 d	6,1 d	16	44
Zato 50 WG 0,15 kg + Euparen Multi 50 WG 1,5 kg	0,6 a	2,6 b	96,6	76,4	1,9 a	1,5 bc	89,1	86,2
Zato WG 50 WG 0,15 kg + Antracol 70 WG 1,5 kg	5,7 b	3,2 b	67,4	70,9	10,2 c	2,6 c	41,7	76,1
Discus 500 WG 0,2 kg + Delan 700 WG 0,5 kg	0,7 a	1,0 a	96	90,9	3,2 b	0,6 ab	81,7	94,5

\* WE % – wskaźnik efektywności – effectiveness ratio

Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) wg testu Duncana. Ocena różnic oddzielnie dla każdej kolumny – The means followed by the same letter are not significantly different (5%). Statistical analysis was performed separately for each column

## DYSKUSJA

Odporność grzyba *V. inaequalis* na fungicydy dodynowe notowano w Polsce już pod koniec lat 80. ubiegłego stulecia (Nowacka 1993). Potwierdziły to także badania przeprowadzone w 1999 r., które wykazały, że w niektórych sadach formy *V. inaequalis* odporne na dodynę stanowiły nawet ponad 50% populacji grzyba (Meszka i Bielenin 2001). W przeprowadzonych badaniach wykazano, że w wielu sadach nadal utrzymuje się wysoki udział form odpornych grzyba na fungicydy dodynowe. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność ograniczania liczby zabiegów tymi związkami, a w sadach, w których stwierdzono formy odporne należy całkowicie zaprzestać ich używania. Dzięki szybkim i łatwym testom badania odporności istnieje możliwość oceny sytuacji w poszczególnych sadach.

W związku z występowaniem w niektórych sadach form *V. inaequalis* odpornych na strobiluryny, co potwierdzono także podczas przeprowadzonego monitoringu, konieczna jest ocena tego zjawiska w jak największej liczbie sadów. Od roku 2002, kiedy po raz pierwszy zanotowano obniżenie skuteczności fungicydów strobilurynowych w Polsce, ciągle wzrasta liczba sadów z mniejszą wrażliwością grzyba *V. inaequalis* na te środki (Broniarek-Niemiec; Bielenin 2003). Świadczy to o coraz większej skali odporności na strobiluryny w sadach jabłoniowych w Polsce. Występowanie odporności *V. inaequalis* na strobiluryny obserwowane jest także w innych krajach. Mechanizm odporności grzyba na tę grupę środków jest złożony i nie do końca wyjaśniony. W przypadku grzyba *V. inaequalis* może występować zarówno odporność genetyczna na poziomie genu cytochromu b, jak i odporność metaboliczna, polegająca na kompensacji niedoboru energii poprzez indukcję alternatywnej ścieżki oddechowej (Steinfeld i wsp. 2003). Dlatego do badania zmian we wrażliwości populacji *V. inaequalis* na strobiluryny najbardziej przydatne są testy *in vivo* (Olaya i Köller 1999). Kryteria te spełnia także opracowany ostatnio w ISK przez autorki tego artykułu test na odciętych liściach. Test jest prosty i umożliwia szybką ocenę, dlatego też z powodzeniem może być wykorzystany w monitorowaniu odporności na te związki w sadach jabłoniowych. Ponadto wykazano, że stosowanie mieszaniny fungicydów strobilurynowego i powierzchniowego, szczególnie tych najskuteczniejszych, daje możliwość obniżenia strat powodowanych wystąpieniem form odpornych, nawet przy znacznym udziale tych form w populacji grzyba.

## LITERATURA

- Broniarek-Niemiec A., Bielenin A. 2003. Problem odporności *Venturia inaequalis* na fungicydy stosowane w sadach jabłoniowych w Polsce. *Folia Horticulturae Supplement*, 2003/1: 590-592.
- Meszka B., Bielenin A. 2001. Decrease of *Venturia inaequalis* (Cook) Aderch. Sensitivity to ergosterol biosynthesis inhibitor and dodine fungicides. *J. Fruit Ornam. Plant Res.* **9**: 85-92.
- Nowacka H. 1993. Rozszerzenie odporności grzyba powodującego parcha jabłoni. *OWK*, 1: 8-9.
- Olaya G., Köller W. 1999. Baseline sensitivities of *Venturia inaequalis* populations to the strobilurin fungicide Kresoxim-methyl. *Plant Disease*, **83**: 274-278.
- Steinfeld U., Sierotzki H., Parisi S., Poirey S., Gisi U. 2001. Sensitivity of mitochondrial respiration to different inhibitors in *Venturia inaequalis*. *Pest Management Science*, **57**: 787-796.