

Received: 02.11.2015 / Accepted: 05.01.2016

The resistance of *Venturia inaequalis* to fungicides, with the special emphasis of strobilurin

Odporność *Venturia inaequalis* na fungicydy ze szczególnym uwzględnieniem strobiluryn

Agata Broniarek-Niemiec*

Summary

The chemical method plays the most important role in control of apple scab (*Venturia inaequalis*). However, frequent and improper use of some groups of fungicides has resulted in the development of *V. inaequalis* strains, that are resistant to commonly used active substances. The resistance of *V. inaequalis* to benzimidazoles, dodine, ergosterol biosynthesis inhibitors, anilino-pyrimidines, as well as strobilurins has been recorded in apple orchards in Poland and many other country. The strobilurins are the inhibitors of fungi respiration, and act on oxidoreductase Qo ubiquinone-cytochrome site. It is the highly specific mechanism, controlled by one gene, which favors generation of the resistant forms. So far, two mechanisms of resistance to strobilurins are known in *V. inaequalis*, G143A mutation in the gene of cytochrome b and alternative respiration (AOX – alternative oxidase), but the greatest role in the expression of resistance is conferred by the gene mutation. The *V. inaequalis* resistance to strobilurin fungicides has been observed in many countries in the world. The study conducted in 2004–2013 showed that the occurrence of resistant forms of *V. inaequalis* fungus to strobilurin is common also in Poland. In order to prevent and eliminate the development of resistance, the international organization FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) has been disseminating and implementing rules that should effectively reduce the occurrence of resistance.

Key words: apple scab; resistance to fungicides; Qo fungicides; mechanisms; prevention

Streszczenie

W zwalczaniu parcha jabłoni (*Venturia inaequalis*) najważniejszą rolę odgrywa metoda chemiczna. Jednak wielokrotne i często niewłaściwe stosowanie niektórych grup fungicydów skutkuje pojawianiem się form sprawcy choroby odpornych na preparaty. Obecnie, w sadach jabłoniowych zarówno w Polsce, jak i na świecie, zjawisko odporności *V. inaequalis* dotyczy fungicydów benzimidazolowych, dodynowych, inhibitorów biosyntezy ergosterolu, anilinopirymidynowych, a także strobilurynowych. Strobiluryny należą do grupy inhibitorów procesu oddychania (QoI), a miejscem ich działania jest kompleks oksydoreduktazy Qo ubichinon-cytochrom c grzyba. Jest to mechanizm wysoce specyficzny, kontrolowany przez jeden gen, co sprzyja powstawaniu form odpornych grzyba. Dotychczas u *V. inaequalis* poznano dwa mechanizmy odporności na strobiluryny, mutację G143A w genie cytochromu b oraz alternatywne oddychanie (AOX – alternative oxidase), przy czym największą rolę w ekspresji odporności przypisuje się mutacji genowej. Odporność *V. inaequalis* na strobiluryny stwierdzono w wielu krajach na świecie. Przeprowadzone w latach 2004–2013 badania wykazały, że występowanie odpornych form grzyba *V. inaequalis* na strobiluryny jest zjawiskiem powszechnym także w Polsce. W celu zapobiegania i eliminacji powstawania odporności upowszechniane i wdrażane są zasady określone przez międzynarodową organizację FRAC (Fungicide Resistance Action Committee).

Słowa kluczowe: parch jabłoni; odporność na fungicydy; fungicydy QoI; mechanizmy; zapobieganie

Instytut Ogrodnictwa
Pracownia Fitopatologii Sadowniczej
Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice
*corresponding author: agata.broniarek@inhort.pl

Wstęp / Introduction

Parch jabłoni [*Venturia inaequalis* (Cooke) Winter] jest najgroźniejszą chorobą sadów i szkółek jabłoniowych we wszystkich rejonach ich uprawy na świecie. Występuje także na dziko rosnących gatunkach rodzaju *Malus* (MacHardy 1996). W Polsce choroba występuje corocznie, a jej nasilenie zależy od podatności odmiany, przebiegu warunków pogodowych oraz wielkości pierwotnego źródła infekcji. Porażeniu ulegają głównie liście i owoce, często dochodzi również do infekcji szypułek owocowych, ogonków liściowych, działek kielicha oraz niekiedy młodych niezdrewniałych pędów. Straty powodowane przez parcha jabłoni są bardzo wysokie, gdyż porażone owoce tracą wartość handlową, a przy silnym porażeniu może dochodzić do znacznej redukcji lub nawet całkowitej utraty plonu handlowego. Pomimo dobrze poznanej epidemiologii, nowoczesnych systemów prognozujących oraz szerokiego asortymentu fungicydów do ochrony jabłoni przed parchem, zwalczanie choroby nie zawsze jest wystarczająco skuteczne, zwłaszcza na podatnych odmianach i w lata z dużą ilością opadów w okresie wiosennym. W Polsce szacuje się, że straty plonów powodowane przez parcha jabłoni, w zależności od sezonu, wynoszą średnio około 20–30%, a w niektóre lata mogą przekraczać nawet 50–70% (Borecki 2001; Meszka 2012).

Ochrona jabłoni przed parchem opiera się głównie na zabiegach chemicznych wykonywanych zgodnie ze wskazaniami modeli prognostycznych np. Vetem, RIMpro, czy A-scab. Modele te w oparciu o analizę danych atmosferycznych i symulację, pozwalają śledzić proces dojrzewania zarodników workowych grzyba *V. inaequalis*, prognozują terminy ich wysiewów i nasilenie, wielkość źródła infekcji oraz zagrożenie chorobowe, a następnie pojawianie się objawów parcha jabłoni (Masny i Jankowski 2012). Nowoczesne programy ochrony oparte na sygnalizacji zagrożeń pozwalają na znaczne zmniejszenie liczby wykonywanych zabiegów, przy utrzymaniu wysokiej ich skuteczności. Mimo to, w warunkach klimatycznych Polski, w celu ochrony jabłoni przed parchem, w zależności od warunków atmosferycznych i podatności odmiany, wykonuje się zwykle od 8 do 15 zabiegów w sezonie.

Obecnie asortyment środków polecanych do zwalczania parcha jest szeroki i obejmuje środki zarówno o działaniu powierzchniowym, takie jak: miedziowe, ftalimidy, antrachinony i ditiokarbaminiany, przeznaczone do zabiegów zapobiegawczych, jak i preparaty o działaniu wgłębnym i systemicznym, wykazujące oprócz działania zapobiegawczego także działanie interwencyjne i wyniszczające (Broniarek-Niemiec i Bielenin 2003; Broniarek-Niemiec i wsp. 2012). Jednak wielokrotne i często niewłaściwe stosowanie fungicydów powoduje w populacjach grzyba *V. inaequalis* selekcję form mniej wrażliwych na stosowane preparaty, co objawia się ich słabszą skutecznością. Pojawienie się odporności stanowi bardzo poważny problem, gdyż łączy się zwykle ze znacznymi stratami ponoszonymi, zarówno przez producentów środków ochrony, jak i producentów owoców. Problem odporności dotyczy wszystkich najważniejszych grup fungi-

cydów o specyficznym mechanizmie działania, stosowanych w zwalczaniu parcha jabłoni, w tym środków strobilurynowych.

Charakterystyka fungicydów stosowanych do zwalczania parcha jabłoni / The characteristics of fungicides used for the control of apple scab

W zwalczaniu parcha jabłoni najważniejszą rolę odgrywa metoda chemiczna. Opiera się ona przede wszystkim na zabiegach zapobiegawczych wykonywanych preparatami o działaniu powierzchniowym. Do tej grupy należą fungicydy na bazie: antrachinonów, ditiokarbaminianów, ftalimidów i związków miedzi. Środki te zabezpieczają rośliny przed infekcją, gdy są równomiernie naniesione na chronioną powierzchnię przed pojawieniem się na niej patogena. Są skuteczne dopóki pokrywają powierzchnię chronionej tkanki. Deszcz, przyrost blaszki liściowej lub wzrost owoców czy też rozwój kolejnego liścia, wpływają na obniżenie skuteczności tych fungicydów. Mechanizm działania fungicydów powierzchniowych jest najczęściej wielopoziomowy, co sprawia, że ryzyko powstawania odporności na te środki jest stosunkowo niskie (Agrios 2004; Kryczyński i Weber 2010; Broniarek-Niemiec 2014).

Kolejna grupa środków to fungicydy działające zapobiegawczo i interwencyjnie. Mają one zdolność hamowania rozwoju patogena bądź zniszczenia go nawet wtedy, gdy zostaną zastosowane podczas infekcji lub nawet kilkadziesiąt godzin po jej zakończeniu. Takie możliwości wykazują fungicydy wgłębne, systemiczne i quasi-systemiczne. Powszechnie stosowane w sadownictwie są związki z grupy inhibitorów biosyntezy ergosterolu (IBE) o wyjątkowo długim działaniu poinfekcyjnym (Kelly i Jones 1981). Krótszym działaniem interwencyjnym charakteryzują się natomiast anilinopirymidyny, strobiluryny i guanidyny (Creemers i wsp. 1997; Kryczyński i Weber 2010; Broniarek-Niemiec 2014). Fungicydy o działaniu poinfekcyjnym powinny być stosowane tylko w sytuacjach koniecznych, w przypadkach dużego zagrożenia chorobowego (po znacznych wysiewach zarodników i silnej infekcji) lub po długotrwałych opadach uniemożliwiających wykonanie zabiegu zapobiegawczego w odpowiednim terminie. Ponadto takie fungicydy najczęściej działają na ściśle określone przemiany metaboliczne i fizjologiczne w komórkach grzybów, a ich stosowanie stwarza wysokie ryzyko pojawiania się form odpornych także u *V. inaequalis*. Dlatego, w ramach strategii antyodpornościowej, powinny być one stosowane zawsze w mieszaniu z fungicydem powierzchniowym o wielostronnym mechanizmie działania. Nieliczne fungicydy wykazują także właściwości wyniszczające. Działają one już po wystąpieniu objawów choroby, niszcząc zarodniki i częściowo grzybnie patogena. Takie możliwości mają fungicydy z grupy IBE, guanidyny i strobiluryny (Kelly i Jones 1981; O'Leary i Jones 1987; Gold i Leinhos 1995; Broniarek-Niemiec 2014).

Przyczyny występowania odporności grzybów na fungicydy / The causes of fungal resistance to fungicides

Zjawisko uodporniania się grzybów na fungicydy jest znane w praktyce od końca lat sześćdziesiątych ubiegłego wieku. Wcześniej przez wiele lat znano i stosowano w ochronie roślin wyłącznie fungicydy zapobiegawcze, wykazujące niespecyficzny mechanizm działania, takie jak: związki siarkowe, miedziowe, karbaminiany, ftalimidy czy chinony. Fungicydy te charakteryzują się wielostronnym mechanizmem działania, polegającym na blokowaniu wielu procesów życiowych grzybów, a więc wystąpienie odporności wymagałoby zmian na poziomie wielu genów. Problem odporności pojawił się po wprowadzeniu fungicydów systemicznych, o specyficznym mechanizmie działania, kontrolowanym często tylko przez jeden lub dwa geny. Prawdopodobieństwo mutacji na poziomie jednego genu jest wysokie i przy niewłaściwym stosowaniu środków chemicznych, może dochodzić w stosunkowo krótkim czasie, do wywołania odporności. W takim przypadku występuje odporność trwała, uwarunkowana genetycznie. Odporność nietrwała (adaptacja) jest natomiast wynikiem niewielkich zmian fizjologicznych związanych na przykład z pojawieniem się zastępczej ścieżki metabolicznej lub zmiany przepuszczalności błony komórkowej grzyba. Odporność tego typu zanika po ustaniu kontaktu patogena z fungicydem.

Wśród dotychczas poznanych mechanizmów odporności patogenów na fungicydy, najczęściej występujące, przedstawił Agrios (2004) oraz Brent i Hollomon (2007). Są to:

- zmiana przepuszczalności ściany komórkowej i plazmalemy dla fungicydu,
- detoksykacja substancji czynnej poprzez modyfikację jej struktury,

- mutacje genowe w miejscu działania fungicydów,
- kompensacja szkodliwych zmian w komórce grzyba wywołanych stosowaniem fungicydu przez inny metaboliczny proces przebiegający niezależnie od uszkodzonego,
- efektywne usuwanie pobranego fungicydu poza komórkę grzyba.

Na szybkość pojawiania się form odpornych grzybów na fungicydy wpływa wiele czynników. Zasadniczą rolę odgrywa mechanizm działania fungicydu oraz częstotliwość i termin jego stosowania. Wielokrotne wykonywanie zabiegów preparatami należącymi do tej samej grupy chemicznej oraz stosowanie zabiegów poinfekcyjnych i wyniszczających, przyspiesza znacznie selekcję ras odpornych. Do powstania odporności przyczynia się również specyfika samego patogena, jego naturalna zmienność genetyczna, duża liczba pokoleń w sezonie i możliwość łatwego rozprzestrzeniania się. Duże znaczenie ma też sposób uprawy roślin. Selekcji sprzyjają uprawy prowadzone w monokulturze oraz w zamkniętych siedliskach, takich jak szklarnia czy pieczarkarnia (Brent i Hollomon 2007). Ponadto na szybkość powstania odporności wpływają czynniki agrotechniczne, nasilenie choroby, warunki atmosferyczne czy podatność odmian. Biorąc pod uwagę wszystkie te czynniki Kuck (2005) opracował diagram pozwalający oszacować ryzyko odporności (tab. 1).

Grzyb *V. inaequalis* charakteryzuje się dużą zmiennością, co powoduje, że formy odporne na stosowane fungicydy pojawiają się stosunkowo łatwo. Ponadto monokulturowy sposób uprawy jabłoni oraz konieczność prowadzenia intensywnej ochrony, często z użyciem fungicydów systemicznych o jednostronnym mechanizmie działania sprawiają, że ryzyko wystąpienia odporności patogena jest bardzo wysokie (tab. 1).

Tabela 1. Ryzyko powstawania odporności grzybów patogenicznych w zależności od fungicydu, patogena i czynników agrotechnicznych (Kuck 2005)

Table 1. The risk of resistance to pathogenic fungi, depending on the fungicide, pathogen and agronomic factors (Kuck 2005)

Grupa fungicydowa Fungicide class	Ryzyko ze względu na fungicyd Fungicide risk	Ryzyko odporności Resistance risk			Ryzyko ze względu na warunki agrotechniczne Agronomic risk
1	2	3	4	5	6
Benzimidazoles Dicarboximides Phenylamides QoI fungicides	wysokie = 6 high = 6	6	12	18*	wysokie = 1 high = 1
		3	6	9	średnie = 0,5 medium = 0,5
		1,5	3	4,5	niskie = 0,25 low = 0,25
SBI fungicides Anilinopyrimidines Phenylpyrroles	średnie = 4 medium = 4	4	8	12	wysokie = 1 high = 1
		2	4	6	średnie = 0,5 medium = 0,5
		1	2	3	niskie = 0,25 low = 0,25

1	2	3	4	5	6
Fungicydy o niespecyficznym mechanizmie działania Multi site fungicides	niskie = 1 low = 1	1	2	3	wysokie = 1 high = 1
		0,5	1	1,5	średnie = 0,5 medium = 0,5
		0,25	0,5	0,75	niskie = 0,25 low = 0,25
Ryzyko ze względu na patogena Pathogen risk		niskie = 1 low = 1	średnie = 2 medium = 4	wysokie = 3 high = 6	
Grupy patogenów Pathogen groups		np. patogeny przenoszone przez nasiona, patogeny glebowe, rdze e.g. seed borne pathogens, soil-borne pathogens, rust fungi	np. – e.g. <i>Uncinula necator</i> <i>Septoria tritici</i> <i>Sclerotinia</i> sp <i>Monilinia</i> sp.	np. – e.g. <i>Erysiphe graminis</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Plasmopara</i> <i>viticola</i> <i>Venturia</i> <i>inaequalis</i> <i>Phytophthora</i> <i>infestans</i>	

*ryzyko odporności jest iloczynem trzech czynników: przynależności do grupy fungicydowej, grupy patogenów i warunków agrotechnicznych – the resistance risk is expressed as the product of three factors multiplying: affiliation to fungicide group, the pathogen group and agronomic conditions

Odporność *Venturia inaequalis* na fungicydy The resistance of *Venturia inaequalis* to fungicides

Pierwsze udokumentowane informacje o pojawieniu się form grzyba *V. inaequalis* odpornych na fungicydy pojawiły się pod koniec lat 60. ubiegłego wieku w Stanach Zjednoczonych. Dotyczyły one odporności tego grzyba na fungicydy dodynowe, którą stwierdzono dopiero po 10 latach ich intensywnego stosowania (Szkolnik i Gilpatrick 1973; Jones 1981). W Polsce zjawisko to zanotowano po raz pierwszy w 1990 roku, a więc dopiero po kilkunastu latach stosowania tej grupy związków w sadach jabłoniowych, często w zaniżonych dawkach (Nowacka 1991).

Wyjątkowo szybko pojawiły się formy odporne grzyba *V. inaequalis* na pierwsze, wprowadzone do ochrony jabłoni, fungicydy systemiczne z grupy benzimidazoli. W wielu krajach odporność na te związki stwierdzono już po 2–4 latach ich stosowania. W Polsce zjawisko to zanotowano w 1975 roku, czyli po 3 latach powszechnego ich stosowania. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że w populacjach *V. inaequalis* w badanych sadach aż 30–50% izolatów charakteryzowało się obniżoną wrażliwością na tę grupę środków (Nowacka i wsp. 1977). Wykazano ponadto, że formy odporne były bardzo stabilne w środowisku, a ich obecność w populacjach grzyba wykrywano nawet po 13 latach od całkowitego zaprzestania stosowania fungicydów benzimidazolowych. Powszechność zjawiska odporności *V. inaequalis* spowodowała, że benzimidazole zostały wycofane z programów ochrony jabłoni przed parchem.

Następną grupą związków, wprowadzoną do ochrony jabłoni, były fungicydy systemiczne będące inhibitorami biosyntezy ergosterolu, z których najpowszechniej stosowany był preparat Rubigan 12 EC, zawierający fenarimol. Przez szereg lat programy zwalczania parcha jabłoni były

w zasadzie oparte na dwóch grupach związków, dodynie i fenarimolu. Uważa się, że wystąpienie odporności *V. inaequalis* na dodynę w sadach jabłoniowych w Polsce było więc prawdopodobnie ściśle związane nie tylko z powszechnym, wieloletnim i częstym stosowaniem tych związków, ale także z wprowadzeniem do programów ochrony fungicydu Rubigan Plus 39 WP, w którym zawartość zarówno dodyny, jak i fenarimolu była wyraźnie niższa (dodyny 50%, a fenarimolu tylko 30%), niż w preparatach jednoskładnikowych. Zaniżone ilości substancji czynnych w preparacie Rubigan Plus 39 WP przy jednoczesnym zbyt częstym stosowaniu tego środka spowodowały, że od roku 1978 obserwowano wyraźny spadek skuteczności fungicydów zawierających fenarimol. Zwiększała się także liczba sadów, w których stwierdzano odporność *V. inaequalis* na dodynę. Badania populacji tego grzyba przeprowadzone w sadach, w których stwierdzono spadek skuteczności fenarimolu, wykazały, że w 1990 roku formy odporne stanowiły około 20% populacji grzyba, natomiast w następnym roku, w maju, już 47,7%, a w lipcu aż 88,4% (Nowacka 1991). Należy zaznaczyć, że wiele izolatów odpornych na fenarimol wykazywało także odporność na dodynę. Doszło więc do wystąpienia groźnego zjawiska, jakim jest „multi-resistance”, a więc odporności wielokrotnej, w tym przypadku na dwie substancje o różnym mechanizmie działania. W przypadku fungicydów z grupy IBE nie obserwowano odporności krzyżowej, co oznacza, że w sadach, w których stwierdzono odporne formy grzyba na fenarimol, nadal bardzo dobre efekty w zwalczaniu parcha jabłoni dawały inne fungicydy z grupy IBE. Najczęściej tam, gdzie obserwowano obniżoną skuteczność środka Rubigan 12 EC, ciągle bardzo dobrze działały między innymi takie fungicydy, jak Score 250 EC czy Punch Bis 400 EC (Nowacka 1991). Wynika to z nieznaczących różnic w mechanizmie działania tych związków. Opinie badaczy o krzyżowej odporności *V. inaequalis* na różne związki z grupy inhibitorów biosyntezy

ergosterolu są podzielone. Stwierdzono natomiast, że w sadach, w których występują formy odporne na dodynę, znacznie szybciej i częściej pojawiały się formy *V. inaequalis* odporne na benzimidazole i fungicydy z grupy IBE (Köller i Wilcox 2001).

Obecnie w sadach jabłoniowych zarówno w Polsce, jak i na świecie, zjawisko odporności *V. inaequalis* dotyczy najważniejszych grup fungicydów. Stwierdzono powszechne występowanie odporności na benzimidazole i dodynę, a w ostatnich kilkunastu latach także na niektóre inhibitory biosyntezy ergosterolu, anilinopirymidyny oraz na strobiluryny.

Strobiluryny – nowa grupa fungicydów Strobilurins – a new group of fungicides

Strobiluryny są jedną z najważniejszych grup związków chemicznych szeroko stosowanych obecnie w ochronie roślin przed chorobami. Ich synteza została oparta na naturalnych substancjach, pochodnych kwasu β -metoksyakrylowego, takich jak: strobiluryna A, oudemansin A i myxothiazol A. Dwa pierwsze związki są wytwarzane w przyrodzie przez tzw. grzyby gnijącego drewna należące do podstawczaków (*Basidiomycota*) np. monetkę bukową (*Oudemansiella mucida*) i szyszkówkę gorzkawą (*Strobilurus tenacellus*), natomiast trzeci związek – przez bakterię *Myxococcus fulvus*. Poznanie budowy i właściwości tych naturalnych związków przyczyniło się do rozpoczęcia przez firmy Syngenta i BASF, prac badawczych ukierunkowanych na syntetyczne otrzymanie ich pochodnych. Pierwsze syntetyczne strobiluryny – azoksystrobinę i krezoksym metylowy, uzyskano w 1992 roku, trifloksystrobinę w 1998 roku, a piraklostrobinę w 2000 roku. Wszystkie te związki działają przeciw szerokiemu spektrum patogenów grzybowych i grzybopodobnych z następujących typów: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Deuteromycota* i *Oomycota* (Bartlett i wsp. 2002). Znalazły one zastosowanie w ochronie wielu upraw m.in. zbóż, ryżu, winorośli, ziemniaka, pomidora, banana i jabłoni (Ammermann i wsp. 1994; Leinhos i wsp. 1997; Margot i wsp. 1998; Godwin i wsp. 2000).

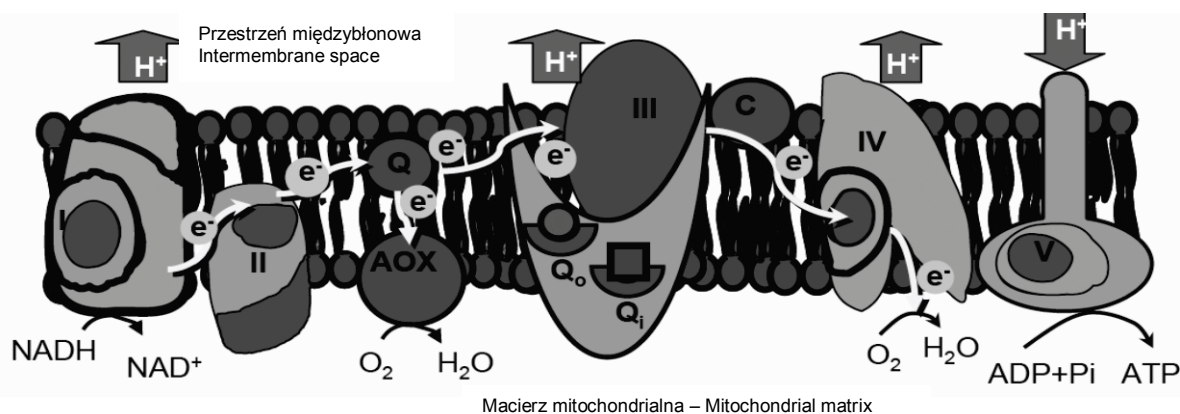
W sadach jabłoniowych fungicydy strobilurynowe używane są przeciw parchowi jabłoni (*V. inaequalis*) i mączniakowi jabłoni (*Podosphaera leucotricha*), a przed zbiorem – do zabezpieczania owoców przed gorzką zgnilizną jablek (*Pezicula* spp., obecnie *Neofabraea*) (Bryk 2001).

Szerokie zastosowanie strobiluryn w zwalczaniu grzybów patogenicznych na wielu gatunkach roślin uprawnych wynika z wysokiej skuteczności tej grupy związków, stosowanych zapobiegawczo, interwencyjnie i wyniszczająco. W zwalczaniu parcha jabłoni wysoce skuteczne i długotrwałe działanie zapobiegawcze uzyskali badacze belgijscy, stosując BAS 490 02 F (Discus 500 WG) co 10–14 dni (Creemers i wsp. 1997). Podobne efekty uzyskali także Stensvand i wsp. (1996), wykonując zabiegi fungicydem Discus 500 WG co 7–14 dni. Z kolei Margot

i wsp. (1998) wykazali wysoką skuteczność innego fungicydu strobilurynowego CGA 279202 (Zato 50 WG), stosując go na początku sezonu co 7–10 dni, a następnie, gdy owoce osiągnęły średnicę 4 cm, co 10–14 dni. Inni badacze (Ammermann i wsp. 1992; Agrios 2004) podają, że wyjątkowo długie działanie zapobiegawcze fungicydów strobilurynowych, wynika z ich innowacyjnego sposobu przemieszczania się po powierzchni rośliny. Związki te wiążą się bardzo silnie z woskami skórki, a sama substancja czynna uwalnia się stopniowo i w fazie gazowej przemieszcza się na roślinie. Zaletą takiego mechanizmu działania jest też bardzo trudna zmywalność fungicydów strobilurynowych. Taki sposób rozprzestrzeniania się substancji czynnej był całkowicie odmienny od dotychczas znanych i dla wyróżnienia go w 1998 roku Hermann zaproponował nową nazwę – działanie mezostemiczne (Hermann i wsp. 1998).

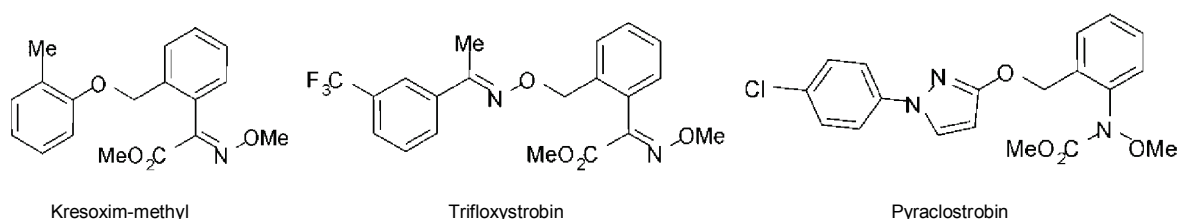
Wyjątkowa skuteczność strobiluryn w zwalczaniu różnych chorób roślin uprawnych powodowanych przez grzyby, wynika także z ich zdolności do hamowania rozwoju wszystkich wysoce energochłonnych stadiów rozwojowych grzybów, w tym także kiełkowania zarodników (Bartlett i wsp. 2002). Z tego powodu fungicydy te wykazują także dobre działanie poinfekcyjne i wyniszczające. Z badań Creemersa i wsp. (1997) wynika, że krezoksym metylowy, stosowany 96 godzin po infekcji dał ponad 94% skuteczność w zwalczaniu parcha jabłoni, natomiast Margot i wsp. (1998) uzyskali dobre efekty w zwalczaniu choroby stosując trifloksystrobinę nawet 3–4 dni po infekcji. Z kolei Gold i Leinhos (1995) podają, że krezoksym metylowy stosowany 2 lub 4 dni po inokulacji nie hamował wzrostu grzybní, jednakże obserwacje mikroskopowe wykonane 28 dni po zabiegu wykazały, że tworzenie się konidioforów i wytwarzanie zarodników konidialnych grzyba *V. inaequalis* było całkowicie zahamowane.

Ze względu na sposób działania na patogeny, strobiluryny zaliczane są do inhibitorów Qo, ponieważ zakłócają one proces oddychania, a konkretnym miejscem działania jest kompleks oksydoreduktazy Qo ubichinon-cytochrom c grzyba. Mechanizm działania grzybobójczego strobiluryn polega na blokowaniu przemian energetycznych. Substancja czynna fungicydu wiąże się w miejscu Qo, hamując przenoszenie elektronów w kompleksie III pomiędzy cytochromem b (cytochrom b jest częścią kompleksu III) i cytochromem c (rys. 1), co prowadzi do niedoboru energii w komórkach grzyba poprzez zatrzymanie produkcji ATP (Anke 1995). Jak już opisano wcześniej, taki mechanizm charakteryzuje się wysoką specyficznością, która sprzyja szybkiemu uodpornieniu się grzyba. Z tego powodu strobiluryny zostały zaliczone przez organizację FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) do grupy związków o wysokim ryzyku powstawania odporności. Stwierdzono ponadto, że między fungicydami z grupy QoI istnieje odporność krzyżowa, gdyż mimo różnorodnej budowy chemicznej (rys. 2) wszystkie związki z grupy QoI charakteryzuje ten sam mechanizm działania (Fernández-Ortuño i wsp. 2008).



Rys. 1. Schemat mitochondrialnego łańcucha oddechowego (Fernández-Ortuño i wsp. 2008)

Fig. 1. Scheme of mitochondrial respiratory chain (Fernández-Ortuño *et al.* 2008)



Rys. 2. Budowa chemiczna substancji czynnych wybranych fungicydów strobilurynowych (Bartlett i wsp. 2002)

Fig. 2. The chemical structure of active ingredients selected strobilurin fungicides (Bartlett *et al.* 2002)

Odporność fitopatogenicznych grzybów na strobiluryny / The resistance of plant pathogenic fungi to strobilurins

Wysoco specyficzny mechanizm działania i intensywne stosowanie fungicydów strobilurynowych w pierwszych latach po ich wprowadzeniu doprowadziło w krótkim czasie do uodpornienia się grzybów na te środki. Pierwsze polowe formy grzybów odporne na strobiluryny zostały wykryte w 1998 roku w północnych Niemczech w uprawie pszenicy wśród izolatów *Blumeria (Erysiphe) graminis* f. sp. *tritici* (Erichsen 1999). Od tego czasu odporność na tę grupę fungicydów wykryto u ponad 37 gatunków grzybów i organizmów grzybopodobnych (Viljanen-Rollinson i wsp. 2013), między innymi u *V. inaequalis*, sprawcy parcha jabłoni (Steinfeld i wsp. 2001), *Plasmodium viticola*, sprawcy mącznika rzekomego winorośli (Gullit i wsp. 2004), *Mycosphaerella graminicola*, wywołującego septorię paskowaną liści pszenicy (Gisi i wsp. 2005), a także u *Pseudoperonospora cubensis* i *Sphaerotheca fuliginea*, sprawców mączniaka rzekomego i prawdziwego dyniowatych (Ishii i wsp. 2001).

U większości patogenów głównym mechanizmem odporności na fungicydy strobilurynowe jest mutacja punktowa w genie cytochromu b, polegająca na zamianie glicyny w alaninę w pozycji 143 (G143A). Inną poznaną mutacją jest zamiana fenyloalaniny w leucynę w pozycji 129 (F129L) (Gisi i wsp. 2005) oraz glicyny w argininę w pozycji 137 (G137R) (Sierotzki i wsp. 2006). Izolaty z mutacjami F129L lub G137R wykazują najczęściej średnią (częściową) odporność i są nadal zwalczane przez fungicydy strobilurynowe. Obecność mutacji G143A wiąże się natomiast z wysokim poziomem odporności i zazwyczaj wywołuje brak skuteczności strobiluryn

(Fernández-Ortuño i wsp. 2008). Mutacja G143A po raz pierwszy została odkryta w 2000 roku u *B. graminis* f. sp. *tritici* w izolatach pochodzących z pszenicy i *Mycosphaerella fijiensis* z banana (Sierotzki i wsp. 2000). Mutacja ta następnie była wykrywana u odpornych izolatów wielu gatunków grzybów, w tym także u *V. inaequalis* (Zheng i wsp. 2000). Jednak mimo tak wielu doniesień o odporności powodowanej zamianą aminokwasów G143A, trudna jest do ustalenia rola tego mechanizmu w odporności fenotypowej. Miejsce działania fungicydów QoI jest bowiem kodowane w mitochondrialnym DNA (mtDNA), a komórki grzyba mogą zawierać ponad 100 mitochondriów i tyle samo kopii mtDNA. Tak więc, pojedyncza mutacja, w jednej kopii mtDNA ma niewielki wpływ na przeżywalność grzyba. Jednak poddanie populacji grzyba ciągłej presji ze strony fungicydów powoduje powtórne mutacje, a tym samym narastanie poziomu odporności. Nie wiadomo jednak, jaka liczba zmutowanych mitochondriów jest wymagana, aby grzyb wykazywał pełną odporność fenotypową. Ponadto u niektórych grzybów, w tym także u *V. inaequalis*, występują przynajmniej dwa mechanizmy odporności. Dlatego do pełnej oceny poziomu odporności danej populacji grzyba na strobiluryny poleca się stosowanie zarówno metod konwencjonalnych, np. na siewkach lub drzewach w szklarni, jak i molekularnych – opartych na ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (Broniarek-Niemiec i Bielenin 2005; Fernández-Ortuño i wsp. 2008; Michalecka i wsp. 2011).

Drugi mechanizm odporności grzybów na fungicydy strobilurynowe (QoI) związany jest z indukcją alternatywnego oddychania, możliwego dzięki alternatywnej oksydazie (AOX – alternative oxidase) (Wood i Hollomon 2003). AOX jest enzymem obecnym w wewnętrznej błonie mitochondriów niektórych organizmów (roślin, glonów,

niektórych protistów i grzybów), stwarzającym alternatywną możliwość przenoszenia elektronów z ubichinonu na tlen. W tym dodatkowym mechanizmie alternatywna oksydaza przenosi elektrony na tlen z pominięciem kompleksu III i IV łańcucha oddechowego, a więc z pominięciem obszaru Qo kompleksu cytochromów *bc*₁, z którym fungicydy QoI wiążą się i hamują oddychanie mitochondrialne grzyba.

Wood i Hollomon (2003) uważają jednak, że alternatywne oddychanie występuje tylko w warunkach *in vitro*. Twierdzą oni, że w sadzie na drzewach traktowanych fungicydami strobilurynowymi (QoI) działanie alternatywnego oddychania jest ograniczone z dwóch powodów. Po pierwsze, ten alternatywny szlak oddechowy dostarcza tylko 40% energii potrzebnej grzybowi, a kiełkowanie zarodników i penetracja strzępki w roślinie są procesami wysoce energochłonnymi. Alternatywne oddychanie nie jest więc w stanie zapewnić tym procesom wystarczającej ilości energii. W związku z tym fungicydy strobilurynowe pozostają skuteczne w zwalczaniu patogena. Po drugie, podczas infekcji, rośliny wytwarzają antyoksydanty, takie jak flawony, biorące udział w reakcji obronnej przed patogenem. Antyoksydanty wytworzone przez rośliny zakłócają proces alternatywnego oddychania poprzez wygaszanie reaktywnych form tlenu, które są niezbędne do indukcji ekspresji genu *AOX*, odpowiedzialnego za syntezę alternatywnej oksydazy (Fernández-Ortuño i wsp. 2008). Pomimo to, w przeciwieństwie do szeroko akceptowanej opinii, o małej roli *AOX* w odporności grzybów na strobiluryny w warunkach *in vivo*, ostatnie doniesienia wskazują, że alternatywne oddychanie może jednak ograniczać skuteczność fungicydów strobilurynowych na roślinach, zwłaszcza gdy są one stosowane po infekcji (Avila-Adame i Köller 2003; Miguez i wsp. 2004). Ogólne wyjaśnienie tego zjawiska opiera się na tym, że w późniejszych etapach procesu chorobowego, takich jak wzrost grzyba i zarodnikowanie, zapotrzebowanie na energię jest niższe i wówczas *AOX* staje się bardziej efektywne. Jest to zgodne z obserwowanym brakiem wyniszczających zdolności fungicydów strobilurynowych w stosunku do niektórych grzybów, kiedy objawy choroby są już widoczne.

Alternatywne oddychanie może wspomagać selekcję mutacji punktowej w genie *cyt b* grzyba, poprzez obniżanie poziomu uszkodzeń reaktywnych form tlenu i zapewnienie syntezy ATP. Obie te funkcje przyczyniają się do przeżywania komórek grzyba, podczas gdy selekcja zwiększa częstotliwość występowania odporności mitochondrialnej (Wood i Hollomon 2003; Miguez i wsp. 2004). Białko cytochromu *b*, związane z miejscem działania QoI, jest kodowane przez mitochondrialny DNA (mtDNA), mutujący z większą częstotliwością, niż DNA jądrowy. Częstotliwość mutacji wzrasta wraz z akumulacją reaktywnych form tlenu, które powstają w wyniku zahamowania systemu transportu elektronów po zastosowaniu QoI. W takich warunkach alternatywne oddychanie może być zasadniczym szlakiem w procesie uodporniania się grzybów patogenicznych po stosowaniu fungicydów strobilurynowych w dawkach subletalnych. W każdym przypadku, jak wcześniej zauważyli Wood i Hollomon (2003), pomimo braku jednoznacznego przykładu, w którym *AOX* odgrywa istotną rolę w polowej odporności na strobiluryny, udział tego enzymu nie może być pominięty.

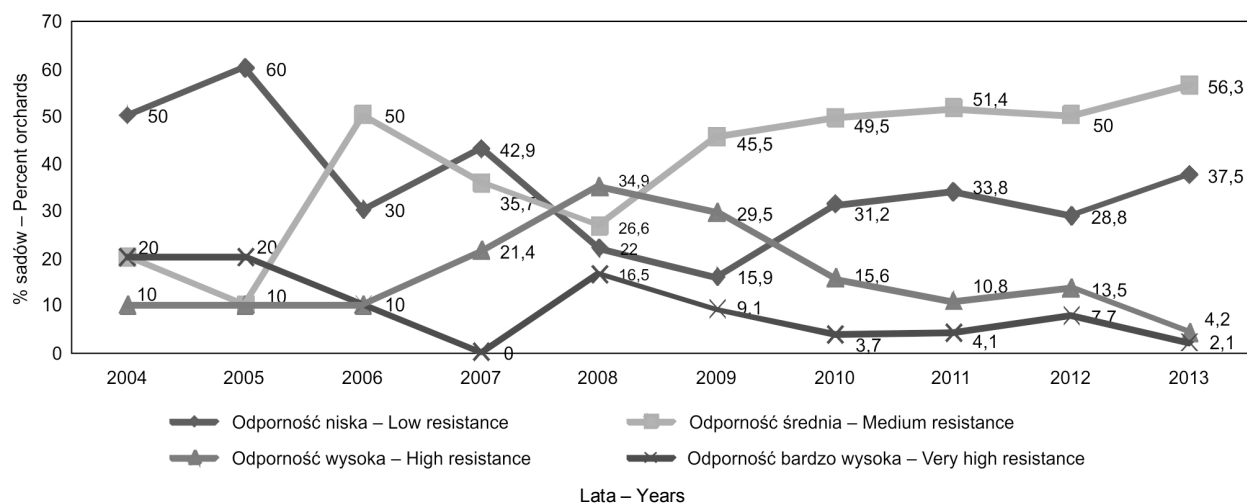
Poza mutacją punktową w genie cytochromu *b* oraz alternatywnym oddychaniem, innym mechanizmem odporności na strobiluryny, stwierdzonym u niektórych grzybów, jest efektywne usuwanie pobranego fungicydu poza komórkę grzyba. Ten rodzaj mechanizmu odporności występuje między innymi u izolatów *M. graminicola*, które jednocześnie zawierają mutację G143A. Jest to rodzaj przystosowania się grzyba do obecności fungicydu. Mechanizm efektywnego usuwania fungicydu poza komórkę grzyba nie jest jednak dokładnie poznany i brakuje informacji o jego roli w polowej odporności na strobiluryny. Tak więc odporność grzybów na strobiluryny może być uwarunkowana kompleksem różnych mechanizmów (Fernández-Ortuño i wsp. 2008).

Dotychczas u grzyba *V. inaequalis* poznano dwa mechanizmy odporności na strobiluryny, mutację G143A w genie cytochromu *b* oraz alternatywne oddychanie (*AOX*), przy czym największą rolę w ekspresji odporności przypisuje się mutacji genowej. W związku z tym do badania odporności *V. inaequalis* na strobiluryny najczęściej stosowane są metody molekularne. Obok nich, wielu badaczy wykorzystuje test na zatrutej pożywce agarowej oceniając wzrost grzybni lub kiełkowanie zarodników. Jednakże dla potwierdzenia wyników ostatecznym sposobem jest test wrażliwości na siewkach lub drzewach w szklarni (Olaya i Köller 1999; Viljanen-Rollinson i wsp. 2013).

Do tej pory w towarowych sadach jabłoniowych odporność *V. inaequalis* na strobiluryny odnotowano między innymi w: Kanadzie, USA, Brazylii (Lesniak i wsp. 2011), Chile (Sallato i wsp. 2006), Nowej Zelandii (Viljanen-Rollinson i wsp. 2013), Białorusi (Kamardzina 2009), Niemczech (Köller i wsp. 2004), Francji (Fontaine i wsp. 2009), Włoszech, Austrii, Holandii, Belgii (FRAC 2014) oraz Polsce (Meszka i wsp. 2011; Broniarek-Niemiec 2014).

Według danych grupy roboczej FRAC, w poszczególnych krajach europejskich, istnieje duże zróżnicowanie w nasileniu zjawiska odporności *V. inaequalis* na strobiluryny. Monitoring prowadzony w 2008 roku wykazał średni do wysokiego poziom odporności w południowej Francji, północnych Włoszech, Polsce, Grecji i we wschodniej części Niemiec. W Belgii i w zachodniej części Niemiec nasilenie występowania form odpornych było natomiast na poziomie niskim do średniego. Podobną sytuację rejestrowano w rejonach Trentino i Alto Adige we Włoszech, w Wielkiej Brytanii, Hiszpanii i Portugalii, natomiast w Austrii, północnej Francji i w sadach nad jeziorem Bodeńskim form odpornych patogena na strobiluryny nie wykryto. W ostatnich czterech latach (2011–2014) sytuacja zmieniła się i wysoką do średniej odporność stwierdzono w sadach w Niemczech, w południowej części Francji, Holandii, Belgii, na Węgrzech oraz w Polsce. Niski do wysokiego poziom odporności notowano zaś w północno-zachodniej Francji i południowych Niemczech. W Wielkiej Brytanii natomiast poziom odporności *V. inaequalis* na fungicydy strobilurynowe pozostaje ciągle na niskim poziomie (www.frac.info).

Badania przeprowadzone we Francji wykazały, że w regionach, w których występowały formy odporne, od 2004 roku systematycznie wzrastał procentowy udział sadów (z 33 do 64%), w których w populacji grzyba *V. inaequalis* stwierdzano osobniki z mutacją G143A (Fontaine i wsp. 2009). Prowadzone obserwacje potwier-



Rys. 3. Procent sadów o poszczególnych poziomach odporności *Venturia inaequalis* na strobiluryny w latach 2004–2013 (Broniarek-Niemiec 2014)

Fig. 3. The percentage of orchards with different levels of *Venturia inaequalis* resistance to strobilurins in 2004–2013 (Broniarek-Niemiec 2014)

dzają, że występowanie odpornych form grzyba *V. inaequalis* na strobiluryny jest zjawiskiem powszechnym także w Polsce. Badania przeprowadzone w latach 2004–2013 wykazały, że w znacznej części badanych sadów jabłoniowych udział form grzyba *V. inaequalis* odpornych na strobiluryny był na średnim, wysokim lub bardzo wysokim poziomie. Wśród 500 przebadanych sadów, w 42 stwierdzono bardzo wysoki poziom odporności, w 93 – wysoki, w 213 – średni, a w 152 – niski, co oznacza, że w blisko 70% monitorowanych sadów występował problem odporności *V. inaequalis* na fungicydy strobilurynowe. W praktyce oznaczało to spadek skuteczności tej grupy fungicydów w zwalczaniu parcha jabłoni, co często obserwowali w swoich sadach i sygnalizowali producenci z różnych rejonów Polski. Jednakże w ciągu 10 lat prowadzenia monitoringu i jednocześnie, zakrojonego na szeroką skalę wdrażania strategii antyodpornościowej, zaobserwowano pozytywną tendencję zmniejszania się liczby sadów z wysoką i bardzo wysoką odpornością *V. inaequalis* na tę grupę środków (Broniarek-Niemiec 2014) (rys. 3).

Metody ograniczania zjawiska odporności *Venturia inaequalis* na fungicydy / Methods of limitation of *Venturia inaequalis* resistance to fungicides

Występowanie form odpornych sprawcy parcha jabłoni na wszystkie najnowsze i najskuteczniejsze grupy fungicy-

dów, w tym także na fungicydy strobilurynowe stwarza konieczność wprowadzenia daleko idących restrykcji w polecanych programach ochrony. Wytyczne dotyczące stosowania poszczególnych grup fungicydów opracowywane są przez powołaną w 1981 roku międzynarodową organizację do spraw odporności tzw. FRAC. Dotyczą one przede wszystkim ograniczenia liczby zabiegów preparatami z grup dużego ryzyka wystąpienia odporności do 2–3 razy w sezonie, a w przypadku stwierdzonej odporności, całkowite zaprzestanie stosowania danej grupy związków. Ponadto zalecane jest przemienne stosowanie fungicydów o różnym mechanizmie działania oraz stosowanie mieszanin fungicydów zaliczonych do grup wysokiego ryzyka z preparatami o innym mechanizmie działania. Zwraca się także uwagę na prawidłowe wykonywanie zabiegów ochrony, gwarantujące wysoką efektywność preparatów. Dotyczy to właściwej techniki wykonywania zabiegów, przestrzeganie zalecanej dawki środka oraz odpowiedniego terminu stosowania preparatu z uwzględnieniem warunków atmosferycznych, tempa rozwoju drzew i zagrożenia chorobowego. W zapobieganiu wystąpieniu odporności pomocne są także metody prowadzące do ograniczenia źródła infekcji pierwotnej, szczególnie stosowanie jesiennego zabiegu mocznikiem oraz przestrzeganie zasad prawidłowej agrotechniki (Beresford i wsp. 2013; Broniarek-Niemiec 2014; FRAC 2014).

Literatura / References

- Agrios G.N. 2004. Plant Pathology. Elsevier Academic Press, USA, 922 pp.
- Ammermann E., Lorenz G., Schelberger K., Wenderoth B., Sauter H., Rentzea C. 1992. BAS 490 F – a broad spectrum fungicide with a new mode of action. Proceedings Brighton Crop Protection Conference – Pest and Diseases 1: 403–410.
- Ammermann E., Lorenz G., Schelberger K., Wenderoth B., Sauter H., Rentzea C. 1994. BAS 500F – a new broad-spectrum fungicidal strobilurin. Fourth International Conference on Plant Diseases. Bordeaux, 6–8 December 1994. ANPP. Tire a part: 11–18.
- Anke T. 1995. The antifungal strobilurins and their possible ecological role. Canadian Journal of Botany 73: 940–945.

- Avila-Adame C., Köller W. 2003. Characterization of spontaneous mutants of *Magnaporthe grisea* expressing stable resistance to Qo-inhibiting fungicide azoxystrobin. *Current Genetics* 42: 332–338.
- Bartlett D.W., Clough J.M., Godwin J.R., Hall A.A., Hamer M., Parr-Dobrzanski B. 2002. Review the strobilurin fungicides. *Pest Management Science* 58: 649–662.
- Beresford R.M., Wright P.J., Wood P.N., Park N.M., Larsen N.J., Fisher B.M. 2013. Resistance of *Venturia inaequalis* to demethylation inhibitor and dodine fungicides in four New Zealand apple-growing regions. *New Zealand Plant Protection* 66: 274–283.
- Borecki Z. 2001. Nauka o chorobach roślin. Wyd. III. PWRiL, Warszawa, 378 ss.
- Brent K.J., Hollomon D.W. 2007. Fungicide Resistance in Crop Pathogens. How Can It be Managed? Monograph – the second edition. Fungicide Resistance Action Committee, 56 pp.
- Broniarek-Niemiec A. 2014. Ochrona jabłoni przed parchem [*Venturia inaequalis* (Cooke) Aderh.] z zastosowaniem fungicydów z grupy strobiluryn. Praca doktorska. Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, 122 ss.
- Broniarek-Niemiec A., Bielenin A. 2003. Interwencyjne działanie wybranych preparatów w zwalczaniu parcha jabłoni. [The curative activity of some fungicides in control of apple scab]. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa* 11: 121–125.
- Broniarek-Niemiec A., Bielenin A. 2005. Występowanie odporności *Venturia inaequalis* na fungicydy strobilurynowe w sadach jabłoniowych w Polsce. [Occurrence of *Venturia inaequalis* resistance to strobilurin fungicides in apple orchards in Poland]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 45 (2): 588–592.
- Broniarek-Niemiec A., Meszka B., Bielenin A. 2012. Występowanie form odpornych grzyba *Venturia inaequalis* na fungicydy w latach 2008–2011. 55. Ogólnopolska Konferencja Ochrony Roślin Sadowniczych. Centrum Kongresowe Ossa koło Białej Rawskiej, 15–16 lutego 2012: 82–84.
- Bryk H. 2001. Effectiveness of trifloxystrobin in control of bull's eye rot (*Pezizula* spp.) of apple. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 9 (1–4): 77–83.
- Creemers P., De Vleeschauwer J., Mappes D., Defloor K. 1997. BAS 490 F, a new fungicide to control scab and mildew in apple and pear. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen – Rijksuniversiteit Gent (Journal)* 61/2a: 431–441.
- Erichsen E. 1999. Problems in mildew control in northern Germany. *Getreide* 1: 44–46.
- Fernández-Ortuño D., Torés J.A., de Vicente A., Pérez-García A. 2008. Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. *International Microbiology* 11: 1–9.
- Fontaine S., Remuson F., Fraissinet-Tachet L., Micoud A., Marmesse R., Melayah D. 2009. Monitoring of *Venturia inaequalis* harbouring the QoI resistance G143A mutation in french orchards as revealed by PCR assays. *Pest Management Science* 65: 74–81.
- FRAC 2014. Pathogen risk list. <http://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/pathogen-risk-list.pdf?sfvrsn=8> [Accessed: 29.10.2015].
- Gisi U., Pavic L., Stanger C., Hugelshofer U., Sierotzki H. 2005. Dynamics of *Mycosphaerella graminicola* populations in response to selection by different fungicides. Modern fungicides and antifungal compounds IV. 14th International Reinhardtsbrunn Symposium. Germany, Thuringia, Friedrichroda, 25–29 April 2004. The British Crop Production Council, Alton, UK: 89–101.
- Godwin J.R., Bartlett D.W., Clough J.M., Godfrey C.R.A., Harrison E.G., Maund S. 2000. Picoxystrobin: a new strobilurin fungicide for use on cereals. *Proceedings Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases*: 533–541.
- Gold R.E., Leinhos G.M. 1995. Fungicidal effects of BAS 490 F on the development and fine structure of plant pathogenic fungi. *Pesticide Science* 43: 250–253.
- Gullino M.L., Gilardi G., Tinivella F., Garibaldi A. 2004. Observations on the behaviour of different populations of *Plasmopara viticola* resistant to QoI fungicides in Italian vineyards. *Phytopathologia Mediterranea* 43: 341–350.
- Hermann D., Fischer W., Knauf Beiter G., Steinemann A., Margot P., Gisi U., Laird D. 1998. Behavior of the new strobilurin fungicide trifloxystrobin on and in plants. *Phytopathology* 88 (9 Suppl.), p. 37.
- Ishii H., Fraaije B.A., Sugiyama T., Noguchi K., Nishimura K., Takeda T., Amano T., Hollomon D.W. 2001. Occurrence and molecular characterization of strobilurin resistance in cucumber powdery mildew and downy mildew. *Phytopathology* 91: 1166–1171.
- Jones A.L. 1981. Fungicide resistance past experience with benomyl and dodine and future concerns with sterol inhibitors. *Plant Disease* 65 (12): 990–992.
- Kamardzina V. 2009. Sensitivity of *Venturia inaequalis* to kresoxim methyl. *Sodininkystė ir Daržininkystė* 28 (3): 93–100.
- Kelly R.D., Jones A.L. 1981. Evaluation of two triazole fungicides for postinfection control of apple scab. *Phytopathology* 71 (7): 737–742.
- Köller W., Parker D.M., Turechek W.W., Avila-Adame C., Cronshaw K. 2004. A two-phase resistance response of *Venturia inaequalis* populations to the QoI fungicides kresoxim-methyl and trifloxystrobin. *Plant Disease* 88 (5): 537–544.
- Köller W., Wilcox W.F. 2001. Evidence for the predisposition of fungicide-resistant isolates of *Venturia inaequalis* to a preferential selection for resistance to other fungicides. *Phytopathology* 91 (8): 776–781.
- Kuck K.H. 2005. Fungicide resistance management in new regulatory environment. Modern fungicides and antifungal compounds IV. 14th International Reinhardtsbrunn Symposium. Germany, Thuringia, Friedrichroda, 25–29 April 2004. The British Crop Production Council, Alton, UK: 35–43.
- Kryczyński S., Weber Z. 2010. Fitopatologia. Podstawy fitopatologii. Tom 1. PWRiL, Poznań, 464 ss.
- Leinhos G.M.E., Gold R.E., Duggelin M., Guggenheim R. 1997. Development and morphology of *Uncinula necator* following treatment with the fungicides kresoxim-methyl and penconazole. *Mycological Research* 101: 1033–1046.
- Lesniak K.E., Proffer T.J., Beckerman J.L., Sundin G.W. 2011. Occurrence of QoI resistance and detection of the G143A mutation in Michigan populations of *Venturia inaequalis*. *Plant Disease* 95 (8): 927–934.
- MacHardy W.E. 1996. Apple Scab – Biology, Epidemiology and Management. APS Press, St. Paul, MN, 545 pp.
- Margot P., Huggenberger F., Amrein J., Weiss B. 1998. CGA 279202: a new broad-spectrum strobilurin fungicide. *Proceedings Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases*: 375–382.
- Masny S., Jankowski P. 2012. Wpływ czynników meteorologicznych na wysiewy askospor grzyba *Venturia inaequalis* i występowanie okresów krytycznych parcha jabłoni. [Influence of meteorological factors on release of *Venturia inaequalis* ascospores and occurrence of critical infection periods of apple scab]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 52 (3): 638–641.

- Meszka B. 2012. Choroby grzybowe. s. 116–127. W: „Jabłonie” (T. Badowska-Czubik, P. Bielicki, H. Bryk, M. Buczek, M. Cieślińska, Z. Kołtowski, D. Kruczyńska, J. Lisek, B. Meszka, H. Morgaś, J. Rabcewicz, K. Rutkowski, M. Sekrecka, P.J. Sobiczewski, W. Treder, A. Wawrzyniak, P. Wójcik, red.). Hortpress, Warszawa, 216 ss.
- Meszka B., Broniarek-Niemiec A., Bielenin A. 2011. Problem odporności *Venturia inaequalis* na fungicydy w polskich sadach jabłoniowych. Materiały Ogólnopolskiej Konferencji Ochrony Roślin Sadowniczych. Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice. Centrum Kongresowe, Ossa, 23–24 lutego 2011: 60–62.
- Michalecka M., Malinowski T., Broniarek-Niemiec A., Bielenin A. 2011. Real-time PCR assay with SNP-specific primers for the detection of a G143A mutation level in *Venturia inaequalis* field populations. *Journal of Phytopathology* 159 (7–8): 569–578.
- Miguez M., Reeve C., Wood P.M., Hollomon D.W. 2004. Alternative oxidase reduces the sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* to QoI fungicides. *Pest Management Science* 60: 3–7.
- Nowacka H. 1991. Stability of resistance to benzimidazole fungicides in *Venturia inaequalis* (Cke) Aderh. *Fruit Science Reports* 18 (3): 143–146.
- Nowacka H., Karolczak W., Millikan D.F. 1977. Tolerance of apple fungus to the benzimidazole fungicides in Poland. *The Plant Disease Reporter* 61 (5): 346–350.
- Olaya G., Köller W. 1999. Baseline sensitivities of *Venturia inaequalis* populations to the strobilurin fungicide kresoxim-methyl. *Plant Disease* 83 (3): 274–278.
- O’Leary A.J., Jones A.L. 1987. Factors influencing the uptake fenarimol and flusilazol by apple leaves. *Phytopathology* 77: 1564–1568.
- Sallato B.V., Latorre B.A., Aylwin G. 2006. First report of practical resistance to QoI fungicides in *Venturia inaequalis* (Apple scab) in Chile. *Plant Disease* 90 (3), p. 375.
- Sierotzki H., Frey R., Wullschlegel J., Palermo S., Karlin S., Godwin J., Gisi U. 2006. Cytochrome *b* gene sequence and structure of *Pyrenophora teres* and *P. tritici-repentis* and implications for QoI resistance. *Pest Management Science* 63: 225–233.
- Sierotzki H., Wullschlegel J., Gisi U. 2000. Point mutation in cytochrome *b* gene conferring resistance to strobilurin fungicides in *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* field isolates. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 68: 107–112.
- 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.
- Stensvand A., Amundsen T., Semb L., Meland J. 1996. Fungicide treatments against apple scab (*Venturia inaequalis*). *Norwegian Journal of Agricultural Sciences* 10: 309–324.
- Szkolnik M., Gilpatrick J.D. 1973. Tolerance of *Venturia inaequalis* to dodine in relation to history of dodine usage in apple orchards. *The Plant Disease Reporter* 57: 817–821.
- Viljanen-Rollinson S.L.H., Thompson S.M., Keenan S., Bulman S.R., Wright P.J., Wood P.N., Park M.M., Beresford R.M. 2013. Resistance of *Venturia inaequalis* to quinone outside inhibitor (QoI) fungicides in New Zealand apple orchards. *New Zealand Plant Protection* 66: 284–292.
- Wood P.M., Hollomon D.W. 2003. A critical evaluation of the role of alternative oxidase in performance of strobilurin and related fungicides acting at the Qo site of complex III. *Pest Management Science* 59: 499–511.
- www.frac.info [Accessed: 29.10.2015].
- Zheng D., Olaya G., Köller W. 2000. Characterization of laboratory mutants of *Venturia inaequalis* resistant to the strobilurin-related fungicide kresoxim-methyl. *Current Genetics* 38: 148–155.