

Received: 12.10.2023 / Accepted: 22.11.2023

ARTYKUŁ PRZEGLĄDOWY

Mechanizmy odporności patogenów grzybowych na substancje czynne fungicydów

Mechanisms of resistance of fungal pathogens to active substances of fungicides

Agnieszka Kiniec* 

Streszczenie

Istotnym problemem współczesnego rolnictwa jest obniżenie efektywności dostępnych na rynku środków ochrony roślin. Przyczyną spadku lub nawet całkowitej utraty skuteczności fungicydów jest często wzrost odporności na ich substancje czynne u zwalczanych patogenów. Odporność na substancje czynne środków grzybobójczych jest cechą naturalnie występującą w populacjach grzybów. Jednak działania człowieka powodują nasilenie rozwoju tego zjawiska. W artykule przedstawiono sposoby działania substancji czynnych fungicydów najpowszechniej stosowanych w Polsce do ochrony upraw: triazoli, morfolin, inhibitorów dehydrogenazy kwasu bursztynowego oraz strobiluryn. Opisano także mechanizmy nabywania odporności przez grzyby na te substancje.

Słowa kluczowe: triazole, morfoliny, strobiluryny, SDHI, odporność grzybów

Abstract

A significant problem of modern agriculture is the reduction in the effectiveness of plant protection products available on the market. The reason for the decrease or even complete loss of effectiveness of fungicides is often the increase in resistance to their active substances among the pathogens being fought. Resistance to the active substances of preparations is a feature that naturally occurs in fungal populations. However, human activities cause the development of this phenomenon to intensify. The article presents the modes of action of the active substances of the fungicides most commonly used in Poland to protect crops: triazoles, morpholines, succinic acid dehydrogenase inhibitors and strobilurins. The mechanisms of acquiring resistance by fungi to these substances have also been described.

Key words: DMI, morpholines, QoI, SDHI, fungus resistance

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Terenowa Stacja Doświadczalna w Toruniu
ul. Pigwowa 16, 87-100 Toruń

*corresponding author: a.kiniec@iorpib.poznan.pl

Wstęp / Introduction

Według zasad Integrowanej Ochrony Roślin zastosowanie chemicznych środków ochrony upraw jest ostatecznością. Najpierw powinny zostać wykorzystane niechemiczne metody ochrony, w tym odpowiednia agrotechnika, płodźmian czy dobór odmiany odpornej lub tolerancyjnej (Piszczek i wsp. 2018b). Niemniej w praktyce rolniczej nie jest możliwe uzyskanie wysokich plonów przy całkowitej rezygnacji z zabiegów fungicydowych. Należy jednak stosować je rozsądnie, tak aby nie obciążać niepotrzebnie środowiska naturalnego i nie podnosić kosztów uprawy. Kolejnym skutkiem nadmiernego stosowania środków ochrony roślin jest wzrost odporności zwalczanych patogenów na aplikowane substancje czynne, a tym samym spadek ich efektywności. Za pierwszy, powszechnie stosowany fungicyd uznaje się ciecz bordowską (mieszanina siarczanu miedzi i wapna), wykorzystaną po raz pierwszy w 1885 roku. Fungicydy syntetyczne rozpoczęto produkować na początku XX wieku. W latach 40. pojawiły się ditiokarbaminiany (np. tiram, mankozeb, maneb), w latach 50. ftalimidy (np. kaptan i kaptafol) czy dodyna, a w latach 60. chlorotalonil (Brent 2012). Wszystkie te związki to substancje typu multi-site, czyli działające wielokierunkowo. Wpływają równocześnie na kilka miejsc docelowych. Zakłócają jednocześnie różne procesy życiowe w komórkach grzybowych, a nie – tak jak substancje typu single-site – tylko konkretne miejsce w komórce grzybowej. Często substancje typu mutli-site blokują procesy oddechowe grzyba i uniemożliwiają kiełkowanie zarodników (np. mankozeb, chlorotalonil, związki miedzi) (de Miccolis Angelini i wsp. 2015). Wprowadzenie w 1967 roku pierwszego fungicydu systemicznego – benomylu – zrewolucjonizowało ochronę roślin (Deising i wsp. 2008). W 1973 roku pojawił się na rynku triadimefon, czyli pierwszy triazol (Ziogas i Malandrakis 2015). W polskim rolnictwie fungicydy triazolowe zaczęto stosować w latach 80. Natomiast pierwsze strobiluryny pojawiły się w ochronie roślin w połowie lat 90. (Bartlett i wsp. 2002).

Mechanizmy działania substancji czynnych fungicydów / Mechanisms of action of fungicide active substances

Do ochrony upraw w Polsce stosuje się głównie substancje chemiczne z grup: triazoli, morfolin, inhibitorów dehydrogenazy kwasu bursztynowego oraz strobiluryn.

Triazole (DMI – DeMethylation Inhibitors; kod FRAC 3) to największa grupa związków blokujących biosyntezę steroli (SBI – Sterol Biosynthesis Inhibitors). Sterole to główny składnik błon komórkowych organizmów, odpowiadają za ich stabilność i przepuszczalność (Ziogas i Malandrakis 2015). Triazole hamują działanie 14 α -dimetylasy sterolu, enzymu uczestniczącego w syntezie prekursora ergosterolu

(Lepesheva i Waterman 2007; Ziogas i Malandrakis 2015). W komórkach grzybów i drożdży do produkcji ergosterolu wykorzystywany jest eburikol i lanosterol. Zablockowanie 14 α -dimetylasy sterolu powoduje gromadzenie intermediatów ergosterolu (np. lanosterolu), co prowadzi do zmian w strukturze błony komórkowej (Lepesheva i Waterman 2007).

Morfoliny (kod FRAC 5) hamują szlak biosyntezy ergosterolu na dalszym etapie niż triazole (Joffrion i Cushion 2010). Fungicydy z tej grupy blokują dwa enzymy: Δ 8,7-izomerazę oraz Δ 14-reduktazę (Engels i De Waard 1998; FRAC Code List 2021). Morfoliny mogą zakłócać działanie obu enzymów jednocześnie lub każdego osobno. Mechanizm działania różni się w zależności od substancji czynnej. Fenpropidyna hamuje oba enzymy, choć silniej wpływa na aktywność Δ 14-reduktazy. Fenpropimorf i tridemorf ograniczają głównie aktywność Δ 8,7-izomerazy (Engels i De Waard 1998).

Inhibitory dehydrogenazy kwasu bursztynowego (SDHI – Succinate Dehydrogenase Inhibitors; kod FRAC 7) blokują oddychanie mitochondrialne. Miejscem ich działania jest kompleks dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) w łańcuchu oddechowym, czyli kompleks II (FRAC Code List 2021). SDH uczestniczy w cyklu kwasów tri-karboksylowych i mitochondrialnym łańcuchu transportu elektronów. Zbudowany jest z czterech podjednostek białkowych kodowanych przez: *sdhA*, *sdhB*, *sdhC* i *sdhD* (Avenot i Michailides 2010). Dehydrogenaza bursztynianowa katalizuje utlenienie bursztynianu do fumaranu z równoczesną redukcją ubichinonu (Q) do ubichinolu (QH₂). Zredukowany ubichinol przekazuje elektrony na kompleks III. Fungicydy SDHI hamują transport elektronów w miejscu wiązania ubichinonu, uniemożliwiając oddychanie mitochondrialne (Yin i wsp. 2011).

Strobiluryny (QoI – Quinone outside Inhibitors; kod FRAC 11) – tak jak SDHI – zakłócają oddychanie mitochondrialne. Działają jednak w innym miejscu szlaku oddechowego. Łączą się z kompleksem enzymu cytochromu *b*, czyli kompleksem III (Bartlett i wsp. 2002). Uniemożliwiają przenoszenie elektronów pomiędzy cytochromem *b* i cytochromem *c1*, co prowadzi do zmniejszenia syntezy ATP (adenozynotrójfosforan) i deficytów energetycznych u grzybów (Fernandez-Ortuno i wsp. 2008). Strobiluryny nie tylko wykazują działanie grzybobójcze, ale również indukują naturalne mechanizmy obronne roślin oraz dzięki hamowaniu syntezy etylenu pozytywnie wpływają na wzrost plonowania (Herms i wsp. 2002; Köhle i wsp. 2002).

Mechanizmy odporności grzybów / Mechanisms of fungal resistance

Triazole / Triazoles

Mechanizmy odporności grzybów na DMI są zróżnicowane. Spadek wrażliwości na triazole może być spowo-

dowany występowaniem mutacji punktowych. W wyniku zmiany w sekwencji nukleotydów prawidłowe działanie 14 α -dimetylazy sterolu nie zostaje zakłócone przez fungicyd triazolowy (Bolton i wsp. 2012). W genie *cyp51* *Pyrenopeziza brassicae* zidentyfikowano mutacje G460S i S508T, warunkujące zmniejszoną wrażliwość na triazole (Carter i wsp. 2014). U *Cercospora arachidicola* za odporność na DMI odpowiadają zmiany: G453S, Y461D i Y461N (Qiu 2006). Z kolei Delye i wsp. (1997) opisali w *Uncinula necator* mutację Y136F, nadającą odporność na triadimenol.

Kilkadziesiąt mutacji ściśle powiązanych ze zmniejszeniem powinowactwa DMI do miejsca docelowego opisano u *Mycosphaerella graminicola*. Za spadek wrażliwości na triazole u tego patogena na ogół odpowiada połączenie kilku substytucji. Cools i wsp. (2011) wykazali, że połączenie mutacji L50S + Y461S + V136A nadawało wysoką odporność na prochloraz, epoksykonazol, propikonazol, protiokonazol, tebukonazol i triadimenol. Natomiast izolaty *M. graminicola*, u których stwierdzono jednocześnie cztery zmiany (L50S + Y461S + V136A + S524T) wykazywały jeszcze wyższy poziom odporności na propikonazol, protiokonazol i epoksykonazol. U mutantów, u których w genie *cyp51* zdiagnozowano zmiany L50S + Y461S + V136A + S524T + D134G opisano odporność na epoksykonazol i propikonazol, znaczny wzrost odporności na protiokonazol i prochloraz, przy tylko niewielkim spadku wrażliwości na tebukonazol (Cools i wsp. 2011).

Nie wszystkie mutacje wykrywane w genie *cyp51* można jednoznacznie powiązać ze spadkiem wrażliwości grzybów na substancje z grupy triazoli. Od lat badacze opisują substytucje w genie *cyp51* *Cercospora beticola* (np. E297K, I330T, P384S), jednak długo żadna z nich nie została powiązana z odpornością grzyba na DMI (Nikou i wsp. 2009; Bolton i wsp. 2012; Obuya i wsp. 2015; Trkulja i wsp. 2017). Dopiero niedawno Müllender i wsp. (2020) udokumentowali, że mutacje w genie docelowym dla triazoli mogą odpowiadać za wzrost odporności *C. beticola* na substancje czynne z tej grupy. Naukowcy wykryli substytucje Y464S, I387M, L144F oraz podwójną mutację L144F + I309T. Zmianę I387M już kilka lat wcześniej opisał inny zespół badawczy (Trkulja i wsp. 2017), który jednak nie powiązał jej ze spadkiem wrażliwości *C. beticola* na triazole. Trkulja i wsp. (2017) stwierdzili, że wzrost odporności grzyba na triazole jest skutkiem nadekspresji genu *cyp51*. Również mutacje A185P (Bolton i wsp. 2012) oraz D12N i P195A (Obuya i wsp. 2015) zidentyfikowane w genie docelowym dla DMI u *C. beticola* nie zostały skorelowane ze wzrostem odporności grzyba na te fungicydy. Z kolei Nikou i wsp. (2009) u odpornego na triazole izolatu *C. beticola* wykryli mutację E297K. Na podstawie trójwymiarowego modelu izolowanego fragmentu genu *cyp51* badacze doszli jednak do wniosku, że ta substytucja nie odpowiada za spadek wrażliwości patogena na triazole. Położenie mutacji od miejsca aktywnego było zbyt odległe (Nikou i wsp.

2009). Również w przypadku wpływu mutacji punktowych na wzrost odporności grzyba *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* na DMI naukowcy nie są jednomyślni. Delye i wsp. (1998) opisali, że zmiana Y136F nadaje patogenowi odporność na triazole. Niemniej Wyand i Brown (2005) wykryli tę substytucję również u izolatów średnio oraz słabo odpornych. Dlatego też nie powiązali mutacji Y136F z odpornością patogena na DMI. Według tych badaczy wysoką odporność *B. graminis* f. sp. *hordei* na propikonazol i triadimenol warunkuje zmiana K147Q. Mutacje w genie *cyp51* niepowiązane ze spadkiem wrażliwości grzybów na triazole wykryto również m.in. u *Mycosphaerella fijiensis* (Cañas-Gutiérrez i wsp. 2009), *Puccinia triticina* (Stammler i wsp. 2009) czy *Phakopsora pachyrhizi* (Schmitz i wsp. 2014).

Wzrost odporności patogenów na DMI może być skutkiem nadmiaru enzymu docelowego dla tych fungicydów spowodowanym nadekspresją genu *cyp51*. Ten mechanizm odporności zazwyczaj nie skutkuje tak wysokim poziomem odporności na triazole, jak mutacje punktowe. Niemniej izolaty, u których opisano nadekspresję genu *cyp51* są odporne na większość triazoli, a nie tylko na konkretne substancje z tej grupy (Ziogas i Malandrakis 2015). Zwiększenie syntezy enzymu może mieć różne przyczyny. Jednym z powodów nadekspresji genu *cyp51* mogą być insercje. Zdaniem Luo i Schnabela (2008) niewielka wstawka 65 pz (par zasad) – Mona – w regionie promotora odpowiada za wzrost ekspresji tego genu u *Monilina fruticola*. Ekspresja genu *cyp51* była kilkukrotnie większa u izolatów grzyba odpornych na propikonazol niż u wrażliwych. W regionie promotora genu *cyp51* odpornych izolatów *Venturia inaequalis* zidentyfikowano insercję 553 pz, która prawdopodobnie zwiększa ekspresję genu *cyp51*. Taką wstawkę znaleziono tylko u niektórych izolatów odpornych na triazole, dlatego też badacze stwierdzili, że nie jest to jedyny mechanizm zmniejszający powinowactwo fungicydów triazolowych do miejsca docelowego u tego grzyba (Schnabel i Jones 2001). Z kolei u *Penicillium digitatum* wykryto powtórzenia sekwencji 126 pz w regionie promotora genu. U izolatów odpornych na triazole sekwencja została powtórzona pięciokrotnie, natomiast u izolatów wrażliwych występowała tylko jedna jej kopia (Hamamoto i wsp. 2000). Nieco inne wnioski dotyczące spadku wrażliwości *P. digitatum* na triazole opisali Sun i wsp. (2011). Analizując genom grzyba stwierdzili, że występują w nim kopie genu *cyp51*. Za zwiększenie ekspresji genu *cyp51* odpowiedzialna jest insercja 199 pz w regionie promotora genu *cyp51B* (Sun i wsp. 2011). Także u innych patogenów identyfikowane są – na ogół 2 lub 3 – kopie genu *cyp51*. U *Fusarium graminearum* wykryto 3 kopie genu *cyp51* (*cyp51A*, *cyp51B* i *cyp51C*). Badania przeprowadzone przez Liu i wsp. (2011) wykazały, że za odporność patogena na fungicydy triazolowe odpowiadają geny *cyp51A* oraz *cyp51C*. W tym samym eksperymencie wykazano również, że niektóre funkcje tych genów są wy-

mienne, np. żaden nie jest konieczny do wzrostu grzybnicy (Liu i wsp. 2011). Według Yana i wsp. (2011) u *Magnaporthe oryzae* występują dwie kopie genu *cyp51*. Stwierdzili oni jednocześnie, że za odporność na triazole odpowiedzialny jest gen *cyp51A*. Mutanty *M. oryzae*, u których usunięto tę kopię genu były bardziej wrażliwe na fungicydy, a także słabiej rosły i zarodnikowały. Mellado i wsp. (2001) wykryli dwie kopie genu *cyp51* u izolatów *Aspergillus fumigatus*. Obie kopie regulowały konkretne procesy. Gen *cyp51A* wpływał na odporność grzyba na triazole. Drugi gen – *cyp51B* – nie był powiązany z odpornością. Odpowiadał przede wszystkim za tempo wzrostu i utrzymywanie kształtu kolonii (Mellado i wsp. 2005, 2006).

W literaturze można znaleźć niejednoznaczne wyniki badań dotyczących wpływu nadekspresji genu *cyp51* na spadek wrażliwości *C. beticola* na DMI. Z badań Boltona i wsp. (2012) wynika, że izolaty odporne na triazole wykazywały od 4,2 do 27,2-krotny wzrost ekspresji genu *cyp51* w porównaniu z wrażliwymi. U izolatów *C. beticola* słabo i umiarkowanie odpornych ekspresja genu docelowego dla triazoli była niższa niż u odpornych, ponieważ wzrosła od 1,1 do 2,8-krotnie w stosunku do izolatów wrażliwych. Wzrost stężenia fungicydu powodował wzrost ekspresji genu *Cbcyp51*, ale tylko do pewnego stopnia. Przy stężeniu 5 µg/ml ekspresja spadła (Bolton i wsp. 2012). Nikou i wsp. (2009) także opisali wzrost ekspresji genu *cyp51* u *C. beticola*. Jednak ci badacze wykazali większe wzrosty ekspresji niż zespół Boltona i wsp. (2012). Nikou i wsp. (2009) udowodnili, że u izolatów odpornych ekspresja genu docelowego dla triazoli wzrosła od 18 do 234-krotnie. Natomiast u izolatów umiarkowanie odpornych wykryto od 3 do 27-krotny wzrost ekspresji genu *cyp51*. Ustaleniom Nikou i wsp. (2009) oraz Boltona i wsp. (2012) przeczą rezultaty analiz Müllendera i wsp. (2020). Według tych badaczy u izolatów *C. beticola* o niskich wartościach EC_{50} ekspresja genu *cyp51* po zastosowaniu fungicydu wzrosła aż 57-krotnie. Z kolei u izolatów o wysokich wartościach EC_{50} doszło do 3–7-krotnego wzrostu ekspresji genu docelowego dla triazoli. Müllender i wsp. (2020) stwierdzili, że za te różnice prawdopodobnie odpowiadają mutacje w genie *cyp51*.

Spadek wrażliwości grzyba na fungicydy triazolowe może być także spowodowany redukcją wchłaniania środka grzybobójczego, będącą skutkiem działalności białek transportowych. Transportery usuwają szkodliwe związki (nie tylko fungicydy) na zewnątrz komórki grzybowej (Ma i Michailides 2005; Ziogas i Malandrakis 2015). W tym procesie biorą udział dwa rodzaje białek: ABC (ATP-Binding Cassette) i MFS (Major Facilitator Superfamily). Białka ABC to pierwotne transportery, które zużywają energię z hydrolizy ATP. Te białka mogą przenosić substraty o różnych wielkościach, zarówno mikro- jak i makrocząsteczki. Transportery ABC znajdują się w błonie komórkowej oraz błonach organelli, np. mitochondriów, wakuoli czy retikulum endoplazmatycznego (Theodoulou 2000; Stergiopo-

ulos i wsp. 2002; Lamping i wsp. 2010). Transporter ABC zbudowany jest z dwóch części. Każda z nich składa się z sześciu domen transbłonowych (TMD – transmembrane domain) i jednej domeny wiążącej nukleotydy (NBF – nucleotide binding fold) (Theodoulou 2000). Białka MFS są transporterami wtórnymi. Jako źródło energii wykorzystują gradient protonów po obu stronach błony (Lamping i wsp. 2010). W przeciwieństwie do transporterów ABC mogą przenosić tylko niewielkie cząsteczki (Pao i wsp. 1998). Białka MFS mają 12 lub 14 segmentów TMD, ale nie posiadają fałdu wiążącego nukleotydy (Lv i wsp. 2016).

Morfoliny / Morpholines

Odporność patogenów grzybowych na morfoliny nie jest częstym zjawiskiem. Niemniej w literaturze można znaleźć informacje o spadku wrażliwości na substancje czynne z tej grupy u niektórych grzybów (Robertson i wsp. 1996; Arnold 2018; Kiniec i Piszczek 2021). Mechanizm odporności jest jednak słabo poznany. Głównym powodem spadku wrażliwości patogenów na fungicydy morfolinowe wydają się być mutacje genowe. Na podstawie analizy krzyżówek genetycznych Brown i wsp. (1996) wykazali, że u *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* za odporność na fenpropimorf i fenpropidynę odpowiadają jeden lub dwa ściśle powiązane ze sobą geny. W 2018 roku Arnold udowodniła, że mutacja V295L występująca w genie *erg24* u izolatów *B. graminis* f. sp. *hordei* nadaje odporność na fenpropimorf. U izolatów tego grzyba zdiagnozowano również zmianę D291N. Jednak mutanty z tą substytucją wykazywały umiarkowaną odporność na fenpropimorf (Arnold 2018).

Z kolei powodem spadku wrażliwości na fenpropidynę u *Ustilago maydis* są dwa niepowiązane geny (Markoglou i Ziogas 2001). *Uffpd-1* i *Uffpd-2* warunkują również wysoki poziom odporności na fenpropimorf, ale nie na piperalinę czy tridemorf. Jednak za spadek wrażliwości izolatów *U. maydis* na fenpropimorf odpowiedzialne są przede wszystkim geny *Uffpm-1* i *Uffpm-2* (Markoglou i Ziogas 1999). Według Markoglou i Ziogasa (2001) wzrost odporności *U. maydis* na piperalinę i tridemorf nie może być spowodowany przez zmianę w miejscu docelowym działania tych substancji. Naukowcy stwierdzili, że obniżona wrażliwość tego patogena na piperalinę i tridemorf może być skutkiem przeżycia grzyba z wadliwymi sterolami w błonach plazmatycznych, działalności białek transportowych czy metabolizowania fungicydu.

Odporność na morfoliny u *Nectria haematococca* determinują trzy niezależne geny (*Fen1*, *Fen2* i *Fen3*). Mutacje w tych genach warunkowały odporność na fenpropidynę. Zmiany w genach *Fen1* i *Fen2* nadawały niewielki poziom odporności na tridemorf. Natomiast mutacje w genie *Fen3* w żaden sposób nie oddziaływały na poziom odporności na tę morfolinę. U bardzo odpornego na fenpropimorf izolatu *N. haematococca* zidentyfikowano mutacje w dwóch

genach: *Fen2* i *Fen3*, co wskazuje że te geny mogą działać addytywnie (Lasseron-De Falandre i wsp. 1991). U niektórych izolatów *N. haematococca* zdiagnozowano także inne powody spadku wrażliwości na fenpropimorf. Lasseron-De Falandre i wsp. (1999) stwierdzili, że wzrost odporności może być także spowodowany nadekspresją albo modyfikacją $\Delta 14$ -reduktazy lub też tolerancją nadmiaru $\Delta 8,14$ -sterolu i spadku poziomu ergosterolu.

Inhibitory dehydrogenazy kwasu bursztynowego (SDHI) / Succinic acid dehydrogenase inhibitors

Wzrost odporności na SDHI jest obserwowany u różnych patogenów grzybowych. Jednak rozwój odporności nie jest tak dynamiczny jak w przypadku strobiluryn, mimo że obie grupy substancji zakłócają oddychanie mitochondrialne (Sierotzki i Scalliet 2013).

Nabywanie odporności przez grzyby na SDHI jest spowodowane występowaniem mutacji punktowych w genach podjednostek *sdhB*, *sdhC* i *sdhD* kodujących dehydrogenazę bursztynianową (Avenot i Michailides 2010). Większość substytucji nadających patogenom odporność na inhibitory dehydrogenazy kwasu bursztynowego jest identyfikowana w pierwszej z wymienionych podjednostek.

Mutacje punktowe występujące w podjednostce *sdhB* mogą w różny sposób wpływać na wrażliwość grzybów na poszczególne substancje czynne z grupy SDHI. Izolaty *Penicillium expansum* oraz *Botrytis cinerea*, u których zdiagnozowano mutację H272R w podjednostce *sdhB* były odporne na boskalid, ale nie na fluopyram (Veloukas i wsp. 2013; Malandrakis i wsp. 2017). Natomiast zmiana H272Y powodowała odporność na boskalid u *P. expansum* oraz umiarkowaną odporność na tę substancję czynną u *B. cinerea*, przy jednoczesnym wzroście wrażliwości obu grzybów (ujemna odporność krzyżowa) na fluopyram (Veloukas i wsp. 2013; Malandrakis i wsp. 2017). Mutanty *B. cinerea*, u których wykryto substytucję N230I były umiarkowanie odporne na boskalid, fluopyram i fluksapyroksad, ale wrażliwe na biksafen. Z kolei substytucja P225F nadawała wysoki poziom odporności na boskalid, fluopyram, biksafen i fluksapyroksad (Veloukas i wsp. 2013).

U *Didymella tanacetii* wykryto zmiany nadające odporność na boskalid zarówno w podjednostce *sdhB*, jak i podjednostkach *sdhC* i *sdhD* (Pearce i wsp. 2019). Mutacje H277R/Y zdiagnozowano w podjednostce *sdhB* u izolatów umiarkowanie, wysoko oraz bardzo wysoko odpornych. Zmiany identyfikowane w podjednostce *sdhC* (S73P, G79R, H134R i S135R) nadawały wysoką i bardzo wysoką odporność na boskalid izolatom *D. tanacetii*. W podjednostce *sdhD* wykrywano mutacje D112E oraz H122R, przy czym pierwsza była zdiagnozowana zarówno u izolatów odpornych, jak i umiarkowanie odpornych (Pearce i wsp. 2019).

Natomiast u izolatów *Alternaria solani* o obniżonej wrażliwości na boskalid, w podjednostce *sdhB* opisano

substytucję H278Y, a w podjednostce *sdhC* mutację H134R (Mostafanezhad i wsp. 2022).

Zmiana H260R występująca w podjednostce *sdhB* nadawała odporność na boskalid izolatom *Blumeriella jaapii* (Gleason i wsp. 2021). Substytucja I262V opisana w podjednostce *sdhB* lub S84L w podjednostce *sdhC* odpowiadały za spadek wrażliwości izolatów *B. jaapii* na fluopyram. Z kolei mutacja N86S w podjednostce *sdhC* zapewniała odporność na boskalid, fluopyram i fluksapyroksad (Gleason i wsp. 2021).

Strobiluryny / Strobilurin

Najczęstszym mechanizmem warunkującym spadek wrażliwości grzybów na strobiluryny są mutacje punktowe w genie cytochromu *b* (*cytB*). Na ogół za wzrost odporności na QoI odpowiada mutacja G143A, czyli zamiana glicyny alaniną w 143 pozycji kodonu. Ta substytucja nadaje wysoki poziom odporności na strobiluryny wielu grzybom m.in.: *Pyricularia grisea* (Kim i wsp. 2003), *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria arborescens* (Ma i wsp. 2003), *V. inaequalis* (Fiaccadori i wsp. 2011), *C. beticola* (Bolton i wsp. 2013; Piszczek i wsp. 2018a), *Botryotinia fuckeliana* (*B. cinerea*) (de Miccolis Angelini i wsp. 2014) czy *Zymoseptoria tritici* (Hayes i wsp. 2016). W genie *cytB* niektórych grzybów, m.in. *P. grisea* (Kim i wsp. 2003), *Pyrenophora teres* (Semar i wsp. 2007), *Pyrenophora tritici-repentis* (Sierotzki i wsp. 2007) czy *C. beticola* (Vaghefi i wsp. 2016) diagnozowane są także mutacje, których nie można jednoznacznie powiązać ze wzrostem odporności na strobiluryny – F129L czy G137R.

Wzrost odporności grzybów na strobiluryny może być także spowodowany wzrostem aktywności alternatywnej oksydazy (AOX), będącej enzymem łańcucha transportu elektronów. W momencie zablokowania kompleksu III i IV transportu elektronów przez fungicyd, transport elektronów odbywa się przez alternatywny szlak oksydacyjny. Zahamowane kompleksy zostają ominięte (Wood i Hollomon 2003; Fernandez-Ortuno i wsp. 2008). Ten mechanizm odporności zdiagnozowano m.in. u *Magnaporthe grisea* (Avila-Adame i Köller 2002) i *C. beticola* (Pieczul i Perek 2015). Alternatywny szlak oddychania generuje o 60% mniej energii niż normalne procesy oddechowe, ponieważ AOX nie ma aktywności pompy protonowej. Obniżona ilość energii nie pozwala na przeprowadzenie procesów wymagających dużych nakładów energii, takich jak kiełkowanie zarodników czy penetracja żywiciela. Dodatkowo, flawony produkowane przez rośliny podczas infekcji zakłócają aktywność AOX (Wood i Hollomon 2003; Fernandez-Ortuno i wsp. 2008). Dlatego też wzrost aktywności AOX nie spowoduje utraty efektywności fungicydów strobilurynowych w rolnictwie.

Spadek wrażliwości grzybów na strobiluryny może być skutkiem działalności białek transportowych ABC

i MFS. Taki mechanizm odporności na QoI zidentyfikowano u *P. tritici-repentis* (Reimann i Deising 2005) czy *M. graminicola* (Roohparvar i wsp. 2007). Białka usuwają na zewnątrz komórki grzybowej nie tylko środki grzybobójcze, ale również naturalne związki toksyczne (np. alkaloidy roślinne i fitoaleksyny) czy substancje mutagenne (Andrade i wsp. 2000).

Analizy genu cytochromu *b* różnych grzybów udowodniły, że liczba, wielkość i pozycja intronów nie są stałe. W genie *cytB* intron typu I może zaczynać się bezpośrednio po kodonie glicyny w pozycji 143. W takiej sytuacji mutacja G143A powoduje nierozpoznanie granicy intronu, ekspresję wadliwego cytochromu *b*, a w konsekwencji śmierć komórki (Grasso i wsp. 2006; Deising i wsp. 2008). Dlatego też w populacjach niektórych patogenów nie odnotowuje się wzrostu odporności na strobiluryny. Występowanie intronu zaraz po kodonie glicyny w pozycji 143 wykazano m.in. u: *Puccinia* spp., *Uromyces appendiculatus*, *Phakopsora pachyrhizi*, *Hemileia vastatrix* i *A. solani*. Niemniej spadek

wrażliwości na strobiluryny wykryto u *Puccinia horiana*, choć u izolatów grzyba nie diagnozowano zmiany G143A (Grasso i wsp. 2006).

Wnioski / Conclusions

1. Do ochrony upraw w Polsce stosuje się przede wszystkim substancje z czterech grup chemicznych: triazoli, morfolin, inhibitorów dehydrogenazy kwasu bursztynowego oraz strobiluryn.
2. Głównym mechanizmem odpowiedzialnym za wzrost odporności patogenów grzybowych na substancje czynne fungicydów są mutacje punktowe.
3. Za spadek wrażliwości grzybów na substancje czynne fungicydów mogą odpowiadać także: nadekspresja genu docelowego dla danego fungicydu, działalność białek transportowych czy wzrost aktywności alternatywnego enzymu.

Literatura / References

- Andrade A.C., del Sorbo G., van Nistelrooy J.G.M., de Waard M.A. 2000. The ABC transporter AtrB from *Aspergillus nidulans* mediates resistance to all major classes of fungicides and some natural toxic compounds. *Microbiology* 146 (8): 1987–1997. DOI: 10.1099/00221287-146-8-1987
- Arnold C.J. 2018. Molecular evolution of fungicide resistance in *Blumeria graminis* (PhD. thesis). University of East Anglia, Norwich, UK, 149 ss.
- 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 (7): 643–651. DOI: 10.1016/j.cropro.2010.02.019
- Avila-Adame C., Köller W. 2002. Disruption of the alternative oxidase gene in *Magnaporthe grisea* and its impact on host infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 15 (5): 493–500. DOI: 10.1094/MPMI.2002.15.5.493
- Bartlett D.W., Clough J.M., Godwin J.R., Hall A.A., Hamer M., Parr-Dobrzanski B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Management Science* 58 (7): 649–662. DOI: 10.1002/ps.520
- Bolton M.D., Birla K., Rivera-Varas V., Rudolph K., Secor G.A. 2012. Characterization of *CbCyp51* from field isolates of *Cercospora beticola*. *Phytopathology* 102 (3): 298–305. DOI: 10.1094/PHYTO-07-11-0212
- Bolton M.D., Riviera V., Secor G.A. 2013. Identification of the G143A mutation associated with QoI resistance in *Cercospora beticola* field isolates from Michigan. *Pest Management Science* 69 (1): 35–39. DOI: 10.1002/ps.3358
- Brent K. 2012. Historical perspectives of fungicide resistance. s. 3–18. W: *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management* (T.S. Thind, red.). CABI Publishing, Wallingford, UK. DOI: 10.1079/9781845939052.0003
- Brown J.K.M., Le Boulaire S., Evans N. 1996. Genetics of responses to morpholine-type fungicides and of avirulences in *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *European Journal of Plant Pathology* 102: 479–490.
- Cañas-Gutiérrez G.P., Angarita-Velásquez M.J., Restrepo-Flórez J.M., Rodríguez P., Moreno C.X., Arango R. 2009. Analysis of the CYP51 gene and encoded protein in propiconazole-resistant isolates of *Mycosphaerella fijiensis*. *Pest Management Science* 65 (8): 892–899. DOI: 10.1002/ps.1770
- Carter H.E., Fraaije B.A., West J.S., Kelly S.L., Mehl A., Shaw M.W., Cools H.J. 2014. Alterations in the predicted regulatory and coding regions of the sterol 14 α -demethylase gene (CYP51) confer decreased azole sensitivity in the oilseed rape pathogen *Pyrenopeziza brassicae*. *Molecular Plant Pathology* 15 (5): 513–522. DOI: 10.1111/mpp.12106
- Cools H.J., Mullins J.G.L., Fraaije B.A., Parker J.E., Kelly D.E., Lucas J.A., Kelly S.L. 2011. Impact of recently emerged sterol 14 α -demethylase (CYP51) variants of *Mycosphaerella graminicola* on azole fungicide sensitivity. *Applied and Environmental Microbiology* 77 (11): 3830–3837. DOI: 10.1128/AEM.00027-11
- Deising H.B., Reimann S., Pascholati S.F. 2008. Mechanisms and significance of fungicide resistance. *Brazilian Journal of Microbiology* 39 (2): 286–295. DOI: 10.1590/S1517-838220080002000017
- Delye C., Bousset L., Corio-Costet M.-F. 1998. PCR cloning and detection of point mutations in the eburicol 14 α -demethylase (CYP51) gene from *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*, a “recalcitrant” fungus. *Current Genetics* 34 (5): 399–403. DOI: 10.1007/s002940050413
- Delye C., Laigret F., Corio-Costet M.-F. 1997. A mutation in the 14 α -demethylase gene of *Uncinula necator* that correlates with resistance to a sterol biosynthesis inhibitor. *Applied and Environmental Microbiology* 63 (8): 2966–2970. DOI: 10.1128/AEM.63.8.2966-2970.1997
- de Miccolis Angelini R.M., Pollastro S., Faretra F. 2015. Genetics of fungicide resistance. s. 13–34. W: *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management* (H. Ishii, D.W. Hollomon, red.). Springer Japan, Tokyo, Japan. DOI: 10.1007/978-4-431-55642-8_2

- de Miccolis Angelini R.M., Rotolo C., Masiello M., Gerin D., Pollastro S., Faretra F. 2014. Occurrence of fungicide resistance in populations of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) on table grape and strawberry in southern Italy. *Pest Management Science* 70 (12): 1785–1796. DOI: 10.1002/ps.3711
- Engels A.J.G., De Waard M.A. 1998. Biochemical analysis of resistance to fenpropimorph in *Aspergillus niger*. s. 95–112. W: Management of resistance to the fungicide fenpropimorph in *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* (A.J.G. Engels, red.) (PhD. thesis). Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands, 129 ss.
- Fernandez-Ortuno D., Tores J.A., de Vicente A., Perez-Garcia A. 2008. Mechanism of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. *International Microbiology* 11 (1): 1–9. DOI: 10.2436/20.1501.01.38
- Fiaccadori R., Cicognani E., Alberoni G., Collina M., Brunelli A. 2011. Sensitivity to strobilurin fungicides of Italian *Venturia inaequalis* populations with different origin and scab control. *Pest Management Science* 67 (5): 535–540. DOI: 10.1002/ps.2090
- FRAC Code List 2021. Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels). Fungicide Resistance Action Committee, 17 ss. https://docplayer.net/208399713-Disclaimer-frac-code-list-2021-page-1-of-17.html#google_vignette [dostęp: 02.10.2023].
- Gleason J., Peng J., Proffer T.J., Slack S.M., Outwater C.A., Rothwell N.L., Sundin G.W. 2021. Resistance to boscalid, fluopyram and fluxapyroxad in *Blumeriella jaapii* from Michigan (U.S.A.): molecular characterization and assessment of practical resistance in commercial cherry orchards. *Microorganisms* 9 (11): 2198. DOI: 10.3390/microorganisms9112198
- Grasso V., Sierotzki H., Garibaldi A., Gisi U. 2006. Characterization of the cytochrome b gene fragment of *Puccinia* species responsible for the binding site of QoI fungicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 84 (2): 72–82. DOI: 10.1016/j.pestbp.2005.05.005
- Hamamoto H., Hasegawa K., Nakaune R., Lee Y.J., Makizumi Y., Akutsu K., Hibi T. 2000. Tandem repeat of a transcriptional enhancer upstream of the sterol 14 α -demethylase gene (CYP51) in *Penicillium digitatum*. *Applied and Environmental Microbiology* 66 (8): 3421–3426. DOI: 10.1128/aem.66.8.3421-3426.2000
- Hayes L.E., Sackett K.E., Anderson N.P., Flowers M.D., Mundt C.C. 2016. Evidence of selection for fungicide resistance in *Zymoseptoria tritici* populations on wheat in Western Oregon. *Plant Disease* 100 (2): 483–489. DOI: 10.1094/PDIS02-15-0214-RE
- Herms S., Seehaus K., Koehle H., Conrath U. 2002. A strobilurin fungicide enhances the resistance of tobacco against tobacco mosaic virus and *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Plant Physiology* 130 (1): 120–127. DOI: 10.1104/pp.004432
- Joffrion T.M., Cushion M.T. 2010. Sterol biosynthesis and sterol uptake in the fungal pathogen *Pneumocystis carinii*. *FEMS Microbiology Letters* 311 (1): 1–9. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2010.02007.x
- Kim Y.S., Dixon E.W., Vincelli P., Farman M.L. 2003. Field resistance to strobilurin (QoI) fungicides in *Pyricularia grisea* caused by mutations in the mitochondrial cytochrome b gene. *Phytopathology* 93 (7): 891–900. DOI: 10.1094/PHYTO.2003.93.7.891
- Kiniec A., Piszczek J. 2021. Ocena stopnia wrażliwości izolatów *Cercospora beticola* na fungicydy. [Evaluation of the sensitivity level of *Cercospora beticola* isolates to fungicides]. *Konferencja Ochrony Roślin* 61. Sesja Naukowa IOR – PIB, Streszczenia: 121–122.
- Köhle H., Grossmann K., Jabs T., Gerhard M., Kaiser W., Glaab J., Conrath U., Seehaus K., Herms S. 2002. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants. s. 61–74. W: *Modern Fungicides and Antifungal Compounds III* (H.-W. Dehne, U. Gisi, K.H. Kuck, P.E. Russell, H. Lyr, red.). AgroConcept GmbH, Bonn, Germany, 317 ss. ISBN 3-7862-0144-7.
- Lamping E., Baret P.V., Holmes A.R., Monk B.C., Goffeau A., Cannon R.D. 2010. Fungal PDR transporters: phylogeny, topology, motifs and function. *Fungal Genetics and Biology* 47 (2): 127. DOI: 10.1016/j.fgb.2009.10.007
- Lasseron-De Falandre A., Daboussi M.-J., Leroux P. 1991. Inheritance of resistance to fenpropimorph and terbinafine, two sterol biosynthesis inhibitors, in *Nectria haematococca*. *Phytopathology* 81 (11): 1432–1438. DOI: 10.1094/Phyto-81-1432
- Lasseron-De Falandre A., Debieu D., Bach J., Malosse C., Leroux P. 1999. Mechanisms of resistance to fenpropimorph and terbinafine, two sterol biosynthesis inhibitors, in *Nectria haematococca*, a phytopathogenic fungus. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 64 (3): 167–184. DOI: 10.1006/pest.1999.2424
- Lepesheva G.I., Waterman M.R. 2007. Sterol 14 α -demethylase cytochrome P450 (CYP51), a P450 in all biological kingdoms. *Biochimica et Biophysica Acta* 1770 (3): 467–477. DOI: 10.1016/j.bbagen.2006.07.018
- Liu X., Yu F., Schnabel G., Wu J., Wang Z., Ma Z. 2011. Paralogous cyp51 genes in *Fusarium graminearum* mediate differential sensitivity to sterol demethylation inhibitors. *Fungal Genetics and Biology* 48 (2): 113–123. DOI: 10.1016/j.fgb.2010.10.004
- Luo C.-X., Schnabel G. 2008. The cytochrome P450 lanosterol 14 α -demethylase gene is a demethylation inhibitor fungicide resistance determinant in *Monilinia fruticola* field isolates from Georgia. *Applied and Environmental Microbiology* 74 (2): 359–366. DOI: 10.1128/AEM.02159-07
- Lv H., Li J., Wu Y., Garyali S., Wang Y. 2016. Transporter and its engineering for secondary metabolites. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100 (14): 6119–6130. DOI: 10.1007/s00253-016-7605-6
- Ma Z., Felts D., Michailides T.J. 2003. Resistance to azoxystrobin in *Alternaria* isolates from pistachio in California. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 77 (2): 66–74. DOI: 10.1016/j.pestbp.2003.08.002
- Ma Z., Michailides T.J. 2005. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Protection* 24 (10): 853–863. DOI: 10.1016/j.cropro.2005.01.011
- Malandrakis A.A., Vattis K.N., Markoglou A.N., Karaoglanidis G.S. 2017. Characterization of boscalid-resistance conferring mutations in the *SdhB* subunit of respiratory complex II and impact on fitness and mycotoxin production in *Penicillium expansum* laboratory strains. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 138: 97–103. DOI: 10.1016/j.pestbp.2017.03.009
- Markoglou A.N., Ziogas B.N. 1999. Genetic control of resistance to fenpropimorph in *Ustilago maydis*. *Plant Pathology* 48: 521–530.
- Markoglou A.N., Ziogas B.N. 2001. Genetic control of resistance to the piperidine fungicide fenpropidin in *Ustilago maydis*. *Journal of Phytopathology* 149 (9): 551–559. DOI: 10.1046/j.1439-0434.2001.00676.x
- Mellado E., Alcazar-Fuoli L., García-Effrón G., Alastruey-Izquierdo A., Cuenca-Estrella M., Rodríguez-Tudela J.L. 2006. New resistance mechanisms to azole drugs in *Aspergillus fumigatus* and emergence of antifungal drugs-resistant *A. fumigatus* atypical strains. *Medical Mycology* 44 (Supplement 1): 367–371. DOI: 10.1080/13693780600902243

- Mellado E., Diaz-Guerra T.M., Cuenca-Estrella M., Rodriguez-Tudela J.L. 2001. Identification of two different 14- α sterol demethylase-related genes (*cyp51A* and *cyp51B*) in *Aspergillus fumigatus* and other *Aspergillus* species. *Journal of Clinical Microbiology* 39 (7): 2431–2438. DOI: 10.1128/JCM.39.7.2431-2438.2001
- Mellado E., Garcia-Effron G., Buitrago M.J., Alcazar-Fuoli L., Cuenca-Estrella M., Rodriguez-Tudela J.L. 2005. Targeted gene disruption of the 14 α -sterol demethylase (*cyp51A*) in *Aspergillus fumigatus* and its role in azole drug susceptibility. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49 (6): 2536–2538. DOI: 10.1128/AAC.49.6.2536-2538.2005
- Mostafanezhad H., Edin E., Grenville-Briggs L.J., Lankinen A., Liljeroth E. 2022. Rapid emergence of boscalid resistance in Swedish populations of *Alternaria solani* revealed by a combination of field and laboratory experiments. *European Journal of Plant Pathology* 162: 289–303. DOI: 10.1007/s10658-021-02403-8
- Müllender M.M., Mahlein A.K., Stammler G., Varrelmann M. 2020. Evidence for the association of target-site resistance in *cyp51* with reduced DMI sensitivity in European *Cercospora beticola* field isolates. *Pest Management Science* 77 (4): 1765–1774. DOI: 10.1002/ps.6197
- Nikou D., Malandrakis M., 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. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 95 (1): 18–27. DOI: 10.1016/j.pestbp.2009.04.014
- Obuya J.O., Ananga A., Franc G.D. 2015. Silent mutation: characterization of its potential as a mechanism for sterol 14 α -demethylase resistance in *Cercospora beticola* field isolates from the United States. *Journal of Plant Pathology and Microbiology* 6 (6): 280. DOI: 10.4172/2157-7471.1000280
- Pao S.S., Paulsen I.T., Saier M.H. 1998. Major facilitator superfamily. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62 (1): 1–34. DOI: 10.1128/MMBR.62.1.1-34.1998
- Pearce T.L., Wilson C.R., Gent D.H., Scott J.B. 2019. Multiple mutations across the succinate dehydrogenase gene complex are associated with boscalid resistance in *Didymella tanacetii* in pyrethrum. *PLoS ONE* 14 (6): e0218569. DOI: 10.1371/journal.pone.0218569
- Pieczul K., Perek A. 2015. Przyczyny odporności izolatów *Cercospora beticola* (chwościk buraka) na strobiluriny w Wielkopolsce. [The reasons of strobilurin resistance of *Cercospora beticola* (*Cercospora* leaf spot) isolates in Wielkopolska region]. *Progress in Plant Protection* 55 (1): 45–48. DOI: 10.14199/ppp-2015-008
- Piszczek J., Pieczul K., Kiniec A. 2018a. First report of G143A strobilurin resistance in *Cercospora beticola* in sugar beet (*Beta vulgaris*) in Poland. *Journal of Plant Diseases and Protection* 125 (1): 99–101. DOI: 10.1007/s41348-017-0119-3
- Piszczek J., Strażyński P., Mrówczyński M. (red.). 2018b. *Metodyka integrowanej ochrony buraka cukrowego i pastewnego dla doradców*. Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Poznań, 123 ss. ISBN 978-83-64655-44-9.
- Qiu J. 2006. Detection and mechanisms of resistance to sterol demethylation inhibiting fungicides in *Cercospora arachidicola* (Master of Science). University of Georgia, Athens, USA, 82 ss.
- Reimann S., Deising H.B. 2005. Inhibition of efflux transporter-mediated fungicide resistance in *Pyrenophora tritici-repentis* by a derivative of 4'-hydroxyflavone and enhancement of fungicide activity. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (6): 3269–3275. DOI: 10.1128/AEM.71.6.3269–3275.2005
- Robertson S., Gilmour J., Newman D., Lennard J.H. 1996. Sensitivity of barley powdery mildew to morpholine fungicides. Part I: Work in Scotland. Project Report 127: 1–60.
- Roohparvar R., de Waard M.A., Kema G.H.J., Zwiers L.-H. 2007. MgMfs1, a major facilitator superfamily transporter from the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*, is a strong protectant against natural toxic compounds and fungicides. *Fungal Genetics and Biology* 44 (5): 378–388. DOI: 10.1016/j.fgb.2006.09.007
- Schmitz H.K., Medeiros C.A., Craig I.R., Stammler G. 2014. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-outside-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. *Pest Management Science* 70 (3): 378–388. DOI: 10.1002/ps.3562
- Schnabel G., Jones A.L. 2001. The 14 α -demethylase (CYP51A1) gene is overexpressed in *Venturia inaequalis* strains resistant to myclobutanil. *Phytopathology* 91 (1): 102–110. DOI: 10.1094/PHYTO.2001.91.1.102
- Semar M., Strobel D., Koch A., Klappach K., Stammler G. 2007. Field efficacy of pyraclostrobin against populations of *Pyrenophora teres* containing the F129L mutation in the cytochrome b gene. *Journal of Plant Diseases and Protection* 114 (3): 117–119. DOI: 10.1007/BF03356718
- Sierotzki H., Frey R., Wullschleger J., Palermo S., Karlin S., Godwin J., Gisi U. 2007. Cytochrome b gene sequence and structure of *Pyrenophora teres* and *P. tritici-repentis* and implications for QoI resistance. *Pest Management Science* 63 (3): 225–233. DOI: 10.1002/ps.1330
- Sierotzki H., Scalliet G. 2013. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology* 103 (9): 880–887. DOI: 10.1094/PHYTO-01-13-0009-RVW
- Stammler G., Cordero J., Koch A., Semar M., Schlehuber S. 2009. Role of the Y134F mutation in *cyp51* and overexpression of *cyp51* in the sensitivity response of *Puccinia triticina* to epoxiconazole. *Crop Protection* 28 (10): 891–897. DOI: 10.1016/j.cropro.2009.05.007
- Stergopoulos I., Zwiers L.-H., de Waard M.A. 2002. Secretion of natural and synthetic toxic compounds from filamentous fungi by membrane transporters of the ATP-binding cassette and major facilitator superfamily. *European Journal of Plant Pathology* 108 (7): 719–734. DOI: 10.1023/A:1020604716500
- Sun X., Wang J., Feng D., Ma Z., Li H. 2011. *PdCYP51B*, a new putative sterol 14 α -demethylase gene of *Penicillium digitatum* involved in resistance to imazalil and other fungicides inhibiting ergosterol synthesis. *Applied Microbiology and Biotechnology* 91 (4): 1107–1119. DOI: 10.1007/s00253-011-3355-7
- Theodoulou F.L. 2000. Plant ABC transporters. *Biochimica et Biophysica Acta* 1465 (1–2): 79–103. DOI: 10.1016/S0005-2736(00)00132-2
- Trkulja N.R., Milosavljević A.G., Milana S., Mitrović M.S., Jović J.B., Toševski I.T., Khan M.F.R., Secor G.A. 2017. Molecular and experimental evidence of multi-resistance of *Cercospora beticola* field populations to MBC, DMI and QoI fungicides. *European Journal of Plant Pathology* 149 (4): 895–910. DOI: 10.1007/s10658-017-1239-0

- Vaghefi N., Hay F.S., Kikkert J.R., Pethybridge S.J. 2016. Genotypic diversity and resistance to azoxystrobin of *Cercospora beticola* on processing table beet in New York. *Plant Disease* 100 (7): 1466–1473. DOI: 10.1094/PDIS-09-15-1014-RE
- Veloukas T., Markoglou A.N., Karaoglanidis G.S. 2013. Differential effect of *SdhB* gene mutations on the sensitivity to SDHI fungicides in *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 97 (1): 118–122. DOI: 10.1094/PDIS-03-12-0322-RE
- 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 Management Science* 59 (5): 499–511. DOI: 10.1002/ps.655
- Wyand 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 Genetics and Biology* 42 (8): 726–735. DOI: 10.1016/j.fgb.2005.04.007
- Yan X., Ma W.B., Li Y., Wang H., Que Y.W., Ma Z.H., Talbot N.J., Wang Z.Y. 2011. A sterol 14 α -demethylase is required for conidiation, virulence and for mediating sensitivity to sterol demethylation inhibitors by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Fungal Genetics Biology* 48 (2): 144–153. DOI: 10.1016/j.fgb.2010.09.005
- Yin Y.N., Kim Y.K., Xiao C.L. 2011. Molecular characterization of boscalid resistance in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. *Phytopathology* 101 (8): 986–995. DOI: 10.1094/PHYTO-01-11-0016
- Ziogas B.N., Malandrakis A.A. 2015. Sterol biosynthesis inhibitors: C14 demethylation (DMIs). s. 199–216. W: *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management* (H. Ishii, D.W. Hollomon, red.). Springer Japan, Tokyo, Japan. DOI: 10.1007/978-4-431-55642-8_13