Odporność grzyba *Botryotinia fuckeliana* (De Bary) Whetzel (*Botrytis cinerea* Pers.) — patogena malin, truskawek i innych roślin uprawnych na fungicydy benzimidazolowe

E. ARSENIUK i H. BRYK

Instytut Ochrony Roślin, SGGW — AR w Warszawie

E. Arseniuk and H. Bryk (*Institute of Plant Protection, Warsaw Agricultural University, Nowoursynowska 166, Warszawa, and Research Institute of Pomology, Skierniewice, Poland*) *Acta Agrobotanica* 31 (1/2): 205-216, 1978.

Resistance of Botryotinia fuckeliana (De Bary) Whetzel (*Botrytis cinerea* Pers.) to benzimidazole fungicides

In the period 1975-1977 forms of the fungus *Botrytis cinerea* were found in Poland resistant to benzimidazole fungicides. The incidence of the resistant forms increases with the more intensive use of these fungicides. The resistance of *Botrytis cinerea* to benzimidazole compounds is a cross-resistance involving the whole group of these agents, notwithstanding which of them was applied. The resistance acquired by the fungus does not change its reaction to other prophylactic fungicides.

WSTĘP

Wśród fungicydów systemicznych największe zastosowanie w ochronie roślin znalazły związki z grupy pochodnych benzimidazolu. Fungicydy te zaczęto powszechnie stosować w latach 1969-1971. Jednak już w kilka lat od zastosowania tych środków stwierdzano coraz częstsze przypadki uodpornienia się na nie grzybów.

W Polsce największe ilości benzimidazoli stosowano do ochrony jabłoni przed parchem jabłoni (*Venturia inaequalis*) oraz do ochrony truskawek i malin przed szarą pleśnią (*Botrytis cinerea*). Sporadyczne przypadki odporności grzyba *Botrytis cinerea* na metylotiofanat (Topsin M) i benomyl (Benlate) zaobserwowano w latach 1970-1973, a odporność grzyba *Venturia inaequalis* na fungicydy benzimidazolowe stwierdzono w 1975 roku.

Celem pracy było udokumentowanie zjawiska odporności grzyba *Botrytis cinerea* na fungicydy benzimidazolowe i stwierdzenie zakresu tej odporności w kraju.

PRZEGLĄD LITERATURY

Najwięcej przypadków uodpornienia się grzybów na fungicydy dotyczy związków benzimidazolowych. O powszechności tego zjawiska może świadczyć podana przez Fehrman (1976) lista grzybów, które uodporniły się do tej pory na fungicydy systemiczne. Autor ten wymienia 54 gatunki grzybów w różnych krajach i rejonach. Około 90% tych przypadków odnosi się do fungicydów benzimidazolowych, tylko nieliczne do pochodnych anilidu (karboksyny i oksykarboksyny), bardzo nieliczne do związków pirymidynowych i tylko dwa do triforiny.

Pierwszy przypadek odporności na benomyl stwierdzili Schroeder i Providenti w 1969 roku w USA. Odporność tę wykazał grzyb *Sphaeroteca fuliginea* powodujący mączniaka ogórka. Potwierdzili to później Dekker (1972) i inni badacze. Od tej pory stwierdzono wiele dalszych przypadków uodpornienia się grzybów na fungicydy benzimidazolowe. Wśród ważnych gospodarczo grzybów pasożytniczych znalazły się m. in.: *Erysiphe graminis* (Vargas 1973), *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Leski 1977), *Penicillium* sp. (Arseniuk 1976), *Venturia inaequalis* (Wicks 1974; Nowacka 1976), *Verticillium dahliae* (Locke, Thorpe 1976), *Cercospora beticola*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, *Venturia pirina* i inne (Fehrman 1976).

Liczba doniesień o występowaniu odporności grzyba *Botrytis cinerea* jest szczególnie duża. Pierwszy przypadek odporności *Botrytis cinerea* na benomyl stwierdzili w 1971 roku Bollen i Scholten. Wyizolowali oni odporną rasę grzyba z cyklamenów chronionych benomylem. W 1973 roku Jarvis i Hargreaves znaleźli odporne rasy *Botrytis cinerea* na truskawkach i malinach opryskiwanych benomylem. Gjaerum (1975) stwierdził, że odporne rasy grzyba pojawiły się już po trzech opryskiwaniach benomylem truskawek w jednym sezonie. Ponieważ *Botrytis cinerea* jest gatunkiem polifagicznym, znajdowano szczepy odporne na różnych roślinach uprawnych, a między innymi na pomidorach i sałacie (Müller, Fletcher 1974; Fletcher, Scholefield 1976) na różnych (Jarvis, Slingsby 1975), na winorośli: (Fehrman 1976; Holz 1975) i innych roślinach. Badania laboratoryjne wyizolowanych szczepów wykazywały w większości przypadków zjawisko odporności krzyżowej tych szczepów do całej grupy związków benzimidazolowych.

Szybkie uodpornienie się gatunku *Botrytis cinerea* na pochodne benzimidazolu związane jest z jednej strony z właściwościami tych środków, a z drugiej strony z cechami grzyba. Fungicydy benzimidazolowe charak-

teryzują się długotrwałością działania i wysokim stopniem selektywności. Fungicydy te wywierają dużą presję selekcyjną na populację patogena, stymulując rozwój odpornych ras grzyba. Z drugiej strony grzyb *Botrytis cinerea* jest gatunkiem powszechnie występującym, a także bardzo zmiennym, wytwarzającym wiele form przystosowujących się do różnych gospodarzy, czy też różnie reagujących na fungicydy. Tę dużą zmienność gatunku tłumaczy się powszechnym występowaniem form heterokaryotycznych. Zarodniki konidialne *Botrytis cinerea* mogą zawierać kilka różnych genetycznie jąder. W miarę wzrostu strzępki grzybni następuje segregacja jąder i może się zdarzyć, że z tego samego zarodnika wyrosną fragmenty kultur o różnym stopniu odporności.

Zjawisko uodporniania się grzybów na fungicydy wiąże się z mechanizmem działania grzybobójczego fungicydu, a dokładniej ze stopniem specyficzności procesów fizjologicznych, których przebieg jest zakłócany przez fungicyd. Im bardziej specyficzny proces fizjologiczny, na który działa fungicyd, tym większe prawdopodobieństwo powstania formy odpornej. Najczęściej występującym mechanizmem działania fungicydów zapobiegawczych jest zakłócenie procesów energetycznych. Fungicydy łączą się z enzymami biorącymi udział w tych procesach, blokując ich działanie. Związki takie działają na wiele elementów procesów energetycznych i aby wytworzyła się odporność, musi zmutować wiele genów, co zmniejsza prawdopodobieństwo powstania formy odpornej.

Inaczej działają fungicydy z grupy pochodnych benzimidazolu. Przypuszcza się, że blokują one proces mitotycznego podziału jądra, nie dopuszczając do cytokinezy (Hammerschlag i Sisler 1973). Według Davidse (1975) działanie MBC, tj. estru metylowego kwasu benzimidazolo-karbaminowego, jest bardzo podobne do zaburzeń mitozy spowodowanych przez kolchicynę w komórkach roślin wyższych i ssaków. Zarówno kolchicina, jak i MBC, są „trucznymi wrzecionami mitotycznego”. Działanie MBC, który jest metabolitem większości fungicydów benzimidazolowych, polega na łączeniu się z mikrotubulami komórkowymi i niedopuszczeniu do utworzenia wrzeciona podziałowego oraz odciągnięcia podzielonych chromosomów ku biegunom jądra. Im większe powinowactwo MBC do białka, z jakiego zbudowane są mikrotubule, tym większa wrażliwość grzyba na MBC. Proces podziału mitotycznego jest procesem specyficznym dla danego gatunku. Zmiany w tym procesie mogą być następstwem mutacji pojedynczych genów, przez to prawdopodobieństwo powstania formy odpornej na fungicyd jest znacznie większe.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Opisane badania składają się z trzech części, omawianych oddzielnie.

I. Wstępne ustalenie stopnia odporności wybranych izolatów
Botrytis cinerea Pers. na fungicydy benzimidazolowe

Materiały i metodyka

Celem przeprowadzonych obserwacji było ustalenie reakcji wybranych izolatów *Botrytis cinerea* na fungicydy benzimidazolowe.

Izolaty grzyba pochodziły z obiektów, w których stwierdzono spadek skuteczności fungicydów benzimidazolowych oraz z obiektów, w których nie stosowano fungicydów. Izolat R_1 (R — resistant — odporny) pochodził z plantacji malin w Sadowniczym Zakładzie Doświadczalnym w Lipowej koło Opatowa Świętokrzyskiego. Na plantacji tej w latach 1973–1975 prowadzono doświadczenia mające na celu ocenę fungicydów. Izolat R_1 uzyskano z kwatery chronionej intensywnie Topsinem M, zawierającym 70% metylotiofanatu. Wykonywano pięć opryskiwań przed zbiorem i dwa po zbiorze. Izolat R_2 pochodził z róży uprawianej w szklarni w Starej Iwicznej. Róże chroniono Benlatem, zawierającym 50% benomylu. Po dwóch latach stwierdzono spadek skuteczności tego środka w ochronie róż przed szarą pleśnią. Izolaty S_1 i S_2 (S — sensitive — wrażliwy) pochodziły z plantacji malin Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach, z poletek kontrolnych, na których nie stosowano fungicydów.

Izolaty grzyba hodowano na pożywce agarowo-ziemniaczanej o składzie: 2% agaru, 3% glukozy, wywar z 200 g ziemniaków na 1 l pożywki. Izolaty testowano w laboratorium metodą zatruwania podłoża. Do pożywki dodawano formy użytkowe fungicydów. Dawkę tych środków określano w częściach na milion (ppm) w pożywce, w przeliczeniu na czynny składnik fungicydu. Ponieważ fungicydy benzimidazolowe nie ulegają rozkładowi pod wpływem temperatury, dodawano je do pożywki przed sterylizacją w autoklawie. Następnie zatrutą fungicydem pożywkę rozlewano do szalek Petriego o średnicy 50 mm. Z czystych kultur przenoszono fragmenty grzybni, sklerocja lub zarodniki konidialne na pożywkę o różnym stężeniu fungicydu oraz na pożywkę bez fungicydu, która stanowiła kombinację kontrolną. Każde stężenie powtarzane było czterokrotnie. Badano reakcję wybranych izolatów grzyba *Botrytis cinerea* na następujące fungicydy benzimidazolowe: karbendazym (MBC), benomyl, metylotiofanat, fuberidazol, tiabendazol, aminotiofanat.

Szalki z zaszczepionymi fragmentami grzyba umieszczano w cieplarni, w temperaturze około 20°C. Miara grzybobójczej aktywności fungicy-

du było zahamowanie rozwoju grzybnii na pożywce z fungicydem wyrażone w wartości z ED_{50} (effective dose) w ppm. ED_{50} jest to taka dawka fungicydu w ppm, przy której wzrost grzyba jest zahamowany w 50%. Na podstawie wartości ED_{50} można też sklasyfikować reakcję grzybów na fungicydy. Według Bollen a i Fuchsa (1970) klasyfikacja ta jest następująca:

- $ED_{50} > 100$ ppm — grzyby odporne,
- ED_{50} 10-100 ppm — grzyby tolerancyjne,
- ED_{50} 1-10 ppm — grzyby wrażliwe,
- $ED_{50} < 1$ ppm — grzyby bardzo wrażliwe.

Aby zaklasyfikować wybrane izolaty do którejś z tych grup, stosowano trzy dawki fungicydów: 1, 10 i 100 ppm. Oceny zahamowania wzrostu grzybnii dokonywano po 3-5 dniach, gdy średnica grzybnii w kombinacji kontrolnej wynosiła 50 mm.

Wyniki

Wyniki obserwacji podano w tabelach 1 i 2. Przeprowadzone badanie wykazało, że izolaty R_1 i R_2 należały do grzybów bardzo odpornych na wszystkie fungicydy benzimidazolowe. Ponieważ dobrze rosły na pożywce zawierającej 100 ppm badanych fungicydów, zastosowano dwie

Tabela 1—Table 1

Wzrost grzybnii izolatów odpornych (R) grzyba *Botrytis cinerea* na pożywce agarowo-ziemniaczanej zatrutej fungicydami benzimidazolowymi
Influence of benzimidazole fungicides on the growth of resistant isolates of *Botrytis cinerea* on PDA medium

Fungicyd Fungicide	Izolat Isolate	Średnica kultury w mm na pożywce zawierającej fungicydy w stężeniu: Diameter of culture in mm on the medium containing fungicides				
		1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm	10 000 ppm
Karbendazym	R_1	48	48	43	38	22
	R_2	46	41	34	30	27
Benomyl	R_1	45	44	40	22	0
	R_2	50	40	32	17	0
Metylotiofanat	R_1	48	48	45	40	24
	R_2	50	50	44	37	24
Aminotiofanat	R_1	49	46	39	22	0
	R_2	46	43	39	17	0
Fuberidazol	R_1	50	48	20	14	0
	R_2	47	46	31	18	0
Tiabendazol	R_1	50	48	18	10	0
	R_2	50	46	26	12	0

Tabela 2—Table 2

Wzrost grzybni izolatów wrażliwych (S) grzyba *Botrytis cinerea* na pożywce agarowo-ziemniaczanej zatrutej fungicydami benzimidazolowymi
Influence of benzimidazole fungicides on the growth of sensitive isolates *Botrytis cinerea* on PDA medium

Fungicyd Fungicide	Izolat Isolate	Średnica kultury w mm na pożywce zawierającej fungicydy w stężeniu: Diameter of culture in mm on the medium containing fungicides:		
		1 ppm	10 ppm	100 ppm
Karbendazym	S ₁	0	0	0
	S ₂	0	0	0
Benomyl	S ₁	0	0	0
	S ₂	0	0	0
Metylotiofanat	S ₁	0	0	0
	S ₂	0	0	0
Aminotiofanat	S ₁	0	0	0
	S ₂	0	0	0
Fuberidazol	S ₁	0	0	0
	S ₂	10	0	0
Tiabendazol	S ₁	0	0	0
	S ₂	11	0	0

dodatkowe dawki 1000 i 10 000 ppm. Izolaty R₁ i R₂ rosły na pożywce zawierającej nawet 10 000 ppm karbendazymu i metylotiofanatu. Natomiast wzrost grzybni izolatów S₁ i S₂ był zahamowany już dawką 1 ppm fungicydu benzimidazolowego w pożywce. Tylko grzybnia izolatu S₂ wykazywała nieznaczny wzrost przy zawartości w pożywce 1 ppm fuberidazolu i tiabendazolu.

II. Wrażliwość wybranych izolatów *Botrytis cinerea* Pers. na inne związki grzybobójcze

Materiał i metodyka

Celem tej części pracy było stwierdzenie, w jaki sposób izolaty *Botrytis cinerea* odporne bądź wrażliwe na związki benzimidazolu reagują na inne fungicydy.

Do badań wybrano dziesięć izolatów *Botrytis cinerea*: pięć odpornych — R₁, R₂, R₃, R₄ i R₅ oraz pięć wrażliwych — S₁, S₂, S₃, S₄ i S₅ na fungicydy benzimidazolowe. Dla zilustrowania stopnia odporności tych izolatów na benzimidazole, do badań włączono również benomyl. Izolaty odporne pochodziły z plantacji malin z Sadowniczego Zakładu Do-

Fot. 1. Wzrost grzybni odpornego izolatu grzyba *Botrytis cinerea* na pożywce agaro-ziemniaczanej zatrutej różnymi fungicydami

nr 1-3 — MBC, nr 4-6 — tiabendazol, nr 10-12 — chlorek fenylortęciowy, nr 13 — bez fungicydu. Dawki fungicydów: 1, 10 i 100 ppm

Phot. 1. Growth of mycelium of resistant *Botrytis cinerea* isolate on potato-agar medium poisoned with various fungicides

Nos 1-3 — MBC, Nos 4-6 — tiabendazol, Nos 10-12 — phenylmercuric chloride, Nos 13 — no fungicide. Doses of fungicide 1, 10 and 100 ppm

świadczalnego w Lipowej. Wrażliwe izolaty *Botrytis cinerea*, S_1 i S_2 , pochodziły z plantacji truskawek z okolic Łomży. Uzyskano je w lipcu 1977 roku. Na plantacji tej nigdy nie stosowano benzimidazolowych środków grzybobójczych. Opryskiwano ją jedynie w 1977 roku dwukrotnie dichlofluanidem (Euparen). Pozostałe wrażliwe izolaty *Botrytis cinerea*, S_3 , S_4 i S_5 , uzyskano z plantacji malin z Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach w lutym 1977 roku.

Testowanie izolatów przeprowadzono metodą zatruwania podłoża. Sposób postępowania był taki sam, jak omówiono w poprzedniej części, z tą jednak różnicą, że fungicydy zapobiegawcze dodawano do pożywki po sterylizacji. Do badań włączono najważniejsze fungicydy stosowane w zwalczaniu szarej pleśni: benomyl (Benlate), glikofen (Rovral), winchlozolina (Ronilan), dicyklidyna (Sumilex) i tiuram (Sadoplone). Ponadto do badań włączono fungicydy reprezentujące różne grupy związków chemicznych: kaptan (Kaptan 50), triadimefon (Bayleton), mankozeb (Dithane M-45) i chlorek fenylortęciowy (Mercutal).

Tabela 3 — Table 3

Wzrost grzybní odpornych i wrażliwych izolatów grzyba *Botrytis cinerea* na pożywce agarowo-ziemniaczanej zatrutej różnymi fungicydami

Influence of different fungicides on the growth resistant and sensitive isolates of *Botrytis cinerea* on PDA medium

Fungicyd Fungicide	Izolaty odporne Resistant isolates	Średnica kultury w mm na pożywce zawierającej fun- gicydy w stężeniu: Diameter of culture in mm on the medium containing fungicides:			Izolaty wrażliwe Sensitive isolates	Średnica kultury w mm na pożywce zawierającej fun- gicydy w stężeniu: Diameter of culture in mm on the medium containing fugicides:			
		1 ppm	10 ppm	100 ppm		1 ppm	10 ppm	100 ppm	
		1	2	3		4	5	6	7
Benomyl	R ₁	35	30	30	S ₁	25	5	0	
	R ₂	50	50	30	S ₂	25	10	0	
	R ₃	40	40	40	S ₃	25	5	0	
	R ₄	50	50	50	S ₄	25	5	0	
	R ₅	35	30	30	S ₅	25	5	0	
Kaptan	R ₁	50	50	40	S ₁	50	50	50	
	R ₂	40	35	20	S ₂	50	50	20	
	R ₃	50	40	35	S ₃	50	50	40	
	R ₄	50	50	40	S ₄	50	50	40	
	R ₅	10	10	10	S ₅	50	50	50	
Mankozeb	R ₁	40	40	40	S ₁	50	50	40	
	R ₂	30	30	30	S ₂	50	50	50	
	R ₃	50	50	50	S ₃	50	50	50	
	R ₄	50	50	50	S ₄	50	50	50	
	R ₅	50	50	50	S ₅	50	50	50	
Triadimefon	R ₁	50	50	40	S ₁	50	50	40	
	R ₂	50	45	35	S ₂	50	45	35	
	R ₃	50	50	45	S ₃	50	50	40	
	R ₄	50	50	45	S ₄	50	50	45	
	R ₅	50	50	50	S ₅	50	45	35	
Chlorek fenylo-rtęciowy	R ₁	30	15	0	S ₁	10	5	0	
	R ₂	25	10	0	S ₂	10	5	0	
	R ₃	30	15	5	S ₃	5	0	0	
	R ₄	30	10	0	S ₄	10	5	0	
	R ₅	25	10	0	S ₅	30	5	0	
Dichlofluanid	R ₁	50	5	0	S ₁	45	20	5	
	R ₂	15	0	0	S ₂	30	15	0	
	R ₃	30	30	5	S ₃	50	30	0	
	R ₄	50	10	5	S ₄	50	40	5	
	R ₅	40	20	0	S ₅	50	45	0	
Glikofen	R ₁	20	20	5	S ₁	30	15	0	
	R ₂	30	15	0	S ₂	20	10	0	
	R ₃	20	10	5	S ₃	20	15	0	

c.d. tab. 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tiuram	R ₄	45	10	5	S ₄	40	20	0
	R ₅	30	15	0	S ₅	40	15	0
	R ₁	50	35	0	S ₁	50	50	0
	R ₂	40	25	0	S ₂	45	20	0
	R ₃	50	35	0	S ₃	50	35	0
	R ₄	50	35	0	S ₄	50	35	0
Dicyklidyna	R ₅	50	35	0	S ₅	50	35	0
	R ₁	10	0	0	S ₁	5	0	0
	R ₂	5	0	0	S ₂	10	0	0
	R ₃	10	0	0	S ₃	10	0	0
	R ₄	10	0	0	S ₄	10	0	0
Winchlozolina	R ₅	10	0	0	S ₅	5	0	0
	R ₁	30	0	0	S ₁	35	0	0
	R ₂	30	0	0	S ₂	30	0	0
	R ₃	35	0	0	S ₃	50	0	0
	R ₄	45	0	0	S ₄	50	0	0
	R ₅	20	0	0	S ₅	30	0	0

Wyniki

Wyniki badań podano w tabeli 3. Uzyskane wyniki wskazują na uodpornienie się grzyba *Botrytis cinerea* tylko na związki benzimidazolowe. Izolaty odporne i wrażliwe na benzimidazole rozwijały się podobnie na pożywkach zawierających inne związki grzybobójcze. Spośród badanych fungicydów wzrost grzybnii wrażliwych i odpornych izolatów *Botrytis cinerea* najbardziej hamowały dicyklidyna i winchlozolina. Wzrost ten był silnie zahamowany już przy zawartości 1 ppm tych środków w pożywce, a 10 ppm hamowało wzrost całkowicie. Takie fungicydy, jak chlorek fenylortęciowy, dichlofluanid, glikofen i tiuram hamowały wzrost grzybnii *Botrytis cinerea* w mniejszym stopniu. Do całkowitego zahamowania wzrostu dochodziło, gdy do pożywki dodano 100 ppm tych fungicydów. Jednakże niektóre z badanych izolatów wrażliwych bądź odpornych na benzimidazole w minimalnym stopniu rosły na pożywce z zawartością 100 ppm chlorku fenylortęciowego, dichlofluanidu i glikofenu. Słabe działanie grzybobójcze w stosunku do grzyba *Botrytis cinerea* wykazały fungicydy: kaptan, mankozeb i triadimefon.

Według skali Bollena i Fuchsa, opisaney w poprzednim rozdziale pracy, dicyklidynę i winchlozolinę należy zaliczyć do substancji silnie grzybobójczych dla *Botrytis cinerea*; chlorek fenylortęciowy, dichlofluanid, glikofen i tiuram — do substancji średnio grzybobójczych, a kaptan, triadimefon i mankozeb — do substancji o słabej toksyczności dla grzyba *Botrytis cinerea*.

III. Występowanie odporności grzyba *Botrytis cinerea* na karbendazym (MBC) na różnych roślinach uprawnych

Materiał i metodyka

Celem trzeciej części pracy było stwierdzenie zakresu odporności grzyba *Botrytis cinerea* na karbendazym na różnych roślinach uprawnych. Grzyb *Botrytis cinerea* izolowano w latach 1975-1977 z różnych roślin niezależnie od tego, czy były one chronione fungicydami benzimi-

Fot. 2. Wzrost grzybni odpornego izolatu *Botrytis cinerea* na pożywce agarowo-ziemniaczanej z różną zawartością karbendazymu

0 — kombinacja kontrolna, 1 — 1000 ppm, 3 — 3000 ppm, 5 — 5000 ppm, 10 — 10,000 ppm

Phot. 2. Growth of mycellium of resistant *Botrytis cinerea* isolate on potato-agar medium with different carbendazime concentration

0 — control combination, 1 — 1000 ppm, 3 — 3000 ppm, 5 — 5000 ppm, 10 — 10,000 ppm

dazolowymi, czy nie. Z pobranych części roślin z objawami szarej pleśni przenoszono fragmenty grzybni, sklerocja lub zarodniki konidialne do szalek Petriego na pożywkę agarowo-ziemniaczaną. Po uzyskaniu czystych kultur sprawdzono ich reakcję na karbendazym. Fungicyd dodawano do pożywki w dawce 1 i 100 ppm.

Wyniki

Wyniki podano w tabeli 4. Zebrano 50 izolatów z różnych grup roślin uprawnych. Pochodziły one z czterech typów obiektów:

- 1 — obiekty, na których nie stosowano ochrony chemicznej,
- 2 — stosowano inne fungicydy,
- 3 — stosowano różne fungicydy, w tym związki benzimidazolowe,
- 4 — stosowano tylko fungicydy benzimidazolowe.

Reakcja zebranych izolatów była różna; 19 izolatów wykazywało wysoki stopień odporności; grzybnia ich dobrze rosła na pożywce zawierającej 100 ppm karbendazymu, a pozostałe 31 izolatów było wrażliwych, ponieważ ich wzrost był zahamowany przy obecności 1 ppm karbendazymu w pożywce. Nie występowały formy pośrednio reagujące na karbendazym. W poszczególnych grupach ilość form odpornych była następująca:

- 1 grupa — 8 izolatów odpornych, co stanowi 30%,
- 2 grupa — 2 izolaty odporne, co stanowi 28%,
- 3 grupa — brak izolatów odpornych,
- 4 grupa — 9 izolatów odpornych, co stanowi 69%.

Uzyskane wyniki wskazują, iż w populacji grzyba *Botrytis cinerea* istnieją rasy naturalnie odporne na środki benzimidazolowe. Przez intensywne stosowanie fungicydów benzimidazolowych doprowadza się w krótkim czasie do dominacji ras odpornych w populacji grzyba. Fungicydy działające zapobiegawczo nie miały wpływu na uodpornienie się grzyba *Botrytis cinerea* na systemiczne fungicydy benzimidazolowe.

WNIOSKI

1. W wyniku obserwacji wykonanych w sezonach 1975-1977 stwierdzono występowanie w Polsce form grzyba *Botrytis cinerea* odpornych na fungicydy benzimidazolowe.

2. W populacji grzyba *Botrytis cinerea* występowały zarówno formy bardzo wrażliwe, nie rozwijające się na podłożu zawierającym 1 ppm MBC, jak i bardzo odporne, rosnące na podłożu zawierającym 1000 ppm MBC.

3. Odporne rasy *Botrytis cinerea* występują zarówno w obiektach chronionych środkami benzimidazolowymi, jak i pozbawionych ochrony chemicznej, z tym że częstotliwość ich występowania wzrasta w miarę intensywności ochrony opartej na związkach benzimidazolowych.

4. Odporność grzyba *Botrytis cinerea* Pers. na benzimidazole jest odpornością krzyżową („cross resistance”), tzn. obejmuje całą grupę fungicydów benzimidazolowych niezależnie od tego, który fungicyd z tej grupy stosowano.

Tabela 4 — Table 4

Wrażliwość 50 izolatów grzyba *Botrytis cinerea* na karbendazym (MBC)
 Susceptibility of isolates of the fungus *Botrytis cinerea* to carbendazim (MBC)

Nr izolaty No. of isolate	Pochodzenie izolatu Provenience of isolate		Program ochrony Treatments	Wzrost grzybnia na PDA w mm Growth of mycelium on PDA in mm	
	roślina plant	miejsce habitat-locality		stężenie MBC concentr. of MBC	
				1 ppm	100 ppm
1	2	3	4	5	6
1	cynia zinnia	uprawa nasienna Zielonka k. Warszawy	nie stosowano	0	0
2	aster odm. 1 (var. 1)	”	”	50	50
3	aster odm. 2 (var. 2)	”	”	0	0
4	aster odm. 3 (var. 3)	”	”	0	0
5	złocien marguerite	szklarnia Zakładu Fitopatologii SGGW	”	50	50
6	<i>Nicotiana glutinosa</i>	”	”	50	50
7	tytoń tabacco	”	”	0	0
8	fasola bean	”	”	0	0
9	cebula onion	uprawa polowa Skierniewice	”	0	0
10	truskawki strawberry	”	”	0	0
11	róża rose	szklarnia Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach	”	50	50
12	wiąz elm	Warszawa, ul. Puławska	”	50	50
13	maliny raspberries	Sad Pomologiczny IS, Skierniewice	”	0	0
14	kukurydza corn	pole Instytutu Warzywnictwa w Skierniewicach	”	0	0

1	2	3	4	5	6
15	truskawki strawberry	szklarnia IS w Skierniewicach	„	0	0
16	poziomki wild strawberry	„	„	0	0
17	maliny raspberries	SZD Swierkianiec	„	50	50
18	maliny	plantacja prywatna Płońsk	„	0	0
19	maliny	SZD Nowa Wieś	nie stosowano	0	0
20	maliny	SZD Miłobądz	„	0	0
21	truskawki	Warszawa—Wawer	„	40	0
22	truskawki	„	„	50	0
23	truskawki	Łomża	„	40	0
24	truskawki	„	„	50	0
25	maliny	SZD Brzezna	„	50	45
26	maliny	SZD Nowa Wieś	„	50	47
27	maliny	Płońsk	„	10	0
28	maliny	Płońsk	„	0	0
29	strelcja	szklarnia IS w Skierniewicach	Kaptan	0	0
30	winorośl grape	Sad Pomologiczny IS Skierniewice	środki karbaminowe i miedziowe	50	50
31	maliny	SZD Lipowa	Sadoplon	0	0
32	maliny	SZD Albigowa	Euparen	50	50
33	maliny	SZD Lipowa	Sadoplon	0	0
34	truskawki	Jedwabne, woj. łomżyńskie	Euparen	30	0
35	truskawki	„	„	50	0
36	poziomki	Sad Pomologiczny IS Skierniewice	Euparen 3× Topsin M 1× Sadoplon 1×	0	0
37	kora jabłoni bark of apple tree	SZD Siołęka	wg programu ochrony	0	0
38	róża	szklarnia, Stara Iwiczna	Benlate	50	40
39	maliny	SZD Lipowa	Topsin M	50	50
40	maliny	SZD Dworek	Topsin M	50	50
41	maliny	matecznik, SZD Lipowa	Topsin M	50	42
42	maliny	„	Benlate	50	50
43	róża	MPRO Warszawa	Topsin M	50	50
44	róża	„	Topsin M	50	50
45	maliny	SZD Wróblowice	Topsin M	50	40

c.d. tab. 4

1	2	3	4	5	6
46	maliny	SZD Wróblowice	Topsin M.	44	0
47	maliny	SZD Nowa Wieś	"	0	0
48	maliny	"	"	50	50
49	tulipany	SHRO Pawłowice	Benlate	0	0
50	maliny	SZD Sinołęka	Topsin M 1X	10	0

5. Rasy grzyba *Botrytis cinerea*, zarówno odporne, jak i wrażliwe na MBC, wykazały dużą wrażliwość na dicyklidynę i winchlozolinę, średnią wrażliwość na chlorek fenylortęciowy, dichlofluanid, glikofen i tiuram oraz bardzo małą wrażliwość na kaptan, mankozeb i triadimefon.

6. W związku z powszechnym występowaniem ras grzyba *Botrytis cinerea* Pers. odpornych na fungicydy benzimidazolowe wskazane jest zaniechanie ich stosowania w zwalczaniu szarej pleśni oraz ograniczenie w ochronie roślin uprawnych, na których choroba ta występuje obok innych pasożytów grzybowych.

SUMMARY

Laboratory and field investigations were carried out in the period 1975-1977 on the resistance of the fungus *Botrytis cinerea* Pers. to benzimidazole fungicides. Forms of this fungus resistant to benzimidazole compounds have been found in Poland. In the population of this fungus there is a wide differentiation as regards susceptibility to carbendazim. Some forms are highly susceptible and some very resistant to this fungicide. The resistant forms of *Botrytis cinerea* occur both on plants protected by benzimidazole fungicides and on unprotected ones. Isolates of the fungus were obtained from various plants as for instance: raspberries, strawberries, tomatoes, roses and chrysanthemums. The incidence of resistant forms increases as the application of these fungicides becomes more common. It was found that the resistance of *Botrytis cinerea* to benzimidazole fungicides is a cross-resistance involving the whole group of these fungicides. The acquired resistance to benzimidazoles did not seem to affect the reaction of *Botrytis cinerea* to other fungicides such as phenylmercuric chloride, dichlofluanid, dicyklidyna, glikofen, kaptan, mankozeb, tiuram, tiadimefon and winchlozolin.

LITERATURA

- Abelenstev V. I., 1973. Adaptation of some phytopathogenic fungi to benomyl. *Khimiya v Sel'skom Khozyaistve* 11: 32-36.
- Arseniuk E., 1976. Odporność grzybów na benzimidazolowe fungicydy systemiczne. *Biul. IOR* (w druku).
- Bartels-Schooley J., Mac Neill B. H., 1971. A comparison of the modes of action of three benzimidazoles. *Phytopath.* 61: 816-819.

- Berger R. D., 1973. Disease progress of *Cercospora appii* resistant to benomyl. Plant Dis. Repr. 57: 837-840.
- Bollen G. J., Fuchs A., 1970. On the specificity of the in vitro and in vivo antifungal activity of benomyl. Neth. J. Pl. Path. 76: 299-312.
- Bollen G. J., Scholten G., 1971. Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen. Neth. J. Path. 77: 83-90.
- Davidse L. C., 1975. Antimitotic activity of methyl benzimidazol-2-yl carbamate (MBC) in fungi and its binding to cellular protein. I: Microtubules and microtubule inhibitors, eds. M. Borgers and M. de Brabander. North. Holland Publ. Co., Amsterdam.
- Dekker J., 1973. Selectivity of and resistance against systemic fungicides. EPPO-Conf. Prosp. and of Systemic Fung. 10: 47-57.
- Fehrman H., 1976. Systemische Fungicide — ein Überblick. Fungizidresistenz phytopathogener Pilze. Phytopath. Zeitschrift 86(2): 144-185.
- Fletcher J. T., Scholefield S. M., 1976. Benomyl tolerance in isolated of *Botrytis cinerea* from tomato plants. Ann. Appl. Biol. 82: 529-536.
- Gessler C., 1976. Über den Mechanismus der Resistenz von Pilzen gegenüber benomyl. Phytopath. Z. 85: 35-38.
- Gjaerum H. B., 1975. Benomyl-resistens i graskimmel på jordbaer. Stalens plantevern. Botanisk avdeling 65: 37.
- Hammerschlag, R. S., and H. D. Sisler, 1973. Benomyl and methyl-2-benzimidazolecarbamate (MBC): biochemical, cytological and chemical aspects of toxicity to *Ustilago maydis* and *Saccharomyces cerevisiae*. Pestic. Biochem. Physiol. 3: 42-54.
- Hastie A. C., Georgopoulos S. G., 1971. Mutational resistance to fungitoxic benzimidazole derivatives in *Aspergillus nidulans*. J. Gen. Microbiol. 67: 371-373.
- Holz B., 1975. Resistenz gegen systemische Fungizide bei *Botrytis cinerea* an Mosel und Saar. Weinberg und Keller 22: 373-380.
- Jarvis W. R., Hargreaves A. J., 1973. Tolerance to benomyl in *Botrytis cinerea* and *Penicillium corymbiferum*. Plant Path. 22: 139-141.
- Jarvis W. R., Slingsby K., 1975. Tolerance of *Botrytis cinerea* and rose powdery mildew to benomyl. Canad. Plant Dis. Surv. 55: 44.
- Leski B., 1977. Występowanie i charakterystyka form *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill et Del.) Snyder et Hansen odpornych na fungicydy systemiczne. Acta agrobot. (w druku).
- Locke T., Thorpe I. G., 1976. Benomyl tolerance in *Verticillium dahliae*. Plant Path. 25: 59.
- Miller M. W., Fletcher J. T., 1974. Benomyl tolerance in *Botrytis cinerea* isolates from glasshouse crops. Transactions of the British Mycological Society 62: 99-103.
- Nowacka H. 1976. Odporność na fungicydy grzybów powodujących choroby roślin. Ogrodnictwo 6/1976.
- Nowacka H., 1976. Skutki nadużywania fungicydów benzimidazolowych w ochronie sadów. Co nowego w sadownictwie II/1976.
- Schroeder W. T., Providenti R., 1969. Resistance to benomyl in powdery mildew of cucurbits. Plant Dis. Repr. 53: 271-275.
- Sijpesteijn K., 1970. Biochemical modes of action of agricultural fungicides. World Rev. Pest Control 9: 85-93.

- Thanassouloupoulos C. C., Giannopolitis C. N., Kitsos G. T., 1971. Evaluation of sensitiveness and development of resistance of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* to benomyl. *Phytopath. Z.* 70: 114-120.
- Valaskova E., 1973. Rezistence nekterych druhu rodu *Fusarium* vuci benlatu. *Ochrana Rostlin* 9: 133-140.
- Van Tuyl J. M., 1975. Genetic aspects of acquired resistance to benomyl and thiabendazole in a number of fungi. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, 40: 691-697.
- Vargas J. M., 1973. A benzimidazole resistant strain of *Erysiphe graminis*. *Phytopath.* 63: 1366-1368.
- Wicks T., 1974. Tolerance of apple scab fungus to benzimidazole fungicide. *Plant Dis. Reprtr.* 58: 886-889.