

UDK 632.48:582.28:632.025.8:634.8.05(497.13)=862

## REZISTENTNOST GLJIVE *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr NA DIKARBOKSIMIDE U HRVATSKOJ\*

Bogdan Cvjetković, Snježana Bakan  
Agronomski fakultet  
Zavod za fitopatologiju  
Zagreb - Croatia

### IZVLEČEK

#### ODPORNOST GLJIVE *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. NA DIKARBOKSIMIDE NA HRVAŠKEM

V vinogradih Hrvatske so l. 1991 dokazali odpornost gljive *Botrytis cinerea* na dikarboksimide. V naslednjih letih so opazili, da je porasla zastopanost odpornih sevov. Po 4 tretiranjih s fungicidi iz drugih skupin (*Trichoderma harzianum*, diklofluamid, dietofenkarb, tebukonazol + diklofluamid) se je zmanjšala pogostnost odpornih sevov.

Ključne besede: *Botrytis cinerea*, dikarboksimidi, odpornost

### IZVOD

U vinogradima Hrvatske dokazana je rezistentnost gljive *Botrytis cinerea* na dikarboksimide u 1991. godini. Sljedećih godina primjećeno je, da je učestalost rezistentnih sojeva porasla. Nakon 4 provedena tretiranja fungicidima iz drugih skupina (*Trichoderma harzianum*, diklofluamid, dietofenkarb, tebukonazol + diklofluamid), učestalost rezistentnih sojeva je smanjena.

Ključne riječi: *Botrytis cinerea*, dikarboksimidi, rezistentnost.

---

\* Rad je financiran od Ministarstva znanosti, tehnologije i informatike R. Hrvatske.

## ABSTRACT

THE RESISTANCE OF *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.  
TO DICARBOXIMIDES IN CROATIA

During the last few years the reduction of efficacy of dicarboximides on *B. cinerea* has been observed in Croatian vineyards. The authors have tested the presence of resistant strains using various methods. The colorimetric method (using brom cresol) proved to be the most acceptable for quick determination of resistant strains.

Analysis of samples from various vineyards in Croatia have shown that the percentage of resistancy was 30-40 % in 1990, 0-30% in 1991, and 0-65% in 1992.

Exact trials proved that after 4 treatments with the following fungicides (*Trichoderma harzianum*, diclofluanid, dietofencarb and tebuconazol + diclofluanid) the number of resistant strains was reduced compared to untreated plots and plots treated with dicarboximides.

Key words: *Botrytis cinerea*, dicarboximids, resistance.

## UVOD

Živi organizam posjeduje obilježje da se prilagođava promjenama životne sredine i na taj način produžava svoju vrstu. To je ilustracija evolucije života na Zemlji. Svima su nam poznati slučajevi rezistentnosti bakterije na antibiotike koji su korišteni u medicini ili veterini. Već davno primjećena je rezistentnost kod grinja i insekata na sredstva za zaštitu bilja. Kod fitopatogenih gljiva, taj fenomen javio se relativno kasno. Gotovo da možemo reći, da se rezistentnost patogenih gljiva javila kao praktična poteškoća u zaštiti bilja nakon uvođenja sistemskih fungicida, premda su i ranije registrirani pojedini slučajevi rezistentnosti na nesistemične fungicide. (Georgopoulos & Zaratovitis, 1967). Uočivši pad efikasnosti pojedinih fungicida, dokazali smo prisustvo rezistentnosti gljive *Cercospora beticola* na BMC fungicide (Cvjetković i sur., 1988), a posljednih godina i kod gljive *Uncinula necator* na jedan triazol (Cvjetković i Isaković, 1992). U Sloveniji o toj problematici također postoje podaci (Maček 1981, 1985).

Uvođenje u praksu skupine dikarboksimida za suzbijanje sive plijesni (*B. cinerea*), omogućilo je efikasnije suzbijanje ove bolesti, posebno na vinovoj lozi. Međutim, postepeno iz godine u godinu se zapažala sve slabija efikasnost fungicida iz ove skupine. To je bio razlog da u praksi provjerimo da li je došlo do pojave rezistentnosti.

## MATERIJAL I METODE

U 1991. i 1992. godini, kao polazni materijal, koristili smo zaražene grozdove vino-ve loze iz nekih vinogorja Hrvatske. Iz tih grozdova, izolirali smo gljivu *Botrytis cinerea*. Te izolate smo koristili za daljnje pokuse, sa ciljem da utvrdimo da li je rezistentnost prisutna. Pritom smo provjerili tri metode:

- 1.) antibiograma (Ericsson, 1954);
- 2.) metoda mjerenja dužine micelija (Laroux & Besselat, 1984);
- 3.) kolorimetrijska.

Kolorimetrijska metoda bazira se na poznatoj činjenici, da bromkrezol mijenja boju kod pH vrijednosti od 5.2 do 6.8. Kod pH 5.7 ima boju crvenog vina, kod pH 6.8 postaje ljubičast, a kod 5.2 svijetlo žut.

U agar s bromkrezolom, dodan je jedan od dikarboksimida (vinklozolin 15 ug/ml ili iprodion 40 ug/ml), (Laroux & Besselat. 1984 ).

U 1992. godini, proveli smo pokuse, sa željom da provjerimo efikasnost pojedinih botriticida. U pokusu su bile ove aktivne tvari (tablica 1.).

Sa parcela tretiranih pojedinim fungicidom pobrali smo zaražene grozdove koje smo donijeli u laboratorij. Sa zaraženih grozdova uzimali smo spore i nanosili ih na supstrat koji je sadržavao jedan od dikarboksimida.

Kolorimetrijska metoda pokazala nam se najprihvatljivija, pa smo je u 1992. godini i koristili.

Tablica 1. Fungicidi u pokusima                      Fungicides in trials

Aktivna tvar Active ingredient	Trgovački naziv Comercial name	Konc. % Conc. %	Broj tretiranja No. of treatments
Iprodion	Rovral		4
Vinklozolin	Ronilan	0.1	4
Diklofluamid	Euparen	0.4	4
<i>Trichoderma</i>	Trichodex WP	0.4	4
Dietofenkarb	Powmyl 25	0.2	4
Tebukonazol + Diklofluamid	Folicur E	0.25	4

## REZULTATI

Uzimajući nasumce uzorke zaraženih grozdova u jesen iz raznih vinogorja u Hrvatskoj, konstatirali smo da je postotak rezistentnosti bio različit u pojedinim godinama.

Rezultati su vidljivi u tablici 2.

Tablica 2. Postotak rezistentnosti na dikarboksimide u nekim vinogorjima Hrvatske

Table 2. The percentage of resistance to dicarboximides in some Croatian vineyards.

Godina Year	% Rezistentnosti % Of Resistance
1990.	30 - 45
1991.	0 - 33
1992.	0 - 65

Tablica 3. Lokacija I - Rezistentnost gljive *B. cinerea* na dikarboksimide. Analiza nakon tretiranja

Table 3. Resistance of *B. cinerea* to dicarboximides. Analysis after treatment

Skupina (aktivna tvar) Active ingredient	Broj tretiranja No. of treatments	% rezistentnosti % of Resistance
Dikarboksimid	4	40
Diklofluamid	4	5
<i>Trichoderma</i>	4	10
Dietofenkarb (S-32 165)	4	0
Tebukonazol + Diklofluamid	4	10
Kontrola	0	25

Tablica 4. Lokacija II - Rezistentnost gljive *B. cinerea* na dikarboksimide. Analiza nakon tretiranjaTable 4. Resistance of *B. cinerea* to dicarboximides. Analysis after treatment

Skupina (aktivna tvar) Active ingredient	Broj tretiranja No. of treatments	% rezistentnosti % of resistance
Dikarboksimid	4	65
Dietofenkarb	4	0
<i>Trichoderma</i>	4	0
Tebukonazol + Diklofluanid	4	15
Kontrola	0	50

Iz rezultata na tablici 1. vidimo da je najveći broj rezistentnih jedinki registriran na parcelama tretiranim s dikarboksimidima, a zatim na netretiranim parcelama. Pritom je dietofenkarb potpuno anulirao rezistentnu populaciju, dok su diklofluanid, *Trichoderma harzianum* i tebukonazol smanjili populaciju rezistentnih jedinki.

Sličnu sliku vidimo i na drugoj lokaciji. I ovdje su dietofenkarb i *Trichoderma* značajno smanjili rezistentnu populaciju, dok je i kombinacija tebukonazol + diklofluanid također utjecala na prisustvo rezistentnih jedinki. Moramo naglasiti, da je na ovoj lokaciji zaraza s gljivom *B. cinerea* bila izrazito niska.

### DISKUSIJA

Rezistentnost gljive *B. cinerea* na dikarboksimide u vinogradarstvu, dokazana je u mnogim vinogradarskim zemljama. Tako je rezistentnost dokazana u Njemačkoj (Holz, 1979), u Italiji (Gulino & Garibaldi, 1979), Švicarskoj (Schuepp i Küng, 1978), a 1982. godine u Francuskoj (Leroux 1984). U Hrvatskoj su istraživanja počela tek 1990. godine, kada smo i ustanovili da je rezistentnost prisutna. Uzimajući uzorke nasumice iz nekoliko vinogorja, ustanovili smo, da je učestalost rezistentnih sojeva iz godine u godinu sve veća. Takva zapažanja su imali i drugi autori (Locher i sur., 1985), iz čijih se podataka vidi da je u

Njemačkoj učestalost rezistentnih jedinki u 1981 iznosila 60-80 % . Slični podaci navode se i za Francusku (Staub, 1991), gdje je prikazana sukcesija promjene rezistentnosti u periodu od 1980.- 1990. godine. Od 1981. godine, kada je postotak rezistentnosti iznosio oko 90 %. Antirezistentnim programima zaštite, postotak je sveden na 20 % u 1989 godini, prvenstveno primjenom Silbosa (vinklozolin + TMTD) i dietofenkarba.

I naši rezultati ukazuju da primjena fungicida iz drugih aktivnih skupina može reducirati učestalost rezistentnosti.

### ZAKLJUČAK

Na bazi rezultata iz 1990.-1992., mogu se donijeti slijedeći zaključci:

1. U 1990. godini prvi put ustanovljena je rezistentnost gljive *B. cinerea* na dikarboksimide u vinogradima Hrvatske
2. U 1991. i 1992. također je konstatirano prisustvo rezistentnih sojeva.
3. Učestalost rezistentnih jedinki u prvoj godini istraživanja bila je niska, ali je u posljednjoj godini istraživanja značajno porasla.
4. Primjenom botriticida iz drugih skupina (*Trichoderma harzianum*, diklofluanid, kombinacija tebukonazol + diklofluanid), smanjen je postotak rezistentnih jedinki.

### LITERATURA

Cvjetković B., Isaković Lj., Matijević D. (1988): Efikasnost nekih fungicida u suzbijanju pjegavosti lišća šećerne repe (*Cercospora beticola*).- Jug. savjetovanje o primjeni pesticida Opatija 23.-26. XI 1987. Sv. 9, 81 - 89

Cvjetković B., Isaković Lj. (1992): Efikasnost inhibitora ergosterola u suzbijanju pepelnice (*Uncinula necator* (Schw. Burr) na vinovoj lozi i njena rezistentnost na IBS fungicide.- Polj. znanstvena smotra V 57; br. 141 - 147.

Ericsson, H (1954): The disc method in quantitative determination of sensitivity to antibiotics.- Postgraduate Medical Journal 43, sup 11.

- Georgopoulos S.& G. & Zaracovitis C. (1967): Tolerance of fungi to organic fungicides.- Ann. Rev. Phytopathol. 5, 109-130
- Gulino, M. L. & Garibaldi A.: Osservazioni sperimentali dalla resistenza di isolamenti Italiani di *B. cinerea* a vinklozolin.- La difesa delle piante 6 (1979) 341-350.
- Holz, B. (1979): Über eine Resistenzerscheinung von *B. cinerea* an Reben gegen die neuen Kontakt-Botrytizide im Gebiet der Mittelmosel.- Weinberg u. Keller 26; 18-25.
- Leroux P. & Basselat B. (1984): Pourriture grise: La resistance aux fongicides de *Botrytis cinerea*.- Phytoma VI; 25-31.
- Löcher, F. J., Brandes, W., Lorenz, G., Huber, W., Schiller, R. and B. Schreiber (1985): Development of a strategy to maintain the efficacy of the dicarboximides in the presence of resistant strains of *B. cinerea* in grapes.- Gesunde Pflanzen 37; 3-8.
- Maček, J. (1981): O otpornosti sive plesni iz dolenjskih vinogradov proti sistemičnim fungicidom.- Sod. kmet.: 14 (7/8), 293-294.
- Maček, J.(1985): Otpornost parazitskih gliv proti sistemičnim fungicidom.- Sod.kmet. 18 (2), 83-86.
- Schüepp, H. und Küng, M. (1978): Gegenüber Dicarboximid - Fungiziden tolerante Stämme von *B. cinerea* Pers.- Ber. Schweizer Bot. Ges. 88; 63-71.
- Staub, T. (1991): Fungicide resistance.- Ann. Rev. Phytopathol. 29; 421-442.