

## Aktualne możliwości i perspektywy wykorzystania fungicydów w leśnictwie

### Current possibilities and prospects of using fungicides in forestry

Adam Okorski<sup>1\*</sup>, Agnieszka Pszczółkowska<sup>1</sup>, Tomasz Oszako<sup>2</sup>, Justyna A. Nowakowska<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Diagnostyki i Patofizjologii Roślin, pl. Łódzki 5, 10-727 Olsztyn;  
Instytut Badawczy Leśnictwa, <sup>2</sup>Zakład Ochrony Lasu, <sup>3</sup>Zakład Genetyki i Fizjologii Drzew Leśnych, Sękocin Stary,  
ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn, Polska

\*Tel. +48 89 5233511, e-mail: adam.okorski@uwm.edu.pl

**Abstract.** The possibility of using chemicals in European forestry is extremely limited due to the binding legal regulations and specific conditions concerning the market of plant protection products. This is reflected in the limited availability of active fungicides in forestry. Due to this limitation, practitioners using fungicides in forest nurseries and forest cultivation must have substantial knowledge of the biology of pathogens to ensure satisfactorily effective protection.

The work presented here provides an overview of the currently recommended fungicides in Polish forestry as well as the mechanisms of interaction between the active substances and the pathogen, the plant and mycorrhizal fungi. In this paper we also discuss the risk of fungicide resistance, which has been insufficiently explored in the context of forest pathogens.

**Keywords:** forest protection, forest nurseries, fungicide resistance, fungicides' mode of action

## 1. Wstęp

Integrowana ochrona szkółek leśnych została uprawniona dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/128/WE (art. 14), rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 i rozporządzeniem Komisji (UE) nr 546/2011, dotyczącymi integrowanej ochrony roślin przed szkodnikami, a także ustawą z dnia 8 marca 2013 r. o środkach ochrony roślin (Dz.U. 2013, poz. 455) oraz rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 kwietnia 2013 r. w sprawie wymagań integrowanej ochrony roślin (Dz.U. 2013, poz. 505).

Integrowana ochrona roślin polega na komplementarnym stosowaniu wielu (lub wszystkich) możliwych metod ochrony roślin, a zwłaszcza metod niechemicznych, w sposób minimalizujący zagrożenie dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska. W związku z powyższym, w Ministerstwie Rolnictwa i Rozwoju Wsi opracowano projekt krajowego planu działania na lata 2013–2017 na rzecz ograniczenia ryzyka związanego ze stosowaniem środków ochrony roślin. Niestety, ze względu na wysokie koszty procesów oceny wpływu poszczególnych substancji aktywnych na środowisko (sięgających kilku milionów euro) część producentów zrezygnowała z podjęcia wysiłku rejestracji środków ochrony roślin.

W efekcie liczba preparatów dostępnych na rynku znacząco zmniejszyła się, co spowodowało że obecnie leśnictwo ma do dyspozycji znacznie mniej środków ochrony roślin niż wcześniej. Jak zatem postępować w sytuacji ograniczonego wyboru fungicydów? Niniejszy artykuł przeglądowy zestawia preparaty dopuszczone obecnie do stosowania w leśnictwie, pokazuje mechanizmy ich działania oraz obecną i potencjalną skuteczność wobec różnych grup patogenicznych organizmów, wraz z jednoczesną analizą możliwości występowania odporności grzybów na fungicydy (organizmy występujące w Polsce oraz blisko z nimi spokrewnione).

## 2. Aktualny stan ochrony chemicznej przed chorobami w leśnictwie

Specyfika hodowli szkółkarstwa leśnego sprawia, że ryzyko występowania groźnych dla sadzonek patogenów grzybowych jest bardzo wysokie, jednocześnie ze względu na znikomy wachlarz uprawianych gatunków roślin może dochodzić do nagromadzenia się w glebach czynników chorobotwórczych, natomiast ze względu na ograniczony wybór środków ochrony roślin rekomendowanych do stosowania w szkółkach leśnych zabiegi fungicydowe okazują się często nieskuteczne.

Wpłynęło: 5.12.2013 r., zrecenzowano: 27.03.2014 r., zaakceptowano: 31.07.2014 r.

Obecnie w szkółkarstwie leśnym stosuje się nieliczne substancje aktywne o charakterze grzybobójczym (tab. 1), co stanowi ogromne wyzwanie zarówno dla praktyków, jak i badaczy, których zadaniem jest optymalizacja ochrony roślin. Sytuacja ta związana jest bezpośrednio z polityką firm chemicznych, dla których wysokie koszty rejestracji preparatów fungicydowych, które potencjalnie mogą być stosowane jedynie w uprawach o niewielkim areale (a do takich należy produkcja szkółkarska), stanowią barierę blokującą wprowadzanie nowoczesnych preparatów fungicydowych. Z tego względu w produkcji szkółkarskiej stosuje się najczęściej zabiegi fungicydowe z wykorzystaniem zaledwie kilku substancji aktywnych, będących w użyciu od wielu lat. Ponadto powtarzanie zabiegów na tych samych kwaterach szkółek leśnych z wykorzystaniem substancji czynnych z tej samej grupy lub o identycznym mechanizmie oddziaływania na komórki grzybów selekcjonuje rasy patogenów odporne na działanie preparatów. W tej sytuacji organizmy patogeniczne dla roślin mogą unieвозмоwić intensyfikację produkcji szkółkarskiej w leśnictwie.

Do najważniejszych patogenów występujących w glebach, stanowiących duże zagrożenie dla sadzonek drzew leśnych, należą przede wszystkim grzyby z rodzajów: *Phytophthora*, *Pythium*, *Fusarium* i *Cylindrocarpon*. Ograniczenie ich rozwoju jest niezwykle trudne ze względu na ich duże zdolności adaptacyjne, obecność różnych form infekcyjnych i przetrwalnikowych oraz szerokie spektrum roślin żywicielskich. Nagromadzenie patogenów w glebie, w sprzyjających warunkach pogodowych, skutkuje masowym zamieraniem sadzonek. W szkółkach oraz uprawach leśnych niekorzystne jest występowanie mączniaka prawdziwego, osutki sosny oraz opadziny modrzewia, które mogą powodować zamieranie młodych sadzonek lub obniżyć wartość materiału sadzeniowego. Dobór substancji aktywnych zwalczających wymienione grzyby jest ograniczony.

### 3. Ditiokarbaminiany

W szkółkarstwie leśnym stosuje się przede wszystkim preparaty zawierające ditiokarbaminiany (tab. 1), oddziałujące na komórki grzyba poprzez zakłócenie różnych procesów metabolicznych, których efektem jest zahamowanie kiełkowania zarodników (Wong, Wilcox 2001).

Mankozeb, należący do ditiokarbaminianów, sam w sobie nie wykazuje działania grzybobójczego, ale może być skuteczny jako pre-fungicyd, gdyż w kontakcie z wodą rozkłada się, uwalniając siarczek bis-izotiocyanianu etylenu (EBIS). Związek ten jest następnie pod wpływem promieniowania UV przekształcany do bis-izotiocyanianu etylenu (EBI). Oba te związki wchodzi w reakcję z grupami sulfhydrylowymi enzymów, co zaburza podstawowe procesy enzymatyczne i prowadzi do śmierci komórek. Przypuszcza się również, że związki te wpływają na sześć różnych procesów biochemicznych zachodzących w cytoplazmie i mitochondriach komórek grzybów (Gulliano et al. 2010).

Mechanizm działania ditiokarbaminianów jest wielopunktowy, co sprawia, że jest on niezwykle korzystny z punktu

widzenia praktyki, ponieważ znacznie redukuje możliwość wystąpienia u grzybów odporności trwałej warunkowanej mutacją pojedynczych genów. W takim wypadku u grzybów może jedynie występować tzw. odporność poligenowa, wywołana mutacjami w kilku genach, która może uruchomić mechanizmy detoksyfikacji substancji aktywnej (Gulliano et al. 2010).

Preparaty należące do tej grupy uzyskały na świecie sukces komercyjny, ze względu na szeroki zakres skuteczności w zwalczaniu wielu grup patogenów (*Ascomycetes*, *Basidiomycetes* oraz *Oomycetes*). Efekt ochronny tej grupy preparatów nie jest jednak doskonały, ponieważ są to substancje kontaktowe, a ich działanie jest doraźne. Ich skuteczność jest jednak wystarczająco wysoka w przypadku, gdy są stosowane zapobiegawczo.

### 4. Amidy kwasu karboksylowego (CAA)

Preparaty należące do grupy CAA (amidy kwasu karboksylowego), do których zalicza się dimetomorf, zostały wprowadzone do użycia na początku lat osiemdziesiątych XX w. Środki te są skuteczne w zwalczaniu *Oomycetes* z rodzin *Peronosporaceae* (takich jak *Plasmopara viticola* i *Bremia lactucea*) oraz *Pythiaceae* (rodzaj *Phytophthora*, lecz nie *Pythium*) (Gisi et al. 2007). Ich działanie polega na zakłóceniu biosyntezy fosfolipidów w komórkach grzyba, co wpływa niekorzystnie na proces tworzenia błony komórkowej. Preparaty te hamują także wszystkie procesy związane z rozmnażaniem grzybów, lecz nie wpływają na rozwój i mobilność zoospor (Wang et al. 2009).

Young i in. (2001), badając aktywność dimetomorfu w warunkach laboratoryjnych, stwierdzili umiarkowaną odporność szczepów *Phytophthora capsici*. W Rosji odporne szczepy *Phytophthora infestans* (gatunku pokrewnego dla najważniejszych patogenów zgorzelowych występujących w Polsce) powstały wskutek częstego powtarzania zabiegów z wykorzystaniem dimetomorfu jako substancji aktywnej (Derevågina et al. 1999). Na stronie internetowej (www.frac.info) organizacji FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) zraszającej badaczy zajmujących się zjawiskiem odporności grzybów na fungicydy z całego świata podano informację, że szczepy *P. infestans* są wrażliwe na preparaty CAA, co jest bardzo istotne dla leśników i szkółkarzy (Moore et al. 2008).

Całkowicie odporny na wszystkie substancje aktywne z grupy CAA okazał się jednak inny gatunek grzyba – *Plasmopara viticola* (Moore et al. 2008). Odporność na CAA zidentyfikowana w warunkach laboratoryjnych u *P. viticola* jest dziedziczona recesywnie (Blum et al. 2010), a w przypadku *Phytophthora capsici* warunkowana przez dwa geny dominujące (Meng et al. 2011).

Najnowsze badania przeprowadzone przez Chen i in. (2012) pozwoliły na zidentyfikowanie w genomie *Phytophthora melonis* mutacji w genie *CesA3* kodującego polipeptyd zbudowany z 1139 aminokwasów o masie molekularnej 126,5 kDa, związanej z odpornością na preparaty CAA. Porównanie sekwencji aminokwasowych izolatów wrażliwych i odpornych

na CCA udowodniło powstanie w kodonie 1109 mutacji polegającej na zamianie aminokwasów: waliny na leucynę (Chen et al. 2012). Zdaniem autorów odporność izolatów *P. melonis* na CAA może być kontrolowana przez gen(-y) recesywny(-e), jednak potwierdzenie tej tezy wymaga dalszych eksperymentów genetycznych (Chen et al. 2012).

Podsumowując, ryzyko wystąpienia powszechnej, tzn. na dużą skalę, odporności lęgniowców *Oomycetes* na substancje aktywne z grupy CAA należy uznać za niewielkie. Można je ponadto zmniejszyć poprzez zaprzestanie powtarzania zabiegów ochronnych w niewielkich odstępach czasu.

## 5. Karbaminiany

Karbaminiany są przeznaczone do zwalczania *Pythium*, *Phytophthora*, *Aphanomyces* oraz niektórych grzybów z rodzaju *Fusarium*, czyli patogenów powodujących choroby zgorzelowe wielu gatunków roślin (Englander et al. 1980; Rapp, Richter 1983; Cohen, Coffey 1986).

Mechanizm działania propamokarbu (tab. 1), substancji aktywnej z tej grupy, polega na zakłóceniu przepuszczalności błon komórkowych grzybni, jednak w odniesieniu do starszej grzybni czy kielkujących zarodników sporangialnych jego działanie jest mało skuteczne (Papavizas et al. 1978). W związku z tym działanie propamokarbu na roślinach silnie porażonych przez *Phytophthora infestans* zanika (Samoucha, Cohen 1990). Wyniki badań Hu i Hong (2007) wskazują, że w produkcji szkółkarskiej preparat należy stosować prewencyjnie, przed zakażeniem siewek zarodnikami płytkowymi (zoosporami). Propamokarb może spowalniać proces chorobowy poprzez inhibicję produkcji zarodni (sporangiów) oraz ograniczenie aktywności zoospor. Natomiast po wystąpieniu infekcji preparat nie jest skuteczny, dlatego wykonywanie zabiegów w takim przypadku jest niewskazane, tym bardziej, że jednocześnie wzrasta ryzyko uzyskania przez gatunek *Phytophthora* odporności. Prokamokarb nie wykazuje szkodliwego działania na mikroorganizmy korzystne dla roślin takie jak *Trichoderma* i grzyby mykoryzowe (Wilde 1990; May, Kimati 2000). Z tego właśnie powodu preparat powinien być wykorzystywany w programach integrowanej ochrony przed chorobami zgorzelowymi w szkółkarstwie leśnym.

## 6. Fosfoniany

Systemiczne preparaty z grupy fosfonianów (fosetyl glinu i potasu, sole kwasu fosforowego) (tab. 1) należą do najważniejszych środków przeznaczonych do ograniczania chorób powodowanych przez organizmy grzybopodobne *Oomycetes*, szczególnie z rodzaju *Phytophthora*. Fosfoniany są stosowane szeroko zarówno w ekosystemach zniekształconych gospodarką rolniczą, ogrodniczą i leśną, jak również w środowisku naturalnym (Guest, Grant, 1991; Daniel et al. 2005). Stosuje się je w Afryce, Azji, Australii, Europie i Ameryce Północnej w celu ochrony rzadkich i zagrożonych gatunków roślin oraz w ochronie roślin uprawnych. W ochronie drzew związki te są stosowane w postaci oprysku roztworu wodnego (ze środ-

kiem zwilżającym) lub wstrzykiwane bezpośrednio do pni, gdzie przemieszczają się w tkankach roślinnych za pośrednictwem szlaku fosforanowego (Guest, Grant 1991). Fosfoniany nie są metabolizowane przez roślinę, co powoduje że utrzymują się w tkankach przez znaczny czas (6–8 lat), który ściśle zależy od gatunku rośliny, tempa jej wzrostu oraz intensywności wymiany listowia (Hardy et al. 2001). Mechanizm oddziaływania tych związków na patogen zależy od dawki substancji aktywnej (Smillie et al. 1989): w wysokim stężeniu ograniczają wzrost i zarodnikowanie patogenów (Wilkinson et al. 2001; Garbelotto et al. 2009), natomiast w niskim mogą działać pośrednio, poprzez stymulowanie reakcji obronnych roślin. Stężenie fosfonianów w tkankach roślinnych rzadko osiąga poziom, przy którym, w warunkach *in vitro*, związki te działałyby fungistatycznie, toteż większe znaczenie wydaje się mieć stymulacja mechanizmów obronnych.

Od dawna obserwowano, że działanie fosfonianów może być inne w stosunku do różnych roślin gospodarzy. Jedną z hipotez głosi, że związki te pobudzają przede wszystkim mechanizmy obronne organizmu (Grant et al. 1990; Daniel, Guest 2005). Fosetyl-Al opisywany jest w literaturze jako elicytor mechanizmu obronnego roślin, a jego działanie powoduje wzmoczoną syntezę związków fenolowych w liściach. Dercks i Creasy (1989) podają, że w prowadzonych przez nich badaniach aktywność związku w zwalczaniu *P. viticola* była wysoka zarówno w fazie przedinfekcyjnej, jak również po infekcji. Porównanie aktywności fosetylu-Al w zwalczaniu mączniaka rzekomego winorośli na odmianach zróżnicowanych pod względem odporności wykazało, że reakcja obronna roślin była bezpośrednio związana ze zdolnością syntetyzowania fitoaleksyn przez roślinę. Ponadto najbardziej odporna odmiana winorośli silniej akumulowała w tkankach resweratrol, co wywierało bardzo silną presję na grzyba. Badania Dercksa i Creasy'ego (1989) wykazały także bardzo silną korelację odporności roślin z poziomem akumulacji resweratrolu.

Istnieją także dowody na to, że mechanizm obronny roślin może być stymulowany poprzez zmiany w metabolizmie patogenu. Badania Grant i in. (1990) wykazały, że fosfoniany o niskim stężeniu mogą modyfikować metabolizm gatunków *Phytophthora* bez widocznego wpływu na wzrost grzybni. Guest i Grant (1991) wysunęli hipotezę, że preparaty fosfonianowe mogą oddziaływać na patogen poprzez zakłócenie syntezy jego supresorów, czyli związków „oszukujących” system obronny roślin.

Bardzo interesujące z punktu widzenia praktyki były badania przeprowadzone przez Pilbeam i in. (2011), które potwierdziły, że skuteczność fosfonianów zależy od odporności eukaliptusa na infekcję wywołaną przez *Phytophthora cinnamomi*. Fosfoniany powodowały zróżnicowaną odpowiedź histopatologiczną w tkankach roślin eukaliptusa. W liniach odpornych następowała stymulacja mitozy, powstawanie tkanki przyrannej (kalusa) i synteza ligniny, z kolei w liniach wrażliwych zwiększeniu ulegała produkcja ligniny i suberyny (Pilbeam et al. 2011).

Ryzyko wystąpienia odporności patogennych lęgniowców *Oomycetes* na preparaty fosfonianowe, ze względu na bardzo złożony niespecyficzny mechanizm oddziaływania ochron-



nego, jest niewielkie, jednak istnieją doniesienia o zmniejszonej wrażliwości izolatów *P. cinnamomi* (Dobrowolski et al. 2008) i *Bremia lactucae* (Brown et al. 2004).

## 7. Morfoliny

Spiroksamina (tab. 1) należy do preparatów morfolinowych – ważnej grupy fungicydów ukierunkowanych na zwalczanie mączniaka prawdziwego, rdzy i parcha (Pommer 1995). Ma ona identyczny sposób oddziaływania na komórki grzyba jak inne substancje aktywne z tej grupy (fenpropimorf, fenpropidyna, tridemorf), miejscowo hamujące biosyntezę steroli (SBI klasy II) (Leroux et al. 1999). Sterole są podstawowym składnikiem wszystkich błon komórkowych organizmów eukariotycznych, a ich występowanie jest niezbędne dla prawidłowego rozwoju (Joffrion, Cushion 2010). Sterole w komórkach grzybów pełnią kilka funkcji: odpowiadają za płynność i przepuszczalność błon komórkowych (Bard et al. 1978; Lees et al. 1979) oraz regulują poziom enzymów z nimi związanych (Cobon, Haslam 1973). Morfoliny wpływają – w różnym stopniu – na dwa specyficzne punkty w szlaku biosyntezy steroli: 1 – hamując przemianę dimetyloergostatrienu do dimetyloergostadienu przez blokowanie  $\Delta^{14}$ -reduktazy oraz fekosterolu do episterolu, oraz 2 – zakłócając działanie  $\Delta^{8,7}$ -izomerazy (Kerkenaar 1995).

Użycie spiroksaminy jest rekomendowane przede wszystkim w zwalczaniu mączniaka prawdziwego różnych gatunków roślin, a próby jej wykorzystania w zwalczaniu innych grzybów patogenicznych wykazały niską skuteczność substancji aktywnej (Debieu et al. 2000).

W literaturze można odnaleźć doniesienia o spadku wrażliwości populacji patogenicznych grzybów na fungicydy morfolinowe: *Erysiphe graminis* (Felsenstein et al. 1994; Napier et al. 2000), *Microdochium nivale* (Debieu et al. 2000), *Botrytis cinerea* (Leroux et al. 1999), *Nectria haematococca* (Lasseronde Felandre et al. 1999). Dodatkowo, ze względu na możliwość uzyskania przez organizmy zwalczane odporności krzyżowej, organizacja Fungicide Resistance Action Committee (FRAC) w 2005 roku oceniła ryzyko wystąpienia odporności na spiroksaminę od niskie do średniego (www.frac.info). Odporności na preparaty z grupy SBI dotyczyły badania Zhu i in. (2008), które potwierdziły występowanie odporności krzyżowej *Pseudoperonospora cubensis* (*Oomycetes*) na SBI. W szczepach odpornych mutantów stwierdzono odporność zarówno na flumorf, jak i dimetomorf (różne rodzaje fungicydów), a wyniki badań jednoznacznie wskazują, że jest to ten sam mechanizm odporności, wobec powyższego ryzyko występowania odporności w tym wypadku należy uznać za średnie (Zhu et al. 2008).

Zastosowanie preparatów SBI w szkółkarstwie może nieść za sobą pewne zagrożenia. W szkółkach kontenerowych, gdzie poważnym problemem jest występowanie mączniaka prawdziwego, substancje morfolinowe mogą przenikać do bryłki substratu, przez co może dojść do spadku skuteczności stosowania szczepionek mykoryzowych. Morfoliny zastosowane w warunkach laboratoryjnych już w niskich dawkach wpływały niekorzystnie na wzrost strzępek i zarodnikowanie ar-

buskularnego gatunku *Glomus intraradices*, co było związane z zaburzeniami metabolizmu steroli (Campagnac et al. 2009).

Poprzednie badania przeprowadzone przez zespół pod kierunkiem Campagnaca (Campagnac et al. 2008), dotyczące preparatów morfolinowych (fenpropimorfu i fenheksamidu), wykazały także bezpośredni wpływ wymienionych substancji aktywnych na stopień mykoryzacji korzeni przez *Glomus intraradices*. Pierwszy z wymienionych preparatów – penpropimorf, redukował ten proces w sposób drastyczny (Campagnac et al. 2008). Cardenas-Flores i in. (2011) stwierdzili z kolei, że zastosowanie fenheksamidu wpływało niekorzystnie także na inny gatunek mykoryzowy *Glomus larum*. Według nich wysokie stężenie oraz częste powtarzanie zabiegów z wykorzystaniem substancji aktywnych z grupy SBI ma niekorzystny wpływ na grzyby mykoryzowe w glebie.

Negatywnego wpływu spiroksaminy na rozwój symbiozy ektomykoryzowej nie potwierdzają wyniki badań Kuca i Aleksandrowicz-Trzecińskiej (2012). Autorzy ci podają, że preparat Falcon 460 EC nie ograniczał mykoryzy sadzonek dębu z grzybem *Hebeloma crustuliniforme*, a wręcz przeciwnie, mógł stymulować mykoryzy powstające spontanicznie.

## 8. Preparaty DMI (triazole)

Fungicydy należące do tej grupy obejmują około 30 substancji aktywnych, o wysokiej efektywności wobec wielu patogenów grzybowych. Preparaty DMI mają zastosowanie w ograniczaniu występowania mączniaka prawdziwego różnych roślin oraz grzybów rdzawnikowych i głowniowych, zgnilizny twardzikowej, szarej pleśni, a także innych patogenów grzybowych wywołujących plamistość liści.

Badania Edgingtona (1981) dowiodły, że fungicydy triazolowe przenikają przez korzenie, pędy i liście, absorbowane są w ksylemie i przemieszczane akropetalnie w roślinach, a nie są przenoszone floemem do korzeni.

Związki te blokują biosyntezę steroli w komórkach grzybów (Yang et al. 2011). Mechanizm ten opiera się na hamowaniu 14- $\alpha$  demetylasy sterolowej zależnej od cytochromu P-450 w pozycji 14 lanosterolu oraz w mniejszym stopniu na inhibicji  $\Delta^{24}$ -metylotransferazy sterolowej (Elliott 1999). Większość preparatów DMI hamuje działanie cytochromu poprzez przyłączenie do kieszeni cysteinowej w miejscu aktywnym enzymu. Jak wskazują dane literaturowe, odporność połową na preparaty triazolowe stwierdzono już po około 10 latach stosowania, w populacjach mączniaka prawdziwego i parcha (McGrath 2001; Ma, Michailides 2005). Dalsze badania dotyczące odporności grzybów na te fungicydy pozwoliły na zidentyfikowanie form o zmniejszonej wrażliwości w populacjach: *Fusarium asiaticum* (Yin et al. 2009), *F. graminearum* (Yin et al. 2009), *F. solani* (Kalamarakis et al. 1991), *Microdochium nivale* (Cristani, Gambogi 1993). W związku z bardzo specyficznym oddziaływaniem na patogen oraz dużą różnorodnością preparatów o podobnym mechanizmie działania, ryzyko uzyskania odporności na preparaty oceniane jest jako średnie z dużym prawdopodobieństwem występowania odporności krzyżowej (www.frac.info).

Literatura podaje, że mechanizmy odporności na DMI zaobserwowane w populacjach grzybów obejmują: mutację genu- 14 $\alpha$ -demetylazy (*CYP51*), która prowadzi do zmniejszenia powinowactwa DMI z docelowym białkiem (Delye et al. 1997), nadekspresję lub zwiększenie liczby kopii genu *CYP51*, co skutkuje zwiększeniem ilości docelowego enzymu (Hama-moto et al. 2000), nadekspresję białek transportowych kasyety wiążącej ATP (ABC) (efflux pumps) zaangażowanych w transport cukrów, aminokwasów, białek, peptydów oraz jonów metali (Zwiers et al. 2002), oraz niezidentyfikowane mechanizmy odporności na DMI (Mellado et al. 2001; Wood et al. 2001).

Preparaty DMI poza właściwościami fungistatycznymi wykazują pośrednie działanie na komórki bakteryjne, pomimo że nie zawierają one steroli. W pracach badawczych wykazano, że tritikonazol stymuluje proliferację bakterii w glebie, zaś fenpropimorf i propikonazol całkowicie hamują aktywność glebowych bakterii (Milenkovski et al. 2010).

Związki triazolowe, ze względu na mechanizm modyfikujący szlak sterolu różnych organizmów, wykazują także zbliżone do regulatorów wzrostu oddziaływanie na rośliny (Coolbaugh et al. 1982; Barnes et Kelley 1992). Niektóre preparaty triazolowe wykorzystuje się jako retardanty wzrostu roślin (inhibitory wzrostu) (Rademacher 2000). Działanie DMI w tym zakresie polega na hamowaniu biosyntezy gibereliny, co prowadzi do ograniczenia wzrostu wydłużeniowego korzeni i pędów (Görtz et al. 2008).

Okazuje się, że mimo szerokiej aktywności preparatów DMI, wpływających zarówno na grzyby, bakterie i rośliny, związki triazolowe nie wykazują oddziaływania fungistatycznego na lęgniowce. Odpowiedzialny za to jest duży dystans filogenetyczny dzielący grzyby właściwe i lęgniowce, co przekłada się bezpośrednio na różną efektywność środków ochrony roślin w ograniczaniu występowania tych odrębnych grup organizmów. Komórki *Phytophthora* oraz inne gatunki należące do *Oomycetes* nie zawierają ergosterolu, a w ich genomach nie występują funkcjonalne geny *CYP51* (Tyler et al. 2006). Organizmy te mają jednak zdolność do produkcji skwalenu i transformacji egzogennych steroli, dlatego można je zaliczyć do organizmów aukstroficznych w kierunku pozyskiwania steroli (Marshall et al. 2001).

Preparaty triazolowe w szkółkarstwie i uprawach leśnych stosuje się interwencyjnie w zwalczaniu mączniaka prawdziwego dębu (*Erysiphe alphitoides*), osutki sosny (*Lophodermium pinastri*, *L. seditosum*) i opadziyny modrzewia (*Meria laricis*) (tab. 1).

Znane są także przykłady stosowania preparatów DMI w starszych drzewostanach. W USA propikonazol stosowany jest w leczeniu zamierania dębów (*Chalara quercina*). Skuteczność wymienionej substancji aktywnej w zwalczaniu tej groźnej choroby dębów została udokumentowana w pracach badawczych Eggers i in. (2005) oraz Peacock i Fulbright (2007). Przeprowadzenie zabiegu leczniczego polega na wprowadzeniu fungicydu za pomocą makro- lub mikroiniekcji do części drewna, uczestniczącej w transporcie wody (Wilson, Lester 2002). Wykonanie mikroiniekcji polega na wprowadzeniu małej objętości stężonej substancji aktywnej za pomocą mikroiniektorów przez otwór wywiercony w drewnie. Liczba miejsc

mikroiniekcji uzależniona jest od średnicy drzewa, a rozmieszczenie ich jest równomierne. Mechanizm pobierania fungicydu przez tkanki drzewa jest głównie pasywny, może także zostać wymuszony za pomocą iniektorów (Haugen, Stennes 1999). W zabiegu makroiniekcji wprowadza się stężone substancje aktywne (4–8 ml) o większej objętości wody. Badania przeprowadzone przez Haugen i Stennesa (1999) wykazały, że duże objętości rozcieńczonych fungicydów są lepiej rozprowadzane w tkankach drzew i dzięki temu skuteczniejsze. Efekt ochronny propikonazolu w zamieraniu dębów utrzymuje się przez dwa lata od zastosowania preparatu (Eggers et al. 2005), lecz jego aplikacja nie jest skuteczna w przypadku porażonych korzeni (Wilson, Lester 2002).

## 9. Aminopirymidyny

Aminopirymidyny to grupa systemicznych substancji aktywnych skutecznych wobec mączniaka prawdziwego (*Erysiphales*), rzadziej stosowanych w zwalczaniu rdzy i głowni. Do tej grupy fungicydów należy bupirymat, którego mechanizm działania polega na hamowaniu syntezy kwasów nukleinowych (Hollomon 1979) poprzez ograniczenie aktywności deaminazy adenozy (ADA), enzymu uczestniczącego w metabolizmie puryn, który katalizuje reakcję deaminacji adenozy do inozy (Hollomon, Chamberlain 1981). Dowiedziono, że preparaty aminopirymidynowe powinny być stosowane we wczesnych fazach infekcji, ponieważ hamują formowanie apesoriów i haustoriów mączniaka prawdziwego. Wykorzystanie tej grupy substancji aktywnych może być także korzystne w późniejszych fazach rozwoju, ponieważ hamują one kiełkowanie zarodników (Hollomon, Schmidt 1987).

Pierwsze preparaty aminopirymidynowe, wprowadzone około 1968 roku, wykazywały początkowo bardzo skuteczne działanie w ograniczaniu mączniaka prawdziwego ogórka (*Sphaerotheca fuliginea*). Jednak po około dwóch latach, ze względu na częste powtarzanie zabiegów ochronnych, w populacjach *S. fuliginea* zaobserwowano odporność na te substancje aktywne (Brent 1982).

Występowanie form odpornych na aminopirymidyny potwierdzono także w populacjach mączniaka prawdziwego jęczmienia *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* (Hollomon 1979). Jak dotąd mechanizm odporności grzybów na tę grupę substancji aktywnych pozostał niewyjaśniony. Brent i Hollomon (2007) podają, że reakcja odpornościowa mączniaka na aminopirymidyny nie jest gwałtowna, lecz należy ją określić jako ciągłą i progresywną. Zdaniem autorów populacja patogenu może powrócić do stanu wrażliwości na preparat, jeśli zabiegi ochronne będą wykonywane mniej intensywnie z jednoczesnym wykorzystaniem innych substancji aktywnych (Brent, Hollomon 2007).

Podsumowując, należy zwrócić uwagę, iż rekomendowane do zwalczania mączniaka i osutki sosny triazolowe i aminopirymidynowe substancje aktywne, mające służyć do ograniczania występowania tych jednostek chorobowych, mają niezwykle wąski zakres działania na grzyby. Oczywiście

intensyfikacja zabiegów ochronnych, w sytuacji gdy brakuje innych zalecanych substancji aktywnych, może skutkować występowaniem zjawiska odporności na większą skalę. Dodatkowo, ograniczenie występowania mączniaka prawdziwego jest niezwykle trudne, co wynika z ogromnego potencjału rozmnożeniowego (intensywne zarodnikowanie), krótkiego cyklu życiowego oraz szerokiego zakresu preferencji temperaturowych i wilgotnościowych tej grupy organizmów. Zahamowanie występowania objawów chorobowych osiąga się przez częste powtarzanie zabiegów ochronnych, zaś ograniczony dostęp do substancji aktywnych powoduje, iż koniecznością staje się poszukiwanie alternatywnych metod zwalczania tych patogenów (Pap et al. 2012).

## 10. Preparaty nieorganiczne (tlenochlorek miedziowy)

Związki nieorganiczne są najstarszą grupą substancji aktywnych stosowanych w zwalczaniu chorób roślin. Pierwsze doniesienia dotyczące zastosowania miedzi organicznej sięgają 1761 roku, kiedy siarczan miedzi ( $\text{CuSO}_4$ ) wykorzystano w bardzo dużej koncentracji do ochrony pszenicy przed głownią. Prace nad zastosowaniem miedzi w zwalczaniu chorób roślin kontynuował Prevost (1807), który odnotował hamowanie kiełkowania zarodników głowni. Dalsze badania dotyczące wykorzystania miedzi prowadził botanik, profesor Millardet z Bordox, który około roku 1885 zastosował „ciecz bordoską” ( $3\text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{CuSO}_4 \cdot \text{CaSO}_4$ ) do ochrony winorośli przed mączniakiem rzekomy ( *Plasmopara viticola* ). W kolejnych latach preparaty miedziowe stosowano także w zwalczaniu zarazy ziemniaka. Największy postęp w badaniach nad preparatami miedziowymi przypadał na lata 1925–35, kiedy opatentowano pierwsze substancje aktywne z tej grupy.

Obecnie w ochronie roślin jony miedzi ( $\text{Cu}^{2+}$ ) stosuje się w postaci siarczanu miedzi, tlenku miedzi, naftenianu miedzi, tlenochloroku miedzi, 8-hydroksykwiniolinianu miedzi. Preparatów miedziowych używa się do zwalczania: mączniaków rzekomych, zarazy ziemniaka oraz innych grzybów powodujących plamistość liści, a w leśnictwie do ograniczania występowania osutki modrzewia (tab. 1).

Mechanizm oddziaływania miedzi na komórki grzybów jest złożony. Jony miedzi wykazują powinowactwo z różnymi grupami chemicznymi występującymi w komórkach grzybów i reagują z grupami tiolowymi, powodując niespecyficzną denaturację białek i enzymów. Tworzą trwałe kompleksy z koenzymami i innymi związkami biologicznie czynnymi, co prowadzi do ograniczenia aktywności metabolicznej grzybów. Preparaty miedziowe ograniczają procesy oddechowe w komórkach grzybów, poprzez inhibicję powstawania acetylo-CoA, przerywają proces fosforylacji w łańcuchu oddechowym i jednocześnie hamują tworzenie ATP.

Wpływ preparatów miedziowych nie ogranicza się do grzybów patogennych. Badania z wykorzystaniem tlenochloroku miedzi, przeprowadzone na czystych kulturach, wykazały ich negatywny wpływ na populacje grzybów mykoryzowych *Glomus* spp. i *Arachis hypogea* L. (Sreenivasa,

Bagyaraj 1989) oraz neutralny wpływ na gatunki *Glomus fasciculatum* i *Agrostis palustris* L. (Rhodes, Larser 1981). Uzyskane rozbieżne rezultaty badań wynikały z odmiennego oddziaływania substancji aktywnej na grzyby mykoryzowe w odniesieniu do różnych gatunków roślin (Rhodes, Larser 1981; Sreenivasa, Bagyaraj 1989).

Inne prace badawcze wykazały zmniejszenie aktywności mikroorganizmów glebowych oraz hamujący wpływ preparatów miedziowych na grzyby ektomykoryzowe w środowiskowych próbach na sadzonkach sosny (Manninen et al. 1998). Dalsze badania dotyczące tlenochloroku miedzi dowiodły ograniczenia wzrostu kolejnych gatunków grzybów mykoryzowych: *Cantharellus cibarius*, *Corticium bicolor*, *Paxillus involutus* i *Suillus* (Laatikainen, Heinonen-Tanski 2002).

Dane literaturowe wskazują także na możliwość niekorzystnego wpływu preparatów miedziowych na rośliny. Gibson (1958) wykazał, że związki miedzi zastosowane na glebach kwaśnych (tlenochlorek miedzi i tlenek miedzi) działały fitotoksycznie na gatunki sosny *Pinus radiata* i *Pinus patula*. Niekorzystne oddziaływanie polegało na przedwczesnym zamieraniu wierzchołka korzenia i ostatecznie śmierci sadzonki, mechanizm ten jest jednak mało poznany (Orbovic et al. 2007).

W literaturze można odnaleźć także informację, że jony miedzi są skuteczne przeciwko niektórym grzybom powodującym zgniliznę drewna. Z badań wykonanych przez Chen (2010) wynika, że mechanizm ochrony drewna przed grzybami polega na wiązaniu miedzi z polisacharydami i ligninami w ścianach komórkowych drewna. Bardzo korzystna dla tego procesu jest także migracja jonów  $\text{Cu}^{2+}$  w drewnie (Choi et al. 2001). Preparaty miedziowe wykazują niższą skuteczność przeciwko białej i brunatnej zgniliznie drewna, powodowanej przez grzyby z rodzin *Antrodia* i *Serpula*, które wiążąc jony miedzi tworzą nietoksyczne kryształy szczawianu miedzi (Hastrup et al. 2005). Poprawę skuteczności preparatów miedzi organicznej w ograniczaniu grzybów uszkadzających drewno można uzyskać przez łączne stosowanie z czwartorzędowymi solami amoniowymi QAC – substancje czynne niszczące bakterie, mniej skuteczne przeciwko grzybom, które w połączeniu z jonami miedzi dają efekt synergiczny (Härtner, Barth 1996).

## 11. Pochodne węglowodorów aromatycznych

Pochodne węglowodorów aromatycznych są grupą fungicydów posiadających pierścień benzenowy w cząsteczce oraz charakteryzujących się różną aktywnością wobec grzybów. Chlorotalonil (TPN, -2, 4, 5, 6- tetrachloroisoftaloni-tryl)- zarejestrowany po raz pierwszy jako fungicyd w 1966 roku, rekomendowany jest do szerokiego stosowania w rolnictwie, ogrodnictwie i leśnictwie na całym świecie (Wang et al. 2011). Preparat ma bardzo szerokie spektrum działania, głównie jako środek grzybobójczy, w szczególności do zwalczania mączniaka prawdziwego. Ma on również właściwości bakteriobójcze, algobójcze i owadobójcze. Dokładny mechanizm jego działania nie jest poznany, jednakże można go scharakteryzować jako inaktywację, związanych z glu-



tationem enzymów zaangażowanych w procesy oddechowe komórek grzybów (Arvanites, Boerth 2001). FRAC – Fungicide Resistance Action Committee ([www.frac.info](http://www.frac.info)) charakteryzuje preparat jako kontaktowy środek o wielopunktowym mechanizmie oddziaływania na patogen, co powoduje że w odniesieniu do niego istnieje niskie ryzyko powstania odporności w populacjach grzybów. W badaniach wykazano także efekt fitotoksyczny preparatu w stosunku do siewek i sadzonek drzew w szkółkach leśnych (James, Woo 1984). Niekorzystny wpływ preparatu na sadzonki drzew potwierdziła także Laatikainen (2006), wykazując, że zastosowany w szkółkach kontenerowych chlorotalonil redukuje wzrost siewek sosny i opóźniał ich rozwój, a tym samym ich hartowanie. Efekt działania preparatu utrzymywał się długo, po upływie 2 lat widoczne były zmiany zawartości azotu oraz wolnych aminokwasów w sadzonkach sosny (Laatikainen 2006). Wykazano także, że chlorotalonil ma wysoce toksyczny wpływ na populacje grzybów glebowych (Sigler, Turco 2002), a w badaniach prowadzonych na czystych kulturach stwierdzono, że jest on wysoce toksyczny dla grzybów ektomykoryzowych (Laatikainen, Heinonen-Tanski 2002). Powyższego spostrzeżenia nie potwierdziły jednak badania Aleksandrowicz-Trzecińskiej (2008), w których chlorotalonil nie ograniczał rozwoju mykoryz w odnowieniach sosnowych. Preparat TPN jest także wysoce toksyczny dla ryb, ptaków i wodnych bezkręgowców (Caux et al. 1996), jest także szkodliwy dla człowieka (Draper et al. 2003).

## 12. Pirydynokarboksyamidy (SDHI – inhibitory dehydrogenazy bursztynianowej)

Wprowadzenie do użycia fungicydów SDHI (inhibitory mitochondrialnego kompleksu II: karboksyna i oksykarboksyna) pierwszej generacji datuje się na koniec lat 60. XX wieku. Były to związki hamujące procesy oddechowe, skuteczne w zwalczaniu chorób powodowanych głównie przez *Basidiomycetes* (Zhang et al. 2009). Docelowym miejscem ich działania jest kompleks dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) w łańcuchu oddechowym (kompleks II) w miejscu wiązania ubichinonu (SQR), na skutek zakłócenia transportu elektronów zahamowane jest oddychanie mitochondrialne (Yin et al. 2011).

Druga generacja inhibitorów dehydrogenazy bursztynianowej, do których należy zarejestrowany w 2003 roku boskalid, to preparaty o szerokim spektrum aktywności wobec grzybów patogenicznych dla wielu gatunków roślin uprawnych (Avenot, Michailides 2010).

Preparat wiązany jest w warstwie woskowej kutykuli, a także translaminarnie przemieszcza się w tkankach po wewnętrznej stronie liści. Według raportu Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności – EFSA boskalid jest czwartym najczęściej spotykanym w żywności pestycydem (EFSA 2013). Niewątpliwie taka popularność preparatu przekłada się na duże ryzyko występowania genetycznie warunkowanej odporności. Organizacja FRAC ocenia ryzyko występowania odporności na preparaty SDHI na średnie do wysokiego ([www.frac.info](http://www.frac.info)), dlatego w przypadku roślin do jej badań

podstawowych wprowadzono obowiązek monitoringu odporności grzybów patogenicznych na preparaty SDHI.

Zgodnie z zaleceniami FRAC, ze względu na występowanie odporności krzyżowej w obrębie grupy SDHI, preparaty powinny być stosowane profilaktycznie, gdy ryzyko choroby jest wysokie. Nie powinny być stosowane interwencyjnie, w szczególności gdy populacja patogenu jest liczna (McKay et al. 2011). Preparaty te powinny być używane maksymalnie 2-krotnie w ciągu sezonu wegetacyjnego, najlepiej w połączeniu z inną substancją czynną lub naprzemiennie z substancjami z innych grup, które nie wykazują odporności krzyżowej (McKay et al. 2011). Preparaty SDHI nie wykazują krzyżowej odporności z innymi grupami fungicydów: strobilurynami, benzimidazolami oraz anilinopirymidynami, dlatego w celu wyeliminowania ewentualnych szczepów odpornych powinny być stosowane łącznie z innymi substancjami czynnymi (Stammler et al. 2007).

Najnowsze badania dotyczące działania boskalidu na procesy glebotwórcze wykazały, że jest to związek trwały o małej mobilności, posiadający niekorzystny wpływ na przemiany fosforu i węgla oraz procesy oddechowe w glebach (Xiong et al. 2014).

## 13. Fungicydy strobilurynowe – QoI

Strobiluryny to jedna z najważniejszych grup fungicydów o szerokim spektrum antygrzybowym, skuteczna wobec Acomycets, Basidiomycets i Oomycets. Po raz pierwszy uzyskano strobilurynę (azoksystrobina) w 1977 roku z grzybni szyszkówki gorzkawej (*Strobilurus tenacellus*), gatunku rozkładającego drewno (Schramm et al. 1978). Dotychczas wyizolowano około 20 analogów strobiluryn z podstawczaków, np. *Oudemansia iellamucida*, *Pterula* sp., *Xerula longipes*, *Mycena crocota*, *Favolaschia calocera* i workowców, np. *Bolinea lutea* (Malita 2008). Fungicydy należące do tej grupy są wysoko cenione za dużą skuteczność, niską toksyczność dla komórek ssaków oraz bezpieczeństwo dla środowiska (Zhang et al. 2012).

Strobiluryny działają hamująco na oddychanie mitochondrialne w komórkach grzybów. Zakłócają one procesy energetyczne, blokując transfer elektronów przez błonę mitochondrialną między cytochromem b i cytochromem c1 w miejscu utleniania chinolu (Qo) i zapobiegając w ten sposób powstawaniu ATP, co przerywa cykl energetyczny patogenu (Ammermann et al. 2000).

Piraklostrobina jest fungicydem z grupy strobiluryn, który oddziałuje hamująco na wzrost strzępek grzybni i zarodnikowanie (Ammermann et al. 2000). W roślinach przemieszcza się ona systemicznie i translaminarnie (przemieszcza się z jednej strony liścia na drugą). Strobiluryny posiadają także działanie regulujące wzrost i rozwój roślin. Wykazano, że piraklostrobina zastosowana na zdrowych roślinach powoduje wzrost ich biomasy na skutek zwiększonego pobierania azotu (Köehle et al. 2003). Wykazano także, że fungicydy QoI hamują oddychanie w roślinach (Glaab, Kaiser 1999), wywołują także inne zmiany fizjologiczne, wpływając na tworzenie się fitohormonów prowadzące do opóźnienia starzenia

się liści (Ruske et al. 2003). Preparaty z tej grupy redukują przewodnictwo szparkowe oraz ograniczają zużycie wody, co prowadzi do wzrostu aktywności fotosyntetycznej roślin (Grossman et al. 1999), a także zwiększa aktywność enzymów antyoksydacyjnych (Wu, Tiedemann 2002).

Wysoce specyficzny mechanizm działania strobiluryn na komórki grzyba oraz częste ich stosownie sprzyja szybkiemu uodpornieniu się patogenów na tę grupę fungicydów. Odporność patogenów notuje się na całym świecie w populacjach patogenów roślin uprawnych, owoców, warzyw, roślin ozdobnych i traw (Fernández-Ortuño et al. 2008), a ryzyko jej występowania oceniane jest na bardzo wysokie. W monografiach FRAC można odnaleźć informację, że w przypadku roślin odporność połową na strobiluryny zidentyfikowano w populacjach przeszło 30 gatunków grzybów patogennych ([www.frac.info](http://www.frac.info)). Dowiedziano, że za odporność na preparaty QoI odpowiadają punktowe mutacje (polimorfizm pojedynczego nukleotydu) w sekwencji genu cytochromu b, prowadzące do zamiany trzech aminokwasów: zamiana glicyny na alaninę w pozycji 143 (G143A), zamiana fenyloalaniny na leucynę w pozycji 129 (F129L) oraz zamiana glicyny na argininę w pozycji 137 (G137R) (Kim et al. 2003; Sierotzki et al. 2006). Skutkiem tych mutacji jest alternatywne oddychanie oraz wzrost aktywności białek transportowych kasyety wiążącej ATP (ABC), związanych z błoną komórkową, odpowiadających za mechanizm naturalizacji fungicydów (Fernández-Ortuño et al. 2008). W publikacjach FRAC znajdują się informacje wskazujące, jak należy stosować fungicydy QoI, by zminimalizować ryzyko uzyskania odporności przez patogeniczne gatunki grzybów. Ze względu na wysoką efektywność w hamowaniu kiełkowania zarodników preparaty te powinny być stosowane profilaktycznie. Mogą być one używane samodzielnie (w blokach z innymi fungicydami) lub zamiennie z preparatami z innej grupy odporności krzyżowej. Preparaty QoI można stosować także w mieszaninie z innymi substancjami czynnymi, jednakże takimi, które mają inny mechanizm działania na komórki patogenu, co poszerza spektrum zabiegu ochronnego i poprawia jego efektywność. Substancje czynne dołączenia ze strobilurynami należy dobrać w taki sposób, aby ich skuteczność na docelową populację patogenów w samodzielnym stosowaniu była wysoka ([www.frac.info](http://www.frac.info)).

Obecnie duży wysiłek badaczy skupia się na modyfikacji struktury pochodnych strobiluryny, aby uzyskać nowe związki o antygrzybowych właściwościach, które byłyby skuteczne na populacje patogenów odpornych. Badania wskazują, że skutecznym sposobem pozyskania nowych strobiluryn są modyfikacje łańcucha bocznego (Li et al. 2006).

## 14. Bezimidazole (MBC)

Benzimidazole to grupa fungicydów systemicznych wprowadzonych do użycia około roku 1968, o wysokiej aktywności wobec patogenów odglebowych i naczyniowych. Jest to grupa preparatów grzybobójczych, pochodnych benzimidazolu, które w swojej strukturze chemicznej zawierają

pierścień benzenowy i pierścień imidazolowy. Ich działanie na komórki grzyba polega na hamowaniu podziałów komórkowych (Yang et al. 2011). Badania wykazały, że fungicydy MBC wiążą  $\beta$ -tubulinę w mikrotubulach i hamują ich proliferację (Koo et al. 2009), przez co zakłócony zostaje zespół mikotubul wrzeciona podziałowego, transport komórkowy oraz formowanie i funkcje cytoszkieletu (Rathinasamy, Panda 2006). Tiofanat metylu należący do grupy fungicydów MBC jest preparatem systemicznym o szerokim spektrum antygrzybowych właściwości. Stosowany jest w ochronie zbóż, w warzywnictwie, sadownictwie i w leśnictwie, a także w ochronie drewna (Cycoń et al. 2011).

Pierwsze sygnały o odporności grzybów na preparaty z grupy MBC notowano w 1973 roku, a obecnie zidentyfikowano ją u wielu gatunków fitopatogenów. W większości przypadków odporność była związana z występowaniem punktowych mutacji w genie  $\beta$ -tubuliny, co prowadziło do zmiany sekwencji aminokwasowej w miejscu wiązania benzimidazolu. Dane literaturowe dowodzą, że odporność wielu patogenicznych dla roślin grzybów na preparaty MBC wynika najczęściej z mutacji w kodonie 6, 50, 167, 198, 200 i 240  $\beta$ -tubuliny (Ma, Michailides 2005). Odporność na MBC ma cechy odporności krzyżowej na wszystkie preparaty należące do tej grupy ([www.frac.info](http://www.frac.info)).

Chociaż nie ma dowodów na bezpośredni negatywny wpływ preparatów MBC na populacje bakterii glebowych, to jednak wykazano, że obecność fungicydów MBC w glebie hamuje nityfikację, w której pośredniczą bakterie (Chen et al. 2001). Jednoznacznie wykazano jednak negatywny wpływ na grzyby mykoryzowe, np. w przypadku gatunku arbuskularnego *Glomus mosseae* po zastosowaniu połowej dawki fungicydu z grupy MBC obserwowano zahamowanie wzrostu grzybni oraz tworzenia zarodników (Chiocchio et al. 2000).

## 15. Podsumowanie

Stosowanie fungicydów jest obecnie najskuteczniejszą metodą ograniczania organizmów patogennych w przypadku roślin. Jednakże szeroko pojęta produkcja leśna, ze względu na ograniczone rozmiary, jest mało atrakcyjnym rynkiem dla producentów fungicydów, co przekłada się na niewielką liczbę preparatów dostępnych w zorganizowanej produkcji leśnej. Niewątpliwie pewnym antidotum na uzdrowienie tej sytuacji jest obowiązek stosowania zasad integrowanej ochrony roślin, które dotyczą wszystkich gałęzi zorganizowanej produkcji roślinnej. Z drugiej strony nowoczesne szkółkarstwo leśne, ze względu na stale rosnącą produkcję, boryka się z występowaniem zwiększającej się liczby jednostek chorobowych, co powoduje straty finansowe. Dlatego niezwykle istotne dla poprawy fitosanitarnej jakości produktów szkółkarskich jest stosowanie alternatywnych metod ochrony roślin oraz lobbowanie u producentów, by nowoczesne fungicydy o szerokim spektrum fungistatycznej aktywności wprowadzane były częściej i szybciej do produkcji szkółkarskiej. Jednocześnie w celu zachowania zasad dobrej praktyki ochrony roślin należy wprowadzić, przy udziale ist-



Tabela 1. Preparaty fungicydowe stosowane w szkółkarstwie leśnym (Głowacka et al. 2013)  
Table 1. Fungicides used in forest nurseries (Głowacka et al. 2013)

Lp. No.	Grupa fungicydów Group of fungicides	Substancja czynna Active substance	Preparat Preparation	Rok wprowadzenia substancji aktywnej Introduction date of active substance	Zakres działania Scope of activity	Mechanizm działania Mode of action	Rekomendacja stosowania w szkółkach leśnych Use recommendation in forest nurseries
1	CAA (amidy kwasu karboksylowego) Carboxylic acid amides	dimetomorf dimetomorph	Acrobat MZ 69 WG	około 1980 around 1980	wgłębne deep-seated	inhibicja syntezy celulozy u Oomycetes inhibition of cellulose synthesis in Oomycetes	Stwierdzona odporność na substancję aktywną Confirmed resistance to active substance  odporność <i>Phytophthora capsici</i> w warunkach laboratoryjnych (Young et al. 2001); <i>Plasmopara viticola</i> w środowisku resistance of <i>Phytophthora capsici</i> in laboratory conditions (Young et al. 2001); <i>Plasmopara viticola</i> in the environment
2	Ditiokarbami- niany Dithiocarbamates	mankozeb		około 1960 around 1960	kontaktowe contact		
		mankozeb	Penncozeb 80 WP	około 1960 around 1960	kontaktowe contact	zgorzele siewek / osutki seedling blight / shed of pine needles	zgorzele siewek / osutki fytoftoroza / osutki sosny seedling blight / phytophthora disease / shed of pine needles
		tiuram thiram	Zaprawa nasienna T 75 DS/WS	około 1960 around 1960	kontaktowe contact	zaburzenia procesów metabolicznych, hamowanie kiełkowania zarodników disturbance of metabolic processes, inhibition of spore germination	niskie ryzyko ze względu na wielopunktowy mechanizm działania, <i>Botrytis cinerea</i> – odporność w warunkach laboratoryjnych (Barak et Edgington 1984) low risk due to multi-point mechanism of action, <i>Botrytis cinerea</i> – resistance under laboratory conditions (Barak et Edgington 1984)
		tiuram thiram	Thiram Granuflo 80 WG	około 1960 around 1960	kontaktowe contact		zgorzele siewek seedling blight
3	Karbaminiany Carbamates	metiram methiram	Polyram 70 WG	około 1960 around 1960	kontaktowe contact		zgorzele siewek, szara pleśń seedling blight, grey mould
		propamokarb proxaocarb	Previcur Energy 840 SL	1978	systemiczne systemic	zakłócenie przepuszczalności błon komórkowych disturbance of permeability of cell membranes	<i>Pythium</i> spp. w środowisku (Moorman et al. 2002 2004); <i>Pythium</i> spp. in the environment (Moorman et al. 2002 2004);
4	Fosfoniany Phosphonics	fosetyl glinowy fosetyl aluminum		1977	systemiczne systemic	fungistatyczne bezpośrednie – wysokie dawki, pośrednie elicytory lub supresory direct fungistatic-high doses, indirect elicitors or suppressors	<i>Phytophthora citrophthora</i> w warunkach laboratoryjnych (Angeles Diaz Borrás et Vila Aguilar 1988) <i>Phytophthora citrophthora</i> under laboratory conditions (Angeles Diaz Borrás et Vila Aguilar 1988)

Lp. No.	Grupa fungicydów Group of fungicides	Substancja czynna Active substance	Preparat Preparation	Rok wprowadzenia substancji aktywnej Introduction date of active substance	Zakres działania Scope of activity	Mechanizm działania Mode of action	Rekomendacja stosowania w szkółkach leśnych Use recommendation in forest nurseries
5	Ketaminy (morfoliny) Ketamines (morpholines)	spiroksamina spiroxamine	Falcon 460 EC/ Sokół 460 EC	1999	systemiczne systemic	inhibitory biosyntezy steroli klasy II (SBI) sterol biosynthesis inhibitors of class II	<i>Erysiphe graminis tritici</i> (Napier et al. 2000); <i>Nectria haematococca</i> – w warunkach laboratoryjnych (Lasseron-De Felandre et al. 1999) <i>Erysiphe graminis tritici</i> (Napier et al. 2000); <i>Nectria haematococca</i> under laboratory conditions (Lasseron-De Felandre et al. 1999)
6	DMI (triazole)	tebukonazol tebukonazole	_____	1986	systemiczne systemic	inhibitory dimetylacji steroli klasy I inhibitors of sterol dimethylation of class I	mączniak prawdziwy dębu / osutka sosny oak powdery mildew / pine needlecast
7	Pyrimidyny Pyrimidine	bupirymat bupirimate	Nimrod 250 EC	1976	systemiczne systemic	inhibitory dimetylacji steroli klasy I inhibitors of sterol dimethylation of class I	1* <i>Fusarium asiaticum</i> , <i>Fusarium graminearum</i> (Yin et al. 2009); <i>Fusarium solani</i> (Kalamarakis et al. 1991); <i>Microdochium</i> ( <i>Fusarium</i> ) <i>nivale</i> (Crisciani et Gambogi 1993)
8	Nieorganiczne Inorganic	tienchlorek miedziowy copper oxychloride	Miedzian 50 WP	około 1925 around 1925	systemiczne systemic	deaminazy adenozyiny (zakłócenie syntezy kwasów nukleinowych) deaminases of adenosine (disruption of nucleic acid synthesis)	<i>Erysiphe graminis</i> f.sp. <i>hordei</i> – w środowisku (Hollomon 1979); <i>Sphaerotheca fuliginea</i> – w środowisku (O'Brien et al. 1988) <i>Erysiphe graminis</i> f.sp. <i>hordei</i> – in the environment (Hollomon 1979); <i>Sphaerotheca fuliginea</i> – in the environment (O'Brien et al. 1988)
9	Pochodne węglowodorów aromatycznych Derivatives of aromatic hydrocarbons	chlorotalonil chlorothalonil	Gwarant 500 SC	1966	kontakcyjne contact	niespecyficzna denaturacja białek i enzymów non-specific denaturation of proteins and enzymes	nieznane unknown
					kontakcyjne contact	inhibitory procesów oddechowych inhibitors of respiratory processes	niskie ryzyko ze względu na wielopunktowy mechanizm działania low risk due to multi-point mechanism of action
					kontakcyjne contact	inhibitory procesów oddechowych inhibitors of respiratory processes	zgorzele siewek / plamistość liści / szara pleśń / osutki seedling blight / leaf spots disease / grey mould / pine needlecast

Lp. No.	Grupa fungicydów Group of fungicides	Substancja czynna Active substance	Preparat Preparation	Rok wprowadzenia substancji aktywnej Introduction date of active substance	Zakres działania Scope of activity	Mechanizm działania Mode of action	Rekomendacja stosowania w szkółkach leśnych Use recommendation in forest nurseries	Stwierdzona odporność na substancję aktywną Confirmed resistance to active substance
10	Pirydynokarboksamidyny (SDHI) Pyridinecarboxamides	boskalid boscalid	Signum 33 WG	2003		inhibitory procesów oddychowych, inhibitory cytochromu b mitochondrialnego kompleksu III inhibitors of respiratory processes, inhibitors of cytochrome b of mitochondrial complex III	zgorzele siewek / rdze / szara pleśń / fytoftoroza / mączniak prawdziwy seedling blight / rust / grey mould / phytophthora / oak powdery mildew	<i>Alternaria alternata</i> (Avenot et Michailides 2007); <i>Cercospora cassicola</i> (Miyamoto et al. 2009); <i>Botrytis cinerea</i> (Yin et al. 2011); <i>Monilinia fructicola</i> (Chen et al. 2013)
11	Strobiluryny (QoI) Strobilurins (QoI)	piraklostrobina pyraclostrobin	Signum 33 WG	2001	systemiczne systemic	inhibitory procesów oddychowych, inhibitory dehydrogenazy bursztynianowej mitochondrialnego kompleksu II inhibitors of respiratory processes, inhibitors of succinate dehydrogenase of mitochondrial complex II	dębu seedling blight / rust / grey mould / phytophthora / oak powdery mildew	30 gatunków grzybów patogennych 30 species of pathogenic fungi
12	Benzimidazole (MBC) Benzimidazoles (MBC)	tiofanat metylu thiophanate-methyl	Funaben Plus 03 PA	1970	systemiczne systemic	hamowanie podziałów komórkowych inhibition of cell multiplication	choroby i uszkodzenia gałęzi i pni diseases and damage of branches and trunks	wiele gatunków many species



niejących jednostek naukowo-badawczych, obowiązek monitoringu odporności grzybów na fungicydy w odniesieniu do wszystkich gałęzi produkcji roślin, minimalizując w ten sposób ryzyko jej występowania.

## Konflikt interesów

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów.

## Podziękowania i źródła finansowania

Projekt rozwojowy pt. “Stosowanie fosforynów jako elicytorów odporności na patogeny korzeni w szkółkach leśnych i drzewostanach” (nr rejestracyjny N R12 0098 10) został zrealizowany ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju oraz MNiSW w ramach badań statutowych UWM.

## Literatura

- Aleksandrowicz-Trzcńska M. 2008. Wzrost naturalnych odnowień sosny zwyczajnej i stan ich mikoryz po chemicznej ochronie przed osutką. *Leśne Prace Badawcze (Forest Research Papers)* 69(1): 7–14.
- Ammermann E., Lorenz G., Schelberger K., Mueller B., Kirstgen R., Sauter H. 2000. BAS 500F: The new broad-spectrum fungicide with a new mode of action, in: BCPC. Conference, Pests & Diseases, p. 541–548.
- Angeles Diaz Borrás M., Vila Aguilar R. 1988. In-vitro resistance of *Phytophthora citrophthora* to metalaxyl and fosetyl-Al. *Alimentaria* 8: 71–73.
- Arvanites A.C., Boerth D. 2001. Modeling of the mechanism of nucleophilic aromatic substitution of fungicide chlorothalonil by glutathione. *Journal of Molecular Modeling* 7: 245–256. DOI 10.1007/s008940100032.
- Avenot H.F., Michailides T.J. 2007. Resistance to boscalid in *Alternaria alternata* isolates from pistachio in California. *Plant Disease* 91(10): 1345–1350. DOI 10.1094/PDIS-04-13-0459-RE.
- 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: 643–651. DOI 10.1016/j.cropro.2010.02.019.
- Barak E., Edgington L.V. 1984. Cross resistance of *Botrytis cinerea* to captan, thiram, chlorothalonil and related fungicides. *Canadian Journal of Plant Pathology* 6: 318–320. DOI 10.1080/07060668409501536.
- Bard M., Lees N.D., Burrows L.S., Kleinhans F.W. 1978. Differences in crystal violet uptake and cation-induced death among yeast sterol mutants. *Journal Bacteriology* 135: 1146–1148.
- Barnes A.D., Kelley W.D. 1992. Effects of a triazole, uniconazol, on shoot elongation and root growth in loblolly pine. *Canadian Journal Forest Research* 22(1): 1–4. DOI 10.1139/x92-001.
- Blum M., Waldner M., Gisi U. 2010. A single point mutation in the novel PvCesA3 gene confers resistance to the carboxylic acid amide fungicide mandipropamid in *Plasmopara viticola*. *Fungal Genetics and Biology* 47: 499–510. DOI 10.1016/j.fgb.2010.02.009.
- Brent K. J. 1982. Case study 4: Powdery mildews of barley and cucumber. In: Fungicide Resistance in Crop Protection (eds. J. Dekker, S.G. Georgopoulos), Pudoc, Wageningen, 219–230.
- Brent K. J., Hollomon D.W. 2007. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? FRAC Monograph No. 1. Pp. 60.
- Brown S., Koike S.T., Ochoa O.E., Laemmlein F., Michelmore R.W. 2004. Insensitivity to the fungicide fosetyl-aluminum in California isolates of the lettuce downy mildew pathogen, *Bremia lactucae*. *Plant Disease* 88: 502–8. DOI 10.1094/PDIS.2004.88.5.502.
- Campagnac E., Fontaine J., Lounès-Hadj Sahraoui A., Laruelle F., Durand R., Grandmougin-Ferjani A. 2009. Fenpropimorph slows down the sterol pathway and the development of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Mycorrhiza* 19(6): 365–374. DOI 10.1007/s00572-009-0238-1.
- Campagnac E., Fontaine J., Sahraoui A.L., Laruelle F., Durand R., Grandmougin-Ferjani A. 2008. Differential effects of fenpropimorph and fenhexamid, two sterol biosynthesis inhibitor fungicides, on arbuscular mycorrhizal development and sterol metabolism in carrot roots. *Phytochemistry* 69(17): 2912–2919. DOI 10.1016/j.phytochem.2008.09.009.
- Cardenas-Flores A., Cranenbrouck S., Draye X., Guillet A., Govaerts B., Declerck S. 2011. The sterol biosynthesis inhibitor molecule fenhexamid impacts the vegetative compatibility of *Glomus clarum*. *Mycorrhiza* 21(5): 443–449. DOI 10.1007/s00572-011-0385-z.
- Caux P.Y., Kent R.A., Fan G.T. 1996. Environmental fate and effects of chlorothalonil: a Canadian perspective. *Critical Review of Environmental Science and Technology* 26: 45–93. DOI 10.1080/10643389609388486.
- Chen F., Liu X., Chen S., Schnabel E., Schnabel G. 2013. Characterization of *Monilinia fructicola* strains resistant to both propiconazole and boscalid. *Plant Disease* 97: 645–651. DOI 10.1094/PDIS-10-12-0924-RE.
- Chen G. 2010. Laboratory evaluation of borate amine borate derivatives in wood for fungal decay. The International Research Group on Wood Protection, (Biarritz - France), IRG/WP 10-30543, 20 p.
- Chen L., Zhu S., Lu X., Pang Z., Cai M., Liu X. 2012. Assessing the Risk That *Phytophthora melonis* Can Develop a Point Mutation (V1109L) in Cesa3 Conferring Resistance to Carboxylic Acid Amide Fungicides. *PLoS ONE* 7(7): e42069. DOI 10.1371/journal.pone.0042069.
- Chen S.K., Edwards C. A., Subler S. 2001. Effects of the fungicides benomyl, captan and chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. *Soil Biology and Biochemistry* 33(14): 1971–1980. DOI 10.1016/S0038-0717(01).
- Chen S.K., Edwards C.A. 2001. A microcosm approach to assess the effects of fungicides on soil ecological processes and plant growth: comparisons of two soil types. *Soil Biology and Biochemistry* 33(14): 1981–1991. DOI 10.1016/S0038-0717(01).
- Chiocchio V., Venedikian N., Martinez A. E., Menendez A., Ocampo J. A., Godeas A. 2000. Effect of the fungicide benomyl on spore germination and hyphal length of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *International Microbiology* 3: 173–175.
- Choi S.M., Ruddick J.N.R., Morris P.I. 2001. The possible role of mobile CCA components in preventing spore germination in checked surfaces, in treated wood exposed above ground. The International Research Group on Wood Preservation. (Nara-Japan). IRG/WP 01-30263, 16 p.
- Cobon G.S., Haslam J.M. 1973. The effect of altered membrane sterol composition on the temperature dependence of yeast mitochondrial ATPase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 52: 320–326. DOI 10.1016/0006-291X(73)90990-X.

- Cohen Y., Coffey M.D. 1986. Systemic fungicides and the control of *Oomycetes*. *Annual Review Phytopathology* 24: 311–338. DOI 10.1146/annurev.py.24.090186.001523.
- Coolbaugh R.C., Swanson D.I., West C.A. 1982. Comparative Effects of Ancymidol and Its Analogs on Growth of Peas and Ent-Kaurene Oxidation in Cell-Free Extracts of Immature *Marah Macrocarpus* Endosperm. *Plant Physiology* 69(3): 707–711. DOI 10.1104/pp.69.3.707.
- Cristani C., Gambogi P. 1993. Laboratory isolation of *Microdochium (Fusarium) nivale* mutants showing reduced sensitivity to sterol biosynthesis inhibitors. *Rivista di Patologia Vegetale* 3: 49–57.
- Cycoń M., Wójcik M., Piotrowska-Seget Z. 2011. Biodegradation kinetics of the benzimidazole fungicide thiophanate-methyl by bacteria isolated from loamy sand soil. *Biodegradation* 22: 573–583. DOI 10.1007/s10532-010-9430-4.
- Daniel R. Guest D. 2005. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67: 194–201. DOI 10.1016/j.pmpp.2006.01.003.
- Daniel R., Wilson B.A., Cahill D.M. 2005. Potassium phosphonate alters the defence response of *Xanthorrhoea australis* following infection by *Phytophthora cinnamomi*. *Australasian Plant Pathology* 34: 541–558. DOI 10.1071/AP05074.
- Debieu D., Bach J., Lasseron A., Arnold A., Brousset S., Gredt M., Taton M., Rahier A., Malosse C., Leroux P. 2000. Inhibition of ergosterol biosynthesis by morpholine, piperidine, and spiroketalamine fungicides in *Microdochium nivale*: effect on sterol composition and sterol  $\Delta 8 \rightarrow \Delta 7$ -isomerase activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 67: 85–94. DOI 10.1006/pest.2000.2485.
- Delye C., Laigret F., Corio-Costet M.-F. 1997. A mutation in the 14<sub>-</sub>demethylase gene of *Uncinula necator* that correlates with resistance to a sterol biosynthesis inhibitor. *Applied Environmental Microbiology* 63: 2966–2970.
- Dercks W., Creasy L. 1989. Influence of fosetyl-Al on phytoalexin accumulation in the Plasmopara viticola-grapevine interaction. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 34(3): 203–213. DOI 10.1016/0885-5765(89)90044-1.
- Derevagina M.K., Elanskij S.N., D'akov Y.T. 1999. Rezistentnost' *Phytophthora infestans* k fungicidu dimetorfustat'ã. *Mikologija i Fitopatologija* 33(3): 208–213.
- Dobrowolski M.P., Shearer B.L., Colquhoun I.J., O'Brien P.A. Hardy G.E.St.J. 2008. Selection for decreased sensitivity to phosphite in *Phytophthora cinnamomi* with prolonged use of fungicide. *Plant Pathology* 57: 928–936. DOI 10.1071/BT00062.
- Draper A., Cullinan P., Campbell C. 2003. Occupational asthma from fungicides fluazinam and chlorothalonil. *Occupational and Environmental Medicine* 60: 76–77.
- Edgington L.V. 1981. Structural Requirements of Systemic Fungicides. *Annual Review of Phytopathology* 19: 107–124. DOI 10.1146/annurev.py.19.090181.000543.
- EFSA. 2013. The 2010 European Union Report on Pesticide Residues in Food. *EFSA Journal* (3): 3130 [808 pp.].
- Eggers J., Juzwik J., Bernick S., Mordaunt L. 2005. Evaluation of propiconazole operational treatments of oaks for oak wilt control. Research Note NC-390. United States Department of Agriculture-Forest Service, North Central Research Station, 6 p.
- Elliott M.L. 1999. Effect of Demethylation Inhibiting Fungicides on 'Tifgreen' Bermudagrass Quality. *HortTechnology* 9(2): 195–197.
- Englander L., Merlino J.A., McGuire J.J. 1980. Efficacy of two new systemic fungicides and ethazole for control of *Phytophthora* root rot of rhododendron, and spread of *Phytophthora cinnamomi* in propagation benches. *Phytopathology* 70: 1175–1179. DOI 10.1094/Phyto-70-1175.
- Felsenstein F.G., Steden C., Speich J. 1994. Shifts in morpholine sensitivity of the wheat powdery mildew pathogen, *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* and their influence on disease control. Proceedings of the Brighton Crop Protection. Conference - Pests & Diseases, 475–480.
- 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): 1–9.
- Garbelotto M., Harnik T.Y., Schmidt D.J. 2009. Efficacy of phosphonic acid, metalaxyl-M and copper hydroxide against *Phytophthora ramorum* in vitro and in planta. *Plant Pathology* 58: 111–119. DOI 10.1111/j.1365-3059.2008.01894.x.
- Gibson I. A. S. 1958. Phytotoxic effects of copper fungicides on acid soils. *East African Agricultural Journal* 24(2): 125–127.
- Gisi U., Lamberth C., Mehl A., Seitz T. 2007. Carboxylic acid amide (CAA) fungicides. Modern crop protection compounds. Second Edition. Wiley-VCH Verlag. pp. 651–674.
- Glaab J., Kaiser W.M. 1999. Increased nitrate reductase activity in leaf tissue after application of the fungicide kresoxim-methyl. *Planta* 207(3): 442–448. DOI 10.1007/s004250050503.
- Głowacka B., Kolk A., Janiszewski W., Rosa-Gruszecka A., Pudelko M., Łukaszewicz J., Krajewski S. 2013. Środki ochrony roślin oraz produkty do rozkładu pni drzew leśnych zalecane do stosowania w leśnictwie w roku 2013. Instytut Badawczy Leśnictwa Analizy i Raporty-19. Wyd. IBL, 77 s.
- Görtz A., Oerke E.C., Puhl T., Steiner U. 2008. Effect of environmental conditions on plant growth regulator activity of fungicidal seed treatments of barley. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 82: 60–68.
- Grant B.R., Dunstan R.H., Griffith J.M., Niere J.O. Smillie R.H. 1990. The mechanism of phosphonic (phosphorous) acid action in *Phytophthora*. *Australasian Plant Pathology* 19(4): 115–121. DOI 10.1071/APP9900115.
- Grossman K., Kwiatkowski J., Caspar G. 1999. Regulation of phytohormone levels, leaf senescence and transpiration by the strobilurin kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Plant Physiology* 154(5-6): 805–808. DOI 10.1016/S0176-1617(99)80262-4.
- Guest D.I. Grant B. 1991. The complex action of phosphonates as antifungal agents. *Biological Reviews* 66: 159–187. DOI 10.1111/j.1469-185X.1991.tb01139.x.
- Gullino M.L., Tinivella F., Garibaldi A., Kemmitt G.M., Bacci L., Sheppard B. 2010. Mancozeb past, present and future. *Plant Disease* 94(9): 1076–1087. DOI 10.1094/PDIS-94-9-1076.
- 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<sub>-</sub>demethylase gene (*CYP51*) in *Penicillium digitatum*. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3421–3426.
- Hardy G.E.St.J., Barrett S., Shearer B.L. 2001. The future of phosphite as a fungicide to control the soilborne plant pathogen *Phytophthora cinnamomi* in natural ecosystems. *Australasian Plant Pathology* 30: 133–139. DOI 10.1071/AP01012.
- Härtner H., Barth V. 1996. Effectiveness and synergistic effects between copper and polymer betaine. The International Research Group on Wood Preservation, IRG/WP 96- 30097.

- Hastrup A., Ch.S., Green I.I.F., Clausen C., Jensen B. 2005. *Serpula lacrymans* – the dry rot fungus tolerance towards copper-based wood preservatives. The International Research Group on Wood Protection, (Bangalore - India), IRG/WP 05-10555, 7 p.
- Haugen L., Stennes M. 1999. Fungicide injection to control Dutch elm disease: Understanding the options. *Plant Diagnostic Quarterly* 20: 29–38.
- Hollomon D. W. 1979. Evidence that ethirimol may interfere with adenine metabolism during primary infection of barley powdery mildew. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 10: 181–189. DOI: 10.1016/0048-3575(79)90020-8.
- Hollomon D. W., Chamberlain K. 1981. Hydroxypyrimidine fungicides inhibit adenosine deaminase in barley powdery mildew. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 16: 158–169. DOI: 10.1016/0048-3575.
- Hollomon D.W., Schmidt H.H. 1987. Modern selective fungicides: properties, applications, mechanisms of action. Longman Scientific & Technical Uniwersytet Cornell. pp.383.
- Hu J., Hong C. 2007. Effects of propamocarb hydrochloride on mycelial growth, sporulation, and infection by *Phytophthora nicotianae* isolates from Virginia nurseries. *Plant Disease* 91(4): 414–420. DOI 10.1094/PDIS-91-4-0414.
- James R.L., Woo J.Y. 1984. Fungicide trials to control Botrytis blight at nurseries in Idaho and Montana. *Tree Planter's Notes*: 35(4): 16–19.
- Joffrion T.M., Cushion M.T. 2010. Sterol biosynthesis and sterol uptake in the fungal pathogen *Pneumocystis carinii*. *FEMS Microbiology Letters* 311: 1–9. DOI 10.1111/j.1574-6968.2010.02007.x.
- Kalamarakis A.E., De Waard M.A., Ziogas B.N., Georgopoulos S.G. 1991. Resistance to fenarimol in *Nectria haematococca* var *curbitae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 40: 212 – 220. DOI 10.1016/0048-3575(91)90092-Z.
- Kerkenaar A. 1995. Mechanism of action of cyclic amine fungicides: morpholines and piperidines, in *Modern Selective Fungicides*. Lyr, H., Editor. Gustav Fischer Verlag: New York. p. 185–204.
- Kim Y.S., Dixon P., 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: 891–900. DOI 10.1094/PHYTO.2003.93.7.891.
- Köchle H., Grossmann K., Jabs T., Stierl R., Gerhard M., Kaiser W., Glaab J., Conrath U., Seehaus K., Herms S. 2003. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants, in: *Modern Fungicides and Antifungal Compounds III*. (eds. H. Lyr, P.E. Russell, H-W. Dehne, H.D. Sisler) Andover, 61–74.
- Koo B.S., Park H., Kalme S. 2009.  $\alpha$ - and  $\beta$ -tubulin from *Phytophthora capsici* KACC 40483: molecular cloning, biochemical characterization, and antimicrotubule screening. *Applied Microbiology and Biotechnology* 82(3): 513–524. DOI 10.1007/s00253-008-1821-7.
- Kuc T., Aleksandrowicz-Trzcńska M. 2012. Wpływ fungicydów stosowanych w ochronie przed mączniakiem prawdziwym na wzrost i kolonizację mikoryzową hodowanych w kontenerach sadzonek dębu. *Sylwan* 156(9): 672–683.
- Laatikainen T. 2006. Pesticide induced responses in ectomycorrhizal fungi and symbiont scots pine seedlings. *Koupio University Publications C. Natural and Environmental Sciences* 201: 180 p.
- Laatikainen T., Heinonen-Tanski H. 2002. Mycorrhizal growth in pure cultures in the presence of pesticides. *Microbiological Research* 157: 127–137. DOI 10.1078/0944-5013-00139.
- 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: 167–184. DOI 10.1006/pest.1999.2424.
- Lees N.D., Bard M., Kemple M.D., Haak R.A. Kleinhans F.W. 1979. ESR determination of membrane order parameter in yeast sterol mutants. *Biochimica et Biophysica Acta* 553: 469–475. DOI 10.1016/0005-2736(79)90302-X.
- Leroux P., Chapeland F., Desbrosses D., Gredt M. 1999. Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. *Crop Protection* 18: 687–697. DOI 10.1016/S0261-2194(99)00074-5.
- Li Y.; Zhang H.Q., Liu J., Yang X.P., Liu Z.J. 2006. Stereoselective Synthesis and Antifungal Activities of (E)- $\alpha$ -(Methoxyimino) benzeneacetate Derivatives Containing 1,3,5-Substituted Pyrazole Ring. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 54: 3636–3640. DOI 10.1021/jf060074f.
- 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: 853–863. DOI 10.1016/j.cropro.2005.01.011.
- Malita V. 2008. Naturally occurring enolethers. *Acta Chimica Slovaca* 1(1): 221– 237.
- Manninen A.M., Laatikainen T., Holopainen T. 1998. Condition of Scots pine fine roots and mycorrhiza after fungicide application and low-level ozone exposure in a 2- year field experiment. *Trees* 12: 347–355. DOI 10.1007/s004680050161.
- Marshall J.A., Dennis A.L., Kumazawa T., Haynes A.M., Nes W.D. 2001. Soybean sterol composition and utilization by *Phytophthora sojae*. *Phytochemistry* 58: 423–428. DOI 10.1016/S0031-9422(01)00219-9.
- Martens D.A., Bremner J.M. 1997. Inhibitory effects of fungicides on hydrolysis of urea and nitrification of urea nitrogen in soil. *Pesticide Science* 49: 344–352. DOI 10.1002/(SICI)1096-9063(199704).
- May L.L., Kimati H. 2000. Controle de *Phytophthora parasitica* com fungicidas e efeito desses produtos no crescimento micelial de *Trichoderma*. *Summa Phytopathologica* 26: 52–57.
- McGrath M. T. 2001. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew, experiences and challenges. *Plant Disease* 85: 236–245. DOI 10.1094/PDIS.2001.85.3.236.
- McKay A.H., Hagerty G.C., Follas G.B., Moore M.S., Christie M.S., Beresford R.M. 2011. Succinate dehydrogenase inhibitor (SDHI) fungicide resistance prevention strategy. *New Zealand Plant Protection* 64: 119–124.
- Mellado E., Diaz-Guerra T.M., Cuenca-Esterella M., Rodriguez-Tudela J.L. 2001. Identification of two different 14\_ sterol demethylase-related genes (*cyp51A* and *cyp51B*) in *Aspergillus fumigatus* and other *Aspergillus* species. *Journal of Clinical Microbiology* 39: 2431–2438. DOI 10.1128/JCM.39.7.2431-2438.2001.
- Meng Q.X., Cui X .L., Bi Y , Wang Q., Hao J.J. 2011. Biological and genetic characterization of *Phytophthora capsici* mutants resistant to flumorph. *Plant Pathology* 60: 957–966. DOI 10.1111/j.1365-3059.2011.02454.x.
- Milenkovski S., Baath E., Lindgren P. E., Berglund O. 2010. Toxicity of fungicides to natural bacterial communities in wetland water and sediment measured using leucine incorporation and potential denitrification. *Ecotoxicology* 19(2): 285–294. DOI 10.1007/s10646-009-0411-5.
- Miyamoto T., Ishii H., Seko T., Kobori S., Tomita Y. 2009. Occurrence of *Corynespora cassicola* isolates resistant to boscalid on



- cucumber in Ibaraki Prefecture, Japan. *Plant Pathology* 58(6): 1144–1151. DOI 10.1111/j.1365-3059.2009.02151.x.
- Moore M.S., Follas G.B., Hagerty G.C., Beresford R.M. 2008. Carboxylic acid amide (CAA) fungicide resistance prevention strategy. *New Zealand Plant Protection* 61:134–136.
- Moorman G.W., Kang S., Geiser D.M., Kim S.H. 2002. Identification and characterisation of *Pythium* species associated with greenhouse floral crops in Pennsylvania. *Plant Disease* 86: 1227–1231. DOI 10.1094/PDIS.2002.86.11.1227.
- Napier B.A.S., Bayles R.A., Stigwood P.L. 2000. Sensitivity of powdery mildew and yellow rust to DMI, morpholine and strobilurin fungicides in England and Scotland. Proceedings of the BCPC Conference Pests & Diseases, 427–434.
- O'Brien R.G., Vawdrey L.L., Glass R.J. 1988. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew *Sphaerotheca fuliginea* and its effect on field control. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 28: 417–424. DOI 10.1071/EA9880417.
- Orbovic V., Achor D., Syvertsen J.P. 2007. Adjuvants Affect Penetration of Copper Through Isolated Cuticles of Citrus Leaves and Fruit. *Hortscience* 42(6): 1405–1408.
- Pap P., Rankovic B., Masirevic S. 2012. Significance and need of powdery mildew control (*Microsphaera alphitoides* Griff. et Maubl.) in the process of regeneration of the pedunculate oak (*Quercus robur* L.) stands in the Ravni Srem area. *Periodicum Biologorum* 114(1): 91–102.
- Papavizas G.C., O'Neill N.R., Lewis J.A. 1978. Fungistatic activity of propyl-N (alphanodimethylaminopropyl) carbamate on *Pythium* spp. and its reversal by sterols. *Phytopathology* 68: 1667–1671.
- Peacock K.L., Fulbright D.W. 2007. Effective longevity of propiconazole following injection into *Quercus rubra*. Pp. 181–190. In: Proceedings of the 2nd National Oak Wilt Symposium, Austin, Texas.
- Pilbeam R.A., Howard K., Shearer B.L., Hardy G.E.St.J. 2011. Phosphite stimulated histological responses of *Eucalyptus marginata* to infection by *Phytophthora cinnamomi*. *Trees - Structure and Function* 25: 1121–1131. DOI 10.1007/s00468-011-0587-1.
- Pommer E.H., 1995. Morpholine fungicides and related compounds, in: Modern Selective Fungicides—Properties, Applications, Mechanisms of Action (ed. H. Lyr.), Gustav Fisher—Verlag, Jena, Germany, 163–183.
- Rademacher W. 2000. Growth Retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 501–531. DOI 10.1146/annurev.arplant.51.1.501.
- Rapp L., Richter J. 1982. Effect of propamocarb-hydrochloride (Previcur N) on several isolates of some *Pythium* and *Phytophthora* species in vitro and in vivo. *Journal for Plant Diseases and Plant Protection* 89: 487–497. DOI 10.1094/PDIS-91-4-0414.
- Rathinasamy K., Panda D. 2006. Suppression of microtubule dynamics by benomyl decreases tension across kinetochore pairs and induces apoptosis in cancer cells. *FEBS Journal* 273(17): 4114–4128. DOI 10.1111/j.1742-4658.2006.05413.x
- Rhodes L.H., Larser P.O. 1981. Effects of fungicides on mycorrhizal development of creeping bentgrass. *Plant Disease* 65: 145–147. DOI 10.1094/PD-65-145.
- Ruske R.E., Gooding M.J., Jones S.A. 2003. The effects of triazole and strobilurin fungicide programmes on nitrogen uptake, partitioning, remobilization and grain N accumulation in winter wheat cultivars. *The Journal of Agricultural Science* 140(4): 395–407. DOI 10.1017/s0021859603003228.
- Samoucha Y., Cohen Y. 1990. Toxicity of propamocarb to the late blight fungus on potato. *Phytoparasitica* 18: 27–40. DOI 10.1007/BF02980824.
- Schramm G., Steglich W., Anke T., Oberwinkler F. 1978. Antibiotika aus Basidiomyceten, III. Strobilurin A und B, antifungische Stoffwechselprodukte aus *Strobilurus tenacellus*. *Chemische Berichte* 111: 2779–2784. DOI 10.1002/cber.19781110806.
- 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. DOI 10.1002/ps.1330.
- Sigler W.V., Turco R.F. 2002. The impact of chlorothalonil application on soil bacterial and fungal populations as assessed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied Soil Ecology* 21: 107–118. DOI 10.1016/j.chemosphere.2007.04.042.
- Smillie R., Grant B.R., Guest D. 1989. The mode of action of phosphite for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. *Phytopathology* 79: 921–926. DOI 10.1094/Phyto-79-921.
- Sreenivasa M.N., Bagyaraj D.J. 1989. Use of pesticides for mass production of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculum. *Plant Soil* 119: 127–132. DOI 10.1007/BF02370276.
- Stammler G., Brix H. D., Glatzli A., Semar M., Schoefl U. 2007. Biological properties of the carboxamide boscalid including recent studies on its mode of action. in: *Proc. XVI Intentional Plant Protection Congress, Glasgow*, p 40–45.
- Tyler B.M., Tripathy S., Zhang X., Dehal P., Jiang R.H., Aerts A., Arredondo F.D., Baxter L., Bensasson D., Beynon J.L. 2006. *Phytophthora* genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis. *Science* 313: 1261–1266. DOI 10.1126/Science.1128796.
- Wang G., Liang B., Li F., Li S. 2011. Recent advances in the biodegradation of chlorothalonil. *Current Microbiology* 63(5): 450–457. DOI 10.1007/s00284-011-0001-7.
- Wang H.C., Sun H.Y., Stammler G., Ma J.X., Zhou M.G. 2009. Baseline and differential sensitivity of *Peronophythora litchii* (lychee downy blight) to three carboxylic acid amide fungicides. *Plant Pathology* 58: 571–576. DOI 10.1111/j.1365-3059.2008.01990.x.
- Wilde T.H. 1990. Propamocarb-HCl, a fungicide suitable for integrated pest management. Pages 303–306 in: *Tomato and Pepper Production in the Tropics*. Proc. Intl. Sympos. Integrated Management Practices. Taiwan.
- Wilkinson, C.J., Holmes, J.M., Dell, B., Tynan, K.M., McComb, J.A., Shearer, B.L., Colquhoun, I.J. and Hardy, G.E.St.J. 2001. Effect of phosphite on *in planta* zoospore production of *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology* 50: 587–593. DOI 10.1046/j.1365-3059.2001.00605.x.
- Wilson A.D., Lester D.G. 2002. Trench inserts as long-term barriers to root transmission for control of oak wilt. *Plant Disease* 86: 1067–1074. DOI 10.1094/PDIS.2002.86.10.1067.
- Wong F.P., Wilcox W.F. 2001. Comparative physical modes of action of azoxystrobin, mancozeb, and metalaxyl against *Plasmopara viticola* (grapevine downy mildew). *Plant Disease* 85: 649–656. DOI 10.1094/pdis.2001.85.6.649.
- Wood H. M., Dickinson M. J., Lucas J. A., Dyer P.S. 2001. Cloning of the *CYP51* gene from the eyespot pathogen *Tapesia yallundae* indicates that resistance to the DMI fungicide prochloraz is not related to sequence changes in the gene encoding the target site enzyme. *FEMS Microbiology Letters* 196: 183–187. DOI 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10562.x.
- Wu Y.X., von Tiedemann A. 2002. Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone. *Environmental Pollution* 116(1): 37–47. DOI 10.1016/S0269-7491(01)00174-9.
- www.frac.info [9.12.2013].

- Xiong D., Li Y., Xiong Y., Li X., Xiao Y., Qin Z., Xiao Y. 2014. Influence of boscalid on the activities of soil enzymes and soil respiration. *European Journal of Soil Biology* 61: 1–5. DOI 10.1016/j.ejsobi.2013.12.006
- Yang C., Hamel C., Vujanovic V., Gan Y. 2011. Fungicide: Modes of Action and Possible Impact on Nontarget Microorganisms. *ISRN Ecology* 2011: 1–8. DOI 10.5402/2011/130289.
- 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: 986–995. DOI: 10.1094/PHYTO-01-11-0016.
- Yin Y., Liu X., Li B., Ma Z. 2009. Characterization of sterol demethylation inhibitor-resistant isolates of *Fusarium asiaticum* and *F. graminearum* collected from wheat in China. *Phytopathology* 99(5): 487–497. DOI 10.1094/PHYTO-99-5-0487.
- Young D.H., Spiewak S.L., Slawicki R.A. 2001. Laboratory studies to assess the risk of development of resistance to zoxamide. *Pest Management Science* 57: 1081–1087. DOI 10.1002/ps.399.
- Zhang C.Q., Liu Y.H., Ma X.Y., Feng Z., Ma Z.H. 2009. Characterization of sensitivity of *Rhizoctonia solani*, causing rice sheath blight, to mepronil and boscalid. *Crop Protection* 28: 381–386. DOI 10.1016/j.cropro.2008.12.004.
- Zhang X., Gao Y.X., Liu H.J., Guo B.Y., Wang H.L. 2012. Design, Synthesis and Antifungal Activities of Novel Strobilurin Derivatives Containing Pyrimidine Moieties. *Bulletin of The Korean Chemical Society* 33(8): 2627–2634. DOI 10.3390/molecules190914036
- Zhu S., Liu P., Liu X., Li J., Yuan S., Si N. 2008. Assessing the risk of resistance in *Pseudoperonospora cubensis* to the fungicide flumorph in vitro. *Pest Management Science* 64(3): 255–261. DOI 10.1002/ps.1515.
- Zwiers L.-H., Stergiopoulos I., Van Nistelrooy J.G.M., De Waard M.A. 2002. ABC transporters and azole susceptibility in laboratory strains of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 46: 3900–3906. DOI 10.1128/AAC.46.12.3900-3906.2002.

### Wkład autorów

A.O., T.O., A.P., J.N. – koncepcja pracy; A.O. – przygotowanie maszynopisu, T.O, J.N. – korekta tekstu pod kątem redakcyjnym i merytorycznym; A.P. – przygotowanie tabel oraz zbieranie materiałów.