

**Dario IVIĆ<sup>1</sup>, Bogdan CVJETKOVIĆ<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Zavod za zaštitu bilja, Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju  
dario.ivic@hcphs.hr

## REZISTENTNOST BILJNIH PATOGENA NA FUNGICIDE U HRVATSKOJ

### SAŽETAK

Relativno je malo objavljenih radova o istraživanjima rezistentnosti fitopatogenih gljiva i pseudogljiva na fungicide u Hrvatskoj. Tijekom proteklih 30-ak godina zabilježeni su slučajevi pada učinkovitosti benzimidazola (karbendazim i benomil) na pjegavost lista šećerne repe (*Cercospora beticola*), metalaksila na plamenjaču krumpira (*Phytophthora infestans*), nekih triazola i strobilurina na pepelnicu vinove loze (*Erysiphe necator*) i dikarboksimida (vinklozolin i iprodion) na sivu plijesan (*Botrytis cinerea*). Rezistentnost *B. cinerea* na dikarboksimide i rezistentnost *E. necator* na inhibitor biosinteze ergostelo triadimefon dokazani su i laboratorijski. Istraživanja fenotipske varijabilnosti gljive *B. cinerea* pokazala su da unutar populacija patogena na vinovoj lozi i na jagodi postoje jedinke rezistentne na pirimetanil, ciprodinil, fludioksonil i fenheksamid, ali javljaju se u vrlo malom postotku. Praćenje pojave rezistentnosti biljnih patogena na regionalnoj ili nacionalnoj razini važno je za postizanje racionalne, učinkovite i održive uporabe fungicida.

**Ključne riječi:** fungicidi, gljive, pseudogljive, rezistentnost

### UVOD

Gotovo svi mikroorganizmi odlikuju se brзом reprodukcijom i izraženom sposobnošću prilagodbe na vanjske uvjete. Sposobnost prilagodbe na kemijske spojeve koji zaustavljaju ili ometaju njihov razvoj dovodi do pojave rezistentnosti ili smanjene osjetljivosti. Kao što rezistentnost bakterija na antibiotike danas predstavlja velik problem u zdravstvu i u veterini, tako rezistentnost fitopatogenih gljiva i pseudogljiva na fungicide može uzrokovati probleme u zaštiti bilja od bolesti. Posljedica pojave rezistentnosti jest pad učinkovitosti sredstava za zaštitu bilja, što može dovesti do šteta u proizvodnji, ali i do gubitaka za proizvođača sredstva koje je izgubilo učinkovitosti. Pad učinkovitosti nekog sredstva može dugoročno otežati zaštitu od biljnih bolesti na nekom području zbog nepostojanja učinkovitog sredstva, a poljoprivredni proizvođači mogu izgubiti povjerenje u pojedinog proizvođača sredstva za zaštitu bilja. Da se takve situacije spriječe, svakako je potrebno da slučajevi pojave rezistentnosti ili slučajevi pada učinkovitosti sredstava za zaštitu bilja budu objavljeni i dostupni svima profesionalno uključenima u zaštitu bilja –

.....

poljoprivrednim proizvođačima, proizvođačima i distributerima sredstava za zaštitu bilja te stručnjacima u području zaštite bilja.

Nažalost, u Hrvatskoj ne postoji sustavno praćenje rezistentnosti biljnih patogena na fungicide na nacionalnoj razini. Velika je vjerojatnost da u Hrvatskoj ostaju nezabilježeni brojni slučajevi rezistentnosti ili smanjene osjetljivosti uzročnika biljnih bolesti na fungicide. Slabiju ili slabu učinkovitost nekih fungicida na pojedine biljne bolesti mogu opaziti pojedinačni proizvođači i ona može biti poznata na nekom području ili je mogu uočiti stručnjaci koji prate određenu poljoprivrednu proizvodnju. Takva zapažanja uglavnom ostaju neobjavljena te na taj način ostaju nepoznata širem krugu poljoprivrednika i agronomске stručne zajednice. S druge strane, veliki proizvođači sredstava za zaštitu bilja prate osjetljivost i promjene u osjetljivosti na fungicide unutar populacija najvažnijih biljnih patogena. Takva praćenja provode se u čitavoj Europi, no velik dio tako prikupljenih podataka također se ne objavljuje. Podatci o osjetljivosti na pojedine aktivne tvari unutar populacija uzročnika biljnih bolesti služe proizvođačima sredstava za osmišljavanje novih proizvoda, za izradu učinkovitijih preporučenih strategija zaštite, za planiranje nastupa na tržištu te za registraciju i ponovnu registraciju sredstava za zaštitu bilja.

U takvim okolnostima, relativno je malo objavljenih istraživanja o rezistentnosti fitopatogenih gljiva i pseudogljiva na fungicide u Hrvatskoj. O problemu rezistentnosti uzročnika biljnih bolesti na fungicide pisao je Panjan još 1952. godine (Panjan, 1952). Ipak, problem rezistentnosti biljnih patogena na fungicide u praksi se javio tek nakon izlaska na tržište i masovnog korištenja sistemskih fungicida s jednostrukim djelovanjem u metabolizmu gljiva i pseudogljiva (tzv. *'single-site'* fungicidi). Na mogućnost te pojave u Hrvatskoj upozorio je Kišpatić prije više od 40 godina (Kišpatić, 1974).

## ZABILJEŽENI SLUČAJEVI PADA UČINKOVITOSTI FUNGICIDA

Promjene u osjetljivosti na fungicide unutar populacija uzročnika biljnih bolesti moguće je dokazati jedino u laboratorijskim uvjetima. Ipak, prvu pretpostavku pojave rezistentnosti ili smanjene osjetljivosti uzročnika biljnih bolesti pružaju i poljski pokusi učinkovitosti fungicida. Neka takva istraživanja u Hrvatskoj posredno upućuju na vrlo vjerojatnu ili moguću pojavu rezistentnosti nekih gljiva i pseudogljiva na pojedine aktivne tvari. Prvi takvi slučajevi koji su objavljeni vezani su uz pad djelotvornosti fungicida iz skupine benzimidazola na pjegavost lista šećerne repe (*Cercospora beticola*). Pad učinkovitosti fungicida u prvo vrijeme uočen je samo na pojedinim lokalitetima, ali s vremenom je ta pojava uočena na većem broju lokacija. U pokusima Cvjetkovića i sur. (1987), sredstvo Bavistin® (karbendazim) postiglo je učinak od samo 30 %, a učinkovitost drugih fungicida kretala se od 61 % do više od 90 %. U pokusima koje je proveo i čije je rezultate objavio Tomić (1993), učinkovitost fungicida

Bavistin®, Bavistin FL® (karbendazim) i Benlate® (benomil) kretala se od 19 % do 33 %, a učinkovitost drugih sistemskih fungicida na pjegavost lista bila je znatno viša. Navedenim je istraživanjima posredno dokazana rezistentnost gljive *C. beticola* u Hrvatskoj prema fungicidima iz skupine benzimidazola. Benzimidazoli su prva skupina sistemskih fungicida u kojih je zabilježen drastičan pad učinkovitosti na neke uzročnike biljnih bolesti zbog pojave rezistentnosti. Masovno su korišteni za suzbijanje pjegavosti lista šećerne repe od početka 1970-ih, no relativno brzo pojavila se rezistentnost u mnogim područjima uzgoja šećerne repe (Karaoglanidis i Ioannidis, 2010).

Od početka 21. stoljeća pad učinkovitosti fungicida zabilježen je u pokusima suzbijanja dvaju važnih biljnih bolesti, pepelnice vinove loze (*Erysiphe necator*) i plamenjače krumpira (*Phytophthora infestans*). Oba slučaja zabilježena su u Međimurju (Šubić, 2013; 2015). U slučaju pepelnice vinove loze, Šubić (2013) navodi da su aktivne tvari iz skupine strobilurina do 2009. bile među najučinkovitijima u suzbijanju te bolesti. Međutim, od 2010. zabilježen je pad njihove učinkovitosti (Šubić, 2013). U pokusima provedenima u Međimurju, učinkovitost sredstva Zato 50 WG® (trifloksistrobin) u 2012. godini bila je samo 6 %, učinkovitost sredstva Stroby DF® (kresoksim-metil) u istoj godini bila je 68 %, a učinkovitost sredstava Cabrio Duo DF® (piraklosrobin + dimetomorf) i Cabrio Top DF® (piraklostrobin + metiram) u 2010. godini bila je 16 %, odnosno 9 % (Šubić, 2013). Rezistentnost gljive *E. necator* na strobilurine u tim istraživanjima nije potvrđena u laboratorijskim uvjetima, no nagli pad učinkovitosti većeg broja sredstava koja sadrže strobilurine upućuje na moguću pojavu rezistentnosti, koja je potvrđena u Europi i u Sjevernoj Americi (Dufour i sur., 2010; Miles i sur., 2012).

Velik pad učinkovitosti fungicida koji sadrže metalaksil u suzbijanju plamenjače na krumpiru (*Phytophthora infestans*) također je zabilježen u pokusima u Međimurju (Šubić, 2015). Rezultati poljskih pokusa upućuju na vrlo vjerojatnu pojavu rezistentnosti pseudogljive *P. infestans* na metalaksil, što se u Europi bilježi još od početka 1980-ih (Davidse i sur., 1981).

## LABORATORIJSKA ISTRAŽIVANJA REZISTENTNOSTI

Izlaganjem izolata gljiva ili pseudogljiva različitim količinama određene aktivne tvari te praćenjem njihove reakcije može se točno izračunati koliko je aktivne tvari potrebno da u nekoj mjeri onemogući, uspori ili značajno utječe na životne procese poput rasta micelija, klijanja spora ili izduživanja klične cijevi. Prva takva potvrda rezistentnosti u Hrvatskoj bila je rezistentnost gljive *E. necator*, uzročnika pepelnice vinove loze, na fungicid triadimefon iz skupine inhibitora biosinteze ergosterola (Cvjetković i Isaković, 1992). Rezistentnost na triadimefon dokazana je metodom isječaka listova koje su opisali Cartolaro i Steva (1990). Od sredine 1990-ih do 2005. godine na Agronomskom fakultetu u

Zagrebu predmet znanstvenih istraživanja bila je urođena i stečena rezistentnost gljive *Botrytis cinerea* na pojedine aktivne tvari u fungicidima za suzbijanje sive plijesni. Autori istraživanja interes su ponajprije usmjerili na analizu urođene rezistentnosti unutar populacija spomenutoga patogena, na dinamiku populacije rezistentnih fenotipova te na sadržaj transpozabilnih elemenata u genomu gljive (Topolovec-Pintarić, 2000; Miličević, 2005). Iako znanstveno vrijedna, ta su istraživanja uključivala izolate s relativno malo lokaliteta, iz Kutjeva, Božjakovine, Jastrebarskog, Svete Nedjelje i Donje Lomnice. Uvod u spomenuta istraživanja na neki je način predstavljalo dokazivanje rezistentnosti *B. cinerea* na dikarboksimide (Cvjetković i Topolovec-Pintarić, 1993; Topolovec-Pintarić, 1995; Cvjetković i sur., 1997). Relativno visok postotak rezistentnih izolata *B. cinerea* na dikarboksimide (vinklozolin i iprodion), benzimidazole (benomil) i fenilsulfamide (diklofulanid i tolilfluanid) potvrđen je u kasnijim istraživanjima (Miličević, 2005). S druge strane, izolati *B. cinerea* rezistentni na pirimetanil, ciprodinil, fenheksamid i fludioksonil utvrđeni su u vrlo malom broju unutar istraživanih populacija (Topolovec-Pintarić, 2009; 2000). Učinkovitost fungicida u poljskim pokusima suzbijanja sive plijesni u tim je istraživanjima bila uvelike u skladu s laboratorijski utvrđenom rezistentnosti izolata pa su se najučinkovitijim sredstvima pokazali Teldor SC 500® (fenheksamid), Switch 62,5 WG® (ciprodinil + fludioksonil) i Mythos® (pirimetanil), a sredstva Ronilan DF® (vinklozolin) ili Kidan® (iprodion) bila su slabije učinkovita (Topolovec-Pintarić i Cvjetković, 2001; Miličević, 2005; Miličević i sur., 2006). Primjerice, u poljskim pokusima na vinovoj lozi tijekom 1998. i 1999., učinkovitost sredstva Kidan® primijenjenog u četiri tretiranja bila je prosječno 51 %, Ronilan DF® postigao je učinkovitost od samo 42 %, dok Mythos® je postigao 79 %, Teldor SC 500® 84 %, a Switch 62,5 WG® 89 % učinkovitosti (Topolovec-Pintarić i Cvjetković, 2001). Poljski pokusi pokazali su da vrlo malen broj rezistentnih jedinki *B. cinerea* na fenheksamid, fludioksonil, pirimetanil i ciprodinil nema utjecaja na praktičnu učinkovitost fungicida koji sadrže te aktivne tvari (Topolovec-Pintarić i sur., 2004; Miličević, 2005; Topolovec-Pintarić, 2009).

Relativno malobrojne potvrde rezistentnosti ili moguće rezistentnosti fitopatogenih gljiva i pseudogljiva u Hrvatskoj vezane su uz patogene u kojih postoji visok ili srednje visok rizik od pojave rezistentnosti (*Cercospora beticola*, *Phytophthora infestans*, *Erysiphe necator*, *Botrytis cinerea*). Isto tako, istraživanja dokazuju ili upućuju na to da se rezistentnost javlja na one aktivne tvari kod kojih postoji visok ili srednje visok rizik od pojave rezistentnosti (benzimidazoli, strobilurini, fenilamidi, dikarboksimidi). Da bi se takve pojave spriječile ili da se umanj njihov mogući negativan učinak, svakako je potrebno racionalno koristiti fungicide i obvezatno se držati strategije sprječavanja pojave rezistentnosti. Uz to, u Hrvatskoj bi svakako valjalo razviti sustavniji pristup praćenju i istraživanju rezistentnosti biljnih patogena na fungicide.

---

**RESISTANCE OF PLANT PATHOGENS TO FUNGICIDES IN CROATIA****SUMMARY**

Relatively low number of studies dealing with resistance of phytopathogenic fungi and Oomycetes to fungicides in Croatia is published and publically available. During the last 30 years, several cases of fungicide efficacy loss were recorded in field trials. A decrease in effectiveness was recorded for benzimidazoles (carbendazim and benomyl) in control of sugar beet *Cercospora* leaf spot (*Cercospora beticola*), for metalaxyl in control of potato late blight (*Phytophthora infestans*), for some triazoles and strobilurins in control of grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*), and for dicarboximides (vinclozolin and iprodione) in control of grey mould (*Botrytis cinerea*). Resistance of *B. cinerea* to dicarboximides and resistance of *E. necator* to IBE fungicide triadimefon were proven in laboratory experiments. Studies on phenotypic variability of *B. cinerea* in Croatia showed that isolates resistant to pyrimethanil, cyprodinil, fludioxonil and fenhexamid are present in populations of the fungus on grapevine and on strawberry, but in very low percentage. Resistance monitoring on regional or national level is important for achieving rational, effective and sustainable use of fungicides in agriculture.

**Keywords:** fungicides, fungi, Oomycetes, resistance

**LITERATURA**

**Cartolaro, P., Steva, H.** (1990). Control of powdery mildew infection in grapevine in laboratory. *Phytoma*, 419, 37-40.

**Cvjetković, B., Isaković, Lj., Matijević, D., Stamenković, R., Vladislavljević, T.** (1987). Efikasnost nekih fungicida u suzbijanju sive pjegavosti šećerne repe (*Cercospora beticola*). Zbornik Saveza društava za zaštitu bilja Jugoslavije, 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. Poljoprivredna znanstvena smotra, 57, 141-143.

**Cvjetković, B., Topolovec-Pintarić, S.** (1993). Rezistentnost gljive *Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr. na dikarboksimide u Hrvatskoj. Zbornik predavanj in referatov 1. Slovenskoga posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 199-205.

**Cvjetković, B., Isaković, Lj., Topolovec-Pintarić, S.** (1997). Izkušnje z novimi fungicidi proti sivi plesni in rezistentnost na dikarboksimide. Zbornik predavanj in referatov 3. Slovenskoga posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož, 79-84.

**Davidse, L. C., Looijen, D., Turkensteen, L. J., Vanderwal, D.** (1981). Occurrence of metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato fields. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 87, 65-68.

**Dufour, M.-C., Fontaine, S., Montarry, J., Corio-Costet, M.-F.** (2010). Assessment of fungicide resistance and pathogen diversity in *Erysiphe necator* using quantitative real-time PCR assays. *Pest Management Science*, 67, 60-69.

**Karaoglanidis, G. S., Ioannidis, P. M.** (2010). Fungicide resistance of *Cercospora beticola* in Europe. U: *Cercospora Leaf Spot of Sugar Beet and Related Species* Lartey, Weiland, R. T., Panella, J. J., Crous, L., Windels, P. W. (ur.). APS Press, St. Paul, SAD, 189-213.

**Kišpatić, J.** (1974). O pojavi rezistentnosti parazitskih gljiva na neke sistemne fungicide. *Biljna zaštita*, 1, 23-26.

**Miles, L. A., Miles, T. D., Kirk, W. W., Schilder, A. M. C.** (2012). Strobilurin (QoI) resistance in populations of *Erysiphe necator* on grapes in Michigan. *Plant Disease*, 96, 1621-1628.

**Miličević, T.** (2005). Genotipska i fenotipska varijabilnost unutar populacija patogene gljive *Botryotinia fuckeliana* (De Bary) Whetz. na vinovoj lozi i jagodama. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

**Miličević, T., Topolovec-Pintarić, S., Cvjetković, B., Ivić, D., Duralija, B.** (2006). Sympatric subpopulations of *Botrytis cinerea* on strawberries based on the content of transposable elements and their connection with resistance to botryticides. *Acta Horticulturae*, 708, 115-118.

**Panjan, M.** (1952). Otpornost biljnih bolesti i štetnika prema kemijskim sredstvima. *Agronomski glasnik*, 11, 21-22.

**Šubić, M.** (2015). Pojava i razvoj plamenjače krumpira u Međimurju tijekom 2014. godine. *Glasilo biljne zaštite*, 1/2 – Dodatak, Zbornik sažetaka 59. seminara biljne zaštite, Opatija, 61.

**Šubić, M.** (2013). Pepelnica vinove loze (*Erysiphe necator* Schwein.) – dominantan problem u zdravstvenoj zaštiti međimurskih vinograda. *Glasilo biljne zaštite*, 6, 442-453.

**Tomić, Ž.** (1993). Gljivične bolesti šećerne repe u Hrvatskoj s posebnim osvrtom na njihovo suzbijanje. Magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

**Topolovec-Pintarić, S.** (1995). Rezistentnost gljive *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. na dikarboksimide u nekim vinogradima Hrvatske. Magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

**Topolovec-Pintarić, S.** (2000). Urođena i stečena otpornost *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. na botriticide i suodnos rezistentnih patotipova. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

**Topolovec-Pintarić, S., Cvjetković, B.** (2001). The sensitivity of *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. to new botryticides in the vineyards. Zbornik predavanja i referatov 5. Slovenskoga posvetovanja o varstvu rastlin, Čatež ob Savi, 417-420.

**Topolovec-Pintarić, S., Miličević, T., Cvjetković, B.** (2004). Genetic diversity and dynamic of pyrimethanil-resistant phenotype in population of *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. in one wine-growing area in Croatia. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz – Journal of Plant Diseases and Protection*, 111 (5), 451-460.

**Topolovec-Pintarić, S.** (2009). Resistance risk to new botryticides in *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. In winegrowing areas in Croatia. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz – Journal of Plant Diseases and Protection*, 116 (2), 73-77.

**Pregledni rad**