

## OSJETLJIVOST IZOLATA *Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr. NA FENHEKSAMID I BOSKALID

### SENSITIVITY OF *Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr. ISOLATES TO FENHEXAMID AND BOSCALID

D. Ivić, K. Šimunac, Adrijana Novak

#### SAŽETAK

Osjetljivost fitopatogene gljive *Botrytis cinerea* na fungicide fenheksamid i boskalid istražena je u 2018., 2019. i 2021. godini. Ukupno 46 izolata *B. cinerea* s vinove loze, jagode, borovnice, salate, tikvica, rajčice, graha i različitog ukrasnog bilja sakupljeno je širom Hrvatske. Za testiranje osjetljivosti na obje aktivne tvari odabrane su diskriminatorne koncentracije od 1 mg/l i 50 mg/l na agar podlogama. Niti jedan izolat *B. cinerea* nije pokazao rezistentnost na fenheksamid. Izduživanje kličnih cijevi svih izolata bilo je ispod 40 % od kontrole na 1 mg/l fenheksamida. Izduživanje kličnih cijevi svih izolata bilo je zaustavljeno na 50 mg/l fenheksamida. Ukupno 35 izolata *B. cinerea* (77 %) pokazalo se osjetljivima i na boskalid. Sedam izolata s vinove loze i jagode pokazalo je smanjenu osjetljivost, s izduživanjem kličnih cijevi do 86 % od kontrole na 1 mg/l te do 33 % od kontrole na 50 mg/l boskalida. Četiri izolata, sakupljena s jagode, tikvica, salate i rajčice pokazalo se rezistentnima na boskalid. Konidije rezistentnih izolata klijale su do 49 % od kontrole i stvarale kolonije na 50 mg/l boskalida. Rezultati pokazuju nužnost primjene strategije sprječavanja rezistentnosti u suzbijanju *B. cinerea*.

Ključne riječi: siva plijesan, rezistentnost, fungicidi

#### ABSTRACT

In 2018, 2019 and 2021, screening on sensitivity of plant pathogenic fungus *Botrytis cinerea* to botryticides fenhexamid and boscalid was performed. Forty-six *B. cinerea* isolates from grapevine, strawberry, blueberry, lettuce, zucchini, tomato, bean and various ornamental plants have been randomly collected across Croatia. Discriminatory concentrations of 1 mg/l and 50 mg/l in agar assays have been selected for sensitivity testing, both for fenhexamid and boscalid. Neither one *B. cinerea* isolate showed resistance to fenhexamid.

Conidial germ tube elongation of all isolates was less than 40% of control at 1 mg/l fenhexamid, and neither one isolate was capable of non-stalled germ tube elongation at 50 mg/l fenhexamid. Thirty-five (77%) *B. cinerea* isolates showed to be sensitive to boscalid. Seven isolates from strawberry and grapevine showed decreased sensitivity, with germ tube elongation up to 81% of control at 1 mg/l and up to 33% of control at 50 mg/l boscalid. Four isolates, collected from strawberry, zucchini, lettuce and tomato were determined as resistant to boscalid, with conidia capable of germination, germ tube elongation and colony forming at 50 mg/l boscalid. Conidia of resistant isolates germinated up to 49% of control and formed colonies at 50 mg/l boscalid. The results are pointing out the need for permanent resistance management in *B. cinerea* control.

Key words: grey mould, resistance, fungicides

## UVOD

Rezistentnost patogena na fungicide ograničavajući je čimbenik u kemijskom suzbijanju biljnih bolesti. Neke fitopatogene gljive i pseudogljive sklone su razvoju rezistentnosti više od drugih te se u kontekstu rezistentnosti katkada označavaju kao vrste „visokog rizika“. Jedna od takvih je gljiva *Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr., polifagni biljni parazit poznat kao uzročnik sive plijesni na velikom broju kultiviranih biljaka. *Botrytis cinerea* odlikuje se izuzetnom prilagodljivošću, brzom reprodukcijom i fenotipskom plastičnošću (Topolovec-Pintarić, 2011.). Zabilježeni su brojni slučajevi razvoja rezistentnosti *B. cinerea* na veći broj aktivnih tvari fungicida (Topolovec-Pintarić, 2011; Hahn, 2014; Leroux, 2007.).

Kemijski fungicidi koji se koriste za suzbijanje *B. cinerea* sadrže aktivne tvari različitih mehanizama djelovanja iz različitih skupina. Među najpoznatijima su fenheksamid i boskalid. Fenheksamid je fungicid iz skupine hidrosianilida koji inhibira izduživanje klične cijevi i rast micelija (Rosslenbroich i sur., 1998.). Inhibira 3-keto reduktazu u procesu biosinteze ergosterola (Debieu i sur., 2001.). Boskalid je fungicid iz skupine inhibitora sukcinat dehidrogenaze u mitohondrijskom kompleksu II (Stammler i sur., 2008.). Blokira stanično disanje i djeluje na gotovo sve razvojne stadije u osjetljivih gljiva (Stammler i sur., 2008.). Prema FRAC-u (*Fungicide Resistance Action Committee*), fenheksamid se smatra fungicidom niskog do srednjeg rizika, a boskalid fungicidom srednjeg rizika od razvoja rezistentnosti (FRAC, 2022.).

Glavna mjera u suzbijanju *B. cinerea* još uvijek je kemijska zaštita. U Hrvatskoj je u proteklih tridesetak godina utvrđena visoka i relativno raširena rezistentnost *B. cinerea* na vinklozolin, iprodion, benomil, diklofluamid i toliľfulanid (Cvjetković i sur., 1997.; Toploveć-Pintarić, 1995.; Milićević, 2005.). Smanjena učinkovitost pripravaka na osnovi spomenutih aktivnih tvari u suzbijanju sive plijesni potvrđena je u poljskim pokusima (Milićević i sur., 2006.; Milićević, 2005., Toploveć-Pintarić i Cvjetković, 2001.), što pokazuje praktične posljedice razvoja rezistentnosti. Kako bi suzbijanje *B. cinerea* bilo uspješno, uputno je pratiti promjene u osjetljivosti populacija tog patogena na različite aktivne tvari te sukladno tome prilagođavati izbor fungicida.

Cilj istraživanja bio je utvrditi osjetljivost izolata *B. cinerea* s vinove loze, jagode, borovnice, salate, tikvice, rajčice, graha te različitog ukrasnog bilja ukrasnog bilja na aktivne tvari fenheksamid i boskalid.”

## MATERIJALI I METODE

Izolati *B. cinerea* sakupljeni su tijekom vizualnih pregleda u 2018., 2019. i 2021. godini. Pregledi su provedeni na 24 lokacije u Varaždinskoj, Bjelovarsko-bilogorskoj, Virovitičko-podravskoj, Sisačko-moslavačkoj, Koprivničko-križevačkoj, Istarskoj, Zadarskoj, Splitsko-dalmatinskoj i Dubrovačko-neretvanskoj županiji te u Gradu Zagrebu. Ukupno je sakupljeno 46 uzoraka različitih biljnih vrsta sa simptomima sive plijesni. Sakupljeni su uzorci vinove loze, jagode, borovnice, salate, tikvice, rajčice, graha te različitog ukrasnog bilja (pelargonija, hortenzija, dvozub, smilje, jaglac, dalija, fuksija, begonija). Sa svakog biljnog uzorka izoliran je pojedinačni monosporni izolat *B. cinerea*. Konidije s biljnog materijala lagano su istresene na podloge s vodenim agarom (VA) koje su inkubirane 12 – 18 sati na 22 °C, nakon čega su pod binokularnom lupom izrezane pojedinačne prokljale konidije i premještene na krumpir – dekstrozni agar (KDA). Kolonije razvijene iz pojedinačnih prokljalih konidija su označene i smatrane izolatom.

Za ispitivanje osjetljivosti koristili su se fenheksamid i boskalid analitičke čistoće (Pestanal®, Merck KGaA, Njemačka). Obje tvari otopljene su u vodi. Fenheksamid je dodan u 1 %-tni agar s ekstraktom slada (*malt extract agar*, MEA) u koncentracijama od 1 mg/l i 50 mg/l. Boskalid je dodan u 0,5 %-tni agar s ekstraktom kvasca (*yeast extract agar*, YEA), također u koncentracijama od 1 mg/l i 50 mg/l. Od svakog izolata *B. cinerea* pripremljeno je 500 µl suspenzije konidija na način da je skupljen sporulirajući dio kolonije na KDA

te je isti suspendiran u sterilnoj vodi. Dvadeset do 25 kapljica suspenzija nanijelo se na YEA i MEA podloge s boskalidom i fenheksamidom te na iste podloge bez dodatka fungicida. Podloge su inkubirane 12 – 16 sati na 20 °C. Nakon inkubacije, pod svjetlosnim mikroskopom mjerila se duljina kličnih cijevi proklijalih konidija. Osjetljivost izolata *B. cinerea* na fenheksamid i boskalid kategorizirala se prema kriterijima koje opisuju Weber i Hahn (2011.). Osim klijanja i izduživanja kličnih cijevi, kod izolata koji su pokazali izduživanje kličnih cijevi preko 30 % od kontrole na 50 mg/l boskalida provjerena je mogućnost stvaranja kolonija nakon tri do pet dana nastavka inkubacije. Osjetljivost na fenheksamid kategorizirala se na „osjetljivost“ i „rezistentnost“, a osjetljivost na boskalid na „osjetljivost“, „smanjenu osjetljivost“ i „rezistentnost“ (Weber i Hahn, 2011.).

## REZULTATI

Osjetljivost sakupljenih izolata *B. cinerea* na fenheksamid i boskalid prikazana je u Tablici 1. Tijekom sve tri godine istraživanja nije utvrđen niti jedan izolat *B. cinerea* koji bi bio rezistentan na fenheksamid. Kod većine izolata izduživanje klične cijevi bilo je ispod 30 % od kontrole na 1 mg/l fenheksamida. Kod niti jednog izolata izduživanje klične cijevi nije bilo više od 10 % od kontrole na 50 mg/l fenheksamida.

Od ukupno 46 izolata sakupljenih sa svih domaćina u svim godinama istraživanja, njih 35 (77 %) pokazalo se osjetljivima i na boskalid. Smanjena osjetljivost na boskalid utvrđena je kod sedam izolata (14 %). Četiri izolata potjecala su s vinove loze, a tri s jagode. U tih izolata utvrđeno je klijanje i izduživanje kličnih cijevi do 86 % od kontrole na 1 mg/l te između 20 i 27 % od kontrole na 50 mg/l boskalida. Rezistentnost na boskalid utvrđena je kod četiri izolata (9 %), skupljenih s jagode, tikvice, salate i rajčice. Dva izolata potjecala su iz istog proizvodnog prostora u Rovišću, plastenika gdje se uzgaja povrće. Rezistentni izolat s jagode potjecao je iz okolice Vrgorca, a rezistentni izolat s tikvice skupljen je u plasteniku u Opuzenu. Kod izolata *B. cinerea* rezistentnih na boskalid utvrđeno je klijanje i izduživanje konidija u rasponu od 38 do 49 % od kontrole na 50 mg/l tog fungicida. Nakon tri do pet dana na podlogama s 50 mg/l boskalida stvorile su se kolonije *B. cinerea*.

## RASPRAVA

U istraživanju je korištena brza metoda provjere osjetljivosti *B. cinerea* na fenheksamid i boskalid koju su razvili Weber i Hahn (2011.). U slučaju osjetljivosti na fenheksamid, autori navode kako je visoka i stabilna rezistentnost *B. cinerea* na fenheksamid utvrđena jedino u izolatima s mutacijama u *ERG27* genu za 3-keto reduktazu (Weber i Hahn, 2011.; Leroux, 2007.). Takvi rezistentni mutanti označavaju se kao „Hyd R3“ fenotipovi. Weber (2010.) je utvrdio da je klijanje i izduživanje klične cijevi Hyd R3 mutanata *B. cinerea* neometano na 1 mg/l i 50 mg/l fenheksamida. U istraživanju Webbera i Hahna (2011.), izduživanje klične cijevi izolata osjetljivih na fenheksamid pri 1 mg/l tog fungicida kretalo se između 15 i 30 % od kontrole, a klične cijevi bile su morfološki abnormalne. Klične cijevi Hyd R3 izolata pri istoj koncentraciji redovito su se izduživale oko 100 % od kontrole, a pri 50 mg/l između 80 i 100 % od kontrole. Na temelju toga, Weber i Hahn (2011.) predlažu diskriminatore koncentracije od 1 mg/l i 50 mg/l u monitoringu rezistentnosti *B. cinerea* na fenheksamid.

Fenheksamid se zbog svog mehanizma djelovanja smatra aktivnom tvari kod koje je rizik od razvoja rezistentnosti umjeren do nizak (FRAC, 2022). Bez obzira na to, slučajevi rezistentnosti *B. cinerea* na fenheksamid zabilježeni su različitim područjima svijeta. U Kini je utvrđeno da je 10 % od testiranih izolata *B. cinerea* s rajčice, patlidžana, paprike i krastavaca rezistentno na fenheksamid (Zhang i sur., 2007.). U sjevernoj Njemačkoj zabilježen je relativno visok postotak izolata *B. cinerea* s maline (Weber, 2010.), a u SAD-u s jagode (Grabke i sur., 2013.), rezistentnih na fenheksamid. Porast rezistentnosti na fenheksamid kroz četiri godine korištenja utvrđen je u vinogradima u središnjem SAD-u (Alzohairy i sur., 2021.). Izolati *B. cinerea* rezistentni na fenheksamid utvrđeni su i u Hrvatskoj, na vinovoj lozi (Topolovec-Pintarić, 2009.). Udio rezistentnih izolata bio je vrlo nizak i bez praktičnih posljedica na učinkovitost fenheksamida u suzbijanju sive plijesni. Bez obzira na to, Topolovec-Pintarić (2011.) navodi kako je rezistentni fenotip Hyd R3 *B. cinerea* u prirodi rijedak te je zbog toga rizik od pojave praktične rezistentnosti nizak. Rezultati ovog istraživanja ukazuju da nakon 15-ak godina korištenja fenheksamida u Hrvatskoj još nije došlo do selekcije rezistentnih populacija *B. cinerea*. Slična situacija zabilježena je i u nekim drugim područjima svijeta gdje se fenheksamid koristi više od desetljeća. Primjerice, u istraživanju u Novom Zelandu, niti jedan od 670 izolata *B. cinerea* sakupljenih s vinove loze nije bio rezistentan na fenheksamid (Beresford i sur., 2017.).

Rezistentnost *B. cinerea* na boskalid također je zabilježena u različitim područjima svijeta (Fernández-Ortuño i sur., 2017.; Hu i sur., 2016.; Malandrakis i sur., 2022.; Hahn, 2014.; Kim i Xiao, 2010.). Na molekularnoj razini, utvrđeno je da je smanjena osjetljivost ili rezistentnost *B. cinerea* na boskalid posljedica mutacija u genima za sukcinat dehidrogenazu (*SDH*) i promjena slijeda aminokiselina u enzimu sukcinat dehidrogenazi (Veloukas i sur., 2011.; Cui i sur., 2021.; Malandrakis i sur., 2022.). Slično kao i u slučaju fenheksamida, Weber i Hahn (2011.) predlažu korištenje diskriminatorskih koncentracija od 1 mg/l i 50 mg/l za razdvajanje osjetljivih, slabije osjetljivih i rezistentnih izolata *B. cinerea* na boskalid. Ta metodologija koristila se u ovom istraživanju.

Općenito, boskalid se smatra aktivnom tvari kod koje je rizik od razvoja rezistentnosti srednji (FRAC, 2022.) te samim time fungicidom višeg rizika u usporedbi s fenheksamidom. Ovo istraživanje može se smatrati potvrdom takve kategorizacije, jer je 11 od 46 izolata *B. cinerea* pokazalo smanjenu osjetljivost ili rezistentnost na boskalid. Uz iznimku dva izolata s rajčice i salate, smanjena osjetljivost i rezistentnost nađena je u izolata koji su potjecali s jagode i vinove loze. To su dvije kulture na kojima se u praksi provodi relativno najveći broj tretmana fungicidima protiv sive plijesni. Samim time, povećava se potencijal razvoja rezistentnosti. Uz to, na tržištu je u posljednjih nekoliko godina sve veći broj fungicida iz skupine inhibitora sukcinat dehidrogenaze, poput fluopirama, benzovindinflupira, izopirazama ili fluksapiroksada. Porast pojave rezistentnosti *B. cinerea* na inhibitore sukcinat dehidrogenaze (Hu i sur., 2016.; Fernández-Ortuño i sur., 2017.; Malandrakis i sur., 2022.; Liu i sur., 2022.) širom svijeta i rezultati ovog istraživanja ukazuju na potrebu za primjenom strategije sprječavanja rezistentnosti na spomenutu skupinu fungicida. O sprječavanju rezistentnosti posebno bi trebalo voditi računa u zaštiti kultura poput jagode i vinove loze, u kojima se siva plijesan najčešće suzbija većim brojem tretmana tijekom vegetacije.

D. Ivić i sur.: Osjetljivost izolata *Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr.  
na fenheksamid i boskalid

**Tablica 1. Izolati *Botrytis cinerea* sakupljeni u istraživanju, kategorije osjetljivosti na fenheksamid i boskalid i izduživanje kličnih cijevi izolata u usporedbi s kontrolom na 1 mg/l i 50 mg/l fenheksamida i boskalida.**

**Table 1 *Botrytis cinerea* isolates collected, surveyed locations, fenhexamid and boscalid sensitivity categorization, and germ tube elongation percent to control on 1 mg/l and 50 mg/l fenhexamid and boscalid.**

Izolat Isolate	Domaćin Host	Lokacija Location	Fenheksamid Fenhexamid			Boskalid Boscalid		
			Kategorija osjetljivosti Sensitivity class <sup>1</sup>	Izduživanje klične cijevi (% kontrole) Germ tube elongation (% control)		Kategorija osjetljivosti Sensitivity class <sup>1</sup>	Izduživanje klične cijevi (% kontrole) Germ tube elongation (% control)	
				1 mg/l	50 mg/l		1 mg/l	50 mg/l
BC 1/18	<i>Begonia</i> sp.	Metković	osjetljiv (s)	10	0	osjetljiv (s)	13	0
BC 3/18	<i>Pelargonium</i> sp.	Vidovec	osjetljiv (s)	34	6	osjetljiv (s)	15	0
BC 4/18	<i>Hydrangea</i> sp.	Vidovec	osjetljiv (s)	27	10	osjetljiv (s)	15	0
BC 5/18	<i>Bidens</i> sp.	Vidovec	osjetljiv (s)	6	0	osjetljiv (s)	15	2
BC 6/18	<i>Helichrysum</i> sp.	Vidovec	osjetljiv (s)	23	7	osjetljiv (s)	9	0
BC 7/18	<i>Primula</i> sp.	Vidovec	osjetljiv (s)	20	4	osjetljiv (s)	0	0
BC 9/18	<i>Begonia</i> sp.	Kaštel Sućurac	osjetljiv (s)	28	5	osjetljiv (s)	16	7
BC 10/18	<i>Primula</i> sp.	Ludbreg	osjetljiv (s)	26	7	osjetljiv (s)	10	2
BC 11/18	<i>Gazania</i> sp.	Ludbreg	osjetljiv (s)	11	7	osjetljiv (s)	5	2
BC 12/18	<i>Pelargonium</i> sp.	Ludbreg	osjetljiv (s)	22	6	osjetljiv (s)	5	2
BC 13/18	<i>Dahlia</i> sp.	Ludbreg	osjetljiv (s)	10	5	osjetljiv (s)	9	3
BC 15/18	<i>Primula</i> sp.	Varaždin	osjetljiv (s)	11	0	osjetljiv (s)	7	0
BC 16/18	<i>Pelargonium</i> sp.	Varaždin	osjetljiv (s)	21	5	osjetljiv (s)	18	6
BC 17/18	<i>Pelargonium</i> sp.	Varaždin	osjetljiv (s)	21	4	osjetljiv (s)	9	0
BC 18/18	<i>Impatiens</i> sp.	Ludbreg	osjetljiv (s)	8	0	osjetljiv (s)	8	0
BC 20/18	<i>Fuchsia</i> sp.	Martijanec	osjetljiv (s)	36	8	osjetljiv (s)	6	0
BC 23/18	<i>Helichrysum</i> sp.	Ludbreg	osjetljiv (s)	21	5	osjetljiv (s)	0	0
BC 24/18	grah	Metković	osjetljiv (s)	7	0	osjetljiv (s)	20	7

D. Ivić i sur.: Osjetljivost izolata *Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr.  
na fenheksamid i boskalid

BC 25/18	rajčica	Trogir	osjetljiv (s)	15	0	osjetljiv (s)	8	0
BC 26/18	jagoda	Kupinečki Kraljevec (Zagreb)	osjetljiv (s)	16	0	osjetljiv (s)	14	0
BC 27/18	rajčica	Biograd na Moru	osjetljiv (s)	13	0	osjetljiv (s)	13	0
BC 1/19	salata	Sedlarica (Pitomača)	osjetljiv (s)	6	3	osjetljiv (s)	11	0
BC 2/19	jagoda	Opuzen	osjetljiv (s)	5	4	osjetljiv (s)	34	8
BC 3/19	jagoda	Opuzen	osjetljiv (s)	5	3	slabije osjetljiv (ls)	70	22
BC 4/19	jagoda	Metković	osjetljiv (s)	8	6	slabije osjetljiv (ls)	81	23
BC 5/19	borovnica	Topusko	osjetljiv (s)	26	4	osjetljiv (s)	13	0
BC 6/19	jagoda	Opuzen	osjetljiv (s)	6	5	osjetljiv (s)	13	9
BC 7/19	jagoda	Opuzen	osjetljiv (s)	10	3	osjetljiv (s)	13	2
BC 8/19	jagoda	Opuzen	osjetljiv (s)	7	0	osjetljiv (s)	33	13
BC 9/19	jagoda	Opuzen	osjetljiv (s)	3	1	osjetljiv (s)	29	7
BC 10/19	tikvica	Opuzen	osjetljiv (s)	7	3	rezistentan (r)	71	38
BC 11/19	salata	Rovišće	osjetljiv (s)	7	4	rezistentan (r)	83	46
BC 12/19	rajčica	Rovišće	osjetljiv (s)	6	0	rezistentan (r)	83	49
BC 13/19	jagoda	Vrgorac	osjetljiv (s)	10	4	rezistentan (r)	72	46
BC 16/19	jagoda	Vrgorac	osjetljiv (s)	7	0	slabije osjetljiv (ls)	59	25
BC 23/19	jagoda	Kupinečki Kraljevec (Zagreb)	osjetljiv (s)	8	5	osjetljiv (s)	9	0
BC 1/21	vinova loza	Glavnica Gornja (Zagreb)	osjetljiv (s)	8	6	slabije osjetljiv (ls)	68	22
BC 2/21	vinova loza	Sirova Katalena (Đurđevac)	osjetljiv (s)	11	8	slabije osjetljiv (ls)	75	20
BC 3/21	vinova loza	Sirova Katalena (Đurđevac)	osjetljiv (s)	5	2	osjetljiv (s)	34	3
BC 4/21	vinova loza	Glavnica Gornja (Zagreb)	osjetljiv (s)	13	6	slabije osjetljiv (ls)	86	27



D. Ivić i sur.: Osjetljivost izolata *Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr.  
na fenheksamid i boskalid

BC 5/21	vinova loza	Šandrovac	osjetljiv (s)	31	0	osjetljiv (s)	31	0
BC 6/21	vinova loza	Kraljevac (Rovišće)	osjetljiv (s)	7	7	osjetljiv (s)	25	0
BC 7/21	vinova loza	Petrovija (Umag)	osjetljiv (s)	10	5	osjetljiv (s)	17	0
BC 8/21	vinova loza	Petrovija (Umag)	osjetljiv (s)	8	5	slabije osjetljiv (ls)	55	25
BC 9/21	vinova loza	Brtonigla	osjetljiv (s)	15	5	osjetljiv (s)	9	0
BC 10/21	vinova loza	Finida (Umag)	osjetljiv (s)	18	5	osjetljiv (s)	9	0

## LITERATURA

1. Alzohairy, S. A., Gillet, J., Saito, S., Naegele, R. N., Xiao, C. L., Miles, T. D. (2021.): Fungicide resistance profiles of *Botrytis cinerea* isolates from Michigan vineyards and development of TaqMan assay for detection of fenhexamid resistance. *Plant Disease*, 105: 285-294.
2. Beresford, R. M., Wright, P. J., Middleditch, C. L., Vergara, M., Hasna, L., Wood, P. N., Agnew, R. H. (2017.): Sensitivity of *Botrytis cinerea* to fungicides used in New Zealand wine grape spray programmes. *New Zealand Plant Protection*, 70: 285-294.
3. Cui, K., He, L., Li, T., Mu, W., Liu, F. (2021.): Development of boscalid resistance in *Botrytis cinerea* and an efficient strategy for resistance management. *Plant Disease*, 105: 1042-1047.
4. Cvjetković, B., Isaković, L.J., 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, 04.-05. ožujak 1997: 79-84.
5. Debieu, D., Bach, J., Hugon, M., Malosse, C., Leroux, P. (2001.): The hydroxylanilide fenhexamid, a new sterol biosynthesis inhibitor fungicide efficient against the plant pathogenic fungus *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*). *Pest Management Science*, 57: 1060-1067.
6. Fernández-Ortuño, D., Pérez-García, A., Chamorro, M., de la Peña, E., de Vicente, A., Torés J.A. (2017.): Resistance to the SDHI fungicides boscalid, fluopyram, fluxapyroxad and penthiopyrad in *Botrytis cinerea* from commercial strawberry fields in Spain. *Plant Disease* 101: 1306-1313.
7. FRAC (2022.): FRAC Code List 2022: Fungal control agents sorted by cross-resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels). Fungicide Resistance Action Committee.

8. Grabke, A., Fernández-Ortuño, D., Schnabel, G. (2013.): Fenhexamid resistance in *Botrytis cinerea* from strawberry fields in the Carolinas is associated with four target gene mutations. *Plant Disease*, 97: 271-276.
9. Hahn, M. (2014.): The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of Chemical Biology*, 7: 133-141.
10. Hu, M. J., Fernández-Ortuño, D., Schnabel, G. (2016.): Monitoring resistance to SDHI fungicides in *Botrytis cinerea* from strawberry fields. *Plant Disease*, 100: 959-965.
11. Kim, Y.K., Xiao, C.L. (2010.): Resistance to pyraclostrobin and boscalid in populations of *Botrytis cinerea* from stored apples in Washington State. *Plant Disease*, 94: 604-612.
12. Leroux, P. (2007.): Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., Delen, N., urednici), Springer, Njemačka, 195-222.
13. Liu, K., Wen, Z., Ma, Z., Shao, W. (2022.): Biological and molecular characterizations of fluxapyroxad-resistant isolates of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology Research*, 4:2.
14. Malandrakis, A.A., Krasagakis, N., Kavroulakis, N., Ilias, A., Tsagkarakou, A., Vontas, J., Markakis, E. (2022.): Fungicide resistance frequencies of *Botrytis cinerea* greenhouse isolates and molecular detection of a novel SDHI resistance mutation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 183: 105058.
15. 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.
16. 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.
17. Rosslenbroich, H. J., Brandes, W., Krueger, B. W., Kuck, K. H., Pontzen, R., Stenzel, K., Suty, A. (1998.): Fenhexamid (KBR-2738) — A novel fungicide for control of *Botrytis cinerea* and related pathogens. Brighton Crop Protection Conference on Pests and Diseases, 2: 327–334.
18. Stammler, G., Brix, H., Nave, B., Gold, R., Schoefl, U. (2008.): Studies on the biological performance of boscalid and its mode of action. *Modern Fungicides and Antifungal Compounds V* (Dehne, H. W., Deising, H. B., Gisi, U., Kuck, K. H., Russell, P. E., Lyr, H., urednici), 5<sup>th</sup> International Reinhardsbrunn Symposium, Njemačka, 45-51.

19. Toplovec-Pintarić, S. (1995.): Rezistentnost gljive *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. na dikarboksimide u nekim vinogradima Hrvatske. Magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
20. Topolovec-Pintarić, S., Cvjetković, B. (2001.): The sensitivity of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. to new botryticides in the vineyards. Zbornik predavanj in referatov 5. Slovenskoga posvetovanja o varstvu rastlin, Čatež ob Savi, 06.-08. ožujka 2001: 417-420.
21. Topolovec-Pintarić, S. (2009.): Resistance risk to new botryticides in *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. in winegrowing areas in Croatia. Journal of Plant Diseases and Protection, 116: 73-77.
22. Topolovec-Pintarić, S. (2011.): Resistance to botryticides. Fungicides – Beneficial and Harmful Aspects (Thajuddin, N., urednik), InTech Open, Velika Britanija, doi:10.5772/26315.
23. Veloukas, T., Leroch, M., Hahn, M., Karaoglanidis, G.S. (2011.): Detection and molecular characterization of boscalid-resistant *Botrytis cinerea* isolates from strawberry. Plant Disease, 95: 1302-1307.
24. Weber, R.W.S., Hahn, M. (2011.): A rapid and simple method for determining fungicide resistance in *Botrytis*. Journal of Plant Diseases and Protection, 118: 17-25.
25. Weber, R.W.S. (2010.): Occurrence of Hyd R3 fenhexamid resistance among *Botrytis* isolates in Northern Germany soft fruit production. Journal of Plant Diseases and Protection, 117: 177-179.
26. Zhang, C., Zhu, J., Wei, F., Liu, S., Zhu, G. (2007.): Sensitivity of *Botrytis cinerea* from greenhouse vegetables to DMIs and fenhexamid. Phytoparasitica 35: 300-313.

**Adrese autora – Author's addresses:**

dr. sc. Dario Ivić, e-mail: dario.ivic@hapih.hr  
Krešimir Šimunac, mag. ing. agr.  
dr. sc. Adrijana Novak

**Primljeno – received:**

16.08.2022.

Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu  
Centar za zaštitu bilja  
Gorice 68b, 10000 Zagreb

D. Ivić i sur.: Osjetljivost izolata *Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr.  
na fenheksamid i boskalid

---