

# ***BOTRYTIS CINEREA* IZOLÁTUMOK MORFOLÓGIAI VÁLTOZÉKONYSÁGA ÉS FUNGICID REZISZTENCIÁJA AZ EGRI BORVIDÉKEN**

Váczy Kálmán Zoltán<sup>1</sup> – Karaffa Levente<sup>2</sup> – Kövics György  
János<sup>3</sup> – Holb Imre<sup>3</sup> – Sándor Erzsébet<sup>3</sup>

<sup>1</sup>FVM Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete, Eger, 3300 Eger, Kőlyuktető  
Pf.: 83.

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, Természettudományi Kar, Mikrobiológiai és  
Biotechnológiai Tanszék, 4010 Debrecen, Egyetem tér 1.

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Mezőgazdaságtudományi  
Kar, Növényvédelmi Tanszék, 4032 Debrecen, Böszörményi út 138.

## **Irodalmi áttekintés**

A mindenütt előforduló szürkepenész kórokozója a *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel (teleomorf: *Botrytis cinerea* Pers.ex Fr.) növénypatogén gomba, mely a zöldségeken, gyümölcsökön, termesztett virágokon okozhat jelentős gazdasági károkat (Coley-Smith, 1980). A szőlőn megjelenő szürkepenész fertőzés jelentős termés kiesést okozhat, emellett ronthatja a bor minőségét (Martinez és mtsai, 2003). A szürkepenész elleni védekezés legfőbb módját napjainkban is a gombaölőszerek használata jelenti.

A szintetikus fungicidek számos családját alkalmazzák a gyakorlatban. Közülük régóta használják a benzimidazolokat (főként a karbendazimot és prekursorát a benomylt, valamint a trioфанát-metilt), valamint az N-fenilkarbamátokat (pl. dietofenkarb). Antifungális hatásukat a mikrotubulusok összekapcsolódásának gátlásával magyarázzák. A tubulin gén pontmutációjával könnyen kialakulhat rezisztencia ezek ellen a fungicidek ellen, melyről többször beszámoltak már (Davidse és Ishii, 1995; Faretra és Pollastro, 1991).

A dikarboximidekkel (pl. iprodion, procimidon, vinklozolin) szemben kialakuló rezisztencia is régóta ismert (Faretra és Pollastro, 1991; Leroux and Descotes, 1996). Biokémiai vizsgálatok alapján ezek a fungicidek a sejtfal szintézisét befolyásolják, továbbá indukálják a micéliális sejtek glicerol akkumulációját (Leroux, 1996). Fő hatóhelyük valószínűleg azok a proteín kinázok, amelyek a poliol szintézisének szabályozásában vesznek részt (Pillonel és Meyer, 1997).

A hidoxianilidek közé tartozó fenhexamid az újabb botrycid hatóanyagok közé tartozik. *In vitro* fenhexamid rezisztenciát mutató *B. cinerea* természetes populációk azonban már a fungicid használata előtt is

kimutathatók voltak Franciaország bortermelő vidékein (Leroux és mtsai, 1999).

A szklerócium a *B. cinerea* legfontosabb kitartó képletének tekinthető (Coley-Smith, 1980), így előfordulásuk mértéke jelentősen befolyásolja az egyes törzsek fitness értékeit is. Mesterséges táptalajon tenyésztve a különböző *B. cinerea* izolátumok szklerócium képzési mintázata sokszor elérő. A szklerócium képződés mértéke és mintázata alapján francia kutatók 8 különböző morfológiai csoportba sorolták izolátumaikat (Martinez és mtsai, 2003).

### **Anyagok és módszerek**

Az Egri Borvidék különböző területeiről tiszta, egyspórás *B. cinerea* izolátumokat gyűjtöttünk fertőzött bogyókról. A minták fungicid rezisztenciáját három szisztémikus fungiciddal, a benomyllal (Fundazol 50 WP, Chinoin Rt), az iprodionnal (Rovral 50 WP, BASF) és a fenhexamiddal (Teldor 500 SC, Bayer) szemben vizsgáltuk a Baroffio és mtsai (2003) által alkalmazott micéliális teszt alkalmazásával. A morfológiai tulajdonságok meghatározásához az izolátumokat 3 napon keresztül sötétben inkubáltuk.

### **Eredmények**

A laboratóriumi fungicid vizsgálatok alapján minden izolátum rezisztens volt a vizsgált fungicidek valamelyikére, illetve majdnem minden izolátum közepes vagy magas fokú rezisztenciát mutatott valamelyik vizsgált fungicidre az RL értékek alapján (Leroux és mtsai, 1999). Az 1. táblázatban foglaltuk össze a benomyl, iprodion és fenhexamid hatóanyagú fungicid készítményekkel végzett kísérletek eredményeit.

A *B. cinerea* morfológiai szempontból szintén nagyon változatos. Hasonlóan korábbi megfigyelésekhez (Martinez és mtsai, 2003), a szkleróciumot képező izolátumok domináltak. Vizsgálataink során a micélium-képzés, spórázó képesség és a szklerócium-képzés alapján az izolátumok 7 csoportba sorolhatók (1. ábra).

1. táblázat: A *Botrytis cinerea* törzsek (minták) fungicid-rezisztencia értékelésének eredményei  
 rezisztencia szintek: S – szenzitív, LR – alacsony rezisztencia, MR – közepes rezisztencia, HR – magas rezisztencia

Minta	Benomyl EC <sub>50</sub>	Benomyl RL	Benomyl rezisztencia	Iprodion EC <sub>50</sub>	Iprodion RL	Iprodione rezisztencia	Fenhexamid EC <sub>50</sub>	Fenhexamid RL	Fenhexamid rezisztencia
3	12,590	23,2	MR	0,747	1,3	LR	0,344	34,4	MR
9	82,506	151,9	HR	3,232	5,9	LR	0,363	36,3	MR
13	15,540	28,6	MR	1,705	3,1	LR	0,233	23,3	MR
17	2,017	3,7	LR	0,954	1,7	S	0,437	43,7	MR
31	20350,5	37477,9	HR	1,856	2,7	LR	0,339	33,9	MR
33	86,118	158,6	HR	0,864	1,2	S	0,296	29,6	MR
34	724,248	1333,8	HR	0,746	1,1	S	0,263	26,3	MR
36	854673947	1573985170	HR	0,637	0,9	S	0,281	28,1	MR
39	679,577	1251,5	HR	0,861	1,2	S	0,392	39,2	MR
41	5779859	10644307,6	HR	0,548	0,8	S	0,272	27,2	MR
43	2,507	4,6	LR	20,607	29,7	MR	0,207	20,7	MR
45	5,613	10,3	LR	0,678	1,0	S	0,223	22,3	MR
46	463,73	854,0	HR	0,593	0,9	S	0,148	14,8	MR
51	54,856	101,0	HR	1,715	3,1	LR	0,553	55,3	MR
53	71065	130874,8	HR	0,535	0,9	S	0,355	35,5	MR
54	1,810	3,3	LR	5,481	10,1	MR	0,184	18,4	MR
56	2,697	5,0	LR	15,83	22,8	MR	0,522	52,2	MR
58	2,672	4,9	LR	0,625	0,9	S	0,220	22	MR
59	3,472	6,4	LR	2,242	3,2	LR	0,332	33,2	MR
61	30690	56519,3	HR	1,542	2,2	LR	0,108	10,8	LR
63	0,543	1,0	S	1,669	2,4	LR	0,196	19,6	MR
65	4,817	8,9	LR	1,940	3,5	LR	0,225	22,5	MR
67	20,293	37,4	MR	1,000	1,8	S	0,228	22,8	MR
68	2,605	4,8	LR	1,257	2,3	LR	0,010	1	S
401	8,913	16,4	MR	1,435	2,1	LR	0,0473	4,73	LR



M1



M2



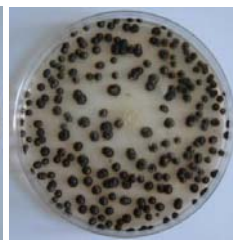
S1



S2



S3



S4

1. ábra: A *Botrytis cinerea* micélium és szklerócium-képzésének típusai  
 A micélium (M) és a szklerócium (S) képzés típusai – M1: rövid micélium, spóráképzés alig észlelhető, szétszórtan kevés szklerócium; M2: hosszú micélium, erőteljes spóráképzés, nincs szklerócium-képzés; S0: szkleróciumok a Petricsésze legszélénél, illetve a tenyészet belsejében néhány, szétszórtan; S1: szkleróciumok egy körben, távolabb a Petricsésze falától; S2: szkleróciumok koncentrikus körökben található; S3: a szkleróciumok szétszórtan helyezkednek el; S4: a szkleróciumok sűrűn, szétszórtan helyezkednek el.

### Összefoglalás

Az Egri borvidéken fertőzött bogyókról begyűjtött *Botrytis cinerea* izolátumok között mindhárom vizsgált hatóanyaggal (benomyl, iprodion, fenhexamid) szemben találtunk rezisztens tenyészeteket. A vizsgált *B. cinerea* minták több mint fele magas fokú rezisztenciát (HR) mutatott a benomyllal szemben, annak ellenére, hogy ezt a fungicidet már évek óta nem használják a borvidéken. Szintén megfigyelhető a közepes szintű rezisztencia jelenléte a másik két fungicid esetében is, ami abból a szempontból jelenthet kockázatot, hogy ezek a hatóanyagok napjainkban is használatosak a szürekpenész elleni védelemben.

A benomyl és egyéb benzimidazolok kizárólagos alkalmazását, illetve okszerűtlen használatát – a nagy százalékban jelenlévő rezisztens

izolátumok miatt, illetve a gomba nagy genetikai variabilitására tekintettel – mindenképpen kerülni kell a borvidéken. Évente legfeljebb egy kezelés végezhető a fenti hatóanyagok egyikével.

Kutatásainkat az FVM 33013/2003 és a 46024/2004 pályázataiból fedeztük. Karaffa Erzsébet (szül.: Sándor Erzsébet) az MTA Bolyai János Kutatói Ösztöndíjasa.

### Irodalom

- Alfonso, C., Raposo, R., Melgareji, P. (2000): Genetic diversity in *Botrytis cinerea* populations on vegetable crops in greenhouses in South-Eastern Spain. *Plant Pathology* 49:243-251.
- Coley-Smith, J.R., Verhoeff, K., Jarvis, W.R. (1980): *The Biology of Botrytis*. Academic Press, London
- Baroffio, C.A., Siegfried, W., and Hilber, U.W. (2003): Long-term monitoring for resistance of *Botryotinia fuckeliana* to anilinopyrimidine, phenylpyrrole and hydroxyanilide fungicides in Switzerland. *Plant Disease* 87:662-667
- Davidse, L.C. and Ishii, T. (1995): Biochemical and molecular aspects of benzimidazoles, N-phenylcarbamates and N-phenylformamidoxines and the mechanisms of resistance to these compounds in fungi. In: Lyr, H. (ed.) *Modern Selective Fungicides*. Gustav Fisher, Jena, Germany, 305–322.
- Faretra, F. és Pollastro, S. (1991): Genetic basis of resistance to benzimidazole and dicarboximide fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) under controlled conditions. *Ann. Microbiol.* 38:29-40.
- Latorre, B.A., Spadaro, I., and Rioja, M.E. (2002): Occurrence of resistant strains of *Botrytis cinerea* to anilinopyrimidine fungicides in table grapes in Chile. *Crop Protection* 21:957-961.
- Leroux, P. (1996): Recent developments in the mode of action of fungicides. *Pest. Sci.* 47:191–197.
- Leroux, P. and Clerjeau, M. (1985): Resistance of *Botrytis cinerea* Pers. and *Plasmopara viticola* (Berk. and Curt.) Berk and De Toni, to fungicides in French vineyards. *Crop Prot.* 4:137–160.
- Leroux, P., Chapeland, F., Desbrosses, D., and Gredt, M. (1999): Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. *Crop Prot.* 18:687-697.

- Martinez, F., Blancard, D., Lecomte, P., Levis, C., Dubos, B., and Fernaud, M. (2003): Phenotypic differences between *vacuma* and *transposa* subpopulations of *Botrytis cinerea*. Eur. J. Plant Pathol. 109:479-488.
- Panagiotaku, M. and Malathrakis, N.E. (1981): Resistance of *Botrytis cinerea* to dicarboximide fungicides. Neth. J. Plant Pathol. 87:242.
- Pillonel, C. and Meyer, T. (1997): Effect of phenylpyrroles on glycerol accumulation and protein kinase activity of *Neurospora crassa*. Pest. Sci. 49:229–236.

## **MORPHOLOGY AND RESISTANCE OF *BOTRYTIS CINEREA* TO FUNGICIDES IN THE WINE REGION OF EGER, HUNGARY**

**K. Váczy<sup>1</sup>, L. Karaffa<sup>2</sup>, G.J. Kövics<sup>3</sup>, I. Holb<sup>3</sup> and E. Sándor<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Research Institute of Viticulture and Enology, Eger, Hungary

<sup>2</sup>Department of Microbiology and Biotechnology, Faculty of Sciences, University of Debrecen, Debrecen, Hungary

<sup>3</sup>Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Debrecen, Debrecen, Hungary

*Botrytis cinerea* collected from infected grapevine berries from the Eger wine district (Hungary). In our experiments benomyl, iprodione and fenhexamide fungicides were examined and all but one isolates had resistance towards at least one of them. More than half of *B. cinerea* isolates showed high resistance toward benomyl, although fungicides containing it have not been used for years. Resistance could be observed towards the other two chemicals as well.

Benomyl and other benzimidazoles are not recommended to be used in the Eger wine district, because of the high proportion of resistant isolates. Due to high genetic variability of *Botrytis cinerea* should not be used the fungicides also with the same mode of action more than once a year.

\*This work was supported by the Hungarian Ministry of Agriculture and Rural Development, FVM 33013/2003 and 46024/2004 grants. Erzsébet Sándor is a grantee of the János Bolyai Scholarship.