

---

## Sektion 32

### Fungizide III

---

#### 32-1 - Fungizidsensitivität von *Alternaria solani* Populationen in Deutschland

*Fungicide sensitivity of Alternaria solani populations in Germany*

**Birgit Adolf, Andrea Volz, Andrea Klaus, Jürgen Leiminger, Nicole Metz, Nicole Chaluppa, Johann Hausladen**

Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Lehrstuhl für Phytopathologie, Emil-Ramann-Str. 2, 85354 Freising, [adolf@wzw.tum.de](mailto:adolf@wzw.tum.de)

*Alternaria solani*, der Erreger der Dürffleckenkrankheit der Kartoffel, kann beträchtliche Ertragsverluste verursachen. Fungizide Wirkstoffe aus der Gruppe der Quinone outside Inhibitoren (Qol), wie Azoxystrobin (AZ), und der Gruppe der Succinatdehydrogenaseinhibitoren (SdhI), wie Boscalid, bieten sehr gute Bekämpfungsmöglichkeiten. Beide Fungizidgruppen inhibieren den Elektronentransport der Atmungskette in den Mitochondrien: Qols am Komplex III (Cytb), SdhIs am Komplex II (Sdh). Da jeweils nur an einem Punkt in den Stoffwechsel des Pilzes eingegriffen wird, besteht die Gefahr, dass es durch Punktmutationen zu Sensitivitätsverlusten bzw. Resistenz des Erregers kommt. In den USA wurden aus diesem Grund schon kurz nach der Zulassung von AZ bzw. Boscalid erste Sensitivitätsverluste beobachtet. Bei AZ ist hierfür die F129L Mutation ursächlich, bei Boscalid sind, wegen der in die Bindung des Fungizides involvierten drei Untereinheiten der Sdh (B, C, D) mehrere Mutationen möglich.

Mit PCR und anschließender Sequenzierung wurden mehr als 800 *A. solani* Isolate aus den Jahren 2005 bis 2015 auf das Vorhandensein dieser Mutationen untersucht und bei mutierten Isolaten der Sensitivitätsverlust in in-vitro (EC<sub>50</sub>-Werte, Konidienkeimtest) und in-vivo Versuchen (Gewächshaus) gemessen.

Qol: In *A. solani* treten beim Cytb Gen zwei Genotypen (I, II) auf, die sich hinsichtlich ihrer Exon-Intron-Struktur unterscheiden. 2005 – 2008 wurden in Deutschland ausschließlich Wildtypisolate gefunden, bis auf eines alle Genotyp I. Erste F129L Mutanten traten 2009 in Süddeutschland auf, beide Genotyp II. Bis 2011 wurden an weiteren süddeutschen Standorten mutierte Genotyp II Isolate dedektiert, 2012 erstmals in Norddeutschland, 2013 in Ostdeutschland. In diesem Jahr traten hier auch die ersten mutierten Genotyp I Isolate auf, 2014 weitere in Süddeutschland. Wildtypisolate gehörten bis auf wenige Ausnahmen stets zu Genotyp I. Im Jahr 2015, in dem es wegen der trockenen, heißen Witterung zu einem sehr späten Epidemiebeginn kam, waren alle untersuchten Standorte von der Mutation betroffen, bei 170 von 196 Isolaten handelte es sich um F129L Mutanten und Wildtypisolate wurden überhaupt nur noch an 7 von 34 Standorten gefunden. Die in-vitro ermittelten EC<sub>50</sub> Werte F129L mutierter Isolate lagen in den Jahren 2009 bis 2012 auf rel. niedrigem Niveau von  $\bar{0}$  0,37 µg Reinwirkstoff AZ/ml, unterschieden sich jedoch statistisch gesichert deutlich von Wildtypen. Dies ließ sich auch in Gewächshausversuchen wiederfinden, wo sich an Kartoffelpflanzen ebenfalls ein signifikanter, 20-60 %iger Sensitivitätsverlust dieser Mutanten zeigte. 2013 stieg das EC<sub>50</sub> Niveau F129L mutierter Isolate um das vierfache an und blieb auch 2014 und 2015 ähnlich hoch. F129L mutierte, sensitivitätsreduzierte *A. solani* Populationen treten somit in ganz Deutschland auf.

SdhI: Bis 2012 handelte es sich bei allen Isolaten in bezug auf die Sdh Untereinheiten B, C und D um Wildtypen. 2013 wurden die ersten Mutanten gefunden. Sie stammten aus Nord-

und Westdeutschland und zeigten die H134R Mutation im SdhC-Gen oder H278Y im SdhB-Gen. 2014 konnten vier weitere Mutanten in Ost- und Süddeutschland nachgewiesen werden. Hier war das SdhC-Gen betroffen: H134R und H134Q, eine für *A. solani* noch nicht beschriebene Mutation. 2015 kam es zu einem drastischen Anstieg des Anteils mutierter Isolate: An 30 von 34 Standorten zeigten 134 von 196 Isolaten entweder im SdhB Gen H278R bzw. H278Y, oder in SdhC H134R (am häufigsten) bzw. H134Q oder in SdhD D123E. Die in-vitro ermittelten EC<sub>50</sub> Werte lagen für alle Mutationen über 100 µg Reinwirkstoff Boscalid/ml. Dieser gravierende Sensitivitätsverlust konnte mit Wirkungsverlusten zwischen 10 und 65% in-vivo in Gewächshausversuchen bestätigt werden.

### 32-3 - Sensitivitätssituation von Getreidepathogenen in Europa gegenüber Succinat-Dehydrogenase Inhibitoren

*Sensitivity situation of cereal pathogens in Europe to succinate dehydrogenase inhibitors*

**Alexandra Rehfus, Jochen Prochnow, Dieter Strobel, Rosie Bryson, Gerd Stammler**

BASF SE, Agricultural Center, Speyerer Strasse 2, 67117 Limburgerhof, Germany,  
alexandra.rehfus@basf.com

Succinate dehydrogenase inhibitors (SDHIs) are very effective fungicides for the control of many important plant pathogens in cereal crops in Europe. Besides net blotch caused by *Pyrenophora teres* and scald caused by *Rhynchosporium secalis* in barley; brown rust caused by *Puccinia triticina* and Septoria leaf blotch in wheat caused by *Zymoseptoria tritici* are destructive cereal diseases with European-wide relevance. In the background of (partial) resistance to strobilurins and the adaptation to azoles of some pathogens, the use of SDHIs in spray programmes is getting more relevant.

First isolates of *P. teres* and *Z. tritici* with a reduced sensitivity to SDHIs were found in 2012. In both cases, a target site mutation in SDH genes leading to an amino acid exchange in the SDH complex, B-H277Y in *P. teres* and C-T79N in *Z. tritici*, was detected.

In case of net blotch, an increase of less sensitive isolates was detected in the following years mainly in northern parts of France and Germany, which are intensive barley growing regions. In 2013 and 2014, SDHI adaptation in *P. teres* was caused by amino acid exchanges B-H277Y, C-N75S, C-G79R, C-H134R, C-S135R, D-D124N/E, D-H134R, D-D145G and D-E178K in the SDH complex resulting in different resistance levels. The majority of less sensitive isolates contained the C-G79R substitution which showed a relatively high efficacy loss in microtiter tests with resistance factors of ~100 for all SDHIs currently registered in barley.

In *Z. tritici*, further SDHI adapted isolates were sporadically found in Europe in 2013, 2014 and 2015 carrying B-N225T, B-T268I, C-T79N, C-W80S, C-N86S and C-H152R. However, in contrast to *P. teres*, isolates of *Z. tritici* with a reduced SDHI sensitivity did not propagate and spread in Europe, so far.

Extensive monitoring programmes were also carried out for *R. secalis* and *P. triticina*, but all isolates tested were fully sensitive to SDHIs.

In contrast to the rapid development and spread of QoI resistant *Z. tritici* isolates in European countries since 2003, the evolving situation of SDHI resistance in *P. teres* and *Z. tritici* is more complex and seems highly dynamic. To maintain SDHIs as effective tools for the control of cereal pathogens, resistance management strategies as recommended by FRAC should be strictly followed.

### 32-4 - Sensitivitätsveränderungen von *Septoria tritici* gegenüber verschiedenen Wirkstoffgruppen in den letzten 15 Jahren

*Sensitivity changes of Septoria tritici compared with different fungicide classes during the last 15 years*

**Holger Klink, Joseph-Alexander Verreet**

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institut für Phytopathologie, hklink@phytomed.uni-kiel.de

In nahezu allen Regionen, in denen Weizen angebaut wird, ist *Septoria tritici*, der Erreger der Blattdürre zu finden. Auch in Deutschland gehört diese Krankheit zu den bedeutendsten Weizenpathogenen und Ertragsverluste von 20-40% sind überregional bei unzureichender Bekämpfung möglich.

Die mit dem Einsatz von Pflanzenschutzmitteln oftmals einhergehende Entwicklung von Resistenzen ist eines der größten Probleme in der Kontrolle von Pflanzenkrankheiten. Nach dem vollständigen Sensitivitätsverlust von *S. tritici* gegenüber der Klasse der Strobilurine wäre eine vergleichbare Entwicklung gegenüber weiteren Wirkstoffgruppen besorgniserregend. Eine besondere Bedeutung in der Bekämpfung kommt hierbei den Azolen (**Demethylierungs-Inhibitoren** - DMI) und den Carboxamiden (**Succinat-Dehydrogenase Inhibitoren** - SDHI) zu, da nur bei diesen Wirkstoffgruppen eine kurative Bekämpfung nach erfolgreichen Infektionsereignissen möglich ist.

Bereits seit 2004 wird international von quantitativen Wirkungsverlusten der DMIs berichtet. Zudem wurden immer größer werdende Unterschiede zwischen den einzelnen Wirkstoffen innerhalb der Gruppe der Triazole beobachtet. Aus diesem Grund wurde am Kieler Institut für Phytopathologie in den letzten Jahren ein umfassendes Projekt initiiert, welches zum Ziel hatte, einen Überblick über die Situation der Sensitivitätsentwicklung vom Hauptschadpathogen *Septoria tritici* gegenüber verschiedener Wirkstoffgruppen zu erhalten. Es wurde ausschließlich mit Reinstwirkstoffen (ohne Formulierungshilfsstoffe) bei dieser Untersuchung gearbeitet, die in unterschiedlichen Konzentrationen in Mikrotiterplatten mit dem Erreger in Verbindung gebracht wurden. In den Untersuchungen wurden Isolate aus den Jahren 1999, 2008 und 2014 verwendet. Bei subletalen Fungizidkonzentrationen kann der Pilz sich weiterentwickeln und es kommt im Rahmen von Mycelwachstum daraufhin zu einer Eintrübung der Lösung. Dieses zeigt sich an einem hohen Wert der sogenannten „optischen Dichte“, welche photometrisch gemessen werden kann. Neben dem Kontrollwirkstoff Trifloxystrobin kamen die Triazole Prothioconazol, Epoxiconazol, Tebucoanzol und Propiconazol sowie von den Imidazolen Prochloraz zur Verwendung. Aus dem Bereich der Kontaktwirkstoffe wurde der Wirkstoff Chlorthalonil hinsichtlich möglicher Sensitivitätsverschiebung überprüft.

Es konnte nachgewiesen werden, dass die norddeutschen Isolate sich im Untersuchungszeitraum sehr unterschiedlich an die verschiedenen Wirkstoffe angepaßt haben. Die Sensitivität gegenüber den Kontaktwirkstoffen und Imidazolen ist in den letzten 15 Jahren nahezu unverändert geblieben. Bei den Triazolen hat es insgesamt bis zum Jahr 2008 einen deutlichen Sensitivitätsverlust gegeben, der sich im weiteren Verlauf stabilisiert hat. Lediglich bei den Wirkstoffen Propiconazol und Epoxiconazol konnte eine weitere Abnahme der Sensitivität bei den norddeutschen Isolaten nachgewiesen werden.

### **32-5 - Fungizidresistenz bei Getreidepathogenen in Bayern – Auswirkungen auf das Resistenzmanagement**

*Fungicide resistance of cereal pathogens in Bavaria – implication on resistance management*

#### **Stephan Weigand**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz, Freising-Weihenstephan, stephan.weigand@lfl.bayern.de

Der Sensitivitätsverlust pilzlicher Getreidepathogene gegenüber fungiziden Wirkstoffen kann deren Bekämpfung im konventionellen Getreidebau wesentlich beeinträchtigen. Um die regionalen Beratungsempfehlungen zur gezielten Krankheitsbekämpfung rechtzeitig an mögliche Resistenzentwicklungen anzupassen, führt der amtliche Pflanzenschutzdienst in Bayern jährliche Sensitivitätsuntersuchungen für wichtige Getreidepathogene durch.

Im Focus der Monitoringerhebungen standen in den letzten Jahren Untersuchungen zum Resistenzniveau von *Pyrenophora teres* gegenüber der Wirkstoffklasse der Strobilurine (QoI), zur Sensitivität von *Septoria tritici* und *Ramularia collo-cygni* gegenüber ausgewählten Azolwirkstoffen (DMI), sowie seit 2013 auch zur Sensitivität von *Pyrenophora teres*, *Ramularia collo-cygni* und *Septoria tritici* gegenüber der jüngsten Wirkstoffklasse, den Succinat-Dehydrogenase-Inhibitoren (SDHI).

Die Veränderungen der Fungizidsensitivitäten im Laufe der mehrjährigen Erhebungen sowie deren regionale Unterschiede werden vorgestellt. Ergebnisse begleitender Feldversuche bewerten die jeweilige Relevanz für die landwirtschaftliche Praxis.

Sowohl die Ergebnisse der Laboranalysen wie auch der Feldversuche belegen die Notwendigkeit eines konsequenten, schaderregerspezifischen Resistenzmanagements. Die Umsetzung wird exemplarisch anhand von Beratungsempfehlungen zum Einsatz von Getreidefungiziden aufgezeigt und vor dem Hintergrund des drohenden Verlustes mancher Wirkstoffe aufgrund neuer Zulassungskriterien kritisch diskutiert.

### **32-6 - Fungizid-Sensitivität von *Zymoseptoria tritici* in Europa**

*Fungicide sensitivity of *Zymoseptoria tritici* in Europe*

#### **Gerd Stammer, Alexandra Rehfus, Jochen Prochnow, Rosie Bryson, Dieter Strobel**

BASF SE, Agricultural Center, Speyerer Strasse 2, 67117 Limburgerhof, Germany, gerd.stammer@basf.com

Septoria leaf blotch is one of the most important disease in wheat and fungicides are important tools for its control. These include single site inhibitors such as QoIs, SBIs and SDHIs.

QoIs were first introduced in 1996 and in countries with intensive QoI use, resistance has developed, which is conferred by the mutation G143A in the cytochrome *b* gene. This mutation leads to high levels of resistance with no or low fitness penalties. In North Western Europe QoI resistance is frequent, in Eastern and Southern Europe the situation is more sensitive.

Changes in SBI-sensitivity have been intensively analysed for *Z. tritici*. Mutations in and overexpression of the *cyp51* are the main mechanisms for reduced sensitivities. An additional but less important mechanism is the overexpression of efflux transporter. The fact that higher adapted isolates are still found in relatively low frequency, indicate that such isolates might have fitness costs.

A new generation of SDHIs has been introduced against various cereal diseases. From lab mutants of *Z. tritici* it is known that mutations in different SDH-subunits, which make up the binding site of ubiquinone and SDHs influence binding affinity thus reducing sensitivity. Field isolates with different mutations in the B- and C-subunits leading to various resistance levels have been identified in monitoring programs in the last years. First studies indicated a lower fitness of SDHI adapted isolates.

Newest monitoring data and studies on the impact of fungicide resistance on fungicide efficacy and fitness penalties are presented.

### **32-7 - Bekämpfung von *Zymoseptoria tritici* mit DMI-Fungiziden und Rolle der DMI beim Fungizid-Resistenzmanagement**

*Control of Zymoseptoria tritici with DMI fungicides and their role within the resistance management*

**Jochen Prochnow, Dieter Strobel, Rosie Bryson, Gerd Stammler**

BASF SE, Agricultural Center, Speyerer Strasse 2, 67117 Limburgerhof, Germany, jochen.prochnow@basf.com

DMI-fungicides were more and more under discussion in light of adaptation of fungal populations and eroding field performance – especially to *Zymoseptoria tritici*. With a noticeable further shift in sensitivity detected via microtitre assays, the weaker activity of DMIs seemed to be explainable by an adaptation of the *Zymoseptoria tritici* population to this group of chemistry. In this presentation, the field performance of various DMIs will be compared with the field efficacy estimated in european wide field trials.

The detailed molecular-biological analysis of the *Zymoseptoria tritici* population shows a large variation in EC<sub>50</sub> values. Interestingly, the sensitivity pattern differs for individual DMIs in untreated plots, suggesting a diverse population despite general cross-resistance. Despite the distinct sensitivity differences measured in microtitre plate assays for the various regions, field performance of DMIs against *Zymoseptoria tritici* does not seem to correlate well to these findings.

Although sensitivity adaptations can decrease the activity of DMI fungicides especially under high disease pressure situations, most active candidates remain a valuable backbone for fungicide protection. Studies with epoxiconazole showed, that activity enhancement by formulation optimization is possible. To maintain reliable and consistent disease control including resistance management, a diverse portfolio of DMI and other fungicides is vitally important.

### **32-8 - Sensitivitätsstatus von Getreidemehltau gegenüber verschiedenen Fungiziden**

*Sensitivity status of cereal powdery mildews to various fungicides*

**Sarah Graf, Jochen Prochnow, Dieter Strobel, Gerd Stammler**

BASF SE, Agricultural Research Station, 67117 Limburgerhof, Germany, sarah.graf@basf.com

Cereal powdery mildews are high-risk pathogens concerning the development of fungicide resistance. SBIs (sterolbiosynthesis inhibitors, e.g. fenpropimorph), SDHs (succinate dehydrogenase inhibitors, e.g. fluxapyroxad), aryl-phenyl-ketones (unknown mode of

action, e.g. metrafenone) and some other mode of actions are important tools for their control. The sensitivity of European populations of cereal powdery mildews towards applied fungicides are regularly monitored on a yearly or biannual basis.

A random sensitivity monitoring of wheat powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) to the morpholine fenpropimorph has been done now for 28 seasons using *in vivo* tests. This work serves as a classical example of an acquired adaptation to a limited level some years after market launch. The sensitivity is stable now for many years and morpholines are still efficacious and robust tools in control strategies for powdery mildews.

For aryl-phenyl-ketones, two different phenotypes of adaptation have been identified several years after market launch of this mode of action. After first detection, strains were characterised and fitness penalties have been found in adapted strains. These findings and a more restricted resistance management after first occurrence explain the fact that the frequency of adapted isolates is stable now for several years. The mode of action of metrafenone is currently under further investigation; its elucidation would open the possibility for more efficient monitoring methods on molecular genetic basis.

Previous and current European monitoring studies for fluxapyroxad showed a full sensitive situation for SDHIs for all tested species of cereal powdery mildews. This was also confirmed by the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC).

For an effective control of powdery mildew, an intelligent use of available modes of action is essential. Sustainable control of cereal powdery mildews can be achieved by implementing fungicide programs and following the resistance management guidelines provided by the respective Working Groups of FRAC.