

# Pflanzen

## Fungizidresistenz bei der Septoria-Blattdürre des Weizens in der Schweiz\*

Stéphanie Schürch<sup>1</sup>, Peter Frei<sup>1</sup>, Regula Frey<sup>2</sup>, Jürg Wullschleger<sup>2</sup> und Helge Sierotzki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW, CH-1260 Nyon

<sup>2</sup>Syngenta Crop Protection AG, CH-4332 Stein

Auskünfte: Stéphanie Schürch, E-Mail: stephanie.schuerch@acw.admin.ch, Tel. +41 22 36 34 444

### Zusammenfassung

**2008** wurde in 17 Schweizer Parzellen die Sensitivität von *Mycosphaerella graminicola* (Septoria-Blattdürre des Weizens) gegenüber Fungiziden untersucht. Die Gene, die für die Target-Proteine der QoI- und DMI-Fungizide kodieren, wurden genetisch charakterisiert. Die Häufigkeit der QoI-resistenten Stämme lag zwischen 1 und 96%. Dies zeigt, dass sich die einheimische Population in einer Übergangsphase befindet. Gegenüber den europäischen Populationen von *M. graminicola* sind die Stämme aus der Schweiz im Durchschnitt empfindlicher gegenüber DMI-Fungiziden. Aufgrund dieser Daten werden Empfehlungen zum Einsatz dieser zwei Wirkstoffgruppen formuliert, um die Nachhaltigkeit der chemischen Bekämpfung dieser Blattkrankheit des Getreides zu unterstützen.

*Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. (Nebenfruchtform: *Septoria tritici* Rob. in Desm.) ist der Erreger der Septoria-Blattdürre, einer häufig auftretenden Krankheit des

Weizens (Abb. 1), die regelmässig zu Ertragsverlusten führt. Neben der Sortenwahl, der Einarbeitung der Ernterückstände und der Einhaltung der Fruchtfolge spielen Fungizidbehandlungen eine zentrale Rolle zur Bekämpfung dieser Krankheit. Zu diesem Zweck werden meistens Wirkstoffe zweier Gruppen eingesetzt. Die QoI-Fungizide (*Quinone outside Inhibitors*) hemmen eine chemische Reakti-

on der mitochondrialen Atmung (Energieproduktion) der Pilzzellen. Genauer gesagt ist ihr Ziel das Cytochrom b, ein transmembranes Protein. Zu den QoI zählen die 1996 auf den Markt gebrachten Strobilurine, die das Auskeimen der Pilzsporen und das Eindringen des Mycel in das Blattgewebe wirksam hemmen (Bartlett *et al.* 2001). Im Jahre 2002 wurden in mehreren europäischen Staaten die ersten QoI-resistenten Stämme von *M. graminicola* nachgewiesen (Leroux *et al.* 2007). Wie bei anderen Erregern wird bei diesem Pathogen die QoI-Resistenz durch eine Mutation des für das Cytochrom b kodierenden Gens bestimmt (Gisi *et al.* 2002; Fraaije *et al.* 2003). Diese mehrfach unabhängig voneinander (Torriano *et al.* 2009) aufgetretene Mutation führt bei der Synthese des

\*Originalversion: «Septoriose du blé: sensibilité aux fongicides de la population suisse de *Mycosphaerella graminicola*», *Revue suisse d'Agriculture* 41 (3), 2009.

In Zusammenarbeit mit den kantonalen Pflanzenschutzdiensten.

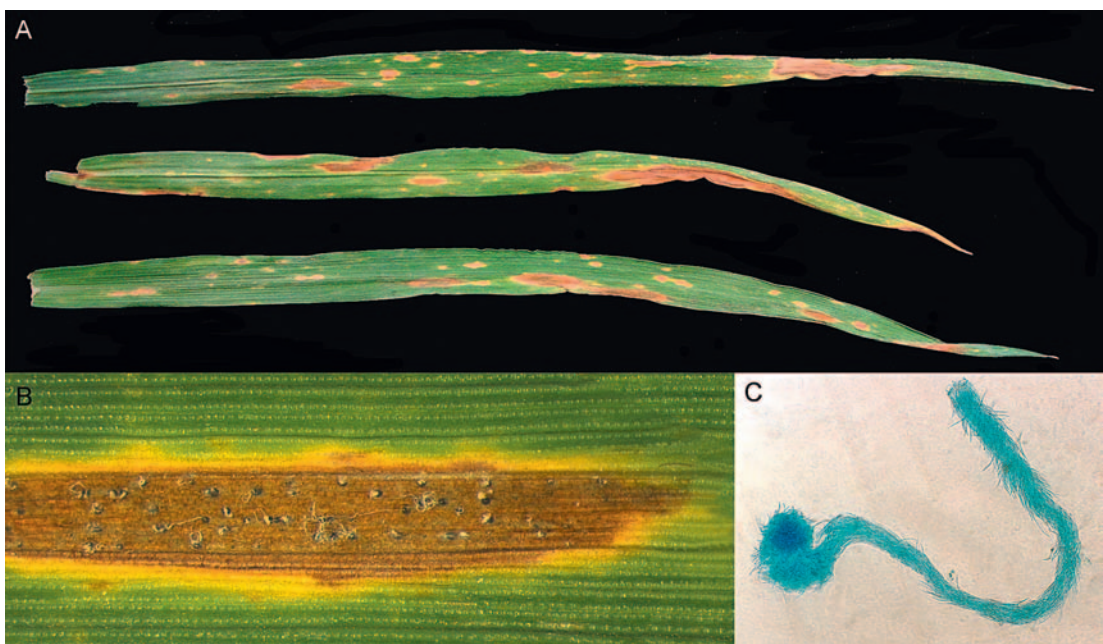


Abb. 1. Septoria-Blattdürre auf Winterweizen cv. Tapidor. A: Verbräunungen auf Blätter. B: sporulierende Fruchtkörper (Pyknidien). C: Konidienschnur und Sporen von *Septoria tritici*. (Foto: S. Schürch, ACW)

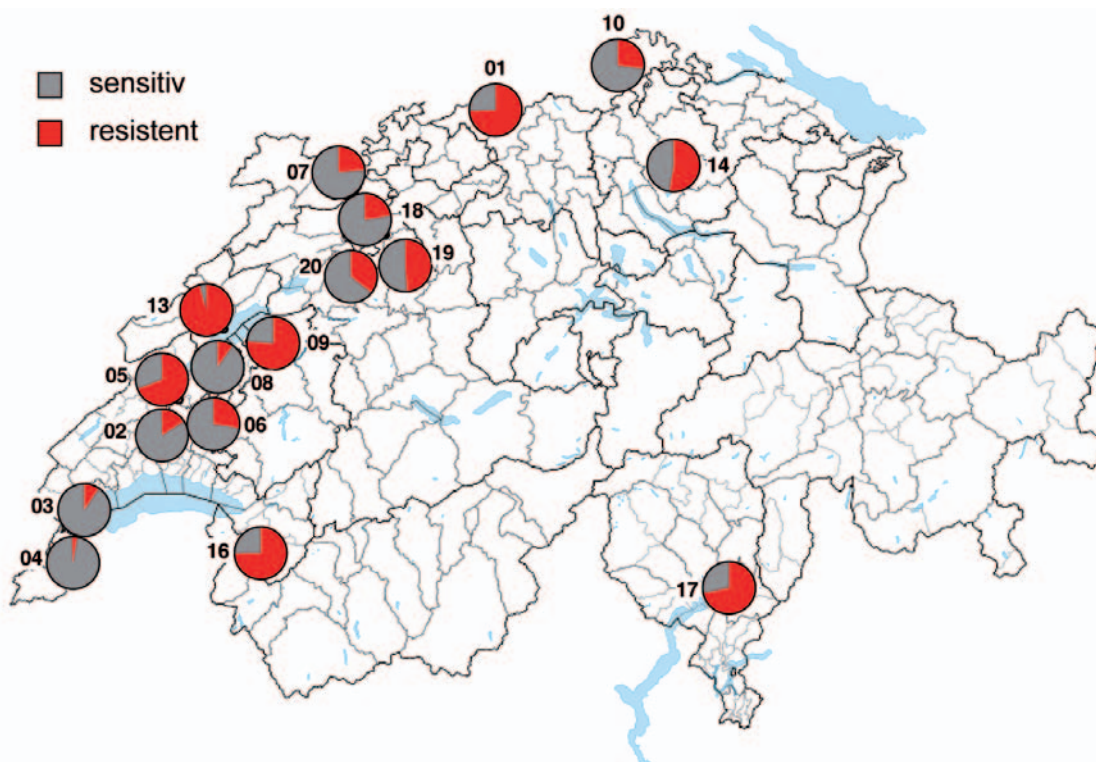


Abb. 2. Häufigkeit der Mutation G143A in 17 Schweizer *Mycosphaerella graminicola*-Populationen im Jahre 2008 (rot). Die Parzellennummern sind in der Tabelle 2 aufgeführt.

Cytochroms b Proteins zu einem Austausch der Aminosäure Glycin durch Alanin in der Position 143 (G143A). Die *M. graminicola* Isolate mit dieser Mutation sind Qol-resistent. Der Selektionsdruck durch die Qol-Anwendung führt zu einer raschen Zunahme dieser monogenetischen Resistenz. Übersteigt die Resistenzhäufigkeit 30 % in der Erregerpopulation, wird ein abrupter Wirkungsverlust beobachtet, wobei eine Erhöhung der Aufwandmenge wirkungslos bleibt.

Die zweite bei der Bekämpfung von Septoria eingesetzte Wirkstoffgruppe umfasst die DMI-Fungizide (*Demethylation Inhibitors*), zu denen die Triazole gehören. Indem sie sich an das CYP51, ein Schlüsselenzym der Sterolbiosynthese, binden, hemmen sie die Produktion dieser essentiellen Bausteine der Pilzmembran. Hauptsächlich führen drei Mechanismen zur verminderten DMI-Sensitivität (Cools und Fraaije 2008): Mutationen des Gens CYP51, Überexpression dieses Gens und Überexpression von Genen, die in die

Zellmembran-Transportmechanismen eingreifen, was zur Abnahme der Wirkstoff-Konzentration im Zellinnern (erhöhte Exsorption) führt. Es wurden zahlreiche Mutationen des Gens CYP51 erfasst. Einige von ihnen scheinen die DMI-Empfindlichkeit zu bestimmen (Leroux *et al.* 2007). Zur Zeit sind die Mutationen je nach ihrem Einfluss auf der DMI-Empfindlichkeit in sechs Gruppen (Genotypen I bis VI; Tab. 1) unterteilt (Chassot *et al.* 2008). Anders als bei der Mutation G143A, die zu einer vollständigen Qol-Resistenz führt, sind diese mutierten Isolate weniger empfindlich gegenüber DMI, aber nicht völlig resistent. Auf dem Feld äussert sich dies in einer graduellen Abnahme der DMI-Wirksamkeit. Verschiedene Studien berichten über die Häufigkeit der Qol- und DMI-resistenten Isolate von *M. graminicola* in Europa, aber in der Schweiz stehen nur wenige lückenhafte Daten zur Verfügung. In der vorliegenden Studie wurden die Häufigkeit und geografische Verteilung der Mutation G143A und der sechs Genotypen

Tab. 1. Mutationen des Gens CYP51 und assoziierte Genotypen bei *Mycosphaerella graminicola*

Genotyp	Mutationen
I	Wildtyp
II	Y137F
III	verschiedene
IV	V136A
V	I381V
VI	A379G + I381V

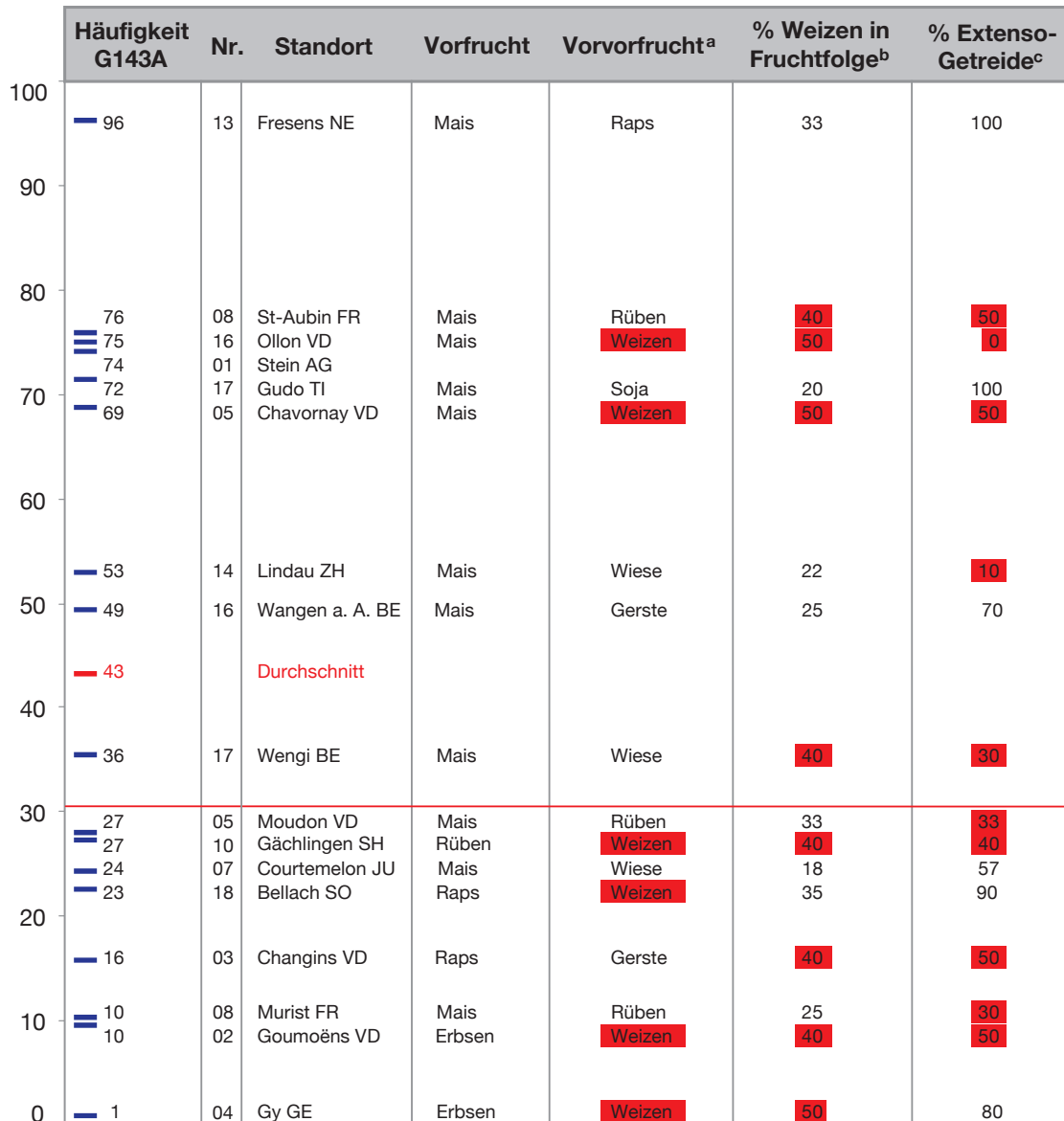
Nach Chassot *et al.* 2008, geändert.

von CYP51 von Proben aus 17 Schweizer Winterweizenparzellen im Jahre 2008 untersucht.

### Probenherkunft und -analyse

In Kantonen mit hoher Weizenproduktion wurden 17 Felder (Extensio-Anbau oder unbehandelte Kontrollparzellen) beprobt. Der Blattkrankheitsverlauf wurde auf einigen dieser Parzellen eingehend beobachtet. Für jede beprobte Parzelle wurden das Datum der Probenahme, das Entwicklungsstadium der Kultur, die Sorte, der geschätzte Befallsgrad

Tab. 2. Häufigkeit der Mutation G143A in den Schweizer Populationen von *M. graminicola*, beprobt bei 17 Parzellen im Jahre 2008, und Anbaudaten.



Bei einer Häufigkeit der Mutation G143A über 30 % (rote Linie) ist mit deutlichen Wirkungseinbußen der QoI-Fungizide zu rechnen. Die Anbaubedingungen, die einen starken Selektionsdruck zugunsten der Mutation G143A ausüben könnten, sind rot hinterlegt: <sup>a</sup> Weizen als Vorvorfrucht; <sup>b</sup> % Weizen in der Fruchtfolge  $\geq$  40%; <sup>c</sup> % Extenso-Weizen  $\leq$  70%.

durch Septoria, die Vorfrucht, die Vorvorfrucht sowie der Anteil an Weizen in der Fruchtfolge des Betriebes und der Anteil an Extenso-Getreide in der Region festgehalten. Nach einer ersten visuellen Prüfung der Blattläsionen wurden die für Cytochrom b und CYP51 kodierenden Gene molekularbiologisch untersucht. Dazu wurden an den sichtbar geschädigten Stellen der Weizenblätter Rondellen herausgeschnitten und die DNS aller Teilproben eines Standorts zu-

sammen extrahiert. Für das Cytochrom b wurde die Häufigkeit der Mutation G143A molekularbiologisch durch quantitative PCR ermittelt (Gisi *et al.* 2005). Beim CYP51 wurde die Häufigkeit der Genotypen durch quantitative PCR mit verschiedenen Genotypspezifischen Primern bestimmt.

#### QoI-Fungizide

Die Häufigkeit der Mutation G143A, die zu einer vollständigen QoI-Resistenz führt, wurde

bei 17 Populationen von *M. graminicola* (Abb. 2) bestimmt. Die durchschnittliche Häufigkeit dieser Mutation lag bei 43 %, variierte aber bei den Parzellen zwischen 1 und 96 %. Eine derart grosse Variabilität wird meistens während der Übergangsphase zwischen einer empfindlichen und resistenten Population beobachtet. Diese Ergebnisse scheinen also darauf hinzuweisen, dass sich die Schweizer Population von *M. graminicola* in einer Übergangsphase befindet,

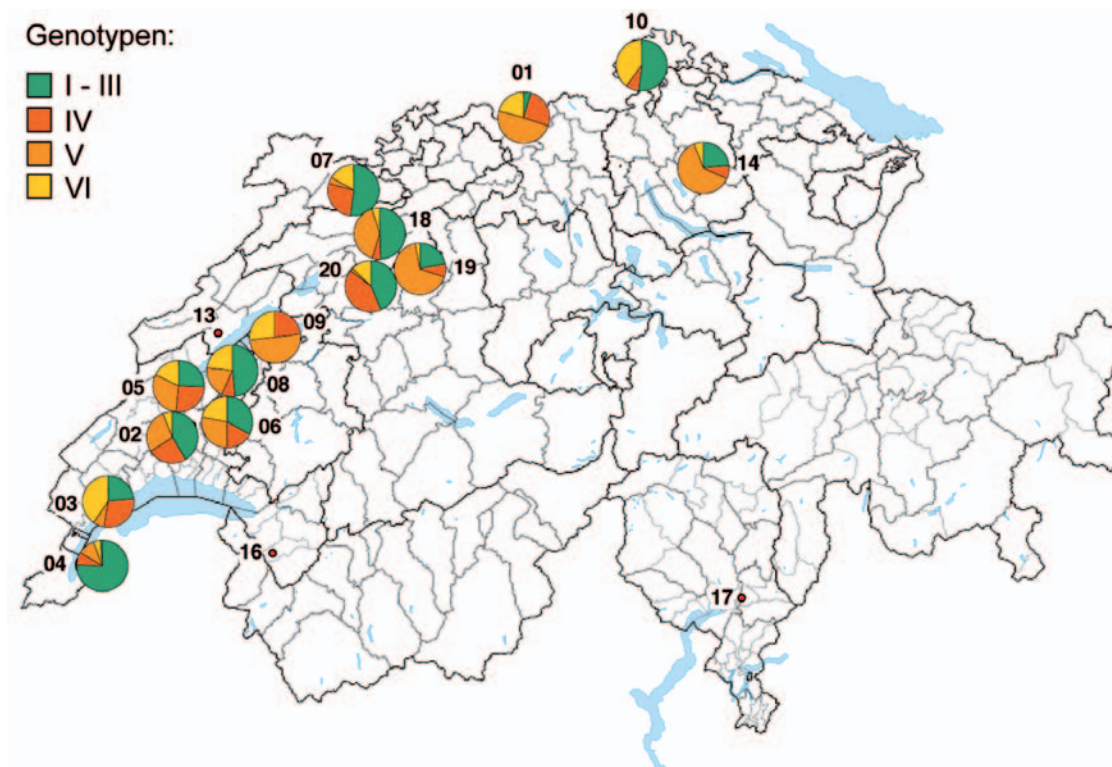


Abb. 3. Häufigkeit der sechs Genotypen (oder Genotypen-Gruppen) des Gens CYP51 unter 14 Schweizer *Mycosphaerella graminicola*-Populationen im Jahre 2008. Die Parzellennummern sind in der Tabelle 2 aufgeführt.

was jedoch mangels Daten zur Häufigkeit von G143A in früheren Populationen nicht bestätigt werden kann. Eine besondere geografische Verteilung konnte nicht festgestellt werden. Bei acht Parzellen lag diese Häufigkeit unter oder bei 30 %. Ab diesem Wert kann eine Abnahme der QoI-Wirksamkeit festgestellt werden. Eine besonders hohe Häufigkeit wurde bei der Parzelle Nr. 13 beobachtet (96 %). Kein agronomischer Faktor kann dieses Ergebnis erklären, und der Septoria-Befall war dort gering. Ausserdem konnte eine Zwischengruppe (69-76 %) und eine Gruppe im Bereich des Durchschnittswerts (36-53 %) ausgemacht werden. Aus den ermittelten Daten geht kein Zusammenhang zwischen der Häufigkeit der Mutation G143A und der Vorfrucht, der Vorvorfrucht, dem Weizenanteil in der Fruchtfolge oder dem Anteil von Extensio-Getreide hervor. Europaweit besteht jedoch ein Zusammenhang zwischen der Einsatzintensität von QoI und dem Resistenzgrad der *M. graminicola* Populationen. In England, den

Niederlanden, im Norden Frankreichs und in Deutschland, wo QoI-Fungizide intensiv eingesetzt wurden, ist der Anteil von resistenten Stämmen sehr hoch. Wenn eine derartige Beziehung für die Schweizer Populationen nicht nachgewiesen werden kann, liegt es möglicherweise an der kleinen Anzahl an beprobten Parzellen und/oder an der Übergangsphase, in der sich die Populationen zu befinden scheinen.

#### DMI-Fungizide

Die Frequenz der verschiedenen CYP51 Genotypen konnte für 14 Proben bestimmt werden (bei drei Parzellen war die Infektion von *M. graminicola* dafür zu gering; Abb. 3). Die durchschnittliche Häufigkeit der Gruppen I-III lag bei 36 %. Diese drei Gruppen umfassen den Wildtyp sowie die zwei ältesten Genotypen und kommen in den heutigen europäischen Populationen praktisch nicht mehr vor (Stammler *et al.* 2008). Der Genotyp IV, der gegenüber Prochloraz am wenigsten empfindlich ist, ist mit einer durchschnittli-

chen Häufigkeit von 18 % vertreten. Die Häufigkeit der Genotypen V und VI liegt bei 28 %, bzw. 18 %. In Europa gehört die Mehrheit der Isolate nun zu den Genotypen V und VI (Stammler *et al.* 2008). Die durchschnittliche Häufigkeit der CYP51 Genotypen sowie ihre jeweilige DMI-Empfindlichkeit zeigt, dass die Schweizer Population im Schnitt DMI-empfindlicher ist als europäische Populationen.

#### Schlussfolgerungen

Diese erste Schweizer Studie über die Fungizidresistenz von *Mycosphaerella graminicola* zeigt, dass im ganzen Land QoI-resistente Stämme vorhanden sind. Dies trifft auch für sämtliche in Europa nachgewiesenen CYP51 Genotypen zu. Allerdings bleibt in der Schweiz die Wirksamkeit auf dem Feld erhalten, und die Lage scheint weniger kritisch zu sein als in den Nachbarländern, was voraussichtlich auf eine gute Umsetzung der Anti-Resistenz-Strategie zurückzuführen ist. Diese Strategie trägt zur Nachhaltigkeit der chemischen Bekämpfung bei

und basiert auf folgenden Empfehlungen:

■ **Aufwandmenge einhalten;**

■ QoI-Fungizide nur in Mischung mit Wirkstoffen aus anderen Resistenzgruppen verwenden (keine Solo-Anwendung);

■ QoI-Anwendung auf zwei Applikationen pro Parzelle und Saison beschränken;

■ Die QoI hemmen wirksam die Sporenkeimung und werden also mit Vorteil zu Beginn des Krankheitszyklus eingesetzt;

■ Eine Solo-Anwendung von DMI-Fungizide ist möglich, jedoch sind wiederholte Applikationen gegen Risikoschädlinge (z.B. echter Mehltau) zu vermeiden.

**Literatur**

■ Bartlett D. W., Clough J. M., Godfrey C. R. A., Godwin J. R., Hall A. A., Heaney S. P., & Maund S. J., 2001. Understanding the strobilurin

fungicides. *Pesticide Outlook August*, 143-148.

■ Chassot C., Hugelshofer U., Sierotzki H., & Gisi U., 2008. Sensitivity of CYP51 genotypes to DMI Fungicides in *Mycosphaerella graminicola*. In: Modern Fungicides and Antifungal Compounds V (Ed. H. W. Dehne, U. Gisi, K. H. Kuck, P. E. Russel & H. Lyr). DPG, Bonn, D, 129-136.

■ Cools H. J. & Fraaije B. A., 2008. Are azole fungicides losing ground against Septoria wheat disease? Resistance mechanisms in *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* **64**, 681-684.

■ Fraaije B. A., Lucas J. A., Clark W. S. & Burnett F. J., 2003. QoI resistance development in populations of cereal pathogens in the UK. In: The BCPC International Congress - Crop Science & Technology, 689-694.

■ Gisi U., Pavic L., Stanger C., Hugelshofer U. & Sierotzki H., 2005. Dynamics of *Mycosphaerella graminicola* populations in response to selection by different fungicides. In: Modern Fungicides and Antifungal Compounds IV (Ed. H.

W. Dehne, U. Gisi, K. H. Kuck, P. E. Russel & H. Lyr). BCPC, Alton UK, 73-80.

■ Gisi U., Sierotzki H., Cook A., & McCaffery A., 2002. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Management Science* **58**, 859-867.

■ Leroux P., Albertini C., Gautier A., Gredt M. & Walker S., 2007. Mutations in the CYP51 gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14 $\alpha$ -demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* **63**, 688-698.

■ Stammler G., Carstensen M., Koch A., Semar M., Strobel D. & Schlehuber S., 2008. Frequency of different CYP51-haplotypes of *Mycosphaerella graminicola* and their impact on epoxiconazole-sensitivity and -field efficacy. *Crop Protection* **27**, 1448-1456.

■ Torriano S. F. F., Brunner P., McDonald B. A. & Sierotzki H., 2009. QoI resistance emerged independently at least 4 times in European populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* **65**, 155-162.

**RÉSUMÉ**

**Septoriose du blé: sensibilité aux fongicides de la population suisse de *Mycosphaerella graminicola***

Le niveau de sensibilité aux fongicides de *Mycosphaerella graminicola*, un des agents de la septoriose du blé, a été évalué dans 17 parcelles en 2008. Les gènes codant pour les cibles des fongicides QoI et DMI ont été caractérisés génétiquement. La fréquence des souches résistantes aux QoI variait de 1 à 96 %, indiquant que la population suisse se trouve dans une phase de transition. Par rapport aux populations européennes de *M. graminicola*, la population suisse est en moyenne plus sensible aux DMI. Ces informations permettent de formuler des recommandations d'utilisation de ces deux groupes de matières actives pour soutenir la durabilité de la lutte chimique contre cette maladie foliaire du blé.

**SUMMARY**

**Septoria leaf blotch of wheat: sensitivity to fungicides of the Swiss *Mycosphaerella graminicola* population**

The fungicide resistance level of *M. graminicola*, a major agent of leaf blotch of wheat, was evaluated in 2008 for samples from 17 fields. Genes coding for the target proteins of QoI and DMI fungicides were characterised genetically. The frequency of the mutation conferring QoI resistance ranged between 1 and 96%, indicating that the Swiss *M. graminicola* population is in a transitory phase. Compared to other European populations of this pathogen, the Swiss population is on average more sensitive to DMI fungicides. These results represent the basic information to formulate recommendations regarding the use of these two fungicide groups to achieve a durable chemical control of this widespread leaf disease of wheat.

**Key words:** fungicide, resistance, *Septoria tritici*, *Mycosphaerella graminicola*, sensitivity.