

Mogućnost suzbijanja patogene gljive *Botrytis cinerea* primjenom benefitne gljive *Trichoderma viride* u laboratorijskim uvjetima

Perić, Staka

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:261647>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-28**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Staka Perić

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Biljna proizvodnja

**MOGUĆNOST SUZBIJANJA PATOGENE GLJIVE *BOTRYTIS CINEREA*
PRIMJENOM BENEFITNE GLJIVE *TRICHODERMA VIRIDE* U
LABORATORIJSKIM UVJETIMA**

Diplomski rad

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Staka Perić

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Biljna proizvodnja

**MOGUĆNOST SUZBIJANJA PATOGENE GLJIVE *BOTRYTIS CINEREA*
PRIMJENOM BENEFITNE GLJIVE *TRICHODERMA VIRIDE* U
LABORATORIJSKIM UVJETIMA**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. doc. dr. sc. Sanda Rašić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Suzana Kristek, mentor
3. dr. sc. Jurica Jović, član
4. dr. sc. Drago Bešlo, zamjenski član

Osijek, 2019.

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. PREGLED LITERATRE..... | 3 |
| 2.1. Značaj vinove loze | 3 |
| 2.2. Bolesti vinove loze | 4 |
| 2.2.1. Pepelnica vinove loze (<i>Erysiphe necator</i>) | 5 |
| 2.2.2. Plamenjača vinove loze (<i>Plasmopara viticola</i>) | 6 |
| 2.2.3. Crna pjegavost rozgve (<i>Phomopsis viticola</i>) | 7 |
| 2.2.4. Siva plijesan (<i>Botrytis cinerea</i>)..... | 8 |
| 2.3. Štetnici vinove loze | 12 |
| 3. KORISNA GLJIVA <i>TRICHODERMA SPP.</i> | 13 |
| 3.1. <i>Trichoderma viride</i> | 17 |
| 4. SUZBIJANJE PATOGENE GLJIVE <i>BOTRYTIS CINEREA</i> S UPOTREBOM KORISNE GLJIVE <i>TRICHODERMA VIRIDE</i> | 20 |
| 5. ZAKLJUČAK | 22 |
| 6. LITERATURA | 23 |
| 7. SAŽETAK | 28 |
| 8. SUMMARY | 29 |
| 9. POPIS SLIKA | 30 |
| TEMELJNA DOKUMENTARNA KARTICA | 31 |
| BASIC DOCUMENTATION CARD | 32 |

1. UVOD

Vinogradarstvo i proizvodnja vina stoljećima je u Hrvatskoj značajna grana ne samo poljoprivrede, nego i gospodarstva u cjelini. Vinova loza (*Vitis vinifera* L.) jedna je od najstarijih kulturnih biljaka čiji živi predak još uvijek egzistira (Maletić i sur., 2008.).

Višegodišnja je biljka penjačica za čiji je uzgoj potrebna armatura. U Hrvatskoj se naziva čokot, trs, loza, vinoloza ili vinski trs. Područja koja najbolje odgovaraju za uzgoj vinove loze su područja umjerenoga toplinskog pojasa sa izražena četiri godišnja doba, koji omogućavaju pravilno odvijanje pojedinih fenofaza. U RH se uzgaja na brežuljkastim i strmim terenima kontinentalne i pjeskovitim tlima primorske Hrvatske. Što se tiče klimatskih uvjeta nalazimo ju u područjima srednjoeuropske, istočne stepske, istočne visinske i mediteranske klime.

S obzirom na razlike u klimi, topografiji i edafskim uvjetima izdvojeno je dvanaest podregija: Podunavlje, Slavonija, Moslavina, Prigorje, Plešivica, Pokuplje, Zagorje – međimurje, Istra, Hrvatsko primorje, Sjeverna Dalmacija, Dalmatinska zagora, te srednja i južna Dalmacija. Iako su vinogorja prilično homogena, mogu se i unutar njih izdvojiti ograničeni lokaliteti sa povoljnim obilježjima za dobivanje grožđa vrhunske kvalitete (Maletić i sur., 2008.).

Vinogradarstvo i njegov razvoj je oscilirao između dvije suprotne tendencije: kvalitete i kvantitete. To nije samo rezultat ljudskih ideala, već je rezultat koji je važan zbog dvije uzgojne činjenice: okoliš i sorta grožđa (Corino i Calo, 2000.).

Prema godišnjem izvješću vinogradarskog registra za 2017. godinu u Hrvatskoj je evidentirano 19.670 ha vinograda na 77.194 parcela, kojima su upravljala 39.014 poljoprivrednih gospodarstava. U Vinogradarski registar upisano je ukupno 23.919 subjekata, od čega su 22.812 fizičke osobe, 535 obrta te 572 pravnih subjekata. Najveći broj subjekata upisan je na području Splitsko - dalmatinske županije, njih 3297, zatim Dubrovačko – neretvanske (3013) te Krapinsko – zagorske (2745). Također je evidentirano da je zasađeno 14.644 hektara vinove loze. U top 3 sorte svakako prednjači sorta graševine sa zasađena 4511 hektara, odnosno 20.766.079 trstova. Slijedi malvazija istarska na 1622 hektara te plavac crni sa zasađenih 1550 hektara.

Sorte vinove loze imaju različite potrebe za temperaturom, pa ranije sorte dozriju pri manjoj sumi efektivnih temperatura, dok je za dozrijevanje kasnih kultivara potrebno više topline (Maletić i sur., 2008.).

Najmanje je zasađeno sorte Syrah – 217 hektara, odnosno 1.098.152 trsova. U vinskoj godini 2017. najviše je proizvedeno graševine, 32.977 tona grožđa, a od kojeg je dobiveno 221.674 hektolitara vina. Drugo mjesto zauzima malvazija istarska sa 8200 tona grožđa i 54.257 hektolitara vina. Isto tako zadnje mjesto zauzima sorta syrah sa 799 tona grožđa i 4992 hektolitara vina.

Vinova loza smatra se vrstom koja dobro uspijeva i u sušnim uvjetima, no za pravilan rast i razvoj važna je redovita opskrbljenost vodom kao i vlažnost zraka. Također za postizanje pune zrelosti grožđa i završetak cijelog vegetacijskog ciklusa potrebna je određena suma aktivnih (odnosno efektivnih) temperatura (Maletić i sur., 2008.).

Kemijski sastav grožđa i vina je vrlo složen. Čini ga mnogo kemijskih spojeva, čiji je točan broj vrlo teško odrediti. Vinska, jabučna i limunska kiselina su najvažnije organske kiseline i igraju važnu ulogu u procesu proizvodnje vina, koji utječu na neke od najvažnijih karakteristika vina (Preiner, 2013.).

Danas grožđe koristimo najviše za proizvodnju vina, ujedno i za potrošnju u svježem stanju (stolno grožđe), proizvodnju suhica (groždice), sokova, marmelada i destilata. Također može poslužiti kao sirovina za proizvodnju ulja od sjemenki, tanina, antocijana i etanola. Rentabilan uzgoj je moguć između 25° i 52° sjeverne geografske širine te između 30° i 45° južne geografske širine. Najviše vinograda se nalazi u Europi i zauzima gotovo 60 % ukupnih svjetskih površina (Maletić i sur. 2008.).

Čimbenici koji također utječu na bolji rast i razvoj vinove loze su geografska širina i nadmorska visina. Vinogradi koji se nalaze na području primorsko Hrvatske regije od 3 do 250 m nadmorske visine, a vinogradi kontinentalne regije se protežu od 120 do 350 m nadmorske visine.

Borytis cinerea fakultativno je parazitna i polifagna vrsta. Krug domaćina je brojna osobito u području umjerene klime. U jačem intenzitetu javlja se u godinama s većom količinom kiše i to uglavnom u drugom djelu vegetacije. U razvojnom ciklusu gljiva formira micelij, konidiofore s konidijama, askuse i askospore, a prema nekim autorima i mikrokonidije i hlamdispore (Topolovec-Pintarić i Cvjetković, 2000.).

2. PREGLED LITERATRE

2.1. Značaj vinove loze

Vinova loza (*Vitis vinifera* L.) je vrlo stara kultura. Na to ukazuju i pronađeni fosilni ostaci za koje je dokazano da su stari oko 60 milijuna godina, što se smatra i jednim od najvažnijih znanstvenih dokaza o postojanju vinove loze u tako dalekoj prošlosti. Kao najraniji pisani dokument iz vinogradarstva može se smatrati Biblija. U Starom zavjetu se navodi kako je Noa sadio vinograde i proizvodio vino. Vinovu lozu su uzgajali stari Feničani, a zatim je preko Grčke dospjela na jadranske otoke, Siciliju i Apeninski poluotok. Pouzdano se zna da se loza u Egiptu uzgajala prije 6000 godina. Na naše prostore vinova loza se raširila za vrijeme vladavine rimskog cara Marka Aurelija.

Vinova loza je biljka koja zahtijeva obilje sunčeva svjetla u svim fenofazama jer je to preduvjet dobre opskrbljenosti organskom tvari potrebnom za rast i razvoj te kao izvor energije za metaboličke procese (Maletić i sur., 2008.).

Višegodišnja je biljka penjačica za čiji je uzgoj potrebna armatura. U Hrvatskoj se naziva čokot, trs, loza, vinoloza ili vinski trs. Područja koja najbolje odgovaraju za uzgoj vinove loze su ona područja umjerenoga toplinskog pojasa s izražena četiri godišnja doba, koji omogućavaju pravilno odvijanje pojedinih fenofaza.

Kako je vinova loza vrsta s velikim brojem sorata, a razlikuju se u mnogim obilježjima, najčešće se dijele prema morfološkim, fiziološkim ili gospodarskim obilježjima te prema geografskom podrijetlu (Maletić i sur., 2008.).

Kemijski sastav grožđa i vina je vrlo složen. Čini ga mnogo kemijskih spojeva, čiji je točan broj vrlo teško odrediti. Vinska, jabučna i limunska kiselina su najvažnije organske kiseline i igraju važnu ulogu u procesu proizvodnje vina, koji utječu na neke od najvažnijih karakteristika vina (Preiner, 2013.).

Za uspješan rast i razvoj, redovit i obilan prinos dobre kakvoće, potrebni su prije svega povoljni uvjeti tla i klime (Mirošević, Kozina, Karoglan Kontić, 2008.).

Vinova loza kao najrasprostranjenija voćna vrsta u svijetu, koja svojom proizvodnjom nadmašuje sve ostale, ima važan gospodarski značaj. Danas postoji između 5.000 i 10.000 varijeteta grožđa (*Vitis vinifera*), iako je samo nekoliko od komercijalnog značaja za proizvodnju vina i stolnog grožđa.

2.2. Bolesti vinove loze

Pojava bolesti može uništiti dobar dio prinosa, a u nekim godinama štete znaju biti totalne. Da bi to spriječili moramo znati prepoznati početne faze razvoja bolesti, uvjete koji pogoduju razvoju bolesti i faze u kojima se bolest može pojaviti.

Bolesti vinove loze mogu uzrokovati razni čimbenici, koji mogu biti neparazitski i parazitski. Parazitske bolesti na poljoprivrednim kulturama uzrokuju gljive, pseudogljive, bakterije, fitoplazme, virusi i njima slični organizmi. Neparazitske bolesti ili poremećaji nastaju uslijed niskih ili visokih temperatura zraka, niske ili visoke relativne vlažnosti zraka, manjka ili viška svjetla, nedostatka ili viška hraniva, toksičnosti nekih elemenata u tlu, neodgovarajuće pH vrijednosti tla, fitotoksičnosti sredstava za zaštitu bilja i dr.

Neparazitske bolesti većinom su uzrokovane nepovoljnim uvjetima okoliša što doprinosi osjetljivosti biljaka prema parazitskim uzročnicima bolesti, najčešće u stresnim situacijama. Neparazitske bolesti se ne prenose s biljke na biljku, tj. nisu infektivne.

Bolesti koje su uzrokovane patogenima:

1. Mikoze - bolesti uzrokovane gljivicama;
2. Bakterioze - bolesti uzrokovane bakterijama;
3. Viroze - bolesti uzrokovane virusima.

Najčešće bolesti vinove loze su bolesti koje su uzrokovane gljivicama (mikoze). Hrane se mrtvim i živim organskim tvarima. Svojim micelijem urastaju u tkivo biljaka i oduzimaju im hraniva. U borbi protiv gljivica najčešće upotrebljavamo fungicide.

Pravilnim praćenjem vinograda i redovitim pregledom možemo na vrijeme uočiti pojavu bolesti te ju pravovremeno suzbiti kako ne bi ugrozili očekivani prinos. Najznačajnije bolesti vinove loze su:

- Pepelnica vinove loze (*Erysiphe necator*);
- Plamenjača vinove loze (*Plasmopara viticola*);
- Crna pjegavost rozgve (*Phomopsis viticola*);
- Siva plijesan (*Botrytis cinerea*).

2.2.1. Pepelnica vinove loze (*Erysiphe necator*)

Gljivična bolest stranoga podrijetla na vinovoj lozi koja se pojavila u Europi 1845. godine nedaleko od Londona te se kasnije proširila u ostale Sredozemne zemlje. Na peteljka listova može se pojaviti bjelkasta prevlaka ispod koje tkivo nekrotizira u obliku tanke crte, koja se proteže duž peteljke. Cvat može biti napadnut i prije oplodnje, napadnuti su oni cvjetovi koji su stisnuti jedan uz drugoga. Gljiva prezimljuje na dva načina: u obliku micelija ili oidija u pupovima vinove loze i rjeđe u obliku kleistotecija na površini biljnih organa (Cvjetković, 2010.).

Gljivica *Erysiphe necator* uzročnik je ove bolesti i nalazi se na površini biljnih organa koji su napadnuti (ektoparazit). Pomoću haustorija (sisaljke) iz epidermalnih stanica biljke crpi hranu (Kišpatić i Maceljki 1991.).

Sivo - pepeljasta prevlaka na listovima se prvo javlja u obliku pojedinačnih jastučića, a kasnije prekriva čitavu plojku. Listovi zaostaju u porastu uslijed čega dolazi do uvijanja i kovrčanja lista. Listovi postupno žute te se na kraju suše i poprimaju smeđu boju. Većina listova otpadne (Jurković, 2009.).

Napad na bobicama je moguć od zametanja do šaranja, ali je većinom kada su bobice veličine graška. Bobice zaražene odmah nakon oplodnje zaostaju u razvoju, a koža im je deblja i tvrda. One zadržavaju sivo - pepeljastu boju i za suhog vremena se suše, a vlažnog trunu. Zaražene mlade bobice se suše bez pucanja. Optimalna temperatura za infekciju i razvoj bolesti je između 20 i 27°C, dok temperatura iznad 35°C inhibira klijanje konidija (Pinova, 2016.). Na slici 1. vidimo pepelnicu na vinovoj lozi.



Slika 1. Pepelnica na vinovoj lozi

Izvor: <https://medjimurje.hr/>

2.2.2. Plamenjača vinove loze (*Plasmopara viticola*)

Plamenjača vinove loze je prema Jurkoviću (2009.) gljiva obligatni parazit, te može preživjeti samo u tkivu živog domaćina. Jurković također navodi kako u vrijeme za kojeg nema vegetacije gljiva preživljava u obliku trajnih spora - oospora. Micelij je jednostaničan (neseptiran), razgranat i širi se kroz tkivo domaćina intercelularno, a u stanicu prodire hausturijama. Nespolno se razmnožava zoosporama s dva biča dok je spolno razmnožavanje oosporama koje nastaju spajanjem anteridija i oogonija u tkivu domaćina. U tlu mogu ostati vitalne više godina.

Agrios (2005.) i Jurković (2009.) navode kako su prvi simptomi obično na najnižem lišću, vidljivi u obliku svijetlo zelenih do žutih uljnih pjega na licu lista koje se povećavaju, a na naličju se pojavljuje bijela prevlaka sporonosnih organa. Plamenjača je endoparazit, tj. micelij se nalazi u unutrašnjosti lista, bobice, izboja (Kišpatić i Maceljki 1991.).

Bolest je prenesena u Europu iz Sjeverne Amerike na *Vitis* vrstama koje su služile kao podloge rezistentne prema filokseri. Unatoč napretku u zaštiti od ove bolesti, izravne štete u mediteranskom području prosječno iznose 3,4 %, što ovisi o rasporedu oborina tijekom vegetacije (Cvjetković 2010.).

Zaraženi dio cvijeta ili cvat pokriva se za vrijeme vlažnog perioda bjelkastom prevlakom sporangiofora da bi ubrzo zatim oboljeli dijelovi dobili tamnu boju i sasušili se (Cvjetković, 2010.). Bobice pak mogu biti zaražene od zametanja do šaranja. Kod zaraze mladih bobica do zaraze dolazi kroz puči na bobicama, javlja se bjelkasta prevlaka, a bobice se kada nastupi suho vrijeme suše i otpadnu. Takve bobice se smežuraju, a kožica postaje kožasta i poprima smeđe - ljubičastu boju (Agrios, 2005.). Na slici 2. vidimo plamenjaču na bobicama.



Slika 2. Plamenjača na bobicama vinove loze

Izvor: <http://pinova.hr/media/>

2.2.3. Crna pjegavost rozgve (*Phomopsis viticola*)

Simptomi crne pjegavosti rozgve se mogu pojaviti na svim zelenim dijelovima loze, ali su najuočljiviji na odrvenjeloj rozgvi i mladicama. Na odrvenjeloj rozgvi pjege nastale tijekom svibnja uzrokuju izbjeljivanje vanjskog dijela rozgve. Na površini izbjeljene kore u proljeće se formiraju crna plodišta – piknidi s piknosporama. Formiranje piknida počinje pri temperaturi od oko 10 °C (Cvjetković, 2010.).

Spajanjem pjega nastaju prstenovi oko mladice, tkivo se često raspuca. Na odrvenjeloj rozgvi tijekom zime dolazi do „izbjeljivanja“ vanjskog dijela kore, a do proljeća na njoj se pojavljuju crne točkice - plodišta sa sporama. Spore raznose vjetar i kiša. Na zaraženom trsu lisni pupovi se ne otvaraju istovremeno, a neki uopće ne prolistaju, što dakako utječe na prinos.

Gljiva parazitira u površinskom sloju stanica, a u slučaju da prodru dublje u tkivo, biljka stvara plutasto tkivo koje sprječava dublji prodor. Nakon što mladica odrveni, izgubi sposobnost stvaranja plutastog tkiva pa gljiva može prorastati tkivo tijekom kasne jeseni i zime (Mirošević, 2008.).

Suzbijanje crne pjegavosti obavlja se već kod rezidbe vinograda tako da se zaraženi dijelovi odrežu i spale. Gnojidba dušikom treba biti umjerena, neophodna je primjena fungicida (Brmež, 2010.). Na slici 3. je prikaz crne pjegavosti na vinovoj lozi.



Slika 3. Crna pjegavost na vinovoj lozi

Izvor: https://www.krizevci.net/vinograd/htm/bol_crna_pjegavost

2.2.4. Siva plijesan (*Botrytis cinerea*)

Sistematika Carstvo: *Fungi*

Porodica: *Sclerotiniaceae*

Razred: *Leotiomycetes*

Red: *Helotiales*

Rod: *Botrytis*

Botrytis cinerea je uzročnik sive plijesni. Izraziti je polifag što znači da ima velik broj domaćina (maline, jagode, vinova loza, soja, duhan). Nalazimo ga i kao značajnog štetnika u manje povoljnim staništima, gdje postoji veći ili manji krug biljaka domaćina, što ukazuje i na polifagni i ubikvistični karakter patogena (Yunis i Elad, 1989.).

Prema navodima Tanović i sur. (2011.) *Botrytis cinerea*, uzročnik sive plijesni, parazitira na 235 biljnih vrsta koje se uzgajaju od hladnih zona Aljaske i Kanade do suptropskih oblasti, te značajno ugrožava proizvodnju voća, grožđa, povrća i ukrasnog bilja.

U vinogradima se pojavljuje zbog pojačane gnojidbe, visokorodnih sorata zbijenih grozdova, bujnih čokota, zbog ostavljanja velike lisne mase za dovoljnu asimilaciju. Napada listove i mladice, ali najopasniji je napad u vrijeme dozrijevanja grožđa kada uzrokuje sivu trulež bobica i dovodi do propadanja cijelih grozdova. Grozdovi zaraženi gljivicom *Botrytis cinerea* (slika 4.) se prepoznaju po smeđim pjegama, ako je vrijeme vlažno javljaju se pepeljasto sive prevlake. Pojavljuje se u svim vinogradima i može smanjiti berbu u velikom postotku (u kontinentalnom dijelu i do 60%) te utjecati na kvalitetu vina.



Slika 4. Grozdovi zaraženi gljivicom *Botrytis cinerea*

Izvor: <http://pinova.hr/media/>

Botrytis cinerea fakultativno je parazitna i polifagna vrsta. Krug domaćina je brojna osobito u području umjerene klime. U jačem intenzitetu javlja se u godinama s većom količinom kiše i to uglavnom u drugom dijelu vegetacije. U razvojnem ciklusu gljiva formira micelij, konidiofore s konidijama, askuse i askospore, a prema nekim autorima i mikrokonidije i hlamdispore (Topolovec - Pintarić i Cvjetković, 2000.).

Zaraza većinom počinje u vrijeme precvjetavanja, a uvjeti za napad na mlade grozdiće je dugotrajno vlažno (kišovito) i pro hladno vrijeme. Bolesni grozdići imaju vodenasti izgled te se s vremenom osuše i propadnu. Ako je vrijeme vlažno i toplo grozdiće prekriva obilna siva prevlaka sporonosnih organa, taj je simptom poznat kao siva plijesan (Brmež, 2010.).

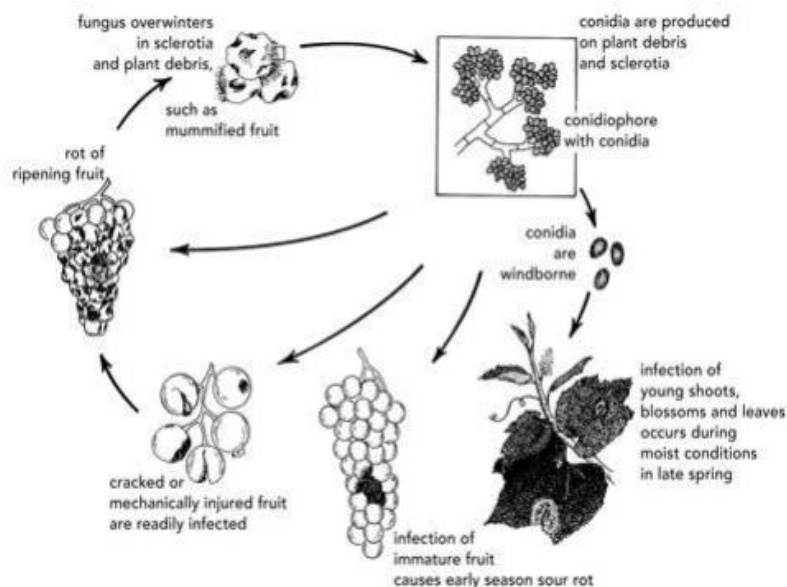
Kada se grozdići zatvore, gljiva postaje parazit i prodire u peteljke, peteljčice i bobice. Prvo dolazi faza „zelene plijesni“, ili parazitska faza kada dolazi do zaraze peteljčica i bobica. Ova faza često nije jako uočljiva, može se dogoditi da se gljiva pritaji 1 - 2 mjeseca. Može prodrijeti u tkivo direktno, što dovodi do razaranja i nekroze ili kroz ranice. Dovodi do prekida kolanja sokova (bobe se smežuraju i osuše), te stvara konidije za daljni razvoj. Pred zriobu dolazi faza „sive plijesni“, čiji je početak zapravo vezan uz naseljavanje gljive na cvjetove nakon cvatnje (Kišpatić i Maceljki, 1991.).

Uzročnik sive plijesni je gljiva poznata po brzom razvoju rezistentnosti na fungicide za njeno suzbijanje. Problem rezistentnosti gljive *Botrytis cinerea* posebno je izražen u zaštiti vinograda jer je siva plijesan jedna od ekonomski značajnih bolesti vinove loze. Bolest u kontinentalnom dijelu naše zemlje nanosi štete od 50 do 60 %, a u mediteranskom 3 do 5 %, koje se nastavljaju i u procesu vinifikacije (Topolovec - Pintarić, 2000.). Visoka relativna vlažnost zraka (90%), vlažnost biljnih dijelova i povoljne temperature za razvoj (1 - 30°C, optimalno 15 - 20°C), smatraju se najvažnijim okolišnim uvjetima koji utječu na infekciju gljivom *Botrytis cinerea* (Jurković i sur., 2010.).

Ako je vrijeme vlažno i toplo grozdiće prekriva obilna siva prevlaka sporonosnih organa. Razvoj bolesti teče kroz tri faze.

1. Faza - precvjetavanje- gljiva naseli ocvali grozdić i živi kao saprofit, ali u tom stadiju treba početi sa zaštitom.
2. Faza - zatvaranje i zbijanje grozdića, tzv. zelena ili kisela faza- nastaje infekcija peteljčice i same bobe grozda.

3. Faza - dozrijevanje- dolazi do propadanja dijelova grozda ili cijelog grozda i štete mogu biti vrlo značajne (Brmež, 2010.). Na slici 5. je prikaz biološkog ciklusa *B.cinerea*.



Slika 5. Biološki ciklus *Botrytis cinerea*

Izvor: <https://www.evineyardapp.com/blog>

Dva najčešća izvora sklerocija u vinogradu su prošlogodišnji grozdovi i stabljike, koje su zaražene u jesen prethodne godine. Nakon kiša ili navodnjavanja u proljeće, sklerocije se razvijaju i proizvode velike količine spora koje se šire zračnim strujama, pljuskovima kiše ili se prenose prilikom obrade vinograda. Apoteciji se u prirodnim uvjetima vrlo teško pronalaze. Dakle, tijekom vegetacije gljiva formira konidijski stadij koji pričinjava štete u biljnoj proizvodnji, dok pred kraj vegetacije stvara sklerocije kao konzervacijske organe, ili pak može preživjeti nepovoljne uvjete kao micelij na zaraženim biljnim ostatcima. U proljeće na sklerocijama se stvara micelij s konidioforima i konidijama, ili se rjeđe formiraju apoteciji s askusima i askosporama.

Uzročnik sive plijesni na vinovoj lozi naseljava se u grozdiće vrlo rano, odmah nakon cvatnje (katkada već i u cvatnji). U toj fazi ne radi se o parazitu, već saprofitu. Kada se grozdići zatvore gljiva postaje parazit i prodire u peteljke, peteljčice i bobice. Prvo dolazi faza “zelene

plijesni”, a pred zriobu dolazi faza “sive plijesni” čiji je početak zapravo vezan uz naseljavanje gljive na cvjetove nakon cvatnje (Kišpatić i Maceljski 1991.).

Približavanjem pune zrelosti, bobice postaju osjetljivije na zarazu sa sivom plijesni. Mogućoj osjetljivosti ili određenoj razini otpornosti pridonose abiotski i biotski čimbenici prisutni u okolišu u pojedinim fazama razvoja vinove loze, kao i razni skup ampelotehničkih mjera primjenjenih tijekom vegetacije. Povećanoj mogućnosti zaraze pogoduje smanjenje fenolnih tvari i kiselina (Bais i sur., 2000.).

Siva plijesan ne uzrokuje samo štete koje dovode do gubitka uroda grožđa, već može dovesti do povećeg broja promjena u kemijskom sastavu bobica, a otežava i preradu grožđa, njegu, proizvodnju, čuvanje, punjenje i trženje vina.

Prema Ribereau-Gayon i sur. (1960.) grožđe koje je zaraženo sivom plijesni ima povećanu pH vrijednost, veću količinu metanola, glicerola, limunske, jabučne, te glukonske i octene, a smanjen sadržaj vinske 4 kiseline u odnosu na zdravo grožđe, pa vina dobivena preradom takove sirovine mogu biti nestabilna, te osjetljiva na oksidaciju i neprikladna za čuvanje, odnosno odležavanje.

Russel (2005.) navodi kako postoje četiri osnovna načina suzbijanja sive plijesni: agro i ampelotehničke mjere zaštite, stvaranje otpornih kultivara te biološke i kemijske mjere zaštite. Tanović i sur. (2011.) tvrde da redovna berba, uklanjanje biljnih ostataka poslije berbe, uklanjanje oboljelih biljnih dijelova i izbjegavanje mehaničkih oštećenja biljaka uslijed redovitih agrotehničkih zahvata može značajno smanjiti intenzitet oboljenja sivom plijesni.

Ukoliko pravovremeno provedemo zahvate zelene rezidbe možemo u znatnoj mjeri dovesti do smanjenog napada bolesti kao i postizanje bolje kvalitete grožđa i vina. Njihovo dozrijevanje ubrzava se prorjeđivanjem grozdova i povoljno djeluje na udio fenola i antocijana u grožđu crnih kultivara (Prajitna i sur., 2007.; Tardaguila i sur., 2008.).

Biološke mjere zaštite mogu predstavljati, ili alternativu, ili dopunu primjeni konvencionalnih pesticida (Filajdić i sur. 2003.).

Kako ju je teško suzbiti kemijskim pesticidima, a s druge strane raste potražnja za ekološkim proizvodima, primjena biopreparata se sve više koristi u suzbijanju ove bolesti. Najpoznatiji benefitni mikroorganizmi, sadržani u biopreparatima, koji antagonistički djeluju na *Botrytis cinerea* su: *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus* spp., *Thiobacillus* spp.

2.3. Štetnici vinove loze

Vinogradarstvo svoj najveći razvoj u Europi postiže u 18. i 19. st. Tada se počinju javljati i štetnici koji dovode do propadanja vinograda. Proizvodnja hrane u svijetu ovisi isključivo o poljoprivredi. Zbog visokih šteta koje nanose štetnici, najvažnije je njihovo poznavanje kako bi mogli predvidjeti njihov napad, obaviti potrebnu zaštitu, smanjiti štete i učinili proizvodnju proizvoda isplativom. Prema novijim podacima štetnici smanjuju prirod poljoprivrednih kultura u svijetu za 42%, Europi 28%, a u HR za 29% (Brmež i sur., 2010.).

Vinovu lozu napadaju i razni štetnici u koje ubrajamo kukce, grinje, a ponekad mogu biti štetne i nematode koje su vektori prenošenja virusa. Ovisno o vrsti štetnika mogu se pojaviti na korijenu, rozgvi, pupovima i lišću, te na cvjetovima i na grozdu. Vinovu lozu, kao i sve druge kulture, napadaju i oštećuju brojne bolesti i štetnici koji svojim negativnim djelovanjem smanjuju prirod i kakvoću grožđa te ostalih proizvoda od vinove loze. Štetnici imaju drugačiji način života, druge uvjete razvoja i načine suzbijanja od uzročnika bolesti pa se stoga i obrađuju posebno (Kišpatić i Maceljki, 1991.).

Štetnik filoksera ili trsov ušenac (*Viteus vitifoliae* Fitch) prouzročio je potpuni zaokret europskog vinogradarstva tijekom šezdesetih godina 19. stoljeća kada je prvi put otkriven u Francuskoj. Šireći se prema istoku i ostavljajući za sobom ogromne štete u vinogradima, 1880. godine utvrđen je i u Hrvatskoj. Kako kod bolesti, tako i kod štetnika, potrebno je na vrijeme prepoznati simptome štetnika na vegetativnim i generativnim dijelovima loze (rozgva, pupovi, lišće, mladice, bobice). Nadanje, treba redovito pratiti klimatske podatke s meteoroloških stanica, savjete prognozne službe te učestalo kontrolirati vinograd. Nanajvažniji štetnici vinove loze na našem području su: štitaste uši, voćni crveni pauk, akarinoza, erinoza, lozin trips, grba korak, vinove pipe, cigaraš, grozdovi moljci i dr. (Ivezić, 2003.).

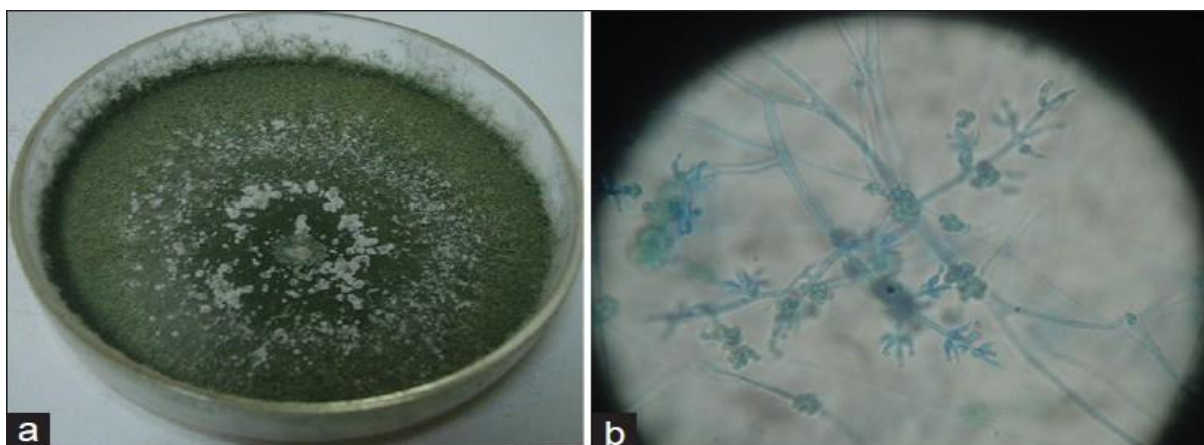
Otpornim na štetnika pokazuju se neke američke vrste vinove loze koje se cijepe kao podloga europskoj vinovoj lozi. Pri izboru mjera suzbijanja prvenstvo treba dati uzgoju sorata otpornih i tolerantnih na štetnike, sadnji zdravog i deklariranog ekološki uzgojenog sadnog materijala, primjeni agrotehničkih mjera koje ne pogoduju razvoju štetnika uporabi fizikalnih i mehaničkih mjera, uporabi bioloških mjera (korisni kukci i grinje, mikroorganizmi antagonisti), uporabi sredstava za ekološku zaštitu bilja. Pravilnik o ekološkoj proizvodnji i uzgoju bilja i u proizvodnji biljnih proizvoda (N.N. 91/01, 10/07) dopušta upotrebu prirodnih neprijatelja štetnika poljoprivrednog bilja (predatori, nametnici, superparaziti), upotrebu feromona, kada se ne primjenjuju izravno na biljke, te upotrebu repelenata.

3. KORISNA GLJIVA *TRICHODERMA SPP.*

Gljivice roda *Trichoderma* spp. predstavljaju najzastupljeniju skupinu mikroorganizama kada govorimo o biološkoj zaštiti bilja. Prema procjenama čak 90% gljivica ovoga roda su antagonisti (Benitez et al., 2004.).

Vrste roda *Trichoderma* su pokazale dobar rast na različitim temperaturama. Većina *Trichoderma* vrsti je fotosjetljiva te proizvode konidije u razdoblju svjetlosti. Optimalna temperatura za rast kolonije je 25 - 31 °C. (Singh i sur. 2014.).

Tipično za rod *Trichoderma* su grananja nalik na drvo ili piramidu (konidiofori). Konidiofori nose kratke filijale koje rastu pojedinačno ili u grupi. Mogu biti skupljene u hrpu koju čini 10 - 20 konidija pri čemu su jednostanične, veličine od 2,5 do 4 µm grubo zrnate membrane (Kumar, 2009.).



Slika 6. *Trichoderma* spp

izvor: <http://www.ijem.in/viewimage.asp?img>

Trichoderma spp. ima sposobnost da djeluje na druge gljive na način da parazitira gljive, te proizvodi antimikrobne supstance. (Martinko 2015.).

Djelovanje gljivice roda *Trichoderma* spp. u poljoprivredi je višestruko, pa tako gljivice ovoga roda imaju ulogu u protekciji usjeva od bolesti djelujući kao vrhunski inhibitori rasta. Nadalje, razvijaju imunost same biljke na određene bolesti a kada je u pitanju razvoj patogenih gljivica, vrste roda *Trichoderma* luči brojne enzime koji djeluju preventivno.

Vrste roda *Trichoderma* se također uključuju i u različite biokemijske procese u biljci te pospješuju zdravstveno stanje biljke te pridonose njenoj većoj produktivnosti. Kao rezultat toga biljke su bujnije, zelenije i plodonošenje je bolje (Harman 2000.).

Trichoderma spp. su gljive koje se mogu pronaći u većini obrađivih tala. Posjeduju izražen mikoparazitizam te antibiozu. Mikoparazitski proces je zasnovan na direktnom kontaktu micelija antagonista i patogena, a nakon toga sekreti enzima obavljaju degradaciju staničnog zida domaćina (Kubicek et al., 2001.).

Pozitivan učinak gljivica ovog roda na biljke predmet su brojnih znanstvenih istraživanja u kojima je istražena učinkovitosti ovih gljiva u kontroli bolesti brojnih poljoprivrednih i povrtlarskih kultura, ukrasnog bilja, te pri uzgoju voća (Harman, 2000.; Howell, 2003.; Benitez i sur., 2004.; Smolinska i sur., 2007.).

Trichoderma spp. vodi do velikih promjena u biljnom genomu i metabolizmu same biljke, koji vode do akumulacije antimikrobnih komponenti (Mastouri, 2010.; Singh et al., 2011.).

Vrste roda *Trichoderma* imaju sposobnost lučenja snažnog hidrolitičkog multi - enzimskog kompleksa koji sačinjavaju: hitinaze (de la Cruz i sur., 1992.), β -1,3-glukonaze (Noronha and Ulhoa, 1996.), β -1,6-glukonaze (de la Cruz and Llobell, 1999.), α -1,3 glukonaze (Ait-Lahsen i sur., 2001.), proteaze (Geremia i sur., 1993.) i celulaze (Monte and Llobell, 2003.).

U većini zemalja kao glavni proizvodi za biološku kontrolu koriste upravo mikroorganizmi roda *Trichoderma*. Osim što smanjuju razvoj bolesti, stimuliraju rast biljaka, povećavaju otpornost biljaka na stres, te potiču bržu razgradnju komposta čime biljke brže dolaze do hranjivih nutrijenata (Harman, 2000.).

Prema Monte - u (2001.) korištenjem *Trichoderme* spp. reducira se upotreba kemijskih fungicida čime se povećava zdravlje biljke, te postiže čitav niz pozitivnih učinaka na okoliš u cjelini.

Primjenom u vrijeme sjetve postiže se kolonizacija površine sjemena koji supresira naseljavanje patogena na kutikulu sjemena te otežava kontaminaciju (Samuels i sur. 2006.).

Poznat je izuzeto veliki broj vrsta gljiva koje pokazuju određeno antagonističko djelovanje na različite biljne patogene. Do sada je istraženo i za komercijaliziranu primjenu iskorišteno 12 vrsta antagonističkih gljiva, kao npr.: *Candida oleophila*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Gliocladium virens* i dr. Najveću primjenu u zaštiti bilja od bolesti za sada imaju antagonističke vrste iz roda *Trichoderma*. Na slici 7. dat je prikaz

komercijaliziranih bioloških pripravaka (mikofungicida) na osnovi antagonističkih gljiva te fitopatogenih gljiva koje suzbijaju (Miličević, 2006.).

| Vrsta antagonističke gljive | Nazivi komercijaliziranih pripravaka | Biljni patogeni koje suzbijaju |
|--|--|--|
| <i>Trichoderma harzianum</i> | Root Pro, Trianum-P, Trianum-G, RootSchild Trichodex i dr. | <i>Pythium spp.</i> , <i>Rhizoctonia spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i dr. |
| <i>Trichoderma harzianum</i> i <i>Trichoderma polysporum</i> | Binab T i dr. | Gljive razarači drva |
| <i>Trichoderma viride</i> | Trieco i dr. | <i>Rhizoctonia spp.</i> , <i>Pythium spp.</i> , <i>Fusarium</i> |
| <i>Trichoderma harzianum</i> i <i>Trichoderma viride</i> | Trichopel Trichoject Trichodowels Trichopseal i dr. | <i>Armillaria spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i> , <i>Phytophthora spp.</i> , <i>Pythium spp.</i> , <i>Rhizoctonia spp.</i> , i dr. |
| <i>Trichoderma spp.</i> | Trichoderma 2000 Bio-Fungus i dr. | <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Pythium spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i> |
| <i>Trichoderma harzianum</i> i <i>Gliocladium virens</i> | GlioGard i dr. | <i>Rhizoctonia spp.</i> , <i>Pythium spp.</i> i dr. |

Slika 7. Komercijalizirani biološki pripravci na bazi antagonističkih gljiva

Izvor: Miličević (2006.).

Najpoznatiji antibiotici iz roda *Trichoderma* su gliotoksin i viridin. Dosad poznati antibiotici spadaju u sljedeće grupe spojeva: izonitrili, poliketidi, peptaiboli, diketopiparazini, sesquiterpeni i steroidi. Također su antibiotici u uskoj sprezi sa ekstracelularnim litičkim enzimima stvaranih od strane roda *Trichoderma* koji razrađuju stanične stijenke drugih antagonističkih gljiva.

Mnogi od ovih antibiotika djeluju sinergijski u kombinaciji sa različitim degradirajućim staničnim enzimima gljivica roda *Trichoderma*. U ovoj kombinaciji, antibiotici imaju jak inhibitorski učinak na brojne biljne patogene. Inhibitorska aktivnost kemijskih fungicida apliciranih na patogene gljive roda *Botrytis* i druge biljne patogene može biti snažnija ukoliko u isti dodamo stanične enzime *Trichoderme* spp. Za razliku od kemijskih sredstava, degradirajući stanični enzimi *Trichoderma* spp. nisu opasni za čovjeka, kao niti za životinje, te u okolišu stvaraju korisne rezidue u tlu.

Specifičnosti gliotoksina i viridina su da:

- parazitiraju te uništavaju druge štetne gljive u tlu poput *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Verticilium*, *Fusarium*, te *Botrytis*. Oni prodiru u hife drugih gljiva te apsorbiraju njihov sadržaj;
- koloniziraju i zauzimaju životni prostor od drugih štetnih gljivica i mikroorganizama u rizosferi;
- stvaraju biološki stimulans i hormone rasta (auxine, citokinine, gibereline) koji potiču bolji rast biljke i stvaranje veće prinosa;
- Pospješuju razgradnju celuloze, te omogućavaju mineralizaciju biljkama nepristupačnih u biljkama pristupačna hraniva. (Mn^{4+} u Mn^{2+} , Cu^{2+} u Cu^{1+} , Fe^{3+} u Fe^{2+});
- U prosjeku se njihovom primjenom povećava prinos od 10 - 40% te se preporučuje primijeniti i na površinama gdje nema napada od gore spomenutih štetnih gljivica zbog održavanja mikrobiološkog „zdravlja“ tla te preventivnog djelovanja;
- Induktivno, sistemično stečen imunitet, odnosno ne specifičan imunološki odgovor biljke na napad štetnih organizama.

Rod *Trichoderma* kroz izmjenu tvari u zoni korijena eliminira nepovoljne oksidativne elemente, odnosno razgrađuje fitotoksične tvari (npr. enzime) proizvedene od strane drugih, štetnih mikroorganizama.

Niskomolekularni spojevi i antibiotici (hlapivi i ne hlapivi) koje luče gljivice roda *Trichoderma* ometaju kolonizaciju štetnih mikroorganizama uključujući i nematode koje se nalaze u zoni korijena (Eapen and Venugopal, 1995.).

Vrste roda *Trichoderma* koriste se kao biokontrolni agensi protiv gljivičnih, ali i bakterijskih uzročnika bolesti biljaka. Različiti mehanizmi uključuju antibiozu, parazitizam, induciranje otpornosti domaćina i biljke, te konkurenciju. Većina bioloških agenasa su iz vrste *T. harzianum*, *T. viride* i *T. hamatum*. *Trichoderma* spp. obično raste u svom prirodnom staništu, tlu, na površini korijena, i tako utječe posebno na uzročnike truleži korijena, ali isto tako je učinkovito i kod folijarnog tretmana.

3.1. *Trichoderma viride*

Rod *Trichoderma* je 1794. godine definirao botančar Christian Hendrick Persoon kao zelenu plijesan koja raste na potrganim granama. Do 1969. godine svi spojevi roda *Trichoderma* su u literaturi identificirani kao *T. viride* zbog koncepta da se *Trichoderma* sastoji od jedne vrste (Bisby, 1939.). Godine 1969. revidirana je taksonomija roda *Trichoderma* i opisano je 9 vrsta s obzirom na sistem grananja konidifora, karakteristike fijaspora, raspored fijasida i morfologiju konidija (Rifai, 1969.).

Zbog svoje fungistatske aktivnosti *T. viride* je korisna u biološkoj borbi protiv najznačajnijih fitopatogenih gljiva kao što su *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Armillaria*, *Fusarium* i mnoge druge ekonomski značajne vrste patogena. Primjenom u vrijeme sjetve, postiže se kolonizacija površine sjemena ovim antagonistom koji supresira naseljavanje patogena na kutikulu sjemena i tako otežava gljivičnu kontaminaciju (Samuels i sur. 2006.).

Trichoderma viride koristi se u biološkoj borbi protiv fitopatogenih gljiva. Karakteristična je po brzom rastu kolonije u pogodnim toplim i vlažnim uvjetima. Optimalne temperature za rast micelija se kreću od 20 °C do 28 °C. Optimalna pH vrijednost za ovu vrstu je u rasponu od 4,5 do 5,5. Optimalna temperatura za proces klijanja konidija iznosi od 10 °C do 35 °C. Najpogodnija relativna vlažnost zraka iznosi 95% (Cavalcante i sur. 2006.).

Kolonizacija korijena vrstom *Trichoderma viride* stimulira rast korijena, povećava usvajanje i upotrebu hraniva što dovodi do bujnijeg rasta. Danas se smatra kako je utjecaj *T. viride* od velike važnosti za poljoprivrednu proizvodnju kao i shvaćanje uloge *Trihoderma* vrsta u ekosustavu (Topolovec - Pintarić i sur. 2013.).

Rifai (1969.) predlaže sistematiku temeljenu na morfološkim karakteristikama, a za temelj opisa cijelog roda uzima upravo *T. viride*. On je svaku vrstu s konidijama okruglog ili ovalnog oblika bradavičastom membranom odredio kao *T. viride*. Kasnije razvojem mikroskopije bivaju uočene sitne razlike. *Trichoderma viride* pripada grupi bioloških fungicida. Kako naseljava korijenov sustav gljiva inducira lokalnu i sistemičnu otpornost biljke na napad patogena (*Fusarium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Armillaria spp.*). Miceliji te gljive sintetiziraju različite spektre enzima uključujući celulaze i hitinaze koji razgrađuju celulozu i hitin. U slučaju tretiranja sjemena gljiva ga kolonizira te vrši napad na patogena, ali i ujedno stvara zaštitu od spomenutih. Svojem razvojem na biljci ona omogućuje i povećanje korijenove

apsorpcije hraniva te na taj način uvjetuje bolji razvoj korijena što na kraju dovodi i do većeg prinosa.(Slika 8.).



Slika 8. *Trichoderma viride*

Izvor: <https://www.flickr.com/photos/>

Kolonije gljive *T. viride* imaju karakterističnu smaragdno zelenu boju. Zbog činjenice da pripada diurnalnim vrstama pri izmjeni dana i noći formira karakteristične koncentrične krugove tamnožute do zelene boje. Konidije su maslinasto zelene boje veličine od 2,5 - 4 μm . Vrsta *T. viride* rijetko stvara hlamidospore, ako nastanu najčešće su jajolike te prozirne do blijedožute boje (Samuels i sur 2006.).

Povećavajući otpornost biljke prema uzročnicima bolesti, *Trichoderma* vrste štite biljku od infekcija od strane fitopatogenih gljiva te je korijen tretiran mikoriznim gljivama i direktno dovodi do povećanja prinosa (Hermosa i sur 2012.).

Trichoderma viride koristi se u biološkoj borbi protiv fitopatogenih gljiva. Karakteristična je po brzom rastu kolonija u pogodnim toplim i vlažnim uvjetima. Optimalne temperature za rast micelija se kreću od 20 °C do 28 °C. Optimalna vrijednost pH medija za ovu vrstu je u rasponu od 4,5 do 5,5. Optimalna temperatura za proces klijanja konidija iznosi od 10 °C do 35 °C. Najpogodnija relativna vlažnost zraka iznosi 95% (Cavalcante i sur. 2006.). Na slici 9. vidimo prikaz kolonije *T. viride*.

Trichoderma viride stimulira rast korijena, povećava usvajanje i upotrebu hraniva što dovodi do bujnijeg rasta. Danas se smatra kako je utjecaj *T. viride* od velike važnosti za poljoprivrednu proizvodnju kao i shvaćanje uloge *Trichoderma* vrsta u ekosustavu (Topolovec - Pintarić i sur. 2013.).



Slika 9. Izgled kolonije *T. viride*

Izvor: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/kolonie/Trichoderma>

Trichoderma viride je prepoznatljiva i po svom brzom rastu u uvjetima optimalne temperature od 20°C do 28°C. Optimalna pH vrijednost je u rasponu od 4,5 do 5,5. Gljiva se nalazi u tlu te poboljšava klijavost sjemena cvjetnica, povećava unos fosfora i proizvodi enzime koji degradiraju celulozni poljoprivredni otpad. (Samuels i sur. 2006). Fungicidna aktivnost čini *T. viride* korisnim kao biološku kontrolu protiv biljnih patogenih gljiva.

4. SUZBIJANJE PATOGENE GLJIVE *BOTRYTIS CINEREA* S UPOTREBOM KORISNE GLJIVE *TRICHODERMA VIRIDE*

Trichoderma spp. su gljive koje su prisutne u gotovo svim poljoprivrednim zemljištima i drugim sredinama. Antigljivične sposobnosti ovih mikroorganizma poznate su još od 1930. godine i od tada se veliki naponi ulažu za njihovo uvođenje kao biofungicida u zaštitu bilja. Ove gljive rastu trofički prema hifama drugih gljiva, obavijaju se oko njih uz pomoć lecitina, razgrađuju zid ciljnog gljivičnog organizma sekrecijom različitih litičkih enzima (Grahovac i sur. 2009.).

Trichoderma vrste uobičajeno se koriste u biološkoj zaštiti vinove loze i drugog kultiviranog bilja od uzročnika bolesti. (Elad i Freeman, 2002.; Contreras - Cornejo i sur., 2014.).

Trichoderma viride ima jaka kometicijska svojstva te ujedno sintetizira razne kemijske spojeve koje djeluju na zaustavljanje rasta fitopatogene gljive *Botrytis cinerea*. Osim što će suzbiti fitopatogenu vrstu, ona će ujedno povoljno djelovati na poboljšanje otpornosti biljke na bolesti. *T. viride* se danas u svijetu uspješno koristi u biološkoj borbi te je sadržana u velikom broju pripravaka.

Istraživanja Fernandez i sur. (2014.) u laboratorijskim uvjetima su pokazala da je najveći porast micelija *T. viride* nakon 7 dana na PDA podlozi zabilježen pri 28 °C, zatim pri 12 °C i najmanji pri 4 °C, a u istraživanje su uvrstili samo te 3 temperature.

Van den Berg i Lentz (1968.) su u laboratorijskim uvjetima utvrdili da vitalnost i rast *B. cinerea* ovisi o relativnoj vlažnosti zraka, temperaturi i izolatu, odnosno patotipu. U odsustvu hranjivih tvari vitalnost micelija je varirala od 12 mjeseci pri 95-100 % vlage i 0 °C do manje od mjesec dana pri vlazi manjoj od 95 % i 20 °C ovisno o izolatu. Uz prisustvo hranjivih tvari rast se javljao samo iznad 93 % vlažnosti, a ispod toga rasta nije bilo i micelij bi preživio ispod mjesec dana. Maksimalan rast zabilježen je pri 20 °C. Utvrđeno je da micelij gljive *B. cinerea* preživljava u uvjetima skladištenja povrća i voća.

Porras i sur. (2002.) su testirali antagonističko djelovanje *Trichoderma viride* na fitopatogenu gljivu *Botrytis cinerea*. Koristili su izolati *T. viride* i *B. cinerea* te su testiranje antagonizma proveli *in vitro* metodom 'dvojnih kultura'. Dokazali da *Trichoderma viride* uspješno supresira razvoj *Botrytis cinerea* svojim kompetitivnim i antibiotskim svojstvima.

Vrsta *T. viride* se pokazala vrlo uspješnom u suzbijanju drugih fitopatogenih gljiva zahvaljujući dobrim karakteristikama. Osim što je dobar mikoparazit, ona i sintetizira razne

antibiotske tvari koje također djeluju na inhibiranje rasta patogena. Laboratorijska ispitivanja pokazala su da je na srednjoj temperaturi (12 C °) formulirana konidija *Trichoderma viride* koja traje do 96 sati do klijanja, a konidija izolirana *B. cinerea* zahtijeva 11 do 16 h. Nadalje, komercijalno formulirana konidija bila su mnogo više podvrgnuta fungistazi u stresu hranjivih tvari in vitro nego što su bili svježi konidiji.

Stanište ovog roda uglavnom je tlo, dok neki žive na posebnim staništima. Benefitna svojstva gljivica roda *Trichoderma* dobro su znana preko 70 godina, no njihova upotreba u komercijalne svrhe krenula je ne tako davno. Gljivice ovog roda efikasne su kada su u pitanju patogene gljivice *B. cinerea*. (Monte, 2001.).

Poznato je više od 180 sekundarnih metabolita koji predstavljaju različite klase kemijskih spojeva, a možemo ih podijeliti u skupine kao što su: hlapljivi antibiotici, te spojevi topivi u vodi. *T. viride* je u stanju proizvesti 6PP (6-pentil- α -piron) koji pripada skupini hlapljivih antibiotika i od iznimne je važnosti u biokontroli vrsta kao što su *B. cinerea*, *R. solani* i *Fusarium oxysporum* (Gams and Bisset, 1998.; Reino et al., 2008.).

5. ZAKLJUČAK

Govorimo li o benefitoj gljivi može se reći da je *Trichoderma spp.* gljiva prisutna u gotovo svim tipovima tala. Njezina uloga u posljednje vrijeme sve više dobiva na značenju u području biološke zaštite. Dokazano je da preferira područja s velikom količinom zdravog korijenja koje ujedno i potiče na rast. *Trichoderma* vrste se koriste u biološkoj zaštiti vinove loze od uzročnika bolesti. Povećavajući otpornost biljke prema bolesti, *Trichoderma* vrste štite biljku od infekcija od strane fitopatogenih gljiva, te korijen koji kolonizira vrsta *T. viride* bujniji je što direktno dovodi do povećanja prinosa. U nizu bioloških fungicida, a koji pripada rodu *Trichoderma*, je i *T. Viride*. Pri samom nastanjivanju posebno korjenovog sustava, ova gljiva inducira lokalnu i sistemičnu otpornost na brojne patogene, posebno na sivu plijesan vinove loze - *Botytis cinerea*. *Trichoderma viride* djeluje po principu mikroparazitizma tijekom kojeg sintetiziraju enzime koji imaju sposobnost razgradnje stanične stijenke patogenih gljiva. Osim što s mikroorganizima ulazi u kompetenciju za infektivno mjesto, kisik i hraniva, ova korisna gljiva sintetizira mikrobiocidne supstance.

6. LITERATURA

1. Agrios, G. N. (2005.): *Plant Pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press, USA
2. Bais, A. J., Peter J. Murphy, P. J., Dry, I. B. (2000.): The molecular regulation of stilbene phytoalexin biosynthesis in *Vitis vinifera* during grape berry development. *Australian Journal of Plant Physiology* 27(7), 723 - 723.
3. Benitez T., Rincon A.M., Limon M.C., Codon A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int. Microbiol.* 7 (4): 249–260.
4. Bisby G. R. (1939). *Trichoderma viride* Pers. ex Fries, and notes on *Hypocrea*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 23: 149-168
5. Brmež, M., Jurković, D., Šamota, D., Baličević, R., Štefanić, E., Ranogajec, Lj. (2010.): Najznačajniji štetnici, bolesti i korovi u voćarstvu i vinogradarstvu. Osječko-baranjska županija, Kromopak, Valpovo, p.p. 60.
6. Cavalcante, D. A. (2007.) : Avaliação do Tratamento com Água Ozonizada para Higienização de Alface (*Latuca sativa*). Campinas, São Paulo: State University of Campinas, MSc thesis.
7. Contreras - Cornejo H. A., Macías-Rodríguez L; Alfaro - Cuevas R., López - Bucio J. (2014.): *Trichoderma* spp. Improve growth of *Arabidopsis* seedlings under salt stress through enhanced root development, osmolite production, and Na⁺ elimination through root exudates. *Mol Plant Microbe Interact.* 27(6):503-14.
8. Corino L., Calo A., Sustainable Viticulture; Current practices and Future Developments, 2000 Italy.
9. Cvjetković B. (2010.): Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze, Zrinski d.d., Čakovec.
10. Cvjetković B., Sever Z., Fabek S. (2016): Bolesti korijena u hidroponskom uzgoju i osvrt na parazite *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome) *Ferraris* i *Pythium* spp.. *Glasilo biljne zaštite*.
11. Cvjetković, B. (2010.): Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze. Zrinski d.d., Čakovec, p.p.505.
12. De La Cruz, J., Pintor - Toro, J. A., Benitez, T., Llobell, A. (1995.) : Purification and characterization of an endo-p-1,6-glucoamylase from *Trichoderma harzianum* that is related to its mycoparasitism. *J. Bacteriol.*, 177, 6937- 6945.

13. De La Cruz J., Rey M., Lora J. M., Hidalgo - Gallego A., Dominguet F., Pintor - Toro, J. A., Llobell A., Benitez, T. (1993.) : Carbon source control on p-glucatiases, chitobiase and chitinase from *Trichoderma harzianum*. Arch Microbiol.
14. Elad Y., Freeman S. (2002.): Biological control of fungal plant pathogens. In: Kempken F (ed) The Mycota, A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research. XI. Agricultural Applications. Springer, Heidelberg, Germany, pp. 93–109
15. Fernández J., Fernández-Baldo M., Sansone G., Calvente V., Benuzzi D., Salinas E., Raba J., Sanz M. (2014.): Effect of temperature on the morphological characteristics of *Botrytis cinerea* and its correlated with the genetic variability. Journal of Coastal Life Medicine; 2(7): 543-548.
16. Filajdić, N., Vukša, P., Ivanović, M. i Rekanović, E. (2003.): Biološke mere zaštite bilja: problemi i perspektive. Pesticidi, 18(2): 69-75.
17. Gams, W., Bissett, J. (2015.): Morphology and identification of *Trichoderma*. Pest management in horticultural ecosystems, 21:194-202.
18. Grahovac, M., Inđić, D., Lazić, S., Vuković, S. (2009.): Biofungicidi i mogućnosti primene u savremenoj poljoprivredi. Pestic. fitomed. 24(4), 245-258.
19. Harman G. (2000). Mysths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research in *Trichoderma harzianum* T22, Plant Desese. Vol. 84, 377-393
20. Harman G. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology.
21. Heromsa R., Viterbo A., Chet I. Monte E.: Plant (2012.) – beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. Microbiology, 158:17-25
22. Howell C.R. (2003.) : Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases; the history and evolution of current concepts. Plant Dis. 87 (1): 4–10
23. Ivezić M. (2003.): Štetnici vinove loze i voćaka. Veleučilište u Požegi i Rijeci. Skripta, 1- 133.
24. Jurković, D. (2009.): Fitopatologija I. Poljoprivredni fakultet u Osijeku
25. Kišpatić, J., Maceljki M. (1991.): Zaštita vinove loze od bolesti, štetnika i korova. Nakladni zavod Znanje, p.p. 232.
26. Kubicek C. P., Penttilä M. E. (1998.) : Regulation of production of plant polysaccharide degrading enzymes by *Trichoderma*. Taylor and Francis Ltd., London, pp. 49-71.

27. Kumar A., R., Shukla P., Singh A. K., Singh N.K., Dubey A. (2009.) ; Use of essential oil from *Mentha arvensis* L. to control storage moulds and insects in stored chickpea. J. Sci. Food Agric., 89: 2643-2649.
28. Maceljčki M., Cvjetković B., Ostojić Z., Igrac Barčić J., Pagliarini N., Oštrec LJ., Barić K., Čizmić I. (2004.): Štetočinje povrća. Zrinski, Čakovec.
29. Maceljčki M. (1999.): Poljoprivredna entomologija. Zrinski d.d., Čakovec, p.p. 441.
30. Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I. (2008.) ; Vinova loza ampelografija, ekologija, oplemenjivanje, Zagreb.
31. Maletić E., Preiner D., Pejić I., Karoglan Kontić J., Marković Z., Andabaka Ž., Stupić D., Žulj Mihaljević M., Merkaš S., (2015.) ; Sorte vinove loze hrvatskog Zagorja, Zagreb.
32. Maletić E., Karlogan Kontić J., (2008.) : Vinova loza, Školska knjiga, Zagreb
33. Martinko K. (2015). Interakcija *Trichoderma viride* i *Fusarium solani* u prisutnosti Raxil TM GEL 206, Diplomski rad, Agronomski fakultet, Zagreb
34. Mastouri F., Harman G. E. (2010.) ; Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual Review of Phytopathology, 48, 21–43.
35. Miličević, T. (2006). Biološko suzbijanje biljnih patogena – Današnje stanje u svijetu i mogućnosti primjene. Glasilo biljne zaštite 6: 310-316.
36. Mirošević N., Kozina B., Karoglan Kontić J., Maletić E. (2001.) ; Gnojidba cv. Plavac mali (*Vitis vinifera* L.) prinos grožđa i kakvoća mošta, Zagreb.
37. Mirošević N., Kontić Karoglan J. (2008): Vinogradarstvo ; Nakladni zavod Globus, Zagreb
38. Monte E., Llobell A. (2003.): *Trichoderma* in organic agriculture. Proceedings V World Avocado Congress, 725-733.
39. Mukhopadhyay A.N., Shrestha S.M., Mukherjee P.K. (1992) ; Biological seed treatment for control of soilborne plant pathogens FAO. Plant Prot Bull 40:21-30.
40. Porras P.A., P.G. Neumann, “EMERALD: Event Monitoring Enabling Responses to Anomalous Live Disturbances,” Proceedings National Information Systems Security Conference, NSA/NIST, Baltimore, MD, October 1997.
41. Prajitna, A., Dami, I. E., Steiner, T. E., Ferree, D. C., Scheerens, J. C., Schwartz, S. J. (2007.): Influence of cluster thinning on phenolic composition, resveratrol, and antioxidant capacity in Chambourcin wine. American Journal of Enology and Viticulture, 58: 346-350.

42. Preiner D., Tupajić P., Karoglan Kontić J., Andabaka Ž., Marković Z., Maletić E. (2013.): Organic acids profiles of the most important Dalmatian native grapevine (*V. Vinifera* L.) cultivars. *Journal of food composition and analysis* (0889-1575)
43. Reino J. L., Guerrero R. F., Hernandez - Galan R., Collado I. G. (2008.): Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry*, 7:89–123.
44. Ribèreau - Gayon, G. (1960.): Les Modalites de l' Action de *Botrytis cinerea* sur la Baie de Raisin. *Vitis*, 2: 113-116.
45. Rifai M. A. (1969.): A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Pap.*, 116:1-56.
46. Romanjek - Fajdetic N., Vinković T., Baličević R., Parađiković N. (2010.): *Trichoderma* spp. antagonist *Agaricus bisporus*. Zbornik radova 3rd international scientific/professional conference Agriculture in nature and environment protection, Vukovar, Osječki list d.o.o., Osijek, str: 200-204.
47. Samuels G. J., Jaklisch W. M., Dood S. L. (2006): *Hypocrea rufa* /*Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia
48. Singh A., Shahid M., Srivastava M., Pandey S., Sharma A. (2014): Optimal Physical Parameters for Growth of *Trichoderma* Species at Varying pH, Temperature and Agitation. *Virology Mycol* 3:127. doi:10.4172/2161-0517.1000127
49. Smolinska U., Kowalska B., Oskiera M. (2007.): The effectivity of *Trichoderma* strains in the protection of cucumber and lettuce against *Rhizoctonia solani*. *Veg. Crops Res. Bull.* 67 (1): 81–9.
50. Tanović, B., Hrustić, J., Mihajlović, M., Grahovac, M., Delibašić, G., Vukša, P. (2011.): Suzbijanje *Botrytis cinerea* i problem rezistentnosti na fungicide. *Pestic. fitomed.*, 26(2): 99–110.
51. Tardaguila, K., Petrie, P. R., Poni, S., Diago, M. P., Martinez de Toda, F. (2008.): Effects of mechanical thinning on yield and fruit composition of Tempranillo and Grenache grapes trained to a vertical shoot-positioned canopy. *Am. J. Enol. Vitic.*, 59: 412-417.
52. Toplovec-Pintarić. S. (2000.): Urođena i stečena otpornost *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. na botriticide u vinogradima i suodnos rezistentnih patotipova. Doktorska disertacija. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

53. Topolovec-Pintarić S., Cvjetković B., Miličević T. (2002.): The sensitivity of *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. to new botryticides in the protection of vineyards, *Plant Protection Science*, 38 (2), 670-673.
54. Topolovec-Pintarić, S., Cvjetković, B. (2003.): Biofungicides - New Solutions for Controlling Plant Diseases. 47. seminar biljne zaštite, Opatija, Hrvatska, 11-14.02.2003., str. 23.
55. Van Den Berg L., Lentz C. P. (1968.): The effect of relative humidity and temperature on survival and growth of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Botany*, 46(12): 1477-1481, 10.1139/b68-203
56. Yunis H., Elad Y. (1989.): Survival of dicarboximide-resistant strains of *Botrytis cinerea* in plant debris during summer in Israel. *Phytoparasitica*, 17(1): 13-21.

7. SAŽETAK

U intenzivnom vinogradarstvu *Botrytis cinerea* predstavlja jednu od najznačajnijih ekonomskih bolesti vinove loze. Vrlo je poznata po brzom razvoju rezistentnosti na fungicide. Biopesticidi podrazumijevaju primjenu korisnih mikroorganizama i produkata njihovog metabolizma, i mogu se koristiti u ekološkoj proizvodnji. Najpoznatiji mikroorganizmi koji se koriste za suzbijanje gljivice *Botrytis cinerea* su *Trichoderma* spp. Rod *Trichoderma* je prvi puta spomenut 1794. kao zelena plijesan koja raste na oštećenim granama i drugim supstratima (Persoon, 1794). Riječ je o aseksualnoj saprofitskoj gljivi s telomorfnim stadijem koje pripadaju redu *Hypocreales*, porodici *Hypocreaceae*. Većina gljivica roda *Trichoderma* morfološki je vrlo slična i dugi niz godina sve se svrstavalo pod jednu, *T. Viride* (Bisby, 1939). *T. Viride* pri samom nastanjivanju kada je u pitanju korjenov sustav, ova gljiva inducira lokalnu i sistemičnu otpornost na brojne patogene gljive. *T. viride* je su u stanju proizvesti 6PP (6-pentil- α -piron) koji pripada skupini hlapivih antibiotika i od iznimne je važnosti u biokontroli vrsta kao što su *B. cinerea*. Prednosti uporabe biopreparata se očituju u smanjenju uporabe konvencionalnih pesticida bez smanjenja prinosa. Oni djeluju samo na ciljane organizme i neopasni su za čovjeka. Korištenjem kemijskih sredstava u konvencionalnoj poljoprivredi dolazi do trovanja tla, te ozbiljnog zagađenja okoliša, a gljivice roda *Trichodema* svojom brzom kolonizacijom u tlu pomažu ponovnom uspostavljanju ravnoteže te poboljšavaju biodiverzitetu. Preparati koji sadrže *Thiobacillus* spp. vrste pomažu vinovoj lozi da aktivira mehanizam samoobrane na stres te stvaraju nepovoljnu mikroklimu za razvoj bolesti.

8. SUMMARY

In the intensive viticulture *Botrytis cinerea* is one of the most important economic vines of vines. It is well known for its rapid development of resistance to fungicides. Biopesticides include the use of useful microorganisms and products of their metabolism, and can be used in organic production. The most known microorganisms used to suppress *Botrytis cinerea* fungus are *Trichoderma* spp. It is an asexual saprophytic fungus with telomorphic stages belonging to the order Hypocreales, the family Hypocreaceae. Most *Trichoderma* genus fungi are morphologically similar, and for many years they were all under one, *T. Viride* (Bisby, 1939). *T. Viride* at rooting when it comes to root system, this fungi induces local and systemic resistance to numerous pathogenic fungi. *T. viride* are capable of producing 6PP (6-pentyl- β -piron) belonging to a group of volatile antibiotics and is of great importance in biocontrol species such as *B. cinerea*. Benefits of using biofuels are manifested in reducing the use of conventional pesticides without reducing yields. They only act on target organisms and are unsafe for humans. Using chemical agents in conventional agriculture involves soil poisoning and serious environmental pollution, and *Trichodema* fungus with its rapid colonization in the soil helps restore balance and improves biodiversity. Preparations containing *Thiobacillus* spp. Types help the vines to activate the self-defense mechanism to the stress and create an unfavorable microclimat for the development of the disease.

9. POPIS SLIKA

| | |
|--|----|
| Slika 1. Pepelnica na vinovoj lozi..... | 6 |
| Slika 2. Plemenjača na bobicama vinove loze | 7 |
| Slika 3. Crna pjegavost na vinovoj lozi | 8 |
| Slika 4. Grozdovi zaraženi gljivicom <i>Botrytis cinerea</i> | 9 |
| Slika 5. Biološki ciklus <i>Botrytis cinerea</i> | 11 |
| Slika 6. <i>Trichoderma spp.</i> | 14 |
| Slika 7. Komercijalizirani biološki pripravci na bazi antagonističkih gljiva | 16 |
| Slika 8. <i>Trichoderma viride</i> | 18 |
| Slika 9. Izgled kolonije <i>T. viride</i> | 19 |

TEMELJNA DOKUMENTARNA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek. Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo

MOGUĆNOST SUZBIJANJA PATOGENE GLJIVE *BOTRYTIS CINEREA* PRIMJENOM BENEFITNE GLJIVE *TRICHODERMA VIRIDE* U LABORATORIJSKIM UVJETIMA

Staka Perić

U intenzivnom vinogradarstvu *Botrytis cinerea* predstavlja jednu od najznačajnijih ekonomskih bolesti vinove loze. Vrlo je poznata po brzom razvoju rezistentnosti na fungicide. Biopesticidi podrazumijevaju primjenu korisnih mikroorganizama i produkata njihovog metabolizma, i mogu se koristiti u ekološkoj proizvodnji. Najpoznatiji mikroorganizmi koji se koriste za suzbijanje gljivice *Botrytis cinerea* su *Trichoderma* spp. Riječ je o aseksualnoj saprofitskoj gljivi s telomorfnim stadijem koje pripadaju redu *Hypocreales*, porodici *Hypocreaceae*. Većina gljivica roda *Trichoderma* morfološki je vrlo slična i dugi niz godina sve se svrstavalo pod jednu, *T. Viride* (Bisby, 1939). *T. Viride* pri samom nastanjanju kada je u pitanju korjenov sustav, ova gljiva inducira lokalnu i sistemsku otpornost na brojne patogene gljive. *T. viride* je su u stanju proizvesti 6PP (6-pentil- α -piron) koji pripada skupini hlapivih antibiotika i od iznimne je važnosti u biokontroli vrsta kao što su *B. cinerea*. Prednosti uporabe biopreparata se očituju u smanjenju uporabe konvencionalnih pesticida bez smanjenja prinosa. Oni djeluju samo na ciljane organizme i neopasni su za čovjeka. Korištenjem kemijskih sredstava u konvencionalnoj poljoprivredi dolazi do trovanja tla, te ozbiljnog zagađenja okoliša, a gljivice roda *Trichoderma* svojom brzom kolonizacijom u tlu pomažu ponovnom uspostavljanju ravnoteže te poboljšavaju biodiverzitetu. Preparati koji sadrže *Thiobacillus* spp. vrste pomažu vinovoj lozi da aktivira mehanizam samoobrane na stres te stvaraju nepovoljnu mikroklimu za razvoj bolesti.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: Prof.dr.sc. Suzana Kristek

Broj stranica: 32

Broj slika: 9

Broj literaturnih navoda: 56

Ključne riječi: vinogradarstvo, *Thiobacillus* spp, *Thiobacillus viride*, *Botrytis cinerea*

Datum obrane:

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. doc. dr. sc. Sanda Rašić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Suzana Kristek, mentor
3. dr. sc. Jurica Jović, član
4. dr. sc. Drago Bešlo, zamjenski član

Rad je pohranjen u: Knjižnica fakulteta Agrobiotehničkih znanosti u Osijeku, Sveučilište u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Osijek

Graduate thesis

Faculty of Agriculture in Osijek University graduate study Plant nutrition

THE POSSIBILITY OF SUGARING PATHOGEN MUSHROOM BOTRYTIS CINEREA BY APPLICATION OF BENEFIT MUSHROOM TRICHODERMA VIRATES IN LABORATORY CONDITIONS

Staka Perić

In the intensive viticulture *Botrytis cinerea* is one of the most important economic vines of vines. It is well known for its rapid development of resistance to fungicides. Biopesticides include the use of useful microorganisms and products of their metabolism, and can be used in organic production. The most known microorganisms used to suppress *Botrytis cinerea* fungus are *Trichoderma* spp. It is an asexual saprophytic fungus with telomorphic stages belonging to the order Hypocreales, the family *Hypocreaceae*. Most *Trichoderma* genus fungi are morphologically similar, and for many years they were all under one, *T. Viride* (Bisby, 1939). *T. Viride* at rooting when it comes to root system, this fungi induces local and systemic resistance to numerous pathogenic fungi. *T. viride* are capable of producing 6PP (6-pentyl- β -piron) belonging to a group of volatile antibiotics and is of great importance in biocontrol species such as *B. cinerea*. Benefits of using biofuels are manifested in reducing the use of conventional pesticides without reducing yields. They only act on target organisms and are unsafe for humans. Using chemical agents in conventional agriculture involves soil poisoning and serious environmental pollution, and *Trichoderma* fungus with its rapid colonization in the soil helps restore balance and improves biodiversity. Preparations containing *Thiobacillus* spp. Types help the vines to activate the self-defense mechanism to the stress and create an unfavorable microclimat for the development of the disease.

The work was created at: Faculty of Agriculture

Mentor: PhD. Susan Kristek

Pages: 32

Number of photos: 6

Number of references: 56

Keywords: viticulture, *Thiobacillus* spp, *Thiobacillus viride*, *Botrytis cinerea*

Date of defense:

Commission for evaluation and defense of thesis:

1. PhD Sanda Rašić, predsjednik
2. PhD Suzana Kristek, mentor
3. PhD mag.ing.agr., član
4. PhD. Drago Bešlo, zamjenski član

The work is stored in the Library, Faculty of Agriculture, University of Osijek, King Peter Svačića 1d