

Morfološke karakteristike fitopatogene gljive *Botrytis cinerea* i učinak pirimetanila na porast izolata iz vinogorja Baranja

Milatić, Anđela

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:151:490559>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-31**



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

Anđela Milatić

Sveučilišni diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**Morfološke karakteristike fitopatogene gljive *Botrytis cinerea* i učinak
pirimetanila na porast izolata iz vinogorja Baranja**

Diplomski rad

Osijek, 2022.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Anđela Milatić

Sveučilišni diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**Morfološke karakteristike fitopatogene gljive *Botrytis cinerea* i učinak
pirimetanila na porast izolata iz vinogorja Baranja**

Diplomski rad

Osijek, 2022.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Anđela Milatić

Sveučilišni diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**Morfološke karakteristike fitopatogene gljive *Botrytis cinerea* i učinak
pirimetanila na porast izolata iz vinogorja Baranja**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. Prof.dr.sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Jasenka Čosić, mentor
3. Prof.dr.sc. Renata Baličević, član

Osijek, 2022.

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. PREGLED LITERATURE | 3 |
| 2.1. Općenito o Botrytis cinerea | 3 |
| 2.2. Morfologija Botrytis cinerea | 4 |
| 2.3. Simptomi sive plijesni | 4 |
| 2.4. Suzbijanje bolesti..... | 6 |
| 2.5. Lokalitet vinograda..... | 9 |
| 2.6. Klimatska obilježja Baranje..... | 11 |
| 2.7. Rezistentnost..... | 12 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 14 |
| 4. REZULTATI..... | 17 |
| 4.1. Test osjetljivosti B. cinerea na pirimetanil | 17 |
| 4.2. Varijabilnost veličine konidija B. cinerea | 18 |
| 5. RASPRAVA..... | 21 |
| 6. ZAKLJUČAK | 24 |
| 7. POPIS LITERATURE | 25 |
| 8. SAŽETAK..... | 29 |
| 9. SUMMARY | 30 |
| 10. POPIS SLIKA | 31 |
| 11. POPIS TABLICA..... | 32 |
| TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA | |
| BASIC DOCUMENTATION CARD | |

1. UVOD

Vinova loza (*Vitis vinifera*) je uz ječam, maslinu i pšenicu jedna od najstarijih kulturnih biljaka na svijetu. Pripada rodu *Vitis* koji je najvažniji rod u porodici *Vitaceae*. Vinova loza, najrasprostranjenija voćna vrsta u svijetu, koja ukupnom proizvodnjom nadmašuje sve ostale voćne vrste, izuzetno je važna poljoprivredna kultura i gospodarska grana u svijetu. Uzgaja se na svim kontinentima osim Antartike. Uzgoj je započeo na području Kaspijskog mora, a širenje se odvijalo u tri smjera: prema Indiji, prema Palestini i Egiptu te prema Balkanskom poluotoku i zapadnoj Europi (Zohary i Hoph, 2000.). Uzgoj vinove loze je danas u svijetu jako razvijena gospodarska grana. Ukupne svjetske površine pod vinogradima posljednjih godina su u stagnaciji (7,4 mil. ha), dok proizvodnja vina bilježi velik porast (292.3 mil. hl) (OIV, 2018.).

Vinogradarstvo je za Hrvatsku važna poljoprivredna grana s dugom tradicijom. Prema podacima Državnog zavoda za statistiku iz 2018. godine ukupne površine pod vinogradima iznose oko 19.583 hektara, dok je godišnja proizvodnja vina oko 640.000 hektolitara. Unatoč malim vinogradarskim površinama i proizvodnji vina u odnosu na međunarodno tržište, vinogradarstvo i vinarstvo imaju velik gospodarski značaj u Hrvatskoj.

Vinova loza je jedna od najosjetljivijih biljaka na napad različitih kukaca i bolesti. Hrvatska je zbog raznih uvjeta za uzgoj kao što klima, reljef te brojni drugi čimbenici pogodna za uzgoj vrlo kvalitetnih sorti vinove loze, međutim isti ti uvjeti pogoduju i razvoju raznih bolesti. Vinovu lozu napada niz bolesti kao što su: plamenjača, pepelnica, siva plijesan, crna pjegavost rozgve, zlatna žutica te druge. Jedna od ekonomski najvažnijih bolesti je siva plijesan vinove loze. Bolest može izazvati ogromne gubitke.

Botrytis cinerea predstavlja nespecifični patogen koji uzrokuje značajne gubitke u više od 200 usjeva širom svijeta. Uzročnik je bolesti poznate pod nazivom siva plijesan koja se javlja na mnogim poljoprivrednim kulturama od suptropskih do hladnih područja (Jarvis, 1977.). Javlja se u polju, kao i u staklenicima te plastenicima, ali se također može javiti za vrijeme skladištenja. *B. cinerea* se može pojaviti na više od 230 biljnih vrsta, a najveće štete nastaju na vinovoj lozi, povrću, cvijeću i jagodičastom voću (Droby i Lichter, 2004.). Ime siva plijesan je dobila po sivaksto – smečkastom izgledu paučinastog micelija, konidija i konidiofora na napadnutom biljnom tkivu (Mlikota, 2001.). Osim što smanjuje

urod, *B. cinerea* smanjuje i kakvoću grožđa utječući na proces vinifikacije. Bolest izaziva širok spektar različitih simptoma na različitim dijelovima biljke. Truleži, nekroze, siva prevlaka neki su od najtipičnijih simptoma sive plijesni. Iako su simptomi najuočljiviji na bobicama, bolest može napasti sve zelene dijelove vinove loze.

Gljiva *B. cinerea* je patogen koji brzo razvije rezistentnost. Sredstva za suzbijanje botritisa sadrže aktivne tvari iz različitih skupina, različitih načina i mehanizama djelovanja. Većina tih sredstava djeluje na jedan proces u metabolizmu gljive, što povećava rizik od razvoja rezistentnosti.

U ovom radu je provedeno istraživanje u kojem je procijenjen učinak pirimetanila na porast izolata gljive *Botrytis cinerea* iz vinogorja Baranja.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Općenito o *Botrytis cinerea*

Uzročnik sive plijesni je polifagna gljiva *Botrytis cinerea*. Osim na vinovoj lozi, *Botrytis cinerea* parazitira na 235 biljnih vrsta koje se uzgajaju od hladnih područja Aljaske i Kanade do suptropskih područja, te značajno ugrožava proizvodnju voća, grožđa, povrća i ukrasnog bilja (Tanović i sur., 2011.).

Siva plijesan je bolest koja se brzo razvija, a osim u vanjskom uzgoju i plastenicima i staklenicima štetu može izazvati i tijekom skladištenja. U vinogradima se pojavljuje zbog pojačane gnojidbe, visokorodnih sorata zbijenih grozdova, bujnih čokota te zbog ostavljanja velike lisne mase.

Živi kao saprofit koji izaziva direktne i indirektne štete. Direktne štete nastaju zbog smanjenog prinosa, dok se indirektne štete očituju u lošoj kvaliteti mošta i vina. Loša kvaliteta mošta utječe i na proces vinifikacije. *Botrytis cinerea* iz zaraženih bobica troši veće količine šećera i vinsku kiselinu, pa prevladava jabučna kiselina (Cvjetković, 2010.).

Bolest se javlja svake godine u većem ili manjem intenzitetu, a posebno velike štete javljaju se u intenzivnim nasadima na kontinentalnom području Hrvatske. Izravne štete u smanjenju uroda u Hrvatskoj kreću se od 3 do 15%, ovisno o godini, a prosječne godišnje štete kreću se oko 4,1% (Maceljki i sur., 2006.).

Botrytis cinerea je bolest koja se najčešće javlja pred berbu, a izaziva sivu trulež pojedinih bobica ali i čitavih grozdova. Može se javiti i ranije, ali najopasnija je tijekom dozrijevanja grožđa. Iako većinom napada bobice i grozdove, moguće je da napadne i ostale zelene dijelove vinove loze.

2.2. Morfologija *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea ima dva životna ciklusa, spolni i nespolni, pri čemu je nespolni onaj koji čini štetu u biljnoj proizvodnji. Spolni stadij nema značajnu ulogu u širenju parazita. Nespolni stadij je dominantan i izrazito štetan oblik. Tijekom nespolnog stadija dolazi do stvaranja velikog broja konidija s konidioforama. Radman (1978.) navodi da parazit stvara obilje konidija koje mogu ostvariti zarazu na vlažnom tkivu već kod temperatura između 1 i 3 °C, a optimum je između 20 i 30 °C uz 100 % vlagu zraka. Da bi počele klijati konidije trebaju visoku relativnu vlagu zraka. Konidije se prenose vjetrom ili kapima vode.

Botrytis cinerea može prezimiti na biljnim ostacima u dvije forme: kao micelij na kori i pupovima ili kao sklerocij koji se javlja na nezreloj i zaraženoj rozgvi te grozdovima i bobicima preostalim nakon berbe. Može se naći i u tlu, ali taj izvor inokuluma nema veliki značaj u ostvarivanju infekcije (Dorado i sur., 2001.). Smatra se da su sklerocije najvažnije tvorevine za održavanje vrste jer mogu preživjeti nepovoljne vremenske uvjete te mogu stvarati apotecije nakon spolnog procesa, a kod mnogih vrsta na njima nastaje nekoliko uzastopnih generacija konidija (Coley-Smith, 1980). Sklerocije kliju za vrijeme vlažnih uvjeta u proljeće te proizvode micelij i konidije i izvor su ranih zaraza u početku pokretanja vegetacije.

U normalnim uvjetima gljivica se naseljava primarno na cvjetnim kopicama i ostacima prašnika jer joj je to jedina dostupna hrana, te ovu fazu nazivamo „saprofitna“. Odavde se kasnije inficira grožđe te su upravo na grožđu najznačajnije štete, a zaraza dolazi preko rane uzrokovane štetnicima, bolestima, ali i vremenskim neprilikama.

Optimalna temperatura za razvoj gljive kreću se od 15 do 20°C. Vlažnost je također od presudnog značenja za razvoj bolesti. Optimum je iznad 90 % relativne vlage zraka (Miličević, 2015.).

2.3. Simptomi sive plijesni

Botrytis cinerea odgovorna je za vrlo širok raspon simptoma i oni se ne mogu lako generalizirati kroz biljne organe i tkiva. Bolest napada sve nadzemne dijelove biljke vinove loze – pupove, listove, internodije i vrhove mladica, cvatove, grozdove, bobice, peteljčice i peteljku grozda (Kišpatić i Maceljski, 1991.). U većini slučajeva patogen je

najdestruktivniji na zrelih biljnim dijelovima ili na tkivu koje stari, iako se infekcija događa u ranijim fenofazama razvoja. Simptomi su najuočljiviji na bobicama, međutim mogu zahvatiti sve zelene dijelove loze. Neki od najtipičnijih simptoma koji se javljaju na bobicama su trulež te pojava sive mase konidija (slika 1.).



Slika 1. Simptomi sive plijesni na bobicama

(izvor: <https://i2.wp.com/blog.pestprophet.com/wp-content/uploads/2017/04/180827362-Version-2.jpg?w=1000&ssl=1>)

Uzročnik sive plijesni naseljava grozdiće vrlo rano, odmah nakon cvatnje. Kada se grozdići zatvore, gljiva postaje parazit i prodire u peteljke, peteljčice i bobice. Nakon toga dolazi do zaraze peteljčica i bobica, a ta parazitska faza naziva se i faza „zelene plijesni“. Može se dogoditi da ta faza nije odmah uočljiva te se gljiva pritaji 1-2 mjeseca. Međutim, ako prodre u tkivo direktno dolazi do razaranja i nekroze. Prekine se kolanje sokova u biljci te se bobice smežuraju i osuše i stvaraju se konidije. Pred zriobu nastupa faza „sive plijesni“, kada nakon cvatnje gljiva naseljava cvjetove (Kišpatić i Maceljski, 1991.).

Vlažna trulež i propadanje tkiva koje postaje prekriveno sivom prevlakom osnovni su simptomi bolesti koji se javljaju na listovima, cvjetovima i plodovima. Na cvjetovima simptomi variraju, ovisno o vremenskim uvjetima mogu varirati od sitnih nekroza do tipične truleži i propadanja. Simptomi na listovima javljaju se u proljeće, a očituju se kao smeđe pjege. Pjege su obično manje od 1 mm te su okružene žutim pjegama. Ako je vrijeme vlažno, može se dogoditi da se i na listovima pojave sive prevlake.

Botrytis cinerea bobice napada kroz otvorene rane i pukotine koje nastaju zbog više razloga: napada štetnika, bolesti, ali i vremenskih neprilika kao što je tuča. Na zaraženim bobicama prvo se pojavljuju smeđe pjege koje se s vremenom povećavaju te na kraju zahvaćaju cijelu površinu bobice. Ako je vrijeme suho, gljiva se razvija samo u pokožici, te se bobice smežuraju i suše. Međutim, ako je vrijeme vlažno s mnogo oborina, na bobicama se pojavljuje pepeljasto siva prevlaka konidiofora s konidijama. Pomoću njih bolest se širi s bobice na bobicu, te dolazi do zaraze cijelih grozdova. Bolest se posebno brzo širi na zbijenim grozdovima jer je na njima olakšan prijelaz zaraze.

Ponekad, u rijetkim slučajevima, može doći do pozitivnog djelovanja *B. cinerea* na vinovu lozu. U godinama sa suhom i toplom jeseni te niskom vlagom micelij razara kožicu bobice pri čemu isparava voda iz bobica. Gljivica se dalje ne razvija, nego troši kiseline iz boba te u bobama nastaje više šećera. Od glukoze nastaje glukonska kiselina, čije prisustvo u vinu dokazuje da je nastalo pod utjecajem plemenite plijesni. Povećane količine glicerola povoljno utječe na okus vina (Jelenić i Ilić, 2018.).

2.4. Suzbijanje bolesti

Učinkovito suzbijanje uzročnika sive plijesni na vinovoj lozi još uvijek u potpunosti nije riješeno. Jedan od glavnih razloga tomu je što intezitet napada uvelike ovisi o vanjskim čimbenicima te nemogućnost točne prognoze pojave bolesti. Također, *Botrytis cinerea* poznata je kao gljiva koja brzo razvija rezistentnost na primjenjivane fungicide pa je taj problem najizraženiji u zaštiti vinograda.

Postoje četiri osnovna pravila za suzbijanje sive plijesni: agro i ampelotehničke mjere zaštite, stvaranje otpornih kultivara, biološke te kemijske mjere zaštite (Russel, 2005.). Siva plijesan većinom se suzbija kemijski, primjenom fungicida. Kod nas se primjenjuju dvije vrste fungicida: specifični fungicidi za suzbijanje sive plijesni – botriticidi te fungicidi šireg spektra koji djeluju na više uzročnika bolesti (Jelenić i Ilić, 2018.). Primjena botriticida može u velikoj mjeri utjecati na smanjenje bolesti, ali u godinama izrazito povoljnim za *Botrytis* očekivana učinkovitost može biti slaba ili izostati (Dimitrijević i sur., 1980.).

Brojnim istraživanjima je utvrđeno antagonističko djelovanje gljiva iz roda *Aureobasidium* te *Bacillus subtilis* i *Gliocladium* vrsta na patogenu vrstu *B. cinerea* (Stehmann, 1995). Ipak, najviše istraživanja se odnosi na mikoparazitne vrste iz roda *Trichoderma* s kojima su postignuti najbolji rezultati (Elad, 1994., Elad, 2000. Gupta i sur., 1999; Okigbo i Ikediugwu, 2000). Iako istraživanja pokazuju da uporaba fungicida na osnovi *Trichoderma harizanum* u kombinaciji s kemijskim fungicidima daje dobre rezultate (Elad, 1994) proizvodnja i uporaba biofungicida još je uvijek preskupa da bi bila ekonomski isplativa (Elad, 1994).

Uz neizostavnu primjenu fungicida potrebno je provoditi i druge preventivne agrotehničke i ampelotehničke zahvate sa svrhom suzbijanja uzročnika sive plijesni. Borba protiv *Botrytis cinerea* započinje prije podizanja vinograda poduzimanjem preventivnih mjera, kao što je sadnja tolerantnih sorata, manje bujne podloge, vinograd podignut tako da vjetar puše kroz redove kako bi se smanjila vlaga, skidati višak zaperaka i listova oko grozdova čime grozd dobiva više svjetlosti, optimalna gnojidba, zaštita od pepelnice i grožđanog moljca koji stvaraju preduvjete za pojavu sive plijesni (Jelenić i Ilić, 2018.). Pravovremeno provedeni zahvati zelene rezidbe u znatnoj mjeri mogu doprinijeti smanjenom napadu ove bolesti (Svitlica i sur., 2015.). Stapleton i sur. (1990.) u svom istraživanju su naveli da djelomična defolijacija ima pozitivan učinak na smanjenje zaraze grozdova sivom plijesni. U zaštiti od bolesti uspješno se koristi i soj bakterija *Bacillus* koji pokazuje antibiozu prema važnim patogenima voćaka i vinove loze uključujući i *B. cinerea* te je pogodan za uporabu u integriranoj i ekološkoj proizvodnji voća i grožđa (Al-Qurashi i Awad, 2013.).

Sve mjere prevencije mogu doprinijeti sprječavanju razvoja bolesti, ali glavni način za suzbijanje sive plijesni je upotreba fungicida. Zaštita se zasniva na preventivnim tretiranjima, u najosjetljivijim razvojnim fazama, zbog toga što razne prognozne metode za suzbijanje sive plijesni ne daju uvijek pouzdane rezultate (Toplovec-Pintarić, 2000.). Postoji nekoliko perioda tretiranja vinove loze koje se obavljaju kroz godinu. Prvo tretiranje je nakon cvatnje, kada se koriste preventivna sredstva koja sadrže folpet ili boskalid. Drugo tretiranje obavlja se pred zatvaranje grozda, te se tada koriste specifični botricidi. Sa drugim prskanjem smanjujemo sekundarne infekcije na bobama. Treće tretiranje vrši se kod šare ili omekšavanja boba , također sa botricidima. Kod kasnijih sorata moguće je još jedno tretiranje ovisno o tijeku bolesti i vremenskim uvjetima (Ivančan, 2009.). Obično se za prva dva tretiranja koriste fungicidi šireg spektra, koji istovremeno suzbijaju i plamenjaču, a za ostala dva specifični botricidi (Jelenić i Ilić,

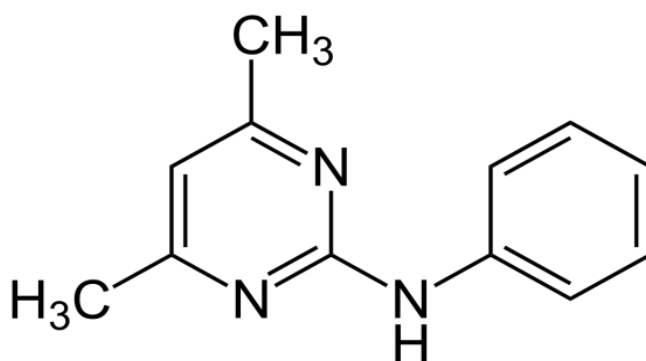
2018.). Botricidi koji se najčešće koriste za zaštitu tijekom drugog i trećeg tretiranja su sredstva na bazi fludioksonila, ciprodinila, pirimetanila, boskalida te fenheksamida. Starija sredstva na bazi dikarboksimida se sve manje upotrebljavaju, posebno zbog problema s rezistentnosti (Ivančan, 2009.).

Trenutačno, prema popisu registriranih sredstava za zaštitu protiv *B. cinerea* uključuje sljedeće grupe: anilidi (boskalid), aminopiridini (ciprodinil i pirimetanil), fenpiroli (fludioksonil) i hidroksianilidi (fenheksamid) (Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, 2021.).

U Hrvatskoj su 1997. godine priznati pirimetanil i ciprodinil iz skupine anilinopirimidina, dok je fenheksamid priznat 1998. godine. Prije toga botricidi su se temeljili na tvarima iz skupine dikarboksimida, čija je upotreba zbog rezistentnosti ograničena na dva puta u vegetaciji. Rezistentnost dikarboksimida u Hrvatskoj znanstveno je dokazana 1993 godine (Topolovec-Pintarić, 2000.).

Pirimetanil je jedna od djelatnih tvari koja se često koristi za suzbijanje gljive *B. cinerea*. Sprječava izlučivanje enzima patogenih gljiva neophodnih za proces infekcije i penetraciju kličnih cijevi u stanice domaćina. Primjenjuje se preventivno i kurativno u suzbijanju sive plijesni u velikom broju kultura. Na tu djelatnu tvar može se javiti rezistentnost gljive pa je potrebno pratiti stanje rezistentnih fenotipova na pirimetanil u populacijama ove gljive u našim vinogradima.

Kemijski naziv pirimetanila prema IUPAC-u je N-(4,6-dimetilpirimidin-2-il)anilin. Slika 2. prikazuje kemijsku formulu pirimetanila.



Slika 2. Kemijska formula pirimetanila

(Izvor:

https://en.wikipedia.org/wiki/Pyrimethanil#/media/File:Pyrimethanil_Structure_V.1.svg)

Prema Ministarstvu poljoprivrede republike Hrvatske (2021.) za zaštitu trenutno su registrirana dva sredstva na bazi pirimetanila: Pyrus 400 SC i Scala. Pyrus 400 SC je najpoznatiji registrirani fungicid na bazi pirimetanila. To je preventivni i kurativni fungicid površinskog i translaminarnog djelovanja koji se koristi za suzbijanje plijesni na vinovoj lozi. Koristi se u dozi 2-2,5l/ha ili u koncentraciji 0,2-0,25% (200-250 ml u 100 l vode) uz utrošak 1000 l škorpiva/ha. U vegetaciji se može koristiti najviše dva puta: krajem cvatnje vinove loze, prije zatvaranja grozda ili na početku dozrijevanja bobica. Izrazito je otporan na ispiranje kišom, Do sada nije utvrđena unakrsna rezistentnost s poznatim botriticidima (Pinova).

2.5. Lokalitet vinograda

Zemljopisna područja uzgoja vinove loze u Republici Hrvatskoj dijele se na: vinogradarske zone, regije, podregije, vinogorja i vinogradarske položaje. Zakonom o vinu („Narodne novine“ br. 32/2019.) definirane su sljedeće vinogradarske regije: Slavonija i hrvatsko Podunavlje, Hrvatska Istra i Kvarner, Dalmacija i središnja bregovita Hrvatska. Podunavlje je najistočnija hrvatska vinogradarska podregija. Hrvatsko podunavlje je tipično panonsko područje koje karakterizira izrazito ravničarski kraj. To je vinogradarska regija koja obuhvaća tri vinogorja: Srijem, Erdut i Baranja. Baranjsko vinogorje (slika 3.) čine područja Belog Manastira, Kneževih Vinograda, Popovca, Draža, Čeminca, Jagodnjaka, Bilja, Petlovca i Darde („Narodne novine“ br. 76/2019.). Vinogradi u Baranji zauzimaju 1170 ha.



Slika 3. Lokacija Baranjskih vinogorja

(Izvor: <http://lmh.hr/karta.html#>)

Hrvatski dio Baranje je izrazito ravničarski kraj, a na sjeveru se nalazi brdo „Banska kosa“ koje je idealno za uzgoj vinove loze. Baranjsko brdo jedno je od najkvalitetnijih hrvatskih vinogorja. Pruža se u pravcu jugozapad-sjeveroistok između Belog Manastira i Batine, dužine oko 21 kilometara i širine 5 kilometara (Predojević, 2016.). Vinogradi se sade na obroncima jer su ravničarske depresije, kojima ovaj kraj obiluje, podložne zimskom smrzavanju. Iznimno plodno tlo, uz pogodnu mikroklimu, uvjetovanu blizinom Dunava, osigurava glavne preduvjete za uzgoj kvalitetnog grožđa i proizvodnju vina (Kojić, 2020.). Svi vinogradi u Baranji zasađeni su na degradiranom černoze mu koji leži na lesu. U krajnjem jugoistočnom dijelu Baranje je sliv Dunava i Drave te močvare Kopačkog rita. Na rubnim dijelovima je plodna ravnica, a u središnjem dijelu je Banovo brdo. Na tom lokalitetu je visoka razina insolacije, stoga je pogodno za uzgoj vinove loze. Slika 4. prikazuje Baranjsko vinogorje.



Slika 4. Baranjsko vinogorje

(Izvor: <https://knezevi-vinogradi.hr/dogadaji/gator-fest-2018/>)

Zajedničko obilježje cijele vinogradarske podregije su veće praporne zaravni na nadmorskoj visini od 100 do 200 m. Tlo je praškasto, sastavljeno od kremenca i glinenca, žućkasto, praporno, propusno i kao takvo pogodno za uzgoj vinove loze. Klimatski uvjeti s godišnjim prosjekom padalina od 686mm, povoljni su za uzgoj vinove loze, dok godišnja temperaturna suma u vegetacijskom razdoblju iznosi 3.479 stupnjeva. Regiju Podunavlje, zahvaljujući njenim klimatskim uvjetima, karakteriziraju bijele vinske sorte. Najzastupljenija te najznačajnija sorta je Graševina.

2.6. Klimatska obilježja Baranje

Unutar umjerenog klimatskog pojasa, Republici Hrvatskoj su pruženi izvrsni klimatski uvjeti za uzgoj vinove loze. Vinogradarska podregija Podunavlje se nalazi u uvjetima vinogradarske proizvodne zone C1 sa sumom efektivnih temperatura 1450 – 1650 °C (Kojić, 2020.). Klima Istočne Hrvatske uvelike je uvjetovana njezinim smještajem u Panonskoj zavali. Baranja ima umjereno kontinentalnu klimu. Oštre zime, prohladna proljeća, vrela ljeta i umjereno tople jeseni glavne su karakteristike koje ovu regiju čine idealnom za uzgoj mnogih sorti vinove loze.

Povoljna područja za uzgoj vinove loze su ona gdje srednja godišnja temperatura iznosi između 10 i 20 °C. U Baranji srednja godišnja temperatura iznosi 10,8 °C, dok se

temperatura u vrijeme vegetacije kreće oko 16,5 °C. Prosječna godišnja količina oborina je 642 mm te se ubraja među najsuše dijelove Hrvatske. Maksimum padalina je u proljetnim mjesecima svibnju i lipnju, oko 450mm (Proleksis enciklopedija).

2.7. Rezistentnost

Rezistentnost je sposobnost jedinki u populaciji štetnika da prežive izloženost letalnim dozama sredstva za zaštitu bilja. Opisuje se kao i postupan gubitak učinka isprva učinkovitog sredstva. Rezistentnost je genetski uvjetovana pojava i regulirana je genima za rezistentnost, koji su posljedica genetskih mutacija uzrokovanih dugotrajnom primjenom pesticidnih sredstva (Rozman, 2011.). Rezistentnost je nasljedna stečena sposobnost jedinki u populaciji da prežive djelovanje sredstva za zaštitu bilja u koncentraciji ili dozi u kojoj bi, pod normalnim uvjetima, to sredstvo za zaštitu bilja bilo učinkovito. Rezistentnost često može biti utvrđena u laboratoriju no to još uvijek ne znači da je učinkovitost sredstva za zaštitu bilja smanjena u realnoj proizvodnji (Tanović i sur., 2011.).

Najčešći razlozi pojave rezistentnosti su: česta uporaba jednog sredstva za zaštitu bilja ili uporaba sredstva istog ili sličnog mehanizma djelovanja, uporaba preniskih ili previsokih doza u odnosu na preporučenu dozu, mali broj registriranih pripravaka, često suzbijanje štetnih organizama visokih populacija s velikim brojem generacija godišnje, izostanak primjene nekemijskih mjera zaštite (Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, 2017.).

Brza pojava rezistentnosti najčešće nastaje upotrebom visokotoksičnog perzistentnog fungicida specifičnog mehanizma djelovanja. Brent i Hollomon (1998) smatraju da upravo kombinacija fungicida specifičnog mehanizma djelovanja i *B. cinerea* nosi najveći rizik za razvoj rezistentnosti. Praćenje pojave rezistentnosti za sada je jedini pouzdani način prikupljanja informacija neophodnih za pravilan izbor fungicida (Lorenz, 1988.)

Gljiva *B. cinerea* je patogen koji brzo razvije rezistentnost. Sredstva za suzbijanje sive plijesni sadrže aktivne tvari iz različitih skupina, različitih načina i različitih mehanizma djelovanja. Većina tih sredstava djeluje na jedan proces u metabolizmu gljive, što povećava rizik od razvoja rezistentnosti. Genetska varijabilnost i mnoštvo biotipova *B. cinerea* otežavaju i smanjuju djelotvornost kemijskih metoda zaštite, posebice uslijed razvitaka biotipova otpornih na većinu sredstava sintetiziranih i korištenih u posljednjih 20

godina (Fernández i sur., 2014.). Istraživanjem rezistentnosti *B. cinerea* na različite skupine fungicida u Hrvatskoj su istraživali Topolovec-Pintarić i Cvjetković (2001.), Miličević i Cvjetković (2008.) i Topolovec-Pintarić (2009.).

Posljedica pojave rezistentnosti jest pad učinkovitosti sredstava za zaštitu bilja, što može dovesti do šteta u proizvodnji, ali i do gubitaka za proizvođača sredstva koje je izgubilo učinak. Pad učinkovitosti nekog sredstva može dugoročno otežati zaštitu od biljnih bolesti na nekom području zbog nepostojanja učinkovitost sredstva . Da se takve situacije spriječe potrebno je da se svi slučajevi pojave rezistentnosti ili slučajevi pada učinkovitosti sredstava za zaštitu bilja budu objavljeni i dostupni svima (Ivić i Cvjetković, 2017.).

Ograničenjem broja tretiranja u toku vegetacije, izbjegavanjem upotrebe samo jednog fungicida visokog rizika za razvoj rezistentnosti, odgovarajućom dozom i vremenom primjene, upotrebom fungicida različitog mehanizma djelovanja omogućuje se dugotrajno očuvanje efikasnosti fungicida (Brent i Hollomon, 1998.).

U cilju prevladavanja problema rezistentnosti u svijetu se neprekidno radi na razvoju novih djelatnih tvari. Nove djelatne tvari uz dobru učinkovitost protiv *B. cinerea* trebaju omogućiti i suzbijanje biotipova rezistentnih na postojeće fungicide. Svojim načinom djelovanja ne bi trebali selekcionirati nove rezistentne biotipove (Topolovec-Pintarić, 2000.).

3. MATERIJALI I METODE

Uzroci grozdova zaraženih s *Botrytis cinerea* prikupljeni su tijekom 2017. godine na području Baranje. Prije ovog istraživanja praćeni su određeni lokaliteti vinograda u Baranji te nakon provedenih analiza, za istraživanje su izabrani vinogradi koji su se pokazali najizloženiji napadu uzročnika sive plijesni. Svi uzorci uzeti su iz domaće sorte Graševina (slika 5). Izolati su prikupljeni u punoj zrelosti tijekom rujna, stavljeni su u plastičnu posudicu te smješteni u hladnjak u laboratoriju.



Slika 5. Sorta Graševina

(Izvor: rasadnik-milic.hr)

Istraživanje je provedeno tijekom 2019. godine u Centralnom laboratoriju za fitomedicinu na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek. Cilj istraživanja je bio procijeniti učinak pirimetanila na porast gljive *Botrytis cinerea* iz vinogorja Baranja. U istraživanju koristili smo fungicid Pyrus 400 SC (40% pirimetanila) proizvođača Arysta.

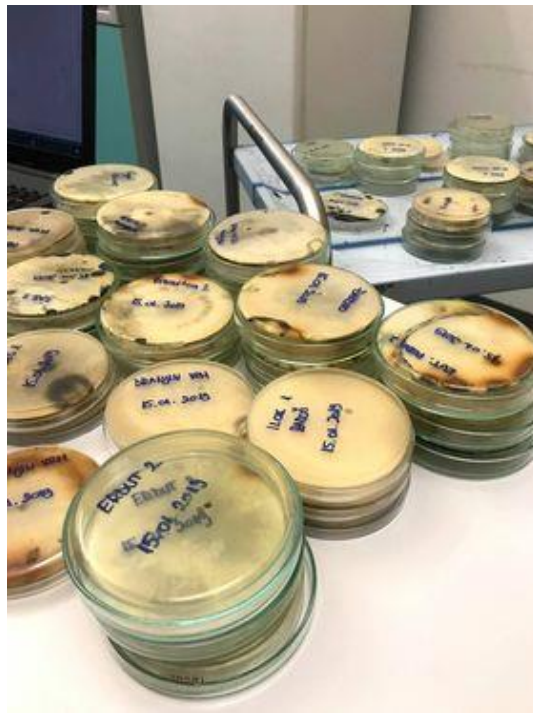
Za provedbu pokusa koristili smo Petrijeve zdjelice koje su prethodno sterilizirane u autoklavu. Zatim smo u njih rasporedili prethodno pripremljenu PDA (Biolife) hranjivu podlogu. Uzorci grozdova s *Botrytis cinerea* isprani su destiliranom vodom i vodikovim peroksidom te su nakon toga pomoću laboratorijske igre nacijepljeni na PDA podlogu. Nacijepljivanje na podlogu obavljalo se u laminaru, uređaju s ventilacijskim sustavom za zaštitu od kontaminacije (slika 6.). Laminar smo prethodno dezinficirali 96%-tnim etilnim alkoholom. Kultura je uzgajana 24 sata na temperaturi od 22,5 do 25,5 °C.



Slika 6. Nacijepljivanje kulture na PDA agar

(Izvor: Maja Bulović)

U laboratoriju je pripravljena vodena suspenzija fungicida Pyrus te dodana u tekuću PDA podlogu (60 °C) s dodatkom antibiotika Streptomycin (Sigma – Aldrich). Nakon toga, mala količina micelija prenesena je u Petrijevu posudu koja je sadržavala PDA agar. Micelijski uzorci napravljeni su pomoću bušača promjera 5 mm u obliku diska. Istraživanje je provedeno s tri količine fungicida Pyrus te su za svaku količinu fungicida napravljena tri ponavljanja. Nakon što smo micelij nacijepili na podloge, postavili smo ih u klima-komoru 96 sati pri temperaturi 20 °C. Micelij gljive smo okrenuli da bude u dodiru s podlogom kako bi gljiva brže započela s rastom. Uzorci su pregledani nakon 96 sati te je izmjeren utjecaj svake koncentracije na porast micelija uzročnika sive plijesni. Mjerenje je odrađeno ravnalom od središta podloge (mjesto nacjepljivanja kulture) prema krajnjem rubu porasta micelija. Porast micelija prikazan je slikom 7.



Slika 7. Porast micelija

(Foto: Anđela Milatić)

4. REZULTATI

4.1. Test osjetljivosti *B. cinerea* na pirimetanil

U tablici 1. prikazana je inhibicija porasta micelija sive plijesni nakon 96 sati pri različitim količinama fungicida Pyrus u kojem je aktivna tvar pirimetanil.

Tablica 1. Inhibicija porasta micelija sive plijesni pri različitim koncentracijama pirimetanila

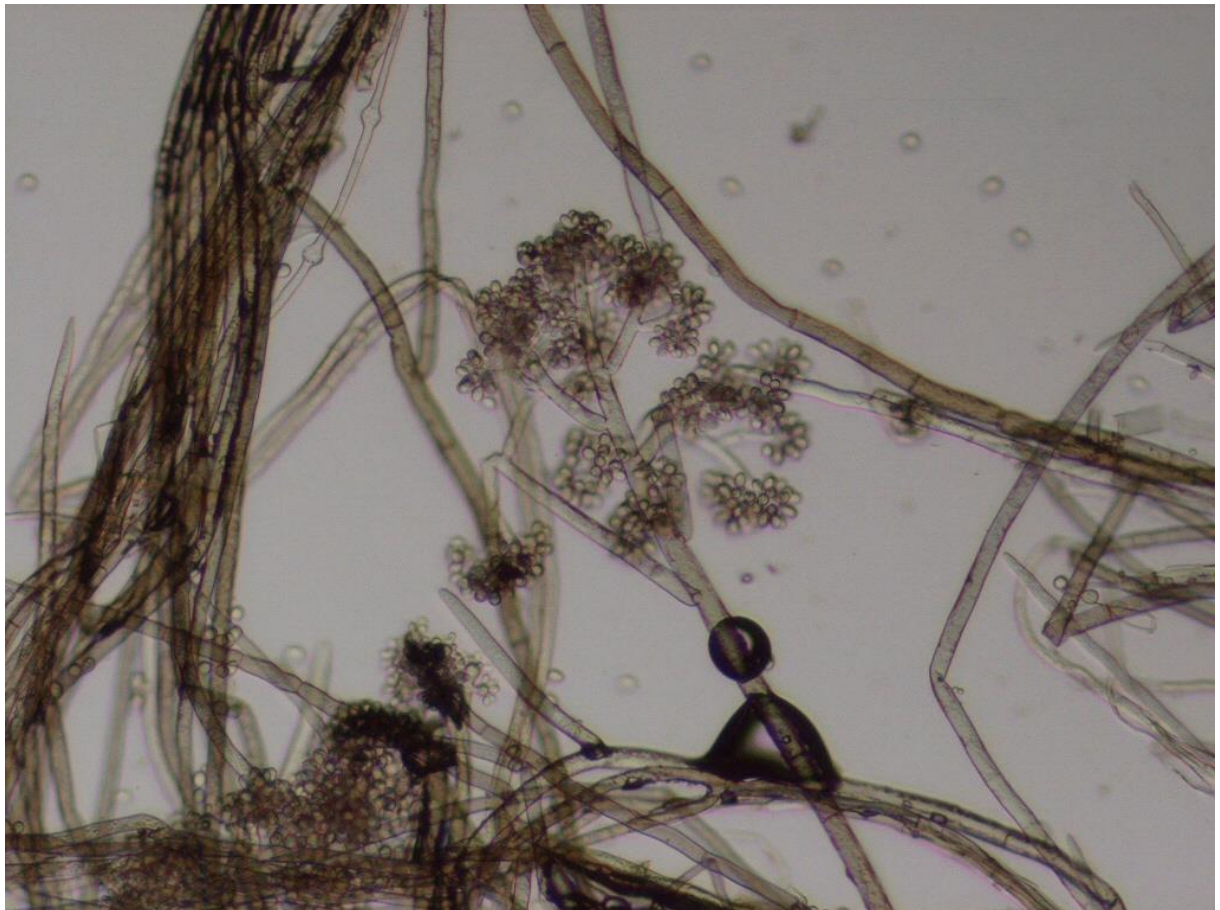
| Oznaka izolata | Lokacija | % inhibicija rasta pri 1 µg/ml | % inhibicija rasta pri 3 µg/ml | % inhibicija rasta pri 5 µg/ml |
|----------------|---------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| POP1 | Popovac | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| ZM1 | Zmajevac | 11,11** | 25,55*** | 22,59*** |
| SZ1 | Suza | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| KAR1 | Karanac | 22,22** | 22,59** | 21,11** |
| BM3 | Beli Manastir | 2,22 | 3,70 | 4,07 |

*p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.0001

Ispitivani fungicid različito je utjecao na porast micelija različitih izolata uključenih u istraživanje. Fungicid ni pri najvećoj primjenjenoj dozi nije utjecao na porast micelija izolata iz Popovca i Suze (% inhibicije rasta je 0). Kod izolata s lokacije Beli Manastir utvrđen je slab negativni utjecaj na porast micelija te nisu utvrđene statistički značajne razlike između primjenjenih doza. Kod izolata s lokacije Zmajevac utvrđeno je da je % inhibicije rasta statistički značajno veći kod primjene 3 odnosno 5 µg fungicida / ml podloge u odnosu na primjenu 1 µg fungicida / ml podloge.

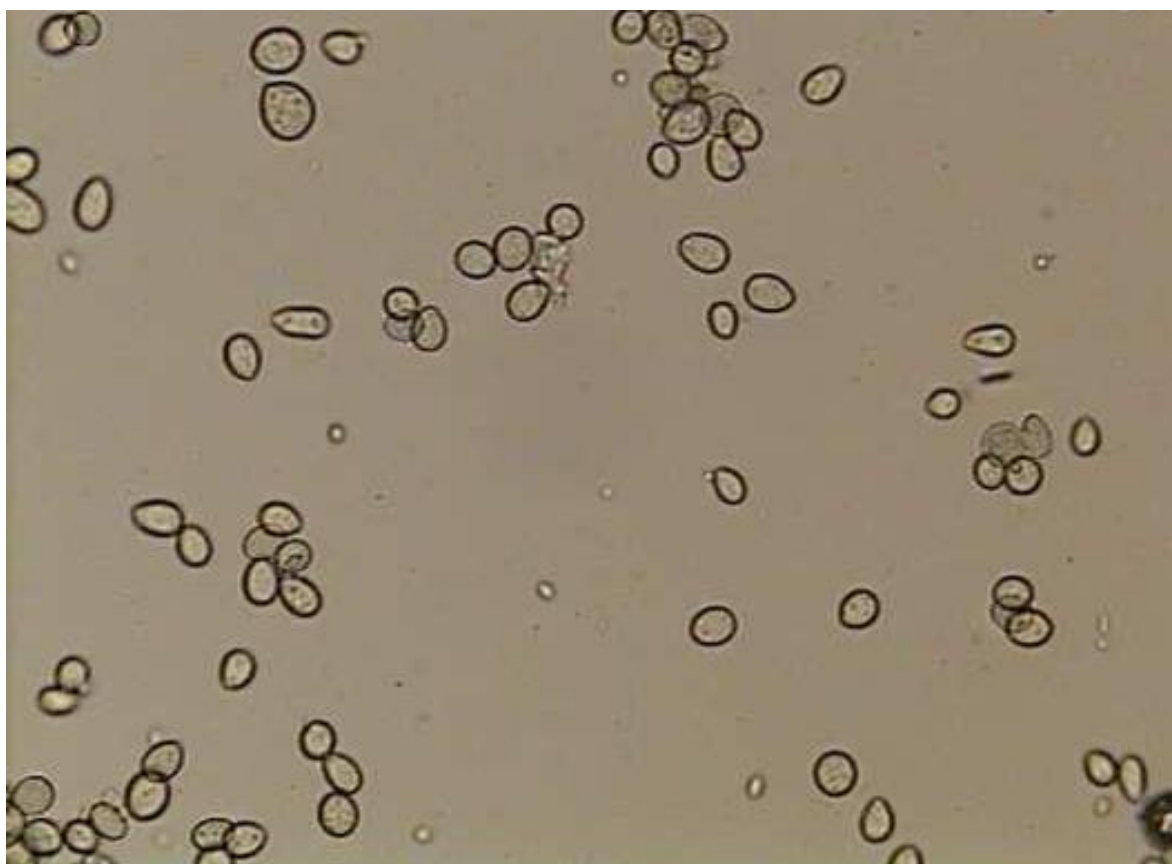
4.2. Varijabilnost veličine konidija *B. cinerea*

Kako bi se utvrdile razlike u veličini konidija pripremili smo mikroskopske preparate kultura gljive *B. cinerea* starih osam dana. Pregledom čistih kultura utvrdili smo da svi izolati dobro sporuliraju i formiraju konidije (slika 8. i 9.) tipične za ovu gljivu.



Slika 8. Konidiofori i konidije *Botrytis cinerea*

(Foto: Katedra za fitopatologiju)



Slika 9. Konidije Botrytis cinerea

(Foto: Katedra za fitopatologiju)

Pomoću programa LC Micro Olympus mjerili smo veličinu konidija. Za svaki uzorak napravili smo 100 mjerenja. Prosječne vrijednosti prikazne su u tablici 2.

Tablica 2. Prosječna veličina konidija (μm)

| Oznaka izolata | Lokacija | Prosječna vrijednost |
|----------------|---------------|----------------------|
| POP1 | Popovac | 19,5696 |
| ZM1 | Zmajevac | 32,0058 |
| SZ1 | Suza | 34,6345 |
| KAR1 | Karanac | 34,2910 |
| BM3 | Beli Manastir | 47,5819 |
| BV1 | Branjin vrh | 35,8430 |
| GAJ1 | Gajić | 39,4324 |
| KAM1 | Kamenac | 35,7593 |
| DR1 | Draž | 34,8696 |

LSD 0,05 = 2,33; 0,01 = 3,07

Najmanja prosječna veličina konidija utvrđena je kod izolata POP1, iznosila je 19,5696 μm i bila je statistički vrlo značajno manja u odnosu na prosječnu veličinu konidija svih ostalih izolata. Prosječna veličina konidija kod izolata s lokacije Beli Manastir (BM3) bila je statistički vrlo značajno veća u odnosu na prosječnu veličinu konidija svih ostalih izolata.

5. RASPRAVA

Botrytis cinerea i *Botryotinia fuckeliana* su nespolni (anamorfni) i spolni (teleomorfni) stadij iste gljivične vrste koja je poznata kao uzročnik sive plijeni na više stotina biljnih vrsta. Nespolni stadij je dominantan u prirodi i lako se prepoznaje po sivoj gustoj paučinastoj prevlaci micelija i razgranatih konidiofora na čijem vrhu nastaju brojne jednostanične konidije. Na vinovoj lozi prevlaka je najuočljivija na zrelim grozdovima (Topolovec-Pintarić, 2000.) te smo i mi za potrebe ovog istraživanja uzorke sakupljali tijekom rujna. Svi naši izolati gljive na hranjivoj PDA podlozi stvarali su tipičnu sivu micelarnu prevlaku s vrlo dugačkim razgranatim konidioforima i brojnim konidijama.

Uzročnik sive plijesni, gljiva *Botrytis cinerea*, poznata je po brzom razvoju rezistentnosti na fungicide različitih djelatnih tvari koji su nazvani botriticidi. Problem rezistentnosti fitopatogene gljive *B. cinerea* posebno je uočljiv u zaštiti vinograda jer je siva plijesan jedna od ekonomski najznačajnijih bolesti vinove loze (Topolovec-Pintarić, 2000). Pojava rezistentnosti ima za posljedicu smanjenje učinkovitosti nekog fungicida ili on postaje potpuno neučinkovit što rezultira rastom šteta od razvoja bolesti iako fungicid apliciramo. Sama rezistentnost je posljedica ponovljene primjene fungicida određenog načina djelovanja na uzročnika bolesti (Topolovec-Pintarić, 2000.).

U istraživanju Latorre i Torres-a (2012.) cilj je bio utvrditi prisutnost rezistencije na fungicide koji su se u vrijeme provedbe istraživanja koristili za suzbijanje *B. cinerea* u Čileu. Tijekom 2007., 2008., 2009. i 2011. godine ispitano je 214 izolata *B. cinerea* sakupljenih u 36 komercijalnih vinograda na osjetljivost na anilinopirimidine (ciprodinil i pirimetanil), inhibitore demetilacije (DMI) (tebukonazol), hidroksianilide (fenheksamid) i fenilpirole (fludioksonil). Od svih ispitanih izolata čak 62,7% bilo je rezistentno na anilinopirimidine, 7,2% na inhibitore demetilacije, 27,1% na hidroksianilide i 44,8% na derivate fenilpirola. Sveukupno, 16 izolata (12,3%) bilo je osjetljivo na sve ispitane aktivne tvari. Autori također navode da niti jedan izolat nije bio rezistentan na sve četiri aktivne tvari. Prema rezultatima istraživanja 50 izolata (38,5%) bilo je rezistentno na jednu aktivnu tvar, 51 (39,2%) na dvije i 13 (10,0%) izolata bilo je rezistentno na tri aktivne tvari. Ovo je bilo prvo izvješće o izolatima koji imaju istovremenu rezistenciju na anilinopirimidine, DMI, fenilpirole i hidroksianilide u populacijama *B. cinerea* iz vinove loze u Čileu. Stoga je otpornost na fungicide ozbiljan problem koji dovodi u pitanje

održivost trenutne strategije suzbijanja sive plijesni, koja se gotovo isključivo oslanja na fungicide s načinima djelovanja na jednom mjestu.

Relativno je malo objavljenih radova o istraživanjima rezistentnosti fitopatogenih gljiva na fungicide u Hrvatskoj. Promjene u osjetljivosti na fungicide unutar populacija uzročnika biljnih bolesti moguće je dokazati jedino u laboratorijskim uvjetima. Ipak, pretpostavku pojave rezistentnosti ili smanjene osjetljivosti uzročnika biljnih bolesti pružaju i poljski pokusi učinkovitosti fungicida. Neka takva istraživanja u Hrvatskoj posredno upućuju na vrlo vjerojatnu ili moguću pojavu rezistentnosti nekih gljiva na pojedine aktivne tvari (Ivić i Cvjetković, 2017.).

Prvi pokusi rezistentnosti pirimetanila na *B. cinerea* u Hrvatskoj provedeni su od 1996. do 1999. godine na vinogradima u Kutjevu. Uz pirimetanil, u pokus su također istražene djelatne tvari ciprodinil i fenheksamid. Iskazali su visoku učinkovitost, ali također je po prvi puta utvrđena stečena rezistentnost na ove djelatne tvari. Broj rezistentnih biotipova postupno se povećavao od prve do posljednje godine istraživanja što upućuje na razvoj stečene rezistentnosti. Brojnost ciprodinil-rezistentnih jedinki bila je niža u odnosu na brojnost pirimetanil- i fenheksamid- rezistentnih jedinki u svakoj pokusnoj godini (Toplovec-Pintarić, 2000.).

Tijekom 2001., 2002. i 2003. godine na području sjeverne Hrvatske prikupljeni su izolati *Botrytis cinerea* s vinove loze i jagode s dvije različite lokacije. Ispitavana je učinkovitost fungicida na osnovi sveukupno 10 djelatnih tvari (pirimetanil, vinklozolin, iprodion, diklofluanid, ciprodinil, fludioksonil, dietofenokarb, tolilfluanid, benomil i fenheksamid). Rezultati su pokazali da je rezistentnost utvrđena na sve ispitivane djelatne tvari (Miličević, 2005.). Autor navodi da se rezistentnost javljala najčešće na vinklozolin i benomil dok se rezistentnost na, u tom trenutku, novije djelatne tvari kao što su pirimetanil, fludioksonil i fenheksamid javljala vrlo rijetko. Također je kod svih ispitivanih izolata utvrđena unakrsna rezistentnost između djelatnih tvari koje pripadaju istim kemijskim skupinama kao što su npr. pirimetanil i ciprodinil koji pripadaju u skupinu anilinopirimidina, vinklozolin i iprodion koji pripadaju u skupinu dikarboksimida te diklofluanid i tolilfluanid koji pripadaju u skupinu fenilsulfamida.

U pokusima provedenim od 1996. do 1999. godine na području Kutjeva Toplovec-Pintarić (2000.) je utvrdila postojanje rezistentnosti na pirimetanil, ciprodinil i fenheksamid. Autorica navodi i da se broj rezistentnih jedinki na navedene djelatne tvari

postuno povećavao od prve do zadnje godine istraživanja što upućuje na razvoj stečene rezistentnosti.

Tijekom 2005. godine provedeno je terensko istraživanje na području Kutjeva osjetljivosti *B. cinerea* na različite fungicide i njihove aktivne tvari: pirimetanil (Mythos), kombinacija ciprodinila i fludioksonila (Switch) i fenheksamid (Teldor). Rezultati su pokazali da kombinacija ciprodinila i fludioksinila ima najbolje djelovanje, čak 90,7% inhibicije, zatim pirimetanil 84,15% i fenheksamid 83,8% (Toplovec-Pintarić, 2009.).

6. ZAKLJUČAK

Analizom uzoraka s prostora Baranje ispitana je osjetljivost izolata gljive *Botrytis cinerea* na fungicid pirimetanil. Siva plijesan poznata je kao gljiva koja brzo razvija rezistentnost na primjenjivanje fungicide pa je taj problem najizraženiji u zaštiti vinograda.

U ovom radu istraživanje je provedeno tijekom 2019. godine u Centralnom laboratoriju za fitomedcinu na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek. Cilj istraživanja je bio procijeniti učinak pirimetanila na porast gljive *Botrytis cinerea* iz vinogorja Baranja. Rezultati su pokazali da testirani fungicid nije dovoljno učinkovit za suzbijanje bolesti sive plijesni jer je inhibitorni učinak znatno manji od 90%. Pirimetanil nije pokazao nikakvo djelovanje pri različitim koncentracijama na izolate s dvije različite lokacije. Mikroskopskim promatranjem smo došli do saznanja da postoje morfološke razlike između konidija unutar vrste s obzirom na lokalitet. Prosječne dimenzije konidija izolata *B. cinerea* iznosile su između 19,5696 i 47,5819 μm .

Iako je u Hrvatskoj dosada objavljeno malo radova o istaživanjima utjecaja primetanila na gljivu *B. cinerea*, uspoređujući ovo istaživanje s ostalima, dolazimo do zaključka da pirimetanil nije dovoljno učinkovito sredstvo za suzbijanje bolesti te da u tome vjerovatno veliku ulogu ima rezistentnost.

Pojava rezistentnosti može značajno ugroziti učinkovito suzbijanje bolesti, što se može spriječiti proaktivnim djelovanjem, odnosno monitoringom pojave rezistentnosti biljnih patogena. Važno je razviti učinkovite programe praćenja rezistentnosti jer otkrivanjem promjena u pojavi rezistentnih sojeva možemo omogućiti primjenu učinkovitih strategija suzbijanja bolesti te racionalnu uporabu sredstava za zaštitu bilja.

7. POPIS LITERATURE

1. Al-Qurashi, A.D., Awad, M.A. (2013.): Effect of pre-harvest calcium chloride and ethanol spray on quality of 'El-Bayadi' table grapes during storage. *Vitis*, 52(2): 61-67.
2. Brent, K.J., Hollomon, D.W. (1998.): Fungicide Resistance: the Assessment of Risk. FRAC Monograph No 2. Global Crop Protection Federation, Brussels, Belgium, 26-29.
3. Coley-Smith, J.R (1980.): Sclerotia and other structure in survival. U: *The Biology of Botrytis* (Coley-Smith J.R., Verhoeff K., Jarvis W.R., eds.), Academic Press, London, UK, 85-114.
4. Cvjetković, B. (2010.): Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze. Zrinski d.o.o. Čakovec.
5. Dimitrijević, M., Jurković, D., Konstantinović, B. (1980): Suzbijanje parazita *Botrytis cinerea* na vinovoj lozi u 1977. godini. Zbornik radova Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, 6: 49-54.
6. Dorado, M., Bremejo, E., Gonzalez, J.L., Sanchez, A., Luna, N. (2001.): Development influence of *Botrytis cinerea* on grapes. *Advances in food sciences*, 23 (4): 153-159.
7. Droby, A., Lichter, A. (2004.): Post-harvest *Botrytis* infection: ethiology, development and Management. U: *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (Elad Y., Williamson B. Tudzynski P., Delen N., eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, pp. 349-367.
8. Elad, Y. (1994.): Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. *Crop Protection*, 13: 35-38.
9. Elad, Y. (2000.): Biocontrol of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection*, 19: 709-714.
10. 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.

11. Gupta, V.P., Tewari, S.K., Govindaiah D. and Bajpai, A.K. (1999.): Ultrastructure of mycoparasitism of *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Laetisaria* species on *Botryodiplodia theobromae*. *Journal of Phytopathology*, 147: 19-24.
12. Ivančan, N. (2009). Zaštita vinove loze u vegetaciji. *Glasnik zaštite bilja*, 32 (3): 43-52.
13. Ivić, D., Cvjetković, B. (2017). Rezistentnost biljnih patogena na fungicide u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite*, 17 (5): 506-511.
14. Jarvis, W. R. (1977.): *Botryotinia* and *Botrytis* species, taxonomy, physiology and pathogenicity. Research Branch, Canada Department of Agriculture Monograph No. 15.
15. Jelenić, J., Ilić, J. (2018.): Application of endophytic *Fusarium* fungi for growth improvement of wine grape. *Glasnik zaštite bilja*, 42 (4): 44-47.
16. Kišpatić, J., Maceljki, M. (1991.): *Zaštita vinove loze od bolesti, štetnika i korova*. Nakladni zavod znanje, Zagreb.
17. Kojić, N. (2020.): Tradicija i uvjeti uzgoja vinove loze u vinogorju Baranja. *Glasnik zaštite bilja*, 43(5): 80-84.
18. Latorre, B.A., Torres, R. (2012) Prevalence of isolates of *Botrytis cinerea* resistant to multiple fungicides in Chilean vineyards, *Crop Protection*, 40 (1), str. 49-52.
19. Lorenz, G. (1988.): Dicarboximide Fungicides: History of Resistance Development and Monitoring Methods. U: *Fungicide Resistance in North America* (Delp C.J., ed.), The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 45-51.
20. Maceljki, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Barić, B. (2006.): *Štetočinke vinove loze*. Zrinski d.d., Čakovec.
21. Miličević, T. (2005.): Genotypic and phenotypic variability in the populations of pathogenic fungus *Botryotinia fuckeliana* (De Bary) Whetz. on grapevine and strawberries. Disertacija. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
22. Miličević, T., Cvjetković, B. (2008.): Dugogodišnji monitoring rezistentnosti fitopatogene gljive *Botrytis cinerea* na fungicide u Hrvatskoj. 5. Simpozijum o zaštiti bilja u Bosni i Hercegovini, Knjiga sažetaka. Sarajevo, Bosna i Hercegovina.
23. Mlikota, F. (2001.): Alternativne metode suzbijanja sive plijesni (*Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr.) pri skladištenju stolnog grožđa. Disertacija. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
24. OIV (2018.): *Statistical Report on World Vitiviniculture*. International Organisation of Vine and Wine, Paris.

25. Okigbo, R.N., Ikediugwu, F.E.O. (2000.): Studies on biological control of postharvest rot in Yams (*Dioscorea* spp.) using *Trichoderma viridae*. *Journal of Phytopathology*, 148: 351- 355.
26. Predojević, Ž. (2016.): Zlatno brdo i tisućljetna vinogradarska tradicija. U: *Godišnjak Ogranka Matice hrvatske Beli Manastir*, 12: 76-100.
27. Radman, Lj. (1978.): *Bolesti ratarskih kultura*. Sarajevo.
28. Rozman, V. (2011.): Rezistencija štetnika na pesticide. U: Korunić, J. (ur.) *Zbornik predavanja DDD Trajna edukacija za izvoditelje obvezatnih mjera dezinfekcije, dezinskcije i deratizacije i osobe u nadzoru – Osnovni principi provedbe DDD mjera u praksi*, 61-67.
29. Russell, P.E.(2005.): Centenary review - A century of fungicide evolution. *Journal of Agricultural Science*, 143: 11-25.
30. Stapleton, J. J., W. W., Barnett, J. J., Maraois, W. D., Gubler, (1990.): Leaf removal for pests management in wine grapes. *California Agriculture*, 44 (5): 15-17.
31. Stehmann, C. (1995.): *Biological Activity of Triazole Fungicides Towards Botrytis cinerea*. Doktorski rad, Wageningen, Nizozemska.
32. Svitlica, B., Mesić, J., Del Vechio, J. (2015.): Utjecaj zahvata zelene rezidbe na intenzitet zaraze s *Botrytis cinerea* Pers.ex Fr.sorte Syrah. *Proceedings. 50th Croatian and 10th International Symposium on Agriculture* . Opatija, Hrvatska, 526–529.
33. 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.
34. Topolovec-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.
35. Topolovec-Pintarić, S., Cvjetković, B. (2001). The sensitivity of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr.to new botryticides in the vineyards. *Zbornik predavanj in referatov 5. Slovenskoga posvetovanja o varstvu rastlin, Čatež ob Savi*, 417-420.
36. Topolovec-Pintaric, S. (2009): Resistance risk to new botryticides in *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. in winegrowing areas in Croatia. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 116. 2, 73–77.
37. Zohary, D., Hopf, M. (2000.): *Domestication of plants in the Old World*. 3rd edn. New York, Oxford University Press.

INTERNET STRANICE:

1. <https://www.agroklub.com/zastitna-sredstva/aktivne-tvari/pirimetani-103/>
(preuzeto: 21.11.2020.)
2. https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2019/01-01-14_01_2019.htm
(preuzeto: 17.10.2020.)
3. <https://fis.mps.hr/TrazilicaSZB/Default.aspx?lan=hr-Hr>
(preuzeto: 16.1.2021.)
4. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_03_32_641.html
(preuzeto: 21.11.2020.)
5. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_08_76_1603.html
(preuzeto: 21.11.2020.)
6. http://pinova.hr/hr_HR/katalog-proizvoda/sredstva-za-zastitu-bilja/fungicidi/kontaktno-sistemicni-fungicidi/pyrus-400-sc
(preuzeto: 15.10.2020.)
7. <https://proleksis.lzmk.hr/10773/>
(preuzeto: 18.1.2021)

8. SAŽETAK

Uzročnik sive plijesni je polifagna gljiva *Botrytis cinerea*. Osim na vinovoj lozi, *Botrytis cinerea* parazitira na 235 biljnih vrsta koje se uzgajaju od hladnih područja Aljaske i Kanade do suptropskih područja te značajno ugrožava proizvodnju voća, grožđa, povrća i ukrasnog bilja. U vinogradima se pojavljuje zbog pojačane gnojidbe, visokorodnih sorata zbijenih grozdova, bujnih čokota te zbog ostavljanja velike lisne mase za dovoljnu asimilaciju. Živi kao saprofit koji izaziva direktne i indirektne štete. Direktne štete nastaju zbog smanjenog uroda, a indirektne štete u lošoj kvaliteti mošta i vina. Bolest se javlja svake godine u većem ili manjem intenzitetu, a posebice velike štete se javljaju u intenzivnim nasadima na kontinentalnom području Hrvatske. *Botrytis cinerea* poznata je kao gljiva koja brzo razvija rezistentnost na primjenjivanje fungicide pa je taj problem najizraženiji u zaštiti vinograda. U radu je provedeno istraživanje tijekom 2019. godine u Centralnom laboratoriju za fitomedicinu Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Cilj istraživanja je bio procijeniti učinak pirimetanila na porast gljive *Botrytis cinerea* iz vinogorja Baranja.

Ključne riječi: *Botrytis cinerea*, pirimetanil, rezistentnost, siva plijesan, vinogorje Baranja

9. SUMMARY

The cause of gray mold is the polyphagous fungus *Botrytis cinerea*. In addition to vines, *Botrytis cinerea* parasitizes 235 plant species grown from cold areas of Alaska and Canada to subtropical areas, and significantly threatens the production of fruits, grapes, vegetables and ornamental plants. It appears in vineyards due to increased fertilization, high-yielding varieties of compacted bunches, lush vines and due to leaving a large leaf mass for sufficient assimilation. It lives as a saprophyte that causes direct and indirect damage. Direct damage occurs due to reduced yields, and indirect damage due to poor quality of must and wine. The disease occurs every year in greater or lesser intensity, and especially great damage occurs in intensive plantations in the continental area of Croatia. *Botrytis cinerea* is known as a fungus that quickly develops resistance to the different fungicides, so this problem is most pronounced in the protection of vineyards. The paper conducted research during 2019 in the Central laboratory for phytomedicine at the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek. The aim of the study was to evaluate the effect of pyrimethanil on the growth of the fungus *Botrytis cinerea* from the Baranja vineyards.

Keywords: *Botrytis cinerea*, pyrimethanil, resistance, gray mold, Baranja vineyards

10.POPIS SLIKA

Slika 1. Simptomi sive plijesni na bobicama (Izvor: www.blog.pestprophet.com)

Slika 2. Kemijska formula pirimetanila (Izvor: www.wikipedia.org)

Slika 3. Lokacija Baranjskih vinogorja (Izvor: www.lmh.hr)

Slika 4. Baranjsko vinogorje (Izvor: www.knezevi-vinogradi.hr)

Slika 5. Sorta Graševina (Izvor: www.rasadnik-milic.hr)

Slika 6. Nacjeppljivanje kulture na PDA agar (Izvor: Bulović, M.)

Slika 7. Porast micelija (Izvor: Milatić, A.)

Slika 8. Konidiofori i konidije *Botrytis cinerea* (Izvor: Katedra za fitopatologiju)

Slika 9. Konidije *Botrytis cinerea* (Izvor: Katedra za fitopatologiju)

11.POPIS TABLICA

Tablica 1. Inhibicija porasta micelija sive plijesni pri različitim koncentracijama pirimetanila (Izvor: vlastiti izvor)

Tablica 2. Prosječna veličina konidija (Izvor: vlastiti izvor)

Andela Milatić

**MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE FITOPATOGENE GLJIVE *BOTRYTIS CINEREA* I UČINAK
PIRIMETANILA NA PORAST IZOLATA IZ VINOGORJA BARANJA**

Sažetak:

Uzročnik sive plijesni je polifagna gljiva *Botrytis cinerea*. Osim na vinovoj lozi, *Botrytis cinerea* parazitira na 235 biljnih vrsta koje se uzgajaju od hladnih područja Aljaske i Kanade do suptropskih područja te značajno ugrožava proizvodnju voća, grožđa, povrća i ukrasnog bilja. U vinogradima se pojavljuje zbog pojačane gnojidbe, visokorodnih sorata zbijenih grozdova, bujnih čokota te zbog ostavljanja velike lisne mase za dovoljnu asimilaciju. Živi kao saprofit koji izaziva direktne i indirektne štete. Direktne štete nastaju zbog smanjenog uroda, a indirektne štete u lošoj kvaliteti mošta i vina. Bolest se javlja svake godine u većem ili manjem intenzitetu, a posebice velike štete se javljaju u intenzivnim nasadima na kontinentalnom području Hrvatske. *Botrytis cinerea* poznata je kao gljiva koja brzo razvija rezistentnost na primjenjivanje fungicide pa je taj problem najizraženiji u zaštiti vinograda. U radu je provedeno istraživanje tijekom 2019. godine u Centralnom laboratoriju za fitomedcinu Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Cilj istraživanja je bio procijeniti učinak pirimetanila na porast gljive *Botrytis cinerea* iz vinogorja Baranja.

Rad je izraden pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: prof.dr.sc. Jasenka Čosić

Broj stranica: 34

Broj tablica: 2

Broj grafikona i slika: 9

Broj literaturnih navoda: 44

Broj priloga: -

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Botrytis cinerea*, pirimetanil, rezistentnost

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof.dr.sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. prof.dr.sc. Jasenka Čosić, mentor
3. prof.dr.sc. Renata Baličević, član

Diplomski rad pohranjen u Knjižnici fakulteta Agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Faculty of Agrobiotechnical Sciences

University Graduate studies, course Viticulture and vine production

Graduate thesis

Andela Milatić

MORPHOLOGICAL CHARACTERISATION OF PATHOGENIC FUNGI *BOTRYTIS CINEREA* AND EFFECT OF PYRIMETHANIL ON GROWTH OF ISOLATES IN VINEYARDS OF BARANJA

Abstract:

The cause of gray mold is the polyphagous fungus *Botrytis cinerea*. In addition to vines, *Botrytis cinerea* parasitizes 235 plant species grown from cold areas of Alaska and Canada to subtropical areas, and significantly threatens the production of fruits, grapes, vegetables and ornamental plants. It appears in vineyards due to increased fertilization, high-yielding varieties of compacted bunches, lush vines and due to leaving a large leaf mass for sufficient assimilation. It lives as a saprophyte that causes direct and indirect damage. Direct damage occurs due to reduced yields, and indirect damage due to poor quality of must and wine. The disease occurs every year in greater or lesser intensity, and especially great damage occurs in intensive plantations in the continental area of Croatia. *Botrytis cinerea* is known as a fungus that quickly develops resistance to the different fungicides, so this problem is most pronounced in the protection of vineyards. The paper conducted research during 2019 in the Central laboratory for phytomedicine at the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek. The aim of the study was to evaluate the effect of pyrimethanil on the growth of the fungus *Botrytis cinerea* from the Baranja vineyards.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: prof.dr.sc. Jasenka Ćosić

Number of pages: 34

Number of tables: 2

Number of figures and pictures: 9

Number of references: 44

Number of appendices: -

Original in: Croatian

Key words: *Botrytis cinerea*, pyrimethanil, resistance

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. prof.dr.sc. Karolina Vrandečić, president
2. prof.dr.sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. prof.dr.sc. Renata Baličević, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1.