

Morfološke karakteristike fitopatogene gljive *Botritis cinerea* i učinak boskalida na porast izolata iz vinogorja Srijem i Erdut

Bulović, Maja

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:151:752663>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-29**



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

Maja Bulović

Sveučilišni diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**Morfološke karakteristike fitopatogene gljive *Botrytis cinerea* i učinak boskalida na
porast izolata iz vinogorja Srijem i Erdut**

Diplomski rad

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Maja Bulović

Sveučilišni diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**Morfološke karakteristike fitopatogene gljive *Botrytis cinerea* i učinak boskalida na
porast izolata iz vinogorja Srijem i Erdut**

Diplomski rad

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Maja Bulović

Sveučilišni diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**Morfološke karakteristike fitopatogene gljive *Botrytis cinerea* i učinak boskalida na
porast izolata iz vinogorja Srijem i Erdut**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. Prof.dr.sc. Jasenka Ćosić, predsjednik
2. Izv.prof.dr.sc. Jelena Ilić, mentor
3. Prof.dr.sc. Karolina Vrandečić, član

Osijek, 2019.

SADRŽAJ:

1.UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	2
2.1. <i>Botrytis cinerea</i> (siva plijesan).....	2
2.2. Morfologija <i>Botrytis cinerea</i>	2
2.3. Simptomi sive plijesni.....	5
2.4. Suzbijanje bolesti.....	6
2.5. Lokalitet vinograda.....	10
2.6. Klimatski uvjeti.....	12
2.7. Rezistentnost.....	13
3.MATERIJALI I METODE.....	15
4. REZULTATI.....	17
4.1. Test osjetljivosti <i>B.cinerea</i> na boskalid.....	17
4.2. Morfološke varijabilnosti konidija <i>B. cinerea</i>	19
5. RASPRAVA.....	22
6. ZAKLJUČAK.....	22
7. POPIS LITERATURE.....	23
8. SAŽETAK.....	30
9. SUMMARY.....	31
10. POPIS SLIKA.....	32
11. POPIS TABLICA.....	33
12.POPIS GRAFIKONA.....	33
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA.....	34
BASIC DOCUMENTATION CARD.....	35

1. UVOD

Vinova loza pripada rodu *Vitis*, najvažnijem rodu iz porodice *Vitaceae*.

U svijetu se proizvodnja vina prvenstveno temelji na uzgoju sorata vinove loze *Vitis vinifera*. Pratitelj čovjeka već tisućljećima i jedna je od najstarijih kulturnih biljaka. Zbog vrijednosti njezinih proizvoda danas je zastupljena i gospodarski vrlo važna u gotovo svim zemljama svijeta gdje klimatski čimbenici omogućavaju njezin uzgoj.

Možemo reći i da je vino, najvažniji proizvod vinove loze, ostavilo velik utisak razvoju mnogih civilizacija i kultura, kako onih antičkih, tako i današnjih. Osim što je proizvodnja grožđa i vina ekonomski značajna za mnoge zemlje, često je služila kao motiv slikarima i kiparima, pjesnicima te bila tema brojnih radova i knjiga. To samo potvrđuje činjenicu da za čovjeka ima veću važnost od biljne vrste, a njezini produkti više od hrane (Maletić i sur., 2008.).

U arheološkim nalazima starijih civilizacija pronađeni se brojni dokazi o razvijenom vinogradarstvu i vinarstvu. Poznavatelje vina oduvijek je intrigiralo pitanje kada su ljudi počeli uzgajati vinovu lozu te od nje proizvoditi vino (Mirošević i Karlogan-Kontić, 2008.). Duga povijest, široka rasprostranjenost, velika gospodarska i kulturna važnost razlog su zbog kojeg joj se od svih voćnih vrsta u obrazovanju posvećuje najveća pozornost (Maletić i sur., 2008.).

Rasprostranjena je na svim kontinentima osim Antartike a pretpostavlja se da potječe iz Male Azije. Vinova loza je vrlo važna kultura za poljoprivrednu proizvodnju u Hrvatskoj. Zbog povoljnih klimatskih uvjeta i pogodnosti položaja i tla od vinove loze se dobivaju dobri prinosi stolnih i desertnih sorti čije je grožđe traženo za konzumaciju (Trajčevski, 2008.).

Širenje vinove loze na prostorima Hrvatske se odvija u dva pravca: jedan pravac obuhvaća primorje, dok je drugi pravac širenja obuhvaća područje kontinentalne Hrvatske. Navedene regije se dalje dijele na dvanaest podregija. U ovom radu, obuhvaćen je najistočniji dio kontinentalne Hrvatske u kojem se nalazi podregija Podunavlje, unutar koje su vinogorje Srijem i vinogorje Erdut.

Vinova loza također je podložna i nekim bolestima koje stvaraju probleme vinogradarima jer narušavaju kvalitetu uroda te smanjuju prinos. *Botrytis cinerea* je bolest koja izaziva sivu

trulež pojedinih bobica, ali i čitavih grozdova a najčešće se pojavljuje pred berbu. Uzročnik sive plijesni je gljiva poznata po brzom razvoju rezistentnosti na fungicide koji se koriste za njeno suzbijanje. Problematika rezistentnosti *B. cinerea* je posebno izražena u zaštiti vinograda jer je siva plijesan jedna od ekonomski značajnih bolesti vinove loze (Topolovec - Pintarić, 2000.).

2. PREGLED LITERATURE

2.1. *Botrytis cinerea* (siva plijesan)

Botrytis cinerea (botrytis dolazi od grčke riječi botrys, što znači grožđe i sufiksa - itis, koji označava bolest), uzrokuje trulež grožđa, odnosno sivu plijesan. Izraziti je polifag što znači da ima veći broj domaćina (jagode, vinova loza, maline, duhan, soja itd.). Nalazimo ga i kao značajnog patogena u manje povoljnim staništima, gdje postoji veći ili manji krug biljaka domaćina, što ukazuje i na ubikvistični i polifagni karakter patogena (Yunis i Elad, 1989.).

B. cinerea je jedna od najštetnijih bolesti vinove loze u kontinentalnom dijelu Hrvatske, ali i u jadranskom dijelu Hrvatske, nastale štete u pojedinim godinama mogu biti značajne. U Hrvatskoj, izravne štete u smanjenju uroda kreću se od 3 do 15%, ovisno o godini, a prosječne godišnje štete su oko 4,1% (Maceljski i sur., 2006.).

Relativno visoka vlažnost zraka (90%), povoljne temperature za razvoj (1-30°C, optimalno 15-20°C) i vlažnost biljnih dijelova smatraju se najvažnijim vanjskim uvjetima koji utječu na infekciju gljivom *B. cinerea* (Jurković i suradnici, 2010.). Razvija se kao saprofit na ostacima cvjetova, uglavnom oštećenih od bolesti, štetnika ili tuče (Licul i Premužić, 1979.). Redovito se može ustanoviti i u tlu, ali taj izvor inokuluma nema veliku važnost u ostvarivanju infekcije (Dorado i sur. 2001.).

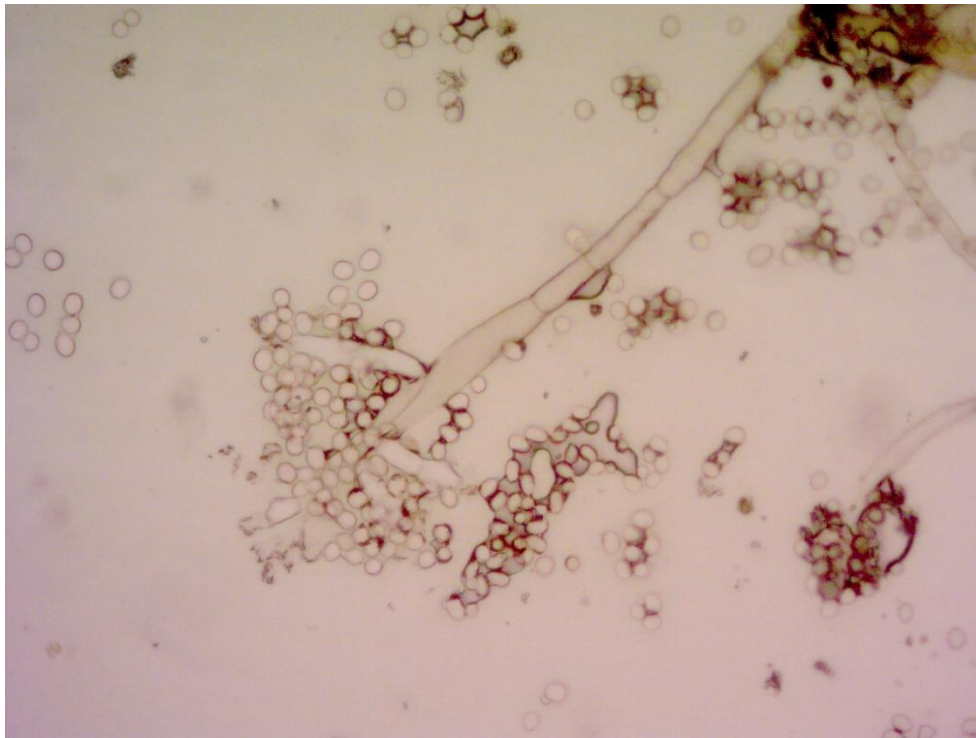
2.2. Morfologija *B. cinerea*

Sklerociji se razvijaju unutar umirućih tkiva domaćina i predstavljaju važan mehanizam preživljavanja *B. cinerea*, vrlo su različitih veličina i nisu lako vidljivi na svim osjetljivim kulturama (Backhouse i Willets, 1984). Sklerociji započinje rast u rano proljeće kako bi se proizveli konidiofori i konidiji, koji služe kao primarni izvor inokuluma unutar usjeva. Smatra se da su sklerocije najvažnije tvorevine za održavanje vrsta jer mogu preživjeti nepovoljne vremenske uvjete, stvarati apotecije nakon seksualnog procesa, a kod mnogih vrsta na njima može nastati nekoliko uzastopnih generacija konidija (Coley-Smith, 1980.). Osim sklerocija, vrste roda *Botrytis* formiraju: konidiofore i konidije (slika 1.), apotecije i askospore koje omogućavaju širenje patogena (Jarvis, 1980.).

Konidije nastale na izvorima primarnog inokuluma slijede dobro definirani dnevni ciklus inicijacije, proizvodnje i širenja koji je reguliran izmjenama temperature i vlažnosti; nagli pad vlage s porastom temperature u rano jutro uzrokuje uvijanje i sušenje konidiofora kako bi izbacili konidije u zračne struje. Kapljice vode također mogu raspršiti konidije, ali to vjerojatno nije glavna metoda raspršivanja (Jarvis, 1977.).

Konidije se mogu kretati zračnim strujama iz susjednih kultura, no većina se konidija generira iz primarnih izvora unutar usjeva. Kao i kod mnogih gljiva, konidije sadrže samoinhibitor te ih je potrebno oprati da bi se *in vitro* izazvala visoka stopa klijanja.

Ako se čuvaju na sobnoj temperaturi, u suhom stanju, konidije *B. cinerea* mogu preživjeti do 14 mjeseci (Salinas i sur., 1989.).



Slika 1. Konidije sa konidioforama

(Izvor:

<http://www.pisvojvodina.com/RegionNS/Lists/Photos/2016/VINOVA%20LOZA/10.08.2016.%20Konidije%20sa%20konidioforama%20sive%20trule%20C5%BEi%20gro%20C5%BE%20C4%91a.jpg>)

Klijanje konidija pri visokoj relativnoj vlazi zraka je moguće zbog kondenzacije vode na okolnim površinama pri vlazi višoj od 95%. Čimbenici koji uz visoku relativnu vlagu zraka utječu na razvoj bolesti su svjetlost, kiselost sredine i starost konidija. Gljiva *B. cinerea* može

klijati u tami, ali je klijavost u tim uvjetima vrlo slaba. Crveno svjetlo i spektar blizu ultraljubičastog svjetla (280-380 nm) inhibiraju klijanje konidija, dok kontinuirano ultraljubičasto svjetlo inhibira sporulaciju (Jarvis, 1977.). Za klijanje konidija optimalni pH sredine je između 3,0 i 7,0, dok micelij može rasti na pH od 2,0 do 8,5 (Webb, 1919.). Postotak klijanja ovisi o starosti kolonija, a najbolje kličaju konidije koje su stare 16 dana (Singh, 1940.).

Konidije počinju klihati kada dopiju na osjetljivo biljno tkivo. Klična cijev se izdužuje po biljnoj površini, gljiva formira apresorij i prodire u biljno tkivo pomoću infektivne hife. Brown i Harvey (1927.) tvrde da se penetracija odvija mehaničkim putem, dok McKeen (1974.) tvrdi da se penetracija odvija enzimatskim putem, na način da se razgradi kutikula pomoću pektolitičkih enzima. Micelij također preživljava unutar zaraženih mrtvih tkiva domaćina ostavljenih kao krhotina usjeva i unutar sjemenki da bi služio kao primarni inokulum. U višegodišnjim usjevima mrtvo lišće, cvijeće i mumificirani plodovi sadrže masu micelija koji se često mogu idealno smjestiti u usjevima kako bi se stvorile konidije i pokrenule infekcije. Ciklus bolesti započinje formiranjem konidija na koloniziranom tkivu. Sve dok ne nastanu ekstremni uvjeti gljiva stvara sklerocije ili savršeni stadij.

Seksualni ciklus uključuje spermatizaciju sklerotija, što dovodi do stvaranja apotecije i ascija s osam binukleatnih askospora. Stanični detalji plazmogamije i pokretanje apotecije još uvijek nisu opisani. Nadalje, apotecija nije zabilježena ili je rijetka kod većine usjeva napadnutih *B. cinerea*, a bilo kakvi zaključci o ulozi seksualnog ciklusa u vrstama temelje se uglavnom na molekularnoj analizi genetičkih varijacija (Beever i Weeds, 2004).

Spolni stadij je prvi puta opisao 1866. Anton De Bary (Lorenz i Eichhorn, 1983.) pod imenom *Peziza fuckeliana*, a 1869. ga je preimenovao u *Sclerotinia fuckeliana*. Whetzel je 1945. godine telemorfni stadij prebacio u rod *Botryotinia* i od tada nosi naziv *Botryotinia fuckeliana*. Uspješnim *in vitro* križanjima 1939. Groves i Drayton su potvrdili da je *B. fuckeliana* telemorfni stadij anamorfs *B. cinerea* (Jarvis, 1977.).

Nespolni (anamorfni) stadij *Botrytis cinerea* Pers. i spolni (telemorfni) stadij *Botryotinia fuckeliana* su stadiji u životnom ciklusu iste fitopatogene gljivice.

Rodu *Botrytis* pripadaju i neke vrste koje su specijalizirane na određenog biljnog domaćina, dok patogena gljiva *B. cinerea* ima široki spektar domaćina. Tako ova gljiva ima više od 200 biljnih domaćina (Jarvis, 1977.)

Morfološke osobine kao što su micelij, konidije, struktura konidiofora, veličina i oblik sklerocija korisni su u klasifikaciji nekih vrsta *Botrytis*. Potrebno je puno vremena i znanja, za potpunu identifikaciju patogena. Ipak, poznato je da uvjeti uzgoja značajno utječu na varijacije (Beever i Weeds, 2004.).

2.3. Simptomi sive plijesni

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

Gljiva od mjesta infekcije napreduje u zaraženoj bobi oko 3-4 mm dnevno, a na pokožici se mijenja boja u segmentima, sve dok na kraju čitava bobica ne poprimi svijetlosmeđu boju (Maceljki i sur., 2006.). Nakon duljeg ili kraćeg vremena na bobama se pojavljuje paučinasta prevlaka sive boje. Protresanjem zaraženog grozda, odvajaju se brojne konidije u obliku sivkaste prašine (Maceljki i sur., 2006.).

Iako su simptomi najuočljiviji na bobicama, *Botrytis cinerea* može napasti sve zelene dijelove loze, posebno u vlažnim i kišovitim sezonama i uzrokovati pojavu žuto-zelenih mrlja, koje kasnije postaju smeđe (Marić-Ivandija i Ivandija, 2013.). Simptomi na listovima se javljaju u proljeće u obliku smeđih pjega, obično manjih od 1 mm, okružene žutim prstenom. U većini slučajeva se infekcija pojavljuje u pazušcu lista i na mjestima gdje se cvjetovi spajaju sa stabljikom. Ukoliko je vrijeme vlažno, na listovima se javljaju sivkaste prevlake. U slučaju jače zaraze dolazi do opadanja listova sa peteljka.

U godinama sa toplom i suhom jeseni *B. cinerea* se u obliku micelija stvara na grozdovima tzv. plemenita plijesan. Prodirući kroz koricu u meso bobica, gljivica dovodi do gubitaka vode i smanjenja kiselina (Licul i Premužić, 1979.).

Mošt koje je dobiven iz grožđa zaraženog sa sivom plijesni ima redovito manji sadržaj amonijskog dušika, piridoksina i tiamina, pa se javljaju poteškoće prilikom vrenja koje su uzrokovane nedostatkom navedenih vitalnih spojeva potrebnih kako bi se odvio normalan metabolizam kvasaca. Već u procesu vrenja često dolazi do pojave sumporovodika zbog spore i nepravilne fermentacije takvih moštova (Zoecklein, 2008.).



Slika 2. Simptomi sive plijesni

(izvor: http://pinova.hr/hr_HR/baza-znanja/vinogradarstvo/zastita-vinograda/bolesti-vinove-loze/siva-plijesan-vinove-loze)

2.4. Suzbijanje bolesti

Zaštita se zasniva na preventivnim mjerama tretiranja, u najosjetljivijim fazama razvoja, zbog toga što razne prognozne metode razvijene za suzbijanje sive plijesni, ili su vrlo komplicirane, ili ne daju pouzdane rezultate (Topolovec-Pintarić, 2000.).

Ukoliko se siva plijesan želi suzbiti, zaštita mora početi vrlo rano, odmah nakon cvatnje, iako u toj fazi gljiva ne čini štete. Važno je pravovremeno izvesti sve agrotehničke zahvate i suzbiti štetnike. Skidanje suvišnih listova iz zone grozda je vrlo korisna metoda. Uvjeti za

širenje sive plijesni su manji jer je grožđe na taj način izloženije suncu i vlaga se manje zadržava. Najdjelotvornija zaštita postiže se uporabom specifičnog fungicida (botricida) u četiri roka i to: prvo prskanje – neposredno nakon cvatnje, drugo prskanje – kad se bobice počnu dodirivati, treće prskanje – kada bobice počnu mijenjati boju tj omekšavati, četvrto prskanje - dvadesetak dana prije planirane berbe (Macelj i sur., 2006.). Uz neizostavnu primjenu fungicida potrebno je provoditi i druge preventivne ampelotehničke i agrotehničke zahvate sa svrhom suzbijanja uzročnika sive plijesni. Pravovremeno provedeni zahvati zelene rezidbe u znatnoj mjeri doprinose smanjenom napadu bolesti kao i postizanju bolje kvalitete grožđa i vina (Svitlica i sur., 2015.).

Unatoč širokoj primjeni kemijskih sredstava u zaštiti bilja, kao sintetski spojevi, pesticidi su različitog kemijskog sastava, trajnosti ostataka i toksikoloških osobina te su potencijalni zagađivači životne sredine. Međuprodukti degradacije često su perzistentniji od polaznog spoja, zadržavaju se duže vrijeme u zemljištu ili vodi (podzemne vode), što može ostaviti posljedice i za biljke u budućem plodoredu (Đorđević, 2008.).

Fungicidi djeluju fungicidno (ubijanjem uzročnika bolesti), ili fungistatično (onemogućuju pseudogljivama i gljivama razvoj i/ili rast), dok neki fungicidi imaju i određeni baktericidni učinak (Ćosić i Vrandečić, 2014.).

Kombiniranjem 74 aktivne tvari u Upisnik sredstava za zaštitu bilja nalazi su ukupno 254 fungicida, 39 različitih proizvođača SZB. Od ukupno upisanih sredstava za zaštitu bilja 35 % su fungicidi (Matković, 2016.).

Za dobru učinkovitost fungicida važno je poštivati koncentraciju, dozu po hektaru i količinu vode po hektaru. Neophodno je znati pravo vrijeme primjene, miješanje preparata i redoslijed miješanja, dužinu djelovanja, temperature za djelovanje i ispiranje. Uz sve navedeno, od iznimne je važnosti voditi računa o mehanizmu djelovanja fungicida i izmjeni fungicida s različitim mehanizmima djelovanja kako bismo usporili pojavu rezistentnosti (Matković, 2016.).

Zaštita protiv sive plijesni održava se prije svega preventivnim tretiranjem. Obično se provodi nekoliko razina zaštite za vinovu lozu kroz godinu. Prvi nivo je nakon cvatnje gdje se koriste sredstva na bazi folpeta ili boskalida, koja se onda uračunavaju u preventivu. Drugi nivo je pred zatvaranje grozda, kada se koriste specijalizirana sredstva tj. botriticidi. Treća razina zaštite je kod šare s istim sredstvima, a kod kasnijih sorata je moguće i dodatno tretiranje ovisno o pritisku bolesti i vremenskim uvjetima. Za drugo i treće prskanje se u

novije vrijeme koriste sredstva na osnovi pirimetanila, fludioksonila, ciprodinila, boskalida te fenheksamida. Starija sredstva na bazi dikarboksimida se napuštaju, posebice zbog problema s rezistentnosti na sivu plijesan. Pirimetanil te ciprodinil i fludioksonil djeluje sistemično, dakle imaju i kurativne mogućnosti, dok je fenheksamid dobro preventivno sredstvo a boskalid lokal sistemik (Prvi hrvatski vinogradarski portal).

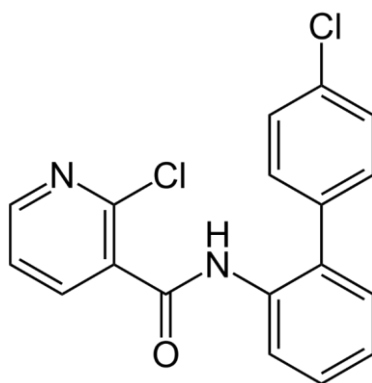
Najveći broj upisanih fungicida, njih 61 %, sadrži samo jednu aktivnu tvar, na drugom mjestu po brojnosti su fungicidi koji sadrže dvije, a na trećem fungicidi koji sadrže tri aktivne tvari.

Najbrojniju skupinu čine fungicidi koji u sebi sadrže bakar (njih 13 %), zatim slijede fungicidi koji u sebi sadrže aktivnu tvar mankozeb (8 %) te fungicidi koji u sebi sadrže folpet (7 %) ili sumpor (7 %). Upisani fungicidi formulirani su u obliku 19 različitih formulacija, pri čemu je 49 % u krutom obliku a 51 % fungicida u tekućem obliku.

Najveći broj fungicida, čak 50% njih, dolazi u obliku koncentrata za suspenziju (SC) ili močivog prašiva (WP). Fungicidi iz Upisnika registrirani su za primjenu na više od 100 različitih kultura, suzbijanju više od 100 različitih patogena, odnosno za više od 2 000 različitih namjena. Promatrajući spektar djelovanja fungicida, najviše ih je registrirano za suzbijanje plamenjače/peronospore (43 %) i pepelnice (36 %). Neki od fungicida registrirani su za primjenu u samo jednoj kulturi, dok se drugi primjenjuju i u više od 10 poljoprivrednih kultura. Najveći broj fungicida registriran je za primjenu na vinovoj lozi (57 %), na jabuci (33 %), pšenici i krumpiru (27 %) te rajčici (26 %). Najmanji broj fungicida upotrebljava se za primjenu u nekim povrtnim kulturama kao što su kelj, blitva, cikla, korabica i dr. (www.zastitabilja.info).

Boscalid je relativno novi fungicid širokog spektra djelovanja. Biološki je aktivan protiv različitih gljivica ali prije svega inhibira klijanje spora (Veloukas i sur., 2011.).

Svrstava se u sukcinatne inhibitore dehidrogenaze (SDHI), novu klasu fungicida registriranih za kontrolu sive plijesni (Fernandez-Ortuno i sur., 2017.). Razlikuje se od većine fungicida pa načinu i mjestu djelovanja. Kemijski naziv prema IUPAC-u: 2-klor-N-(4'-klorbifenil-2-il)nikotinamid. Stupa na snagu 1.8.2008.



Slika 3. Kemijska formula Boscalida

(Izvor:https://www.wikidata.org/wiki/Q894358#/media/File:Boscalid_Structural_Formula_V.1.svg)

Rezistentnost fitopatogenih gljiva na fungicide jedan je od značajnijih problema u poljoprivredi. S obzirom da će primjena fungicida ostati važan dio programa zaštite u integriranoj poljoprivredi, proučavanje čimbenika koji utječu na pojavu rezistentnosti ima veliki značaj. Brza pojava rezistentnosti najčešće nastaje upotrebom visokotoksičnog perzistentnog fungicida, specifičnog mehanizma djelovanja u suzbijanju patogena visokog infekcijskog potencijala na osjetljivom domaćinu.

Tijekom proteklih godina intenzivna uporaba kemijskih sredstava za zaštitu bilja dovela je do pojave neočekivanih problema od kojih svakako treba izdvojiti poremećaje u biološkoj ravnoteži, opterećenje okoliša ostacima sredstava za zaštitu bilja te pojavu rezistentnosti štetnih organizama na sredstva koja se koriste za njihovo suzbijanje (Baličević i Ravlić, 2013.).

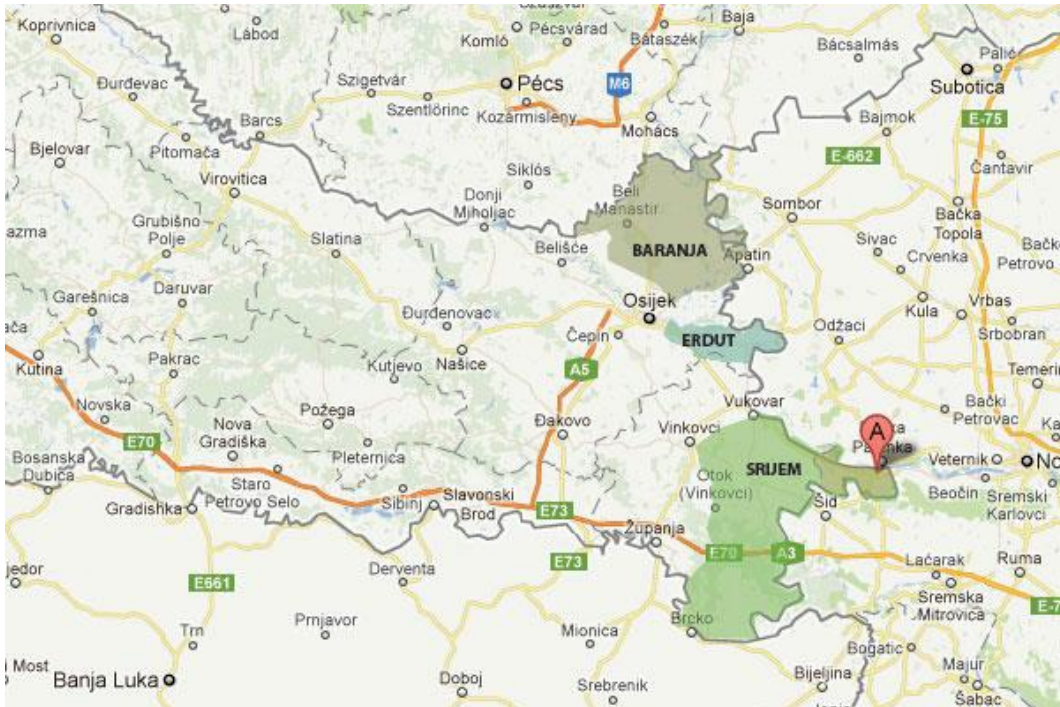
Gotovo svi mikroorganizmi odlikuju se izraženom sposobnošću prilagodbe na vanjske uvjete i brzom reprodukcijom. Sposobnost prilagodbe na kemijske spojeve koji ometaju ili zaustavljaju njihov razvoj dovodi do pojave rezistentnosti ili smanjene osjetljivosti. Posljedica pojave rezistentnosti dovodi do smanjene učinkovitosti sredstava za zaštitu bilja, što može dovesti do šteta u proizvodnji, ali i do gubitaka za proizvođača sredstva koje je izgubilo učinkovitosti. Pad učinkovitosti nekog sredstva može dugoročno otežati zaštitu od biljnih patogena na nekom području zbog nepostojanja učinkovitog sredstva.

U Hrvatskoj, na nacionalnoj razini ne postoji sustavno praćenje rezistentnosti biljnih patogena na fungicide. Velika je vjerojatnost da u Hrvatskoj ostaju nezabilježeni brojni slučajevi smanjene osjetljivosti uzročnika biljnih bolesti na fungicide. S druge strane, veliki proizvođači sredstava za zaštitu bilja prate rezistentnosti i promjene u osjetljivosti na fungicide unutar populacija najvažnijih biljnih patogena. Takva praćenja provode se u čitavoj Europi, no velik dio prikupljenih podataka također se ne objavljuje. Ipak, problem rezistentnosti biljnih patogena na fungicide u praksi se pojavio nakon izlaska na tržište i masovne uporabe sistemskih fungicida s jednostrukim djelovanjem u metabolizmu gljiva i pseudogljiva (Ivić i Cvjetković, 2017.).

Izlaganjem izolata gljiva ili pseudogljiva različitim koncentracijama određene aktivne tvari te praćenjem njihove reakcije može se točno izračunati koliko je aktivne tvari potrebno da u nekoj mjeri uspori, onemogući ili značajno utječe na životne procese poput rasta micelija, klijanja spora ili izduživanja klične cijevi. Prva takva potvrda rezistentnosti u Hrvatskoj bila je rezistentnost gljive *E. necator*, uzročnika pepelnice vinove loze, na fungicid triadimefon iz skupine inhibitora biosinteze ergosterola (Cvjetković i Isaković, 1992).

2.5. Lokalitet vinograda

Regionalizacija se temelji na zemljišnim, klimatskim i drugim uvjetima o kojima ovisi uzgoj vinove loze. Provodi se radi kontrole podrijetla mošta, vina i drugih proizvoda od grožđa i vina. Vinogradarska se područja u RH dijele na regije, podregije, vinogorja i položaje (Sokolić, 2012.).



Slika 4. Lokacija Podunavskih vinogorja

(Izvor: <http://vinarija-dragun.hr/img/podneblje/0.jpg>)

Podunavlje (slika 3.) je područje koje obuhvaća tri vinogorja, koja iako raznolika, posjeduju nekoliko zajedničkih obilježja. Rijeka Dunav je glavna poveznica ovoga područja. Na ovom području vinogradi se nalaze na blago nagnutim i povišenim platoima. Zbog plodnog tla i velikih parcela koje pružaju mogućnost intenzivne mehanizacije, moguća je kvalitetna, ali jeftina proizvodnja (Krstulović, 2008.).

Područje Erduta okruženo je s tri strane rijekom pa se može promatrati kao poluotok na Dunavu.

Na području Srijema nalaze se neka od najplodnijih tala u Republici Hrvatskoj, kao što su černoziem, rigolano tlo na lesu i eutrično smeđe tlo (Mirošević i sur., 2009.). Klima je povoljna za vinogradarstvo, srednja godišnja temperatura tijekom vegetacije je 18,6 °C, sijanje sunca godišnje iznosi 1988 sati, godišnje padne 686 mm oborina, dok za vrijeme vegetacije padne 371 mm oborina. Prilikom odabira sorti na pojedinom području treba uzeti u obzir preporučene sorte kojima odgovaraju uvjeti klime i tla pojedinog vinogorja (Mirošević i Karlogan-Kontić, 2008.).

Područje Srijema povezuje se prvenstveno s područjem Iloka. Vinogradi se na ovim prostorima najčešće nalaze na obroncima Fruške gore. Početak vinogradarstva na ovom području se veže uz vladavinu rimskoga cara Proba iz trećega stoljeća. U ovom je vinogorju osobito uvažena sorta traminac, a najrasprostranjenija je graševina (Krstulović, 2008.).



Slika 5. Iločki vinogradi

(Izvor: <http://www.formulafilm.hr/portfolio/ilok/>)

2.6. Klimatski uvjeti

Područja umjerenog toplinskog pojasa, gdje se pravilno izmjenjuju godišnja doba, klimatski odgovaraju vinovoj lozi (Mirošević i Kontić, 2008.). Klima je temeljni čimbenik uzgoja vinove loze u nekom kraju, a njeni glavni čimbenici su svjetlost, toplina, oborine i vjetrovi. Klima nam je također važna jer uz nju dolaze određene nepogode koje nam mogu loše utjecati na proizvodnju, kao što su mraz, tuča, magla, jaki vjetrovi, velike hladnoće ili vrućine itd. (Licul i Premužić, 1979.).

Toplina je također jedna od bitnih čimbenika pri uzgoju vinove loze, s obzirom da na nju utječe nadmorska visina, geografska širina, šume, kamena, planina, blizina vode, ekspozicija

i inklinacija. Najpogodnija temperatura za uzgoj vinove loze je minimalna srednja godišnja temperatura zraka koja mora biti 8 °C, no veća kvaliteta se postiže na sjevernim područjima gdje je temperatura 10-12 °C. U južnim dijelovima Europe povoljna godišnja temperatura je 12-15 °C dok je u južnim dijelovima umjerenog pojasa 15-20 °C (Licul i Premužić, 1979.). Vinova loza traži dobro propusna ocjedita tla po mogućnosti ilovaste ili pjeskovite strukture, bogata hranjivim, anorganskim i organskim tvarima.

2.7. Rezistentnost

Rezistentnost predstavlja nasljednu stečenu sposobnost jedinke u populaciji da prežive djelovanje pesticida u koncentraciji u kojoj bi, pod normalnim uslovima, pesticid bio efikasan. Mada rezistentnost često može biti dokazana laboratorijski, to još uvijek ne znači da je efikasnost pesticida u polju smanjena. Za izostanak efikasnosti u praksi zbog promjene osjetljivosti populacije koristi se termin praktična rezistentnost (OEPP/EPPO, 1988). Iako poznate od davnina, infekcije *B. cinerea* na vinovoj lozi počele su negativno utjecati na prinos i kakvoću. Također, sve veće znanje o gnojidbi i zaštiti usjeva dovode do ogromnog povećanja produktivnosti (Claus, 1985. Trend ka sve većoj intenzivnoj proizvodnji grožđa s kasnijom berbom, stvorili su se idealni uvjeti za razvoj *B. cinerea* (Rosslenbroich i Stuebler, 2000.).

Uvođenje specifičnih fungicida prije gotovo 50 godina revolucioniralo je kemijsku zaštitu biljaka, pružajući visoko učinkovite, spojeve niske toksičnosti za suzbijanje gljivičnih bolesti. Međutim, ubrzo je otkriveno da se biljne patogene gljive mogu prilagoditi tretmanima fungicidima mutacijama koje dovode do otpornosti i gubitka učinkovitosti fungicida. Uvođenjem novih klasa fungicida za suzbijanje sive plijesni uvijek je praćeno pojavom otpornosti u poljskim populacijama. Pored otpornosti na ciljno mjesto, *B. cinerea* je razvila i mehanizam otpornosti koji se temelji na transportu lijeka izlučivanja. Prekomjerni programi prskanja rezultirali su odabirom višerezistentnih sojeva u nekoliko zemalja. Brza erozija fungicidne aktivnosti protiv ovih sojeva predstavlja glavni izazov za budućnost fungicida protiv *Botrytis*. Nemoguće je unaprijed znati da li će i kada učestalost rezistentnih sojeva prijeći prag tolerancije, pa je praćenje pojave rezistentnosti za sada, jedini pouzdan način prikupljanja informacija neophodnih za pravilan izbor fungicida (Lorenz, 1994).

Praćenje pojave rezistentnosti podrazumijeva laboratorijsko ispitivanje osjetljivosti patogenog organizma iz prirodnih populacija, pri čemu ni obujam ni dužina ispitivanja nisu strogo definirani (Brent, 1994.).

Ako se ima u vidu da će primjena fungicida vjerovatno ostati važan dio programa integralne zaštite bilja u budućnosti, proučavanje faktora koji utiču na pojavu rezistentnosti ima veliki značaj. Prema Georgopoulos-u (1988), na razvoj rezistentnosti utiču i aktivna materija i patogena vrsta. Brza pojava rezistentnosti najčešće nastaje uporabom visokotoksičnog perzistentnog fungicida specifičnog mehanizma djelovanja u suzbijanju patogena visokog infekcijskog potencijala na osjetljivom domaćinu uzgojenom na velikoj površini. Brent i Hollomon (1998.) smatraju da upravo kombinacija fungicida specifičnog mehanizma djelovanja i *B. cinerea* nosi najveći rizik za razvoj rezistentnosti.

Efikasno upravljanje rezistentnošću podrazumijeva razumijevanje faktora koji se odnose na izvor, razvoj i širenje. Rizik praktične rezistentnosti je rezultat kombinacije faktora koji se odnose na uslove primjene pesticida i naslijeđenih faktora. Naslijeđeni čimbenici ovise o interakciji osobina kemijske supstance i osobina štetnog organizma al na njih se ne može utjecati (Tanović i sur., 2011.).

Praćenje pojave rezistentnosti ima za cilj utvrđivanje pravog uzroka sumnjivih slučajeva praktične rezistentnosti, predviđanje pojave problema i razvoja rezistentnosti. Kako bi se pravilno upravljalo rezistentnošću potreban je adekvatan program te testiranje matematičkih modela za predviđanje rezistentnosti (Brent, 1988, 1995).

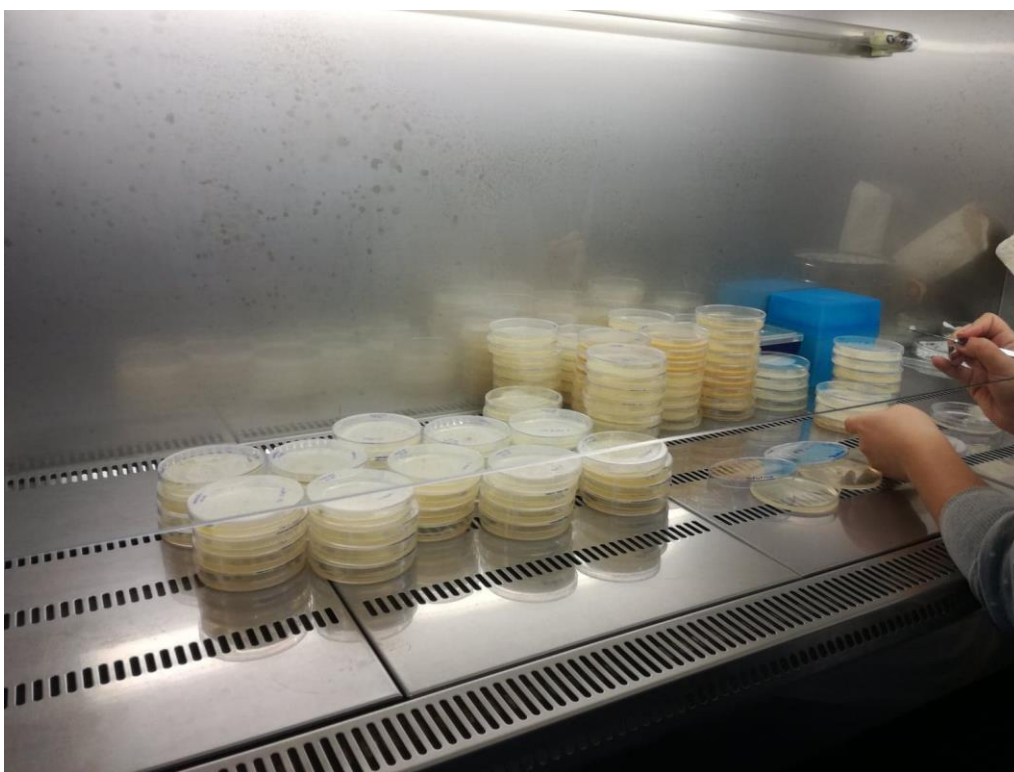
Monitoring rezistentnosti, zajedno sa monitoringom efikasnosti fungicida, predstavlja okosnicu dobre antirezistentne strategije. Međutim, postavlja se pitanje kako prepoznati razvoj rezistentnosti, odnosno da li postoji način da se prati efikasnost pesticida prije nego što rezistentnost postane problem (Brent, 1988.). Russell (2005.) smatra da je za odgovor na ovo pitanje neophodno poznavati reakciju izvorne populacije ciljanog organizma na fungicid, odnosno izvornu osjetljivost.

Stoga, kako bi se izbjegla otpornost, fungicidi s različitim načinom djelovanja treba mijenjati biokemijskim ili kombiniranim, svaku vegetacijsku sezonu. Osim toga, upotreba fungicida sa načinom rada na jednom mjestu je često ograničena na jednu ili dvije aplikacije po sezoni (Brent i Hollomon, 2007.).

3. MATERIJALI I METODE

Cilj ovog *in-vitro* pokusa bio je utvrditi učinak boscalida na porast izolata iz vinogorja Srijem i Erdut. Za vrijeme berbe (fiziološke zrelosti grožđa) prikupljeni su uzorci grozdova zaraženih sivom plijesni sa šest različitih vinograda. Za provedbu pokusa koristili smo Petrijeve zdjelice koje smo prethodno sterilizirali na način da smo ih umotali u novinski papir i stavili u autoklav. Nakon što su se zdjelice ohladile, rasporedili smo u njih prethodno pripremljenu hranjivu podlogu koju smo pripremili prema uputama proizvođača.

Reprezentativni uzorci *Botrytis cinerea* su ispirani destiliranom vodom u trajanju od pola sata i na kratko s vodikovim peroksidom, zatim su naciepljeni na PDA-agar (slika 5.). Za naciepljivanje na podlogu bilo je potrebno prvo uključiti laminar, koji smo dezinficirali s 96%-tnim etilnim alkoholom. Laminarij je uređaj s ventilacijskim sustavom za zaštitu od kontaminacije. Zatim smo laboratorijskom, dezinficiranom iglom naciepili uzorak gljive na središte podloge.



Slika 6. Naciepljivanje kulture na PDA-agar

(Foto: Maja Bulović)

Kultura je uzgajana 24 sata na temperaturi od 22,5-25,5 °C. Istraživanje je provedeno na pet fungicidnih formulacija dobivenih iz koncentrata za suspenziju; Cantus 500 WG (50% boscalida, BASF).

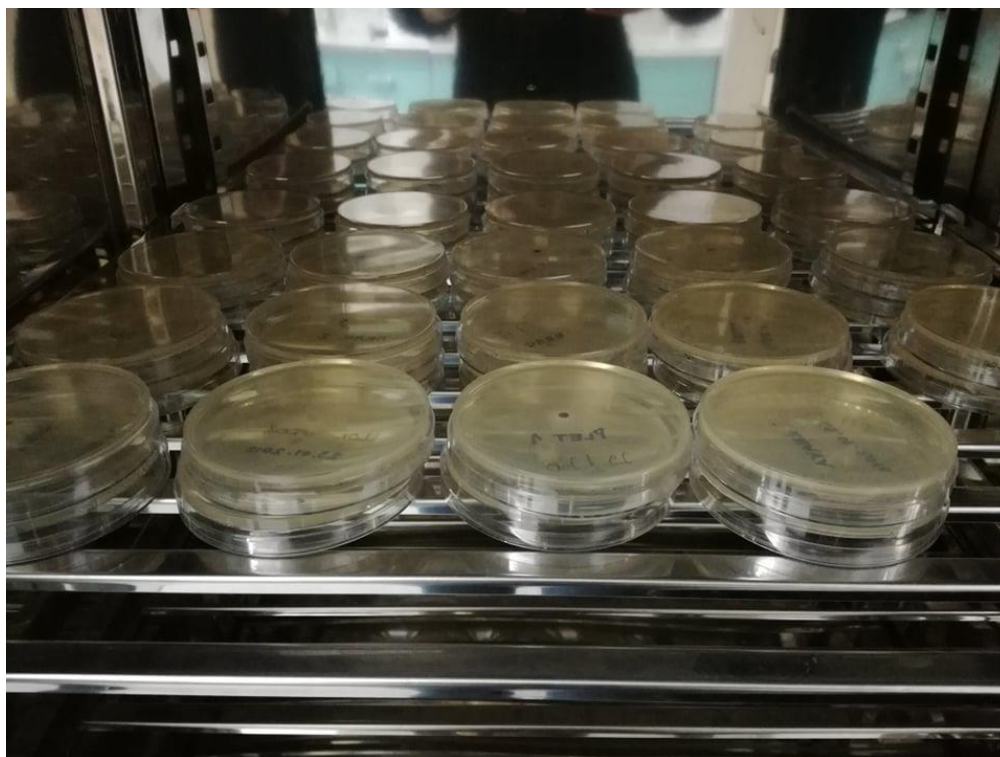
Za potrebe pokusa osjetljivosti izolata *B. cinerea* pripremljen je PDA agar (Biolife) i ohlađen na 60°C u Petrijevim zdjelicama nadopunjen antibiotikom Streptomycin (Sigma-Aldrich) i vodenom suspenzijom Cantusa.

Micelijski uzorci su napravljeni pomoću bušača u promjeru od 5mm u obliku diska.

Metalni bušać prethodno je dezinficiran u alkoholu, a zatim i iznad otvorenog plamena.

Uzorke smo uzimali sa ruba kulture. Pomoću sterilne igle postavili smo uzorak na središte podloge a postavili smo ga tako da je micelij gljive okrenut prema dolje odnosno u dodiru sa podlogom kako bi gljiva brže započela sa rastom.

Za svaku koncentraciju fungicida napravljena su tri ponavljanja. Zatim su postavljeni u klima-komoru 96h na 20°C (slika 7.).



Slika 7. Klima komora
(Foto: Maja Bulović)



Slika 8. Porast micelija nakon 96 sati

(Foto: Maja Bulović)

Nakon 96 sati uzorci su pregledani te je izmjeren utjecaj svake koncentracije na porast micelija sive plijesni (slika 8.). Mjerenje smo odradili ravnalom od središta podloge (mjesto naciepljivanja kulture) prema krajnjem rubu porasta micelija.

Kako bih smo utvrdili morfološku raznolikost mikrosopirali smo uzorke *B. cinerea*.

Pomoću programa LC Micro Olympus mjerili smo promjer konidija. Za svaki uzorak napravili smo 100 mjerenja. Prosječne vrijednosti prikazala sam tablično (tablica br.2).

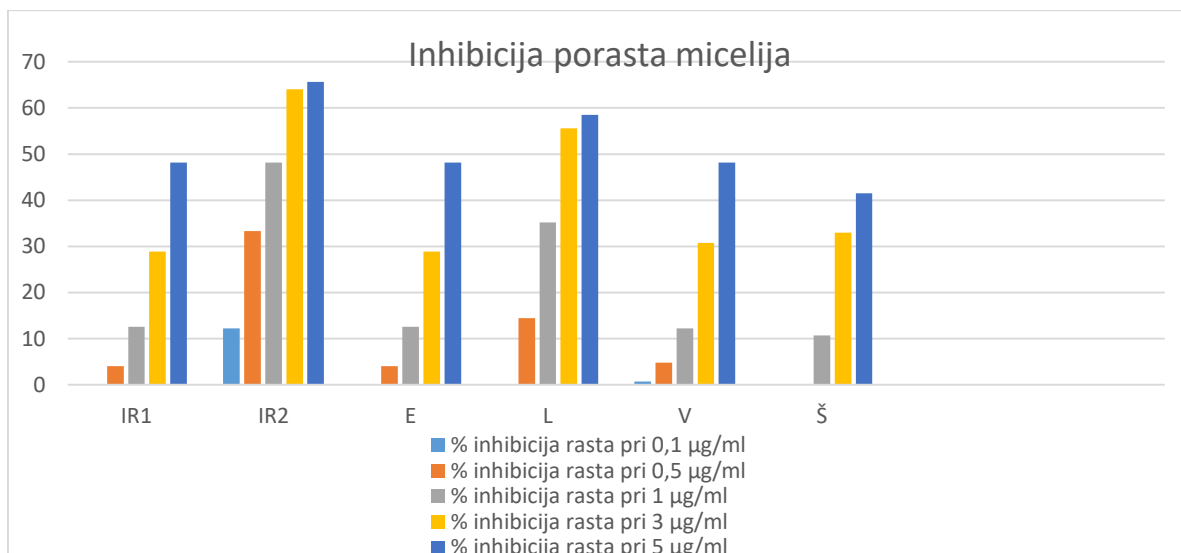
4. REZULTATI

4.1. Test osjetljivosti *B. cinerea* na boskalid

Inhibicija porasta micelija nakon 96 h (slika 6.) u suspenziji sa boskalidom u različitim koncentracijama boskalida prikazana je tablično (tablica 1.) i grafički (graf 1.).

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

Oznaka	Lokacija	% inhibicija rasta pri 0,1 $\mu\text{g/ml}$	% inhibicija rasta pri 0,5 $\mu\text{g/ml}$	% inhibicija rasta pri 1 $\mu\text{g/ml}$	% inhibicija rasta pri 3 $\mu\text{g/ml}$	% inhibicija rasta pri 5 $\mu\text{g/ml}$
IR1	Ilok Radoš 1	0,00	4,07	12,59	28,89	48,15
IR2	Ilok Radoš 2	12,22	33,33	48,15	64,07	65,66
E	Erdut	0,00	4,07	12,59	28,89	48,15
L	Lovas	0,00	14,44	35,19	55,56	58,52
V	Vukovar	0,74	4,81	12,22	30,74	48,15
Š	Šarengrad	0,00	0,00	10,74	32,96	41,48



Grafikon 1. Inhibicija porasta micelija pri različitim koncentracijama boskalida

Promatranjem porasta micelija utvrđene su značajne razlike, kako između različitih izolata, tako i u različitim koncentracijama fungicida.

Boskalid pokazuje jače antifungalno djelovanje pri većoj koncentraciji od 5 µg/ml.

Budući da je inhibitorski učinak manji od 90% za većinu izolata, možemo zaključiti da boskalid nije dovoljan za suzbijanje i kontrolu *B.cinerea*.

4.2. Morfološke varijabilnosti konidija *B. cinerea*

Tablica 2. Mjerenje prosječne vrijednosti konidija

Oznaka	Lokacija	Prosječna vrijednost
IR1	Ilok Radoš 1	37,4452
IR2	Ilok Radoš 2	37,2698
E	Erdut	36,9296
L	Lovas	37,1639
V	Vukovar	38,6726
Š	Šarengrad	41,4901

*Vrijednosti su izražene u µm



Slika 9. Mikroskopiranje konidija
(Foto: Anđela Milatić)

Prosječne dimenzije konidija izolata *B. cinerea* iznosile su od 37,1639-41,4901 μm .

Tablica 3. Bonferroni's Multiple Comparison Test

Bonferroni's Multiple Comparison Test (post hock)	Mean Diff,	t	Significant? P < 0,05?	Summary	95% CI of diff
Ilok Radoš vs Ilok Ilok Radoš vs Ilok Šarengrad	-0,1754	0,2884	No	ns	-2,126 to 1,775
Ilok Radoš vs Ilok Šarengrad	-4,22	6,94	Yes	***	-6,171 to -2,270
Ilok Radoš vs Lovas 1	0,1059	0,1742	No	ns	-1,844 to 2,056
Ilok Radoš vs Lovas 2	0,2406	0,3957	No	ns	-1,710 to 2,191
Ilok Radoš vs Vukovar 1	-1,403	2,307	No	ns	-3,353 to 0,5474
Ilok Radoš vs Erdut 1	0,3402	0,5595	No	ns	-1,610 to 2,290
Ilok Radoš vs Erdut 2	-2,254	3,706	Yes	**	-4,204 to -0,3034
Ilok Radoš vs Erdut 3	-1,734	2,852	No	ns	-3,684 to 0,2162
Ilok vs Ilok Šarengrad	-4,045	6,652	Yes	***	-5,995 to -2,095
Ilok vs Lovas 1	0,2813	0,4626	No	ns	-1,669 to 2,232
Ilok vs Lovas 2	0,416	0,6841	No	ns	-1,534 to 2,366
Ilok vs Vukovar 1	-1,227	2,018	No	ns	-3,178 to 0,7228

Ilok vs Erdut 1	0,5156	0,8479	No	ns	-1,435 to 2,466
Ilok vs Erdut 2	-2,078	3,418	Yes	*	-4,028 to -0,1280
Ilok vs Erdut 3	-1,559	2,563	No	ns	-3,509 to 0,3916
Ilok Šarengrad vs Lovas 1	4,326	7,114	Yes	***	2,376 to 6,276
Ilok Šarengrad vs Lovas 2	4,461	7,336	Yes	***	2,511 to 6,411
Ilok Šarengrad vs Vukovar 1	2,818	4,633	Yes	***	0,8673 to 4,768
Ilok Šarengrad vs Erdut 1	4,561	7,5	Yes	***	2,610 to 6,511
Ilok Šarengrad vs Erdut 2	1,967	3,234	Yes	*	0,01649 to 3,917
Ilok Šarengrad vs Erdut 3	2,486	4,089	Yes	**	0,5361 to 4,437
Lovas 1 vs Lovas 2	0,1347	0,2215	No	ns	-1,816 to 2,085
Lovas 1 vs Vukovar 1	-1,509	2,481	No	ns	-3,459 to 0,4415
Lovas 1 vs Erdut 1	0,2343	0,3853	No	ns	-1,716 to 2,185
Lovas 1 vs Erdut 2	-2,36	3,88	Yes	**	-4,310 to -0,4093
Lovas 1 vs Erdut 3	-1,84	3,026	No	ns	-3,790 to 0,1103
Lovas 2 vs Vukovar 1	-1,643	2,703	No	ns	-3,594 to 0,3068
Lovas 2 vs Erdut 1	0,0996	0,1638	No	ns	-1,851 to 2,050
Lovas 2 vs Erdut 2	-2,494	4,102	Yes	**	-4,444 to -0,5440
Lovas 2 vs Erdut 3	-1,975	3,247	Yes	*	-3,925 to -0,02438
Vukovar 1 vs Erdut 1	1,743	2,866	No	ns	-0,2072 to 3,693
Vukovar 1 vs Erdut 2	-0,8508	1,399	No	ns	-2,801 to 1,099
Vukovar 1 vs Erdut 3	-0,3312	0,5446	No	ns	-2,281 to 1,619
Erdut 1 vs Erdut 2	-2,594	4,265	Yes	***	-4,544 to -0,6436
Erdut 1 vs Erdut 3	-2,074	3,411	Yes	*	-4,024 to -0,1240
Erdut 2 vs Erdut 3	0,5196	0,8545	No	ns	-1,431 to 2,470

*= $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.0001$

100% inhibicije predstavlja osjetljivost dok 0% inhibicije predstavlja moguću otpornost.

Pomoću vrijednosti dobivenih mikroskopiranjem, napravili smo Bonferroni's Multiple Comparison Test (tablica br.3). Prema rezultatima smo utvrdili statistički značajne razlike određenih uzoraka. Uspoređujući uzorke međusobno, uvidjeli smo statistički značajna odstupanja između uzoraka Šarengrad, Ilok, Lovas u odnosu na Erdut. Također su značajna odstupanja kod uzoraka sa istih lokacija odnosno u Erdutskim vinogradima.

5. RASPRAVA

Različitim istraživanjima utvrđena je osjetljivost izolata na fungicide i njihova efikasnost. Mirković (2018.) u doktorskoj dizertaciji utvrdila je umjerenu rezistentnost na boksalid proučavanjem oboljelih izdanaka maline sa simptomima *D. applanata*.

U svrhu ispitivanja osjetljivosti na boskalid, Tomas (2011) i Thomas et al. (2010.), pronašli su 82 vrlo visoko rezistentna izolata i sedam visoko rezistentnih izolata *D. bryoniae*, upotrebom diskriminatorne koncentracije od 3 mg/L. Također, primjenom iste diskriminatorne koncentracije, Stevenson et al. (2012.) utvrdili su prisutnost 11 rezistentnih izolata *D. bryoniae* na boskalid porijeklom sa Floride ($EC_{50} \geq 9,68$ mg/L).

Osjetljivost na boskalide dokazali su i Veloukas i sur. (2011.) u istraživanju *B. cinerea* na izolatima jagode u Grčkoj. Sve izolate koje su koristili u studiji prikupljeni su i testirani 2008., od kojih je 35% bilo umjereno otporno na boskalid. Frekvencije otpora povećavao se tijekom sljedeće godine. Mjerenja osjetljivosti populacije iz 2009. otkrila su da je 47,5% izolata bilo umjereno otporno na boskalid, dok je 1 izolat pokazivao visoku razinu otpornosti. U populaciji iz 2010. godine 50% izolata se pokazalo umjereno otporno a 7,5% vrlo otporno (Veloukas i sur., 2011.).

Uzročnik sive plijesni, gljiva *Botrytis cinerea*, poznata je po brzom razvoju rezistentnosti na fungicide koji su nazvani botriticidi. Problem rezistentnosti *B. cinerea* posebno je uočljiv u zaštiti vinograda jer je siva plijesan jedna od ekonomski značajnih bolesti vinove loze (Kukec, 2013.).

Monitoring rezistentnosti, zajedno sa monitoringom efikasnosti fungicida, predstavlja okosnicu dobre antirezistentne strategije. Međutim, postavlja se pitanje kako prepoznati razvoj rezistentnosti, odnosno da li postoji način da se prati efikasnost pesticida prije nego što rezistentnost postane problem (Brent, 1988).

Izostanak učinkovitosti pesticida zbog promjene osjetljivosti populacije štetnog organizama i razvoja praktične rezistentosti, kao i neophodna uzastopna primjena drugih sredstava da bi se zaštitio usjev, predstavlja gubitak kako za poljoprivrednog proizvođača, tako i za kemijsku kompaniju. Uz to, dovodi do zagađenja životne sredine, što bi se pravovremenom reakcijom moglo izbjeći. (Tanović i sur, 2011.)

Kada se za naciijepljivanje izolata uzimaju pojedinačne konidije, dobijene kolonije se često međusobno razlikuju, što naravno ovisi o uvjetima uzgoja (Grindle, 1979).

Zbog malobrojnih genetičkih proučavanja, visoka somatska varijabilnost najčešće se pripisuje višejezgrenoj i heterokarionskoj prirodi micelija i konidija kao i pojavi aneuploidije (Hansen i Smith, 1932; Büttner i sur., 1994). Prema novijim saznanjima, jedan od izvora variranja mogla bi biti i aktivnost transpozona koji su često prisutni u genomu *B. cinerea* (McDonald, 1993; Levis i sur., 1997; Giraud i sur., 1997, 1999; Martinez i sur., 2003; Ma i Michailides, 2005.).

Lorenz (1983.) nakon dobivenog niza morfološki različitih izolata uzastopnim nacijepeljivanjem monoaskospornog izolata, zaključuje da bi jedino aneuploidija bila zadovoljavajuće objašnjenje s obzirom da su monoaskosporni izolati uvijek homokarionski. Lorbeer (1980) navodi da postoje dva osnovna izvora varijabilnosti vrste *B. cinerea* anastomoza kojom nastaju heterokarionske stanice (bespolna varijabilnost) i rekombinacija gena tijekom mejoze (spolna varijabilnost).

Spolna rekombinacija može biti potencijalno značajan faktor u određivanju dinamike populacije, jer rezultira stvaranjem novih genotipova i na taj način doprinosi genetskoj raznolikosti i evolucijskom potencijalu (Milgroom, 1996.; McDonald i Linde, 2000.).

U istraživanju provedenog u različitim krajevima Indije, izolati *B. cinerea* pokazali su genetsku raznolikost unutar subpopulacija. Na temelju genetskih sličnosti izolati *B. cinerea* pokazali su stupanj grupiranja na temelju lokacije i skupina patogenih tvari. Slične rezultate dokumentirali su Pande i sur. (2010). Korištenjem višefaznih pristupa uočena je izražena raznolikost u uzorkovanim izolatima iz Indije i Nepala. Kad su izolati karakteristični po osjetljivosti na različite fungicide, izolati s različitih geografskih položaja pokazali su različitu osjetljivost (Leroux 2004).

Do danas nisu razvijeni fungicidi na temelju lokacije. Takve studije mogu pridonijeti razvoju ili osmisliti prikladnu mjeru kontrole.

5. ZAKLJUČAK

Analizom uzoraka s prostora Srijema i Erduta ispitana je osjetljivost izolata gljive *B.cinerea* na fungicid boskalid. Autori smatraju da je *B. cinerea* jedna visoko varijabilna vrsta, stoga je ne možemo svrstavati prema lokalitetu i domaćinu. Ovaj štetnik je poznat po brzom razvoju rezistentnosti na fungicide što dovodi u problem današnje vinogradarstvo jer je siva plijesan jedan od ekonomski značajnih bolesti vinove loze.

Rezultati su pokazali da testirano sredstvo nije dovoljno učinkovito za kontrolu bolesti sive plijesni jer je inhibitorni učinak manji od 90%. Boskalid pokazuje jače antifugalno djelovanje pri većoj koncentraciji što može dovesti do intenzivne uporabe te do zagađenja tla kako i gubitka za poljoprivrednog proizvođača. Mikroskopskim promatranjem došli smo do saznanja da postoje morfološke raznolikosti unutar vrste s obzirom na lokalitet. Prosječne dimenzije konidija izolata *B. cinerea* iznosile su od 37,1639-41,4901 μm .

S obzirom da na nacionalnoj razini ne postoji sustavno praćenje rezistentnosti biljnih patogena velika je vjerojatnost da ostaje velik broj nezabilježenih slučajeva smanjene osjetljivosti štetnika na fungicide. Stoga je od velike važnosti temeljito istražiti način i količinu primjene fungicida. Kako bi se rezistentnost svela na minimum trebamo težiti pronalasku novih i ekološki prihvatljivijih metoda zaštite od *B. cinerea*.

6. LITERATURA

1. Backhouse, D. and Willets, H.J. (1984.): A histochemical study of sclerotia of *Botrytis cinerea* and *Botrytis fabae*. Canadian Journal of Microbiology, 30, 171-178.
2. Baličević, R., Ravlić, M. (2013.): Fitofarmacija, Skripta, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek
3. Beever, R.E. and Weeds, P.L (2004.): Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and *Botryotinia*. In: Botrytis: Biology, Pathology and Control (Elad Y., Williamson B. Tudzynski P., Delen N., eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, pp. 29-52.
4. Brent, K. J. (1994.): Monitoring for Fungicide Re-sistance. In: Fungicide Resistance in North America (Delp, C. 1. ed.). The American Phytopathological Society, St. Paul, Minne-sota, USA, pp. 9-11.
5. Brent, K.J. (1988.): Monitoring for Fungicide Resistance. In: Fungicide Resistance in North America. (Delp, C.J., ed.), The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 9-11.
6. Brown, W., Harvey, C. C. (1927.): Studies in the physiology of parasitism. X. On the entrance of parasitic fungi in the host plant. Ann. Bot. 41:643-662.
7. Claus, P. (1985.): Der Schutz der Reben vor SchaKdlingen und Krankheiten. Schriften zur Weingeschichte, 84 S., Wiesbaden.
8. Coley-Smith, J.R.: Sclerotia and other structure in survival. In: The Biology of Botrytis (Coley-Smith J.R., Verhoeff K., Jarvis W.R., eds.), Academic Press, London, UK, 1980, pp. 85-114.
9. Cvjetković, B., Isaković, Lj. (1992). Efikasnost inhibitora ergosterola u suzbijanju pepelnice (*Uncinula necator* (Schw.) Burr.) na vinovoj lozi i njena rezistentnost na IBS fungicide. Poljoprivredna znanstvena smotra, 57, 141-143.
10. Ćosić, J.; Vrandečić, K. (2014.): Fungicidi u zaštiti bilja i rezidue, Priručnik, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku; 1-56.
11. Dorado, M., Bremejo, E., Gonzalez, J.L., Sanchez, A., Luna, N. (2001.): Development influence of *Botrytis cinerea* on grapes. Advances in food sciences, , vol. 23, no4, pp. 153-159.
12. Đorđević, S. (2008.): Primena mikroorganizama u organskoj proizvodnji. Organska poljoprivreda, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 534-539
13. Ivić, D. Cvjetković, B. (2017.): Rezistentnost biljnih patogena na fungicide u Hrvatskoj. Glasnik zaštite bilja. Vol. 17. br. 3. str., 506-509

14. Jarvis, W.R (1977.): *Botryotinia* and *Botrytis* species – taxonomy, physiology and pathogenicity. Monograph no. 15, Canada Department of Agriculture, Research Branch, Ottawa, Canada.
15. Jarvis, W.R. (1980.): Epidemiology. In: The biology of *Botrytis* (Coley-Smith J.R., Verhoeff K., Jarvis W.R., eds.), Academic Press, London, UK, pp. 219-250.
16. Jurković, D., Čosić, J., Vrandečić, K. (2010): Bolesti cvijeća i ukrasnog bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
17. Georgopoulos, S.G.: Genetics and Population Dynamics. In: Fungicide Resistance in North America (Delp C.J., ed.), The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 1988, pp. 12-13
18. Giraud T, Fortini D, Levis C, Leroux P, Brygoo Y. (1997.): RFLP markers show genetic recombination in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) and transposable elements reveal two sympatric species. *Mol Biol Evol*; 14(11):1177–85.
19. Grindle, M.(1979.): Phenotypic differences between natural and induced variants of *Botrytis cinerea*. *Journal of General Microbiology*, 111: 109-120
20. Groves, J.W. and Drayton, F.L.(1939.): The perfect stage of *Botrytis cinerea*. *Mycologia*, 31: 485-489.
21. Hansen, H.N. and Smith, R.E. (1932.): The mechanism of variation in imperfect fungi: *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 22: 953-964
22. Kišpatić, J., Maceljčki, M. (1991.): Zaštita vinove loze od bolesti, štetnika i korova, Nakladni zavod znanje, Zagreb.
23. Krstulović, A.(2008.): Vina Hrvatske. Profil International, Zagreb.
24. Kukec, Ana (2013.): Višestruka rezistentnost gljive *Botrytis cinerea* na botryticide, diplomski rad, Agronomski fakultet, Zagreb
25. Kumari S. Tayal P., Sharma E., Kapoor R. (2013.): Analyses of genetic and pathogenic variability among *Botrytis cinerea* isolates: Applied Mycology Laboratory, Department of Botany, University of Delhi, Delhi 110 007, India
26. Leroux P, Elad Y, Williamson B, Tudzynski P, Delen N. (2004.): Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. New Zealand: Kluwer Academic Publishers; p. 95–217
27. Licul R.; Premužić D. (1979.): Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo, Nakladni zavod Znanje, Zagreb.
28. Lorbeer, J.W (1980.): Variation in *Botrytis* and *Botryotinia*. In: The Biology of *Botrytis* (Coley-Smith J.R., Verhoeff K., Jarvis W.R., eds.), Academic Press, London, UK.

29. Lorenz, G.(1994.): Dicarboximide Fungicides: History of Resistance Development and Monitoring Methods. In: Fungicide Resis-tance in North America (Delp. C. J. ed.). The American Phytopathological Society, St. Paul. Minnesota, USA, pp. 45-51.
30. Lorenz, D.H(1983.) Untersuchungen zur morphologish-en Variabilitat und zur Pathogenitat von *Botrytis cinerea* Pers. und *Botryotinia fuckeliana* Whedz. Zeitschriftfuer Pflanzenkrankheiten Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, 90: 622-633
31. Maceljiski, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Barić, B. (2006.): Štetočinje vinove loze. Zrinski d.d., Čakovec.
32. Maletić E.; Karoglan Kontić J.; Pejić I. (2008.): Vinova loza, Školska knjiga, Zagreb.
33. Marić-Ivandija, B., Ivandija, T. (2013.): Najvažnije bolesti vinove loze. *Glasnik zaštite bilja*. Vol. 36. br. 1. str., 98-103.
34. Matković, K. (2016): Analiza primjene fungicida i insekticida u Osječko-baranjskoj županiji. Specijalistički rad, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2016.
35. McDonald BA, Linde C. (2000.): Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu Rev Phytooathop* 40:349-79.
36. Milgroom MG. (1996.): Recombination and the multilocus structure of fungal populations. *Ann Rev Phytopathol*;34:457–77.
37. Mirošević Nikola, Karoglan Kontić Jasminka (2008.): Vinogradarstvo, udžbenik, Nakladni zavod Globus, Zagreb
38. Mirošević, N. (1996.): Vinogradarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb. 7..
39. OEPP/EPPO (1988.): Fungicide resistance: definitions and use of terms, *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 18: 569-574.
40. Pande, S., Sharma, M., Kishore, GK., Shivram, L., Mangala, U.N. (2010.): Characterization of *Botrytis cinerea* isolates from chickpea: DNA polymorphisms, cultural, morphological and virulence characteristics. *Afr J Biotechnol*; 9(46):7961–7.
41. Ranko Licul, Dubravka Premužić: Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo, Nakladni zavod Znanje, Zagreb, 1972.
42. Rosslenbroich H.J., Stuebler D. (2000.): *Botrytis cinerea* history of chemical control and novel fungicides for its management: Crop Protection Business Group, Agricultural Centre Monheim, D-51368 Leverkusen, Germany
43. Russell, P.E.(2005.): Centenary review - A century of fungicide evolution. *Journal of Agricultural Science*, 143: 11-25
44. Nicot, P. C., Mermier, M., Vaissiere, B. E., Lagier, J. (1996.): Diferential spore production by *Botrytis cinerea* on agar medium and plant tissue under near-ultraviolet light-absorbing polyethylene film. *Plant Disease*. 80(5): 555-558.

45. Salinas, J., Glandorf, D.C.M., Picavet, F.D. and Verhoeff, K (1989.): Effect of temperature, relative humidity and age of conidia on the incidence of spotting on gerbera flowers caused by *Botrytis cinerea*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 95: 51-64
46. Singh, B. (1940.): The Effect of growth substances on spore germination, growth and sporulation of certain fungi. Doctoral Thesis, University of London.
47. Sokolić, Ivan: Kratka priča o hrvatskom vinogradarstvu i vinarstvu. *Acta turistica nova*, God.6, 2012.
48. Svitlica, B., Mesić, J., Del Vecchio, 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 . Croatia (526–52)*.
49. 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.
50. Thomas, A. (2011). Sensitivity of *Didymella bryoniae* to DMI and SDHI fungicides and the relationship between fungicide sensitivity and control of gummy stem blight in watermelon. University of Georgia.
51. Thomas, A., Langston, D. B., Jr., & Stevenson, K. L. (2010). Sensitivity of *Didymella bryoniae* to DMI and carboxamide fungicides. *Phytopathology*, 100, S126.
52. Toplovec-Pintarić, S. (2000): Urođena i stečena otpornost *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. na botriticide u vinogradima i su odnos rezistentnih patotipova. Doktorska disertacija. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
53. Trajčevski, T. (2008.): Rezultati ispitivanja djelotvornosti fungicida sphinx extra wdg za zaštitu vinove loze od napada plasmopare viticole – uzročnika plemenjače. *Glasnik zaštite bilja*.
54. Veloukas, T., Leroch, M., Hahn, M., and Karaoglanidis, G. S. (2011.): Detection and molecular characterization of boscalid-resistant *Botrytis cinerea* isolates from strawberry. *Plant Dis*. 95:1302-1307.
55. Yunis, H, Elad, Y. (1989.): Survival of dicarboximide-resistant strains of *Botrytis cinerea* in plant debris during summer in Israel. *Phytoparasitica*, Volume 17, Issue 1, pp 13-21.
56. Zoecklein, B., Wolf, T., Pelanne, L., Miller, M.K., Birkenmaier, S. (2008.): Effect of vertical shoot-positioned, Smart-Dyson, and Geneva double-curtain training systems on Viognier grape and wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture*. 59(1):11-21.
57. Webb, R. W. (1919.): Studies in the physiology of the fungi. Germination of the spores of certain fungi in relation to hydrogen ion concentration. *Ann. Mo. Bot. Gard*. 6:201- 222

INTERNET STRANICE:

1. <http://www.vinogradarstvo.com/preporuke-i-aktualni-savjeti/aktualni-savjeti-vinogradarstvo/preventivna-zastita-vinograda>
(preuzeto: 21.6.2019)
2. https://www.researchgate.net/publication/331466129_Prilog_ispitivanju_ucinkovito_sti_novijih_fungicida_za_zastitu_vinove_loze_13
(preuzeto: 23.6.2019)
3. <https://www.zastitabilja.com.hr/>
(preuzeto: 23.6.2019)
4. <http://vinogradarstvo.hr/vinogradarstvo/bolesti-vinove-loze/471-siva-plijesan>
(preuzeto: 27.6.2019)
5. http://pinova.hr/hr_HR/
(preuzeto: 29.7.2019)

7. SAŽETAK

Vinova loza kao gospodarski važna kultura, danas je izložena mnogim čimbenicima koji utječu na njezinu produktivnost. Podložna je bolestima koje narušavaju kvalitetu uroda te smanjuju prinos, jedna od njih je *Botrytis cinerea* uzročnik sive plijesani. Gljiva parazitira skoro sve dijelove biljke naročito u uvjetima povećane vlage. Danas postoji velika zabrinutost zbog prekomjernog kemijskog suzbijanja jer je *Botrytis cinerea* poznata po brzom razvoju rezistentnosti. Posljedica pojave rezistentnosti dovodi do pada učinkovitosti sredstava za zaštitu bilja, što može dugoročno otežati zaštitu od biljnih bolesti na nekom području zbog nepostojanja učinkovitog sredstva.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učinak Boskalida na izolate *B.cinerea* sa područja Erduta i Srijema. Boskalid je relativno novi fungicid koji inhibira klijanje spora. Promatranjem porasta micelija utvrđene su značajne razlike, kako između različitih izolata, tako i u različitim koncentracijama fungicida. Rezultati su pokazali jače antifugalno djelovanje pri većoj koncentraciji što može dovesti do dodatnog zagađenja okoliša. Stoga su nova saznanja ključna za uspostavu nove održive strategije zaštite vinograda koje omogućuju učinkovitiju kontrolu i smanjenu uporabu fungicida.

Ključne riječi: vinova loza, *Botrytis cinerea*, rezistentnost

8. SUMMARY

Grapevine as an economically important crop today has revealed many factors that affect its productivity. It is susceptible to diseases that impair the quality of the crop and reduce yields, one of which is *Botrytis cinerea* causative agent of gray mold. The fungus parasites almost all parts of the plant especially in increasing humidity. Today, there is great concern about excessive chemical suppression because *Botrytis cinerea* is known for its rapid development of resistance. The last occurrence of resistance leads to a decline in plant protection products, which can make it difficult in the long run to protect against plant diseases in an area due to the lack of safeguards.

The aim of this study was to determine the effect of Boskalid on the isolation of *B. cinerea* from the Erdut and Srijem areas. Boskalide is a relatively new fungicide that inhibits spore germination. By observing mycelial growth, significant differences were found, both between different isolates and at different concentrations of fungicides. The results showed stronger antifungal activity at higher concentration which can lead to additional environmental pollution. Therefore, new insights are key to preserving a new sustainable vineyard conservation strategy that provides useful control and reduced use of fungicides.

Key words: grapevine, *Botrytis cinerea*, resistance

9. POPIS SLIKA:

Slika 1. Slika 1. Konidije sa konidioforama

Izvor: <http://www.pisvojvodina.com/RegionNS/Lists/Photos/2016/VINOVA%20LOZA/10.08.2016.%20Konidije%20sa%20konidioforama%20sive%20trule%C5%BEi%20gro%C5%BE%C4%91a.jpg> (preuzeto: 16.5. 2019.)

Slika 2. Simptomi sive plijesni

Izvor: http://pinova.hr/hr_HR/baza-znanja/vinogradarstvo/zastita-vinograda/bolesti-vinove-loze/siva-plijesan-vinove-loze (preuzeto: 29.7.2019.)

Slika 3. Kemijska formula Boscalida

Izvor: https://www.wikidata.org/wiki/Q894358#/media/File:Boscalid_Structural_Formula_V.1.svg (preuzeto: 17.7.2019)

Slika 4. Lokacija Podunavskih vinogorja

Izvor: <http://vinarija-dragun.hr/img/podneblje/0.jpg> (preuzeto: 20.8.2019)

Slika 5. Iločki vinogradi

Izvor: <http://www.formulafilm.hr/portfolio/ilok/> (preuzeto: 22.8.2019.)

Slika 6. Nacijepljivanje kulture na PDA-agar

Izvor: Maja Bulović

Slika 7. Klima komora

Izvor: Maja Bulović

Slika 8. Porast micelija nakon 96 sati

Izvor: Maja Bulović

Slika 9. Mikroskopiranje konidija

Izvor: Anđela Milatić

10. POPIS TABLICA:

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

Tablica 2. Mjerenje prosječne vrijednosti konidija

Tablica 3. Bonferroni's Multiple Comparison Test

11. POPIS GRAFIKONA:

Grafikon 1. Inhibicija porasta micelija pri različitim koncentracijama boskalida

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Diplomski rad

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Sveučilišni diplomski studij, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE FITOPATOGENE GLJIVE *BOTRYTIS CINEREA* I UČINAK BOSKALIDA NA PORAST IZOLATA IZ VINOGORJA SRIJEM I ERDUT

Maja Bulović

Sažetak:

Vinova loza kao gospodarski važna kultura, danas je izložena mnogim čimbenicima koji utječu na njezinu produktivnost. Podložna je bolestima koje narušavaju kvalitetu uroda te smanjuju prinos, jedna od njih je *Botrytis cinerea* uzročnik sive plijesani. Gljiva parazitira skoro sve dijelove biljke naročito u uvjetima povećane vlage. Danas postoji velika zabrinutost zbog prekomjernog kemijskog suzbijanja jer je *Botrytis cinerea* poznata po brzom razvoju rezistentnosti. Posljedica pojave rezistentnosti dovodi do pada učinkovitosti sredstava za zaštitu bilja, što može dugoročno otežati zaštitu od biljnih bolesti na nekom području zbog nepostojanja učinkovitog sredstva. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učinak Boskalida na izolate *B.cinerea* sa područja Erduta i Srijema. Boskalid je relativno novi fungicid koji inhibira klijanje spora. Promatranjem porasta micelija utvrđene su značajne razlike, kako između različitih izolata, tako i u različitim koncentracijama fungicida. Rezultati su pokazali jače antifungalno djelovanje pri većoj koncentraciji što može dovesti do dodatnog zagađenja okoliša. Stoga su nova saznanja ključna za uspostavu nove održive strategije zaštite vinograda koje omogućuju učinkovitiju kontrolu i smanjenu uporabu fungicida.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: izv.prof.dr.sc. Jelena Ilić

Broj stranica: 33

Broj grafikona i slika: 10

Broj tablica: 2

Broj literaturnih navoda: 62

Broj priloga:

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: vinova loza, *Botrytis cinerea*, rezistentnost

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, predsjednik
2. izv.prof. dr. sc. Jelena Ilić, mentor
3. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Graduate thesis

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

University Graduate Studies, course Viticulture and vine production

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PHYTOPATHOGEN FUNGI *BOTRYTIS CINEREA* AND THE EFFECT OF BOSCALIDE ON THE VEGETABLES OF VINEYARD ISOLATES FROM SRIM AND ERDUT

Abstract:

Grapevine, as an economically important crop, today is exposed to many diseases that affects on the productivity. It can easily become infected and that affects on the quality of the crop and reduces yield, one of the diseases is the botrytis cinerea, causative agent of gray mold. The fungus parasites almost all parts of the plant, especially in conditions of increased moisture. Today, there is big concern about excessive chemical suppression because *Botrytis cinerea* is known for its rapid development of resistance. The consequence of resistance leads to reduction in the effectiveness of plant protection products, which can make it difficult in the long run to protect plants against diseases in some areas because of the lack of effective agent. The aim of this study was to determine the effect of Boskalid on *B.cinerea* isolates from the Erdut and Srijem areas. Boxalide is a relatively new fungicide that inhibits spore germination. By observing mycelial growth, significant differences were found, both between different isolates and at different concentrations of fungicides. The results showed stronger antifungal activity at higher concentrations which can lead to additional environmental pollution. Consequently, new knowledge is the key to establishing a new sustainable vineyard conservation strategy that allows for more effective control and reduced use of fungicides.

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: izv.prof.dr.sc. Jelena Ilić

Number of pages: 33

Number of figures and pictures:10

Number of tables: 2

Number of references: 62

Number of appendices:

Original in: Croatian

Key words: grapevine, *Botrytis cinerea*, resistance

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, president
2. izv.prof. dr. sc. Jelena Ilić, supervisor
3. izv. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1