

Primjena benefitne gljive *Trichoderma* spp. na patogena *Botrytis cinerea* u vinovoj lozi

Eljuga, Zvonimira

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:318612>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-19**



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

Zvonimira Eljuga

Diplomski sveučilišni studij VVV

Smjer: Vinogradarstvo i vinarstvo

**PRIMJENA BENEFITNE GLJIVE *TRICHODERMA* SPP. NA PATOGENA *BOTRYTIS*
CINEREA U VINOVOJ LOZI**

Diplomski rad

Osijek, 2024.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Zvonimira Eljuga

Diplomski sveučilišni studij VVV

Smjer: Vinogradarstvo i vinarstvo

**PRIMJENA BENEFITNE GLJIVE *TRICHODERMA* SPP. NA PATOGENA *BOTRYTIS*
CINEREA U VINOVOJ LOZI**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. doc.dr.sc. Jurica Jović, predsjednik povjerenstva
2. prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor
3. doc.dr.sc. Toni Kujundžić, član

Osijek, 2024.

SADRŽAJ

1.UVOD.....	1
2.PREGLED LITERATURE	2
2.1. Vinova loza.....	2
2.2. Bolesti vinove loze.....	3
2.2.1 Plamenjača vinove loze (<i>Plasmopara viticola</i>).....	4
2.2.2 Pepelnica vinove loze (<i>Erysiphe necator</i>).....	6
2.2.3 Crna pjegavost rozgve (<i>Phomopsis viticola</i>).....	7
2.2.4. Crvenilo lišća vinove loze (<i>Pseudopeziza tracheiphila</i>).....	7
2.2.5. Siva plijesan (<i>Botrytis cinerea</i>)	8
2.3. Mjere zaštite protiv patogene gljive <i>Botrytis cinerea</i>	14
2.4. Biološka zaštita vinove loze	15
2.5. Benefitna gljiva <i>Trichoderma</i> spp. u zaštiti vinove loze od <i>Botrytis</i>	18
3. ZAKLJUČAK.....	24
4.POPIS LITERATURE.....	25
5.SAŽETAK.....	30
6.SUMMARY	31
7. POPIS SLIKA.....	32
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	34
BASIC DOCUMENTATION CARD	35

1.UVOD

Vinova loza je jedna od najstarijih uzgajanih biljnih kultura, za njezin uzgoj potrebno je osigurati odgovarajuće tehničke i ekološke uvjete. Plodovi vinove loze koriste se za prehranu ljudi, bilo u svježem ili prerađenom stanju.(Maletić i sur., 2008.).

Svatko tko se želi baviti uzgojem ove biljne kulture najprije treba izvršiti analizu tla, prikupiti podatke o meteorološkim uvjetima regije, te odabrati najpovoljnije sorte s odgovarajućim podlogama. Vinova loza izložena je bolestima, insektima, malim i velikim životinjama. Najproblematičnije bolesti vinove loze su gljivična oboljenja, zbog kojih može propasti cijeli urod. *Botrytis cinerea* (siva plijesan) 1874. godine donesena je iz Amerike u Europu, prvi puta se pojavljuje u engleskim vinogradima. Siva plijesan, bolest koja se pojavljuje najčešće pred berbu, izaziva trulež pojedinih bobica, ali i cijelih grozdova. Gljiva također može uzrokovati palež cvjetova i trulež stabljike. Javlja se u uvjetima povišene vlažnosti zraka. Bolest se može javiti i prije berbe, ali najopasnija je u fazi dozrijevanja grožđa. Simptomi bolesti pojavljuju se na bobicama u obliku smeđih pjega, koje se povećavaju i zahvaćaju cijelu površinu bobice. Za suhog vremena bobice se smežuraju i osuše, te otpadaju, no ako je vrijeme vlažno i sa puno oborina, na bobicama se pojavljuje pepeljasto siva navlaka, koja predstavlja konidiofore s konidijama koje šire zarazu s bobice na bobicu. (Topolovec Pintarić i Cvjetković, 2000.)

U Hrvatskoj zaštita od sive plijesni se još uvijek temelji na kemijskoj zaštiti primjenom fungicida - botricida. Kemijska sredstva djeluju na jedan proces u metabolizmu gljive, što povećava rizik od rezistentnosti. Mjere biološke kontrole podrazumijeva korištenje mikroorganizama koji smanjuju populaciju patogena i štetnika, te na taj način štite biljku i kontroliraju razvoj bolesti. Uporaba korisnih mikroorganizama ekološki je prihvatljiva, te je bezopasna za ljude i korisne organizme, za razliku od kemijskih sredstava. Među poznatije vrste koje se koriste u svrhu suzbijanja fitopatogenih gljiva ubrajamo filamentozne aksomicetne gljive roda *Trichoderma*. Uporabom antagonističkih gljiva i bakterija u biološkoj kontroli bolesti možemo zamijeniti kemijske pesticide, ili smanjiti njihovu primjenu (Oštrkapa – Međurečan 2021.).

2.PREGLED LITERATURE

2.1. Vinova loza

Vinova loza (*Vitis vinefera* L.) je biljka penjačica, pripada porodici *Vitaceae*. Vrlo stara i zasigurno najviše istražena kultura koja se uzgaja u svijetu. Vinogradarstvo i proizvodnja vina stoljećima je u Hrvatskoj značajna grana ne samo poljoprivrede, nego i gospodarstva u cjelini. Vinova loza (*Vitis vinifera* L.) jedna je od najstarijih kulturnih biljaka čiji živi predak još uvijek egzistira (Maletić i sur., 2008.).

Svaku pojedinu biljku loze zovemo trs, čokot ili panj. Trs ima podzemne i nadzemne organe, a svaki od tih organa ima zasebnu zadaću. Za uspješan rast, razvoj i prinos potrebni su povoljni uvjeti klime i tla. Vinogradarska proizvodnja ovisi o klimi nekog područja, odnosno o toplini, svjetlu oborinama i vjetru. Loza uspijeva na različitim tipovima tla, no matični supstrat i na njemu razvijeni određeni tip tla mogu utjecati na kakvoću grožđa. Na uzgoj vinove loze također utječe nadmorska visina, geografska širina, reljef, ekspozicija, blizina vode i šuma. Poznavajući sve čimbenike koji utječu na izbor položaja za uzgoj vinove loze možemo odrediti i smjer vinogradarske proizvodnje. Vinogradarstvo je u mnogim zemljama svijeta važna grana poljoprivredne proizvodnje, te ima značajni utjecaj na gospodarstvo. (Maletić i sur., 2008.).

Duga povijest uzgoja, široka geografska rasprostranjenost, gospodarska i kulturna važnost prateće su karakteristike uzgoja vinove loze. Osim ekonomskog značaja za mnoge zemlje vinova loza služila je i kao motiv slikarima, kiparima, pjesnicima te je bila tema raspravama, radovima i knjigama. Stoga, za čovjeka, vinova loza znači više od biljne vrste a njezini plodovi više od hrane (Maletić i sur. 2008.).



Slika 1. Prikaz vinove loze

Izvor: <https://www.agromedia.rs/wp-content/uploads/2022/11/vinograd.jpg>

2.2. Bolesti vinove loze

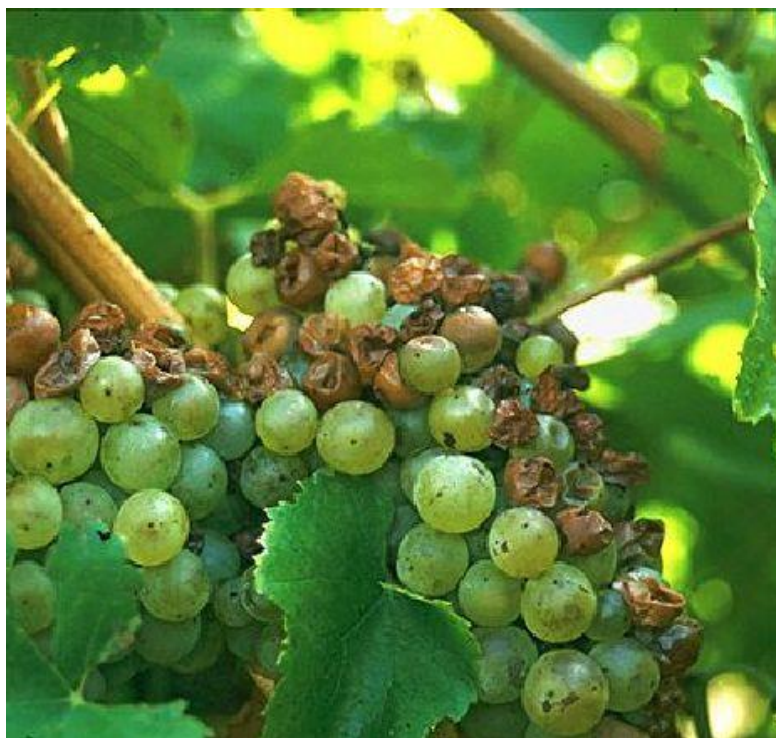
Najznačajnije bolesti vinove loze su plamenjača, siva plijesan vinove loze, crna pjegavost, crvenilo lišća vinove loze i pepelnica. Pojava bolesti može uništiti dio prinosa, a nekada te štete mogu biti i totalne. Kako bismo spriječili štetu moramo prepoznati početnu fazu razvoja bolesti, uvjete koje pogoduju razvoju bolesti i fazu u kojoj se bolest može pojaviti. Bolest vinove loze uzrokuju čimbenici koji mogu biti neparazitski i parazitski. Neparazitski poremećaji nastaju zbog visokih ili niskih temperatura, viška ili nedostatka hraniva, fitotoksičnosti sredstava za zaštitu bilja, viška ili manjka svjetla, neodgovarajuće pH vrijednosti, toksičnosti nekih elemenata u tlu i dr. Neparazitske bolesti nisu infektivne, većinom su uzrokovane nepovoljnim uvjetima što doprinosi osjetljivosti biljaka prema parazitskim uzročnicima bolesti. Parazitske bolesti na kulturama uzrokuju pseudogljive, gljive, fitoplazme, bakterije i virusi. (Marić-Ivandija i Ivandija, 2013.).

Patogenost gljiva je sposobnost uzrokovanja bolesti i oštećenja mikroorganizama, one ulaze u makroorganizam gdje se razmnožavaju, svladavaju ga, oštećuju tkivo biljke i izbjegavaju

njezine obrambene mehanizme. Gljivične bolesti sudjeluju u sposobnosti adherencija na čovjeka, promjene oblika gljive, kapsula, lučenje toksina i enzima gljiva.

2.2.1 Plamenjača vinove loze (*Plasmopara viticola*)

Plamenjača ili peronospora donesena je iz Amerike u Europu, prvo se pojavila u Francuskoj, a zatim se proširila na druge dijelove Europe. Prvi simptomi bolesti se najčešće pojavljuju na donjim listovima. Na listovima nastaju uljane mrlje koje imaju promjer od 1- 3 centimetara. Nakon inkubacije na donjoj strani lista na mjestu uljanih mrlja nastaju bijele prevlake. Nakon nekog vremena zaražene zone postanu crvenkasto – smeđe, a tkivo se suši i odumire. Gljiva je obligatni parazit i sporogeni organi se pojavljuju na rubu pjega. Na listu se na nekoliko mjesta pojavljuju pjege, a kada je zahvaćen veći dio plojke list se osuši i otpadne. Zaraženi listovi su izvor zaraze za ostale zelene organe (Ciglar, 1998.). Cvjetna kapica može biti zaražena i prije nego se cvijet otvori, ona posmeđi i osuši se. Tako zaraza prelazi na cvijet koji propada. U vrijeme prevelike vlage na cvatu se pojavljuju bijele prevlake, te je dio cvijeta ili cijeli cvijet presvučen njom. Ako su bobice napadnute nakon oplodnje mogu biti cijele prekrivene pepeljastom prevlakom, one zaostaju u rastu i pokožica im je znatno deblja i tvrđa. Zaražena može biti i peteljka, ako je zahvaćena veća površina peteljka se suši , ukoliko je djelomična zaraza ona se savija zajedno sa cvatom. Kod ove bolesti postoje dva načina širenje zaraze: primarni i sekundarni. Primarna zaraza se obavlja putem oospora koje duže opstaju, a sekundarna pomoću sporangija koje se razvijaju tijekom perioda vegetacije, a sposobnost širenja zaraze je kraća. Gljiva prezimi u otpalom lišću u obliku oospora. Oospore su otporne na sušu, hladnoću i vlagu. Jačina napada peronospore ovisi o broju oospora koje su ostale u vinogradu nakon zaraze od prošle godine. (Cvjetković, 2010.).



Slika 2. Prikazuje napad plamenjače na grozdu

Izvor: https://wiki.poljoinfo.com/wp-content/uploads/2015/08/plamanjaca_na_grozdu.jpg



Slika 3. Prikazuje napad plamenjače na listu vinove loze

Izvor: <https://cdn.agroklub.com/upload/images/text/thumb/plamenjaca-vinove-loze2-880x495.jpg>

2.2.2 Pepelnica vinove loze (*Erysiphe necator*)

Pepelnica se na vinovoj lozi u Europi pojavila 1845. godine u Londonu, kasnije se proširila na Sredozemne zemlje. Uzročnik ove bolesti je gljivica *Erysiphe necator*. Nalazi se na površini biljnih organa koji su napadnuti, a pomoću haustorija iz epiermalnih stanica biljke crpi hranu. Gljiva prezimljuje u obliku micelija ili oidija u pupovima vinove loze i u obliku kleistocija na površini biljnih organa. Na peteljkama se pojavljuje bjelkasta prevlaka ispod koje tkivo nekrotizira u obliku tanke crte. Na listovima se javlja sivo - pepeljasta prevlaka u obliku jastučića. Listovi zaostaju u rastu zbog čega dolazi do uvijanja i kovrčanja lista. List postepeno žuti, te se na kraju suši i otpada. Napad na bobama je većinom kada su bobice veličine graška, one zaostaju u razvoju, koža im je deblja i tvrđa. Zadržavaju sivo – pepeljastu boju, te se za suhog vremena suše, a za vlažnog trunu. Cvat može biti napadnut i prije oplodnje.



Slika 4. Pepelnica vinove loze

Izvor: https://medjimurje.hr/upload/publish/16317/pepelnica-vinove-loze-2_585d1c538c7b4.jpg

2.2.3 Crna pjegavost rozgve (*Phomopsis viticola*)

Gljiva prezimi u trulim grozdovima na trsu ili u mumificiranim bobama na površini tla. Simptomi bolesti očituju se na listovima, mladicama i rozgvi, a zaraza na bobicama je rijetka. Crnu pjegavost prepoznajemo po oštećenju na kori, a tijekom zimske rezidbe simptome na zaraženim čokotima prepoznajemo po pukotinama u obliku „žabljeg oka“, a kora može imati bijelu ili srebrnkastu boju s crnim točkicama. Kada zaražena loza propupa donji se pupovi ne otvaraju, na mladicama se tijekom vegetacije primjećuju nekroze te raspucavanje kore. Na najnižim listovima se javljaju nekroze. Crne točkice su plodna tijela gljive – piknidi. Piknidi mogu biti aktivni 3 - 4 godine, te oslobađati piknospore na rozgvi koja je ostala na tlu (Ciglar 1998.).



Slika 5. Crna pjegavost vinove loze

Izvor: https://www.krizevci.net/vinograd/slike/tn_40_crna_pjegavost.JPG

2.2.4. Crvenilo lišća vinove loze (*Pseudopeziza tracheiphila*)

Bolest se obično javlja na lakim tlima na kojima nema dovoljno vode. Simptomi se pojavljuju koncem svibnja ili početkom lipnja. Crvena palež ulazi micelijem u provodne snopove te tako u listovima onemogućuje normalno kolanje sokova. Tkivo lista se suši i odumire. Nastaju

karakteristične pjege omeđene rubom plojke. Pjege dobivaju trokutasti oblik, na početku su svjetložute boje, kasnije postaju crvenkatosmeđe. Tkivo u pjegama kasnije odumire, dolazi do ranog otpadanja listova na izbojima. Jak gubitak listova dovodi do zastoja u rastu cijelog čokota. Gljiva prezimljuje u otpalom zaraženom lišću. (<https://www.agroportal.hr/>)



Slika 6. Crvenilost lišća vinove loze

Izvor: <https://cdn.agroklub.com/upload/images/text/thumb/depositphotos-406935606-xl-1-880x495.jpg>

2.2.5. Siva plijesan (*Botrytis cinerea*)

Botrytis cinerea je najštetnija bolest vinove loze u kontinentalnom dijelu Hrvatske, ali i u jadranskom dijelu štete također u pojedinim godinama znaju biti velike. Bolest se ne pojavljuje svake godine te iznenadi vinogradare jer joj ne pridaju dovoljno pozornosti. U Hrvatskoj štete u smanjenju uroda kreću se od 3 do 15%, ovisno o godini. Prosječne godišnje štete su oko 4,1% (Maceljčki i sur., 2006.).

Uzročnik sive plijesni *Botrytis cinerea*, izraziti je polifag koji parazitira na velikom broju domaćina (malina, vinova loza, soja, jagoda, duhan).

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

Gljiva živi kao saprofit koji izaziva direktne i indirektne štete. Direktne štete nastaju zbog smanjenja uroda, a indirektne se očituju u lošijoj kvaliteti vina, odnosno mošta jer *Botrytis cinerea* iz zaraženih bobica troši veliku količinu šećera i vinske kiselina, te zbog toga prevladava jabučna kiselina koja pridonosi lošijoj kvaliteti i okusu vina (Ciglar, 1998.).

Gljiva se javlja u godinama s većom količinom kiše i to u drugom dijelu vegetacije. U razvojnem ciklusu formira micelij, konidiofore s konidijama, askuse i askospore (Topolovec- Pintarić i Cvjetković, 2000.).

Prezimljava u obliku micelija na kori drveta i na ostacima peteljaka koje ostaju na čokotima. Sklerocij se formira na slabo razvijenim i odumrlim čokotima. Na sklerociju i miceliju za vrijeme visoke vlage i toplog vremena javljaju se konidiofori s konidijama u obliku sive prevlake. Gljiva djeluje na temperaturama od 3°C do 30°C. spore su prisutne u zraku, voćnjacima, vinogradima i ostalim prostorima. Može zaraziti sve zelene dijelove vinove loze, ali najčešće uzrokuje štetu na grozdovima u periodu zriobe grožđa zbog dostupne velike količine šećera. Posebno osjetljive su sorte koje imaju tenku pokožicu i zbijene grozdove-sivi pinot, bijeli pinot, rajski rizling, frankovka, cabernet sauvignon, muškati žuti, kraljevina, chardonnay i graševina (Bayer, 2013.).

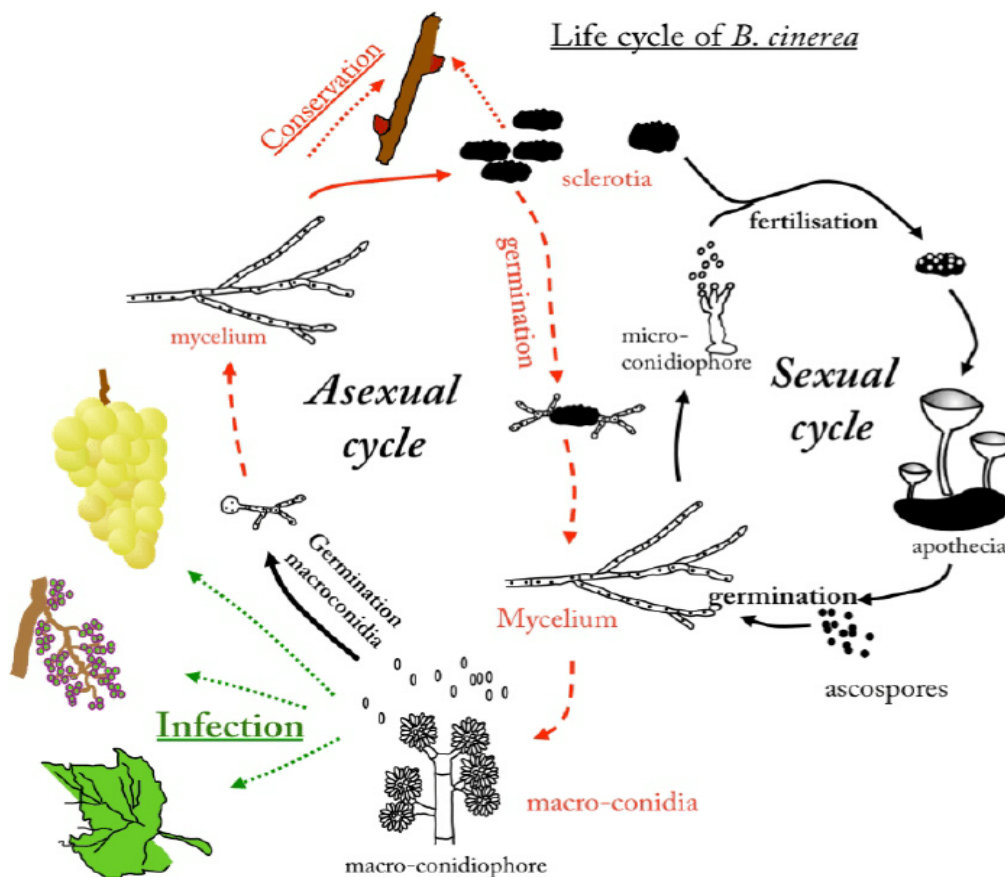
Botrytis cinerea izaziva bolest koja osim direktnih šteta dovodi i do pucanja bobica i tako stvara plodno tlo za rani razvoj sive plijesni koja se teško sprječava. Prevelika bujnost i preobilna ishrana dušikom čine pokožicu bobica nježnijom i povećavaju povoljne uvjete i odgovorne, a „kemija“ nije svemoguća, osobito kada je u pitanju zaštita od sive plijesni.

Razvoj bolesti teče kroz tri faze:

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

3. Faza - dozrijevanje- dolazi do propadanja dijelova grozda ili cijelog grozda i štete mogu biti vrlo značajne (Brmež, 2010.).

U vinogradu dva najčešća izvora sklerocija su prošlogodišnje stabljike i grozdovi koje su zaražene u jesen prethodne godine. Nakon navodnjavanja i kiša u proljeće sklerocije se razvijaju i proizvode velike količine spora koje se šire prilikom obrade vinograda, pljuskovima kiše i zračnim strujama. Apoteciji se teško pronalaze u prirodnim uvjetima. Tijekom vegetacije gljiva formira konidijski stadij koji pričinjava štete u biljnoj proizvodnji, a pred kraj vegetacije sklerocije kao konzervacijske organe. (Kišpatić i Maceljski, 1991.).



Slika 7. Biološki ciklus gljive *Botrytis cinerea*

Izvor:

<https://www.researchgate.net/publication/221921262/figure/fig3/AS:304754648469508@1449670578557/Life-cycle-of-Botrytis-cinerea-In-laboratory-conditions-a-fitness-cost-of-the-Hydr3.png>

Postoje različite vrste truleži, prema vrsti i uvjetima u kojima se pojavljuju. Ako se trulež na bobicama javi u vrijeme kada grožđe sadrži malo šećera tada govorimo o zelenoj plijesni, bobice nakon infekcije postaju smeđe ili sivkaste, na njima obično nema spora. Zbog zaraze ne akumuliraju šećer te ostaju kisele do berbe (Bayer, 2013.).

U vrijeme kišnih razdoblja, fazi cvjetanja patogen se nastani na dijelove cvijeta te ostane neaktivan sve do širenja bobice, s dozrijevanjem raste i osjetljivost bobe na infekciju. Što više šećera, a manje tanina i kiselina sadrži boba, pogodnija je za napad. Infekcijska hifa prodire lakše kroz mekšu epidermu zrelih boba, kožica zrelih boba ima više pukotina te je gljivi na raspolaganju više ugljikohidrata iz tih pukotina što dodatno olakšava prodor. Na bijelim vrstama pojedinačne zaražene bobice posmeđe, a na crvenim vrstama postanu crvenkaste zbog enzima koje proizvodi gljiva. Za vrijeme umjerenih temperatura, visoke vlažnosti i umjerene brzine vjetra stvaraju se pukotine na epidermi te u njima gljivica stvara spore i micelije, što rezultira karakterističnom sivom prevlakom te se gljivice mogu proširiti s bobice na bobicu. Ako ostanu povoljni uvjeti bolest može obuhvatiti cijele grozdove i dovesti do propadanja. Najbrže propadaju zbijeni grozdovi jer je na njima olakšan prijelaz zaraze. Ako tijekom zaraze nastupi duži sušni period gljiva se razvija samo u pokožici te ne prodire dalje zbog čega se bobice smežuraju jer dolazi do jačeg isparavanja vode.

Od mjesta infekcije gljiva u zaraženoj bobi napreduje 3 - 4 mm dnevno, a na pokožici se boja mijenja u segmentima. Na kraju čitava boba poprimi svijetlosmeđu boju (Maceljski i sur. 2006.). U nekim vrstama kao što su silvanac, rajnski rizling i moslavac tijekom jeseni se uz napade na bobu razvija i napad na peteljčice, tada bobice otpadaju s grozda, te su štete velike.



Slika 8. Simptomi bolesti na grozdu

Izvor: https://media.sciencephoto.com/image/c0378350/800wm/C0378350-Grapes_infected_with_Botrytis_cinerea.jpg

Iako su simptomi najuočljiviji na bobicama, *Botrytis cinerea* napada sve zelene dijelove loze, posebno za vrijeme vlažnih sezona. Ako je proljeće kišovito i vlažno *Botrytis cinerea* može napasti zelene listove i uzrokovati pojavu zeleno-žutih mrlja koje kasnije postanu smeđe (Marić-Ivandija i Ivandija, 2013.).

Na lišću se simptomi javljaju na proljeće u obliku smeđih pjega, koje su veličine do 1mm, a okružene su žutim prstenom. Infekcija se u većini slučajeva događa u pazušcu lista i na mjestima gdje se cvjetovi spajaju sa stabljikom. Za vlažnog vremena na listovima se javlja siva prevlaka. Prilikom jačeg napada lišće s peteljka može otpasti.



Slika 9. Simptomi bolesti na listovima

Izvor: <https://hrcak.srce.hr/file/372084>

Na mladicama se javlja vodenkasta, meka i smeđa trulež koja dovodi do pucanja i odumiranja, a u jesen se javljaju crne mrlje veličine 1 do 5 mm zbog ranih mrazova.

Osim direktnih šteta koje smanjuju urod *Botrytis cinerea*, indirektno čini štete koje utječu na kvalitetu mošta te samim tim i na kvalitetu vina. Gljiva troši vinsku kiselinu i velike količine šećera te zbog toga prevladava jabučna kiselina. Do poremećaja vrenja dolazi zbog lučenja mikrobiocidnog botricina. Vino se teško bistri te je sklono posmeđivanju i često ima miris po plijesni. Proces vinifikacije zbog toga zahtjeva veće količine sumpora te je znatno skuplji.

Grožđe koje je zaraženo sivom plijesni ima povećanu pH vrijednost, veću količinu glicerola, metanola, limunske, octene, jabučne i glukonske, a manji sadržaj vinske kiseline u odnosu na zdravo grožđe. Takva vina mogu biti nestabilna, osjetljiva na preradu i neprikladna za čuvanje (Ribereau - Gayon i sur. 1960.).

2.3. Mjere zaštite protiv patogene gljive *Botrytis cinerea*

Borbu protiv sive plijeni započinjemo prije podizanja vinograda. Preventivne mjere protiv bolesti su sadnja tolerantnih sorata, manje bujne podloge, sadnja vinograda tako da vjetar puše kroz redove kako bi se smanjila vlaga koja pogoduje bolesti, skidanje listova i zaperaka oko grozda čime se dobija više svjetlosti, pravodobna zaštita od pepelnice i groždanog moljca koji stvaraju preduvjet za pojavu sive plijesni, optimalna gnojidba, iznošenje i spaljivanje orezanih ostataka loze, međuredna sjetva i stvaranje povoljnih uvjeta u tlu za mikrobiološku razgradnju preostalih biljnih dijelova (Jelenić i Ilić, 2018.).

Postoje četiri osnovna načina suzbijanja sive plijesni: agro i ampelotehničke mjere zaštite, stvaranje otpornih kultivara te kemijske i biološke mjere (Russell, 2005.).

Nabrojane mjere mogu spriječiti ili odgoditi razvoj bolesti, ali se još uvijek kao glavni način za suzbijanje patogena primjenjuju kemijska sredstva (Topolovec-Pintarić, 2000.).

Prije svega zaštita od gljivice *Botrytis cinerea* se održava preventivnim tretiranjem. Postoji nekoliko razina zaštite vinove loze kroz godinu. Prva razina zaštite je nakon cvatnje kada se koriste sredstva za zaštitu koja sadrže folpet ili boskalid, druga započinje pred zatvaranje grozda i tada se koriste botricidi, a treća razina zaštite je kod šare s istim sredstvima ili kod kasnijih sorata gdje je moguće još jedno tretiranje ovisno o vremenskim uvjetima i pritisku bolesti (Ivančan, 2009.).

Zaštita od sive plijesni u Republici Hrvatskoj se još uvijek temelji na kemijskoj zaštiti primjenom fungicida - botriticida. Kemijska sredstva djeluju na jedan proces u metabolizmu gljive, pa se tako povećava rezistentnost.

Po biokemijskom djelovanju razlikujemo pet grupa botriticida:

- Fungicidi koji inhibiraju respiraciju ;
- Fungicidi antimikrotubularnog djelovanja;
- Fungicidi koji izazivaju poremećaje u osmoregulaciji;
- Fungicidi koji izazivaju poremećaje u biosintezi metionina
- Fungicidi koji izazivaju poremećaje u biosintezi sterola (Leroux, 2004.).

Neka sredstva koja se koriste primarno za suzbijanje pepelnice i plamenjače također mogu umanjiti pojavu sive plijesni, kao što su aktivne tvari pirofenon i fluopyram. Fungicidi mogu negativno utjecati na vinifikaciju, pa je potreban oprez u zadnjim aplikacijama kod miješanja nekoliko vrsta fungicida radi istovremene zaštite vinove loze od raznih uzročnika bolesti.

2.4. Biološka zaštita vinove loze

Biološko – ekološka metoda ne dopušta upotrebu kemijskih spojeva, kao ni upotrebu mineralnih gnojiva. Za uzgoj vinove loze troši se puno gnojiva, te zaštitnih sredstava.

Ekološka proizvodnja je posebni sustav održiva gospodarstva koji se maksimalno prilagođava prirodi te minimalno primjenjuje dopuštene tehnologije, uključujući agrokemikalije. Ekološka proizvodnja je proizvodnja koja zahvaljujući posebnom znanju proizvođača rabi pretežno izvore s vlastitog gospodarstva i provodi ekološki prihvatljivu tehnologiju te tako proizvodi hranu i ostale poljoprivredne proizvode (Maceljki i sur. 2006.).

Ekološko vinogradarstvo je način gospodarenja koji pokušava postizati kvalitetne i stabilne prinose, a ne šteti plodnosti tla, kakvoći voda i zdravlju ljudi. Prema Zakonu o ekološkoj proizvodnji prehrambenih i poljoprivrednih proizvoda, ekološka proizvodnja je poseban sustav održivog gospodarenja u šumarstvu i poljoprivredi koji obuhvaća uzgoj životinja i bilja, proizvodnju sirovina, hrane i prirodnih vlakana te preradu prirodnih proizvoda. Ona uključuje sve ekološki, društveno i gospodarski opravdane proizvodno- tehnološke metode, zahvate i sustave (NN čl. 2. st. 1. br. 12/01, 14/01 i 79/07).

Ekološka proizvodnja je nadzirana, organizirana i registrirana proizvodnja. Negativne posljedice intenzivne poljoprivrede kao što su onečišćene okoliša, smanjena plodnost tla i osiromašenje ruralnih krajeva doveli su do razvoja ekološke poljoprivrede. Ekološko vinogradarstvo kao način gospodarenja kojim se dobiju kvalitetni prinosi, ne šteti vodi, tlu i živom svijetu. Zakonom o ekološkoj proizvodnji prehrambenih i poljoprivrednih proizvoda određeno je da se takvom proizvodnjom smatra:

- Proizvodnja kod proizvođača koji su prihvatili proizvoditi po smjernicama propisanim; za tu proizvodnju i smjernicama nadzorne organizacije;
- Proizvodnja kod proizvođača koji su se upisali u upisnik proizvođača;

- Proizvodnja proizvođača koji su prihvatili nadzor nad svojom proizvodnjom i proizvodima (Maceljski i sur. 2006.).

Samo takvi proizvodi smiju se deklarirati kao ekološki proizvodi, za kakvoću i način proizvodnje garantira proizvođač i državni organ koji je izdao zaštitni znak. Cijela djelatnost je pod državnim nadzorom.

Ciljevi ekološkog vinogradarstva su sljedeći:

- Smanjivanje onečišćenja vode i tla;
- Održavanje i povećavanje prirodne plodnosti tla;
- Uzgoji visokokvalitetnog grožđa kao sirovine za vina visoke kakvoće;
- Uzgoj zdravih i otpornih biljaka koje su preduvjet za proizvodnju bez uporabe sintetičkih sredstava za zaštitu bilja;
- Poticanje raznolikosti životinjski i biljnih vrsta u ekološkom sustavu vinograda;
- Izbjegavanje uporabe biljaka dobivenih genetičkim inženjerstvom te stvaranje sigurne egzistencije čovjeka na temelju povoljnijih i zdravih životnih uvjeta (Pokoš, 2013.).

Ekološko vinogradarstvo je zahtjevnije od konvencionalnog. Vinova loza zahtjeva puno pažnje i pravovremenih intervencija, ali je učinak višestruk. Strogo je zabranjena upotreba sintetičkih pesticida, loza se može tretirati biljnim preparatima kao što su: razni biljni ekstrakti, propolis, čajevi i pripravci na bazi algi, te mikrobiološki preparati koji mikrobiocidno djeluju na patogenu gljivu *Botrytis cinerea*.

Ekološka prerada grožđa i proizvodnja vina određeni su Pravilnikom o preradi, pakiranju, prijevozu i skladištenju ekoloških proizvoda (NN br. 129/09).

Ekološka proizvodnja grožđa uspostavlja se podizanjem novog vinograda, i prijelazom iz konvencionalne ili integrirane u ekološku proizvodnju. Poljoprivredno gospodarstvo tijekom tog perioda mora proći prijelazno razdoblje tijekom kojeg se primjenjuju odredbe o ekološkoj proizvodnji određene zakonom. Prijelazno razdoblje traje i do tri godine. Prijelazni period se određuje radi čišćenja tla, otklanjanja ostataka pesticida u tlu do pravilnikom određene prihvatljive razine i usvajanja agrotehnike ekovinogradarstva (Dragun, 2010.).

Kod ekološke proizvodnje moramo iz primjene isključiti ili staviti pod nadzor:

- Nitrate i nitrite;
- Teške metale, toksične elemente;
- Mineralna gnojiva i pesticide;
- Lijekove;
- Biostimulatore;
- Genetski modificirane organizme;
- Sadni materijal proizveden na konvencionalni način (Dragun, 2010.).

Ekološku proizvodnju nadziru ovlaštene nadzorne stanice, pravne osobe i ovlaštene laboratoriji za provedbu postupaka potvrđivanja ekološke proizvodnje. Nadzorne stanice propisuju smjernice za proizvodnju svake kulture, također obavlja i nadzor tehničkog procesa proizvodnje. Vinogradar mora prihvatiti propisane smjernice koje sadrže vrlo različite uvjete, ali i ograničenja, te biti suglasan s nadzorom nad cjelokupnom proizvodnjom (Maceljski i sur. 2006.).

Kontrolno tijelo jednom godišnje obavlja stručnu kontrolu svih subjekata, također može uzimati uzorke za ispitivanje ekoloških proizvoda ukoliko se sumnja u korištenje sredstva koja nisu u skladu s pravilima ekološke proizvodnje (Pravilnik o stručnoj kontroli u ekološkoj proizvodnji, NN br. 68/11).

Vinogradari koji žele na ekološki način proizvoditi grožđe i proizvode od grožđa sve potrebne upute može dobiti od poljoprivredne savjetodavne službe koja ima specijalizirane stručnjake za takvu proizvodnju. Moraju biti upoznati s teškoćama na koje će naići zbog malog broja dozvoljenih sredstava u usporedbi s učinkovitosti sredstava dozvoljenih u konvencionalnoj i integriranoj proizvodnji (Maceljski i sur. 2006.)

2.5. Benefitna gljiva *Trichoderma* spp. u zaštiti vinove loze od *Botrytisa*

Gljivice *Trichoderma* spp. su prisutne u većini obradivih tala. Njihovo djelovanje se zasniva na dva procesa: mikoparazitizam i antibioza. Mikoparazitizam je zasnovan na odnosu micelija antagonista i patogena nakon čega izlučevine enzima obavljaju degradaciju staničnog zida domaćina (Kubeck i sur. 1998.).

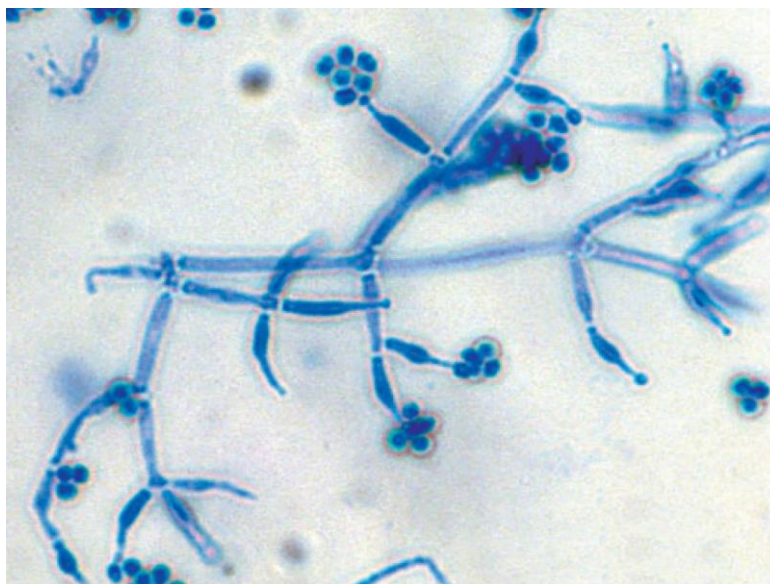
Poznate su po lučenju snažnog hidrolitičkog multienzimatskog kompleksa. Iznimne su od važnosti za poljoprivredu zbog svojih brojnih benefita koje posjeduju kako one same tako i njeni produkti. Današnju poljoprivrednu proizvodnju teško je zamisliti bez ove gljive. Prednosti koje su karakteristične za ovu gljivicu:

- Povećavaju otpornost same biljke na određene bolesti;
- Neki enzimi djeluju preventivno kada je u pitanju razvoj patogenih gljivica;
- Štite usjeve od bolesti;
- Pomažu u ponovnom uspostavljanju ravnoteže u tlu koja je narušena radi unosa brojnih kemijskih sredstava (bioobnova).

Optimalna temperatura za rast kolonije je 25 - 31°C. Vrste roda *Trichoderma* su pokazale dobar rast na različitim temperaturama. Većina *Trichoderma* vrsti je fotoosjetljiva te proizvodi konidije u razdoblju svjetlosti (Kumar, 2009.).

Za rod *Trichoderma* tipično je grananje nalik na piramidu ili drvo, konidiofore nose kratke filijale koje rastu u grupi ili pojedinačno. Mogu biti skupljene u hrpu koju čini oko 20 konidija pri čemu su jednostanične, veličine 2- 4 μm grubo zrnate membrane (Kumar, 2009.).

Trichoderma spp. ima sposobnost djelovati na druge gljive tako da parazitira gljive, i proizvodi antimikrobne supstance (Martinko 2015.).



Slika 10. *Trichoderma* spp.

Izvor: <https://www.adelaide.edu.au/mycology/fungal-descriptions-and-antifungal-susceptibility/hyphomycetes-conidial-moulds/trichoderma>

U poljoprivredi je djelovanje gljivice *Trichoderma* spp. višestruko. Gljivice ovoga roda štite usjeve od bolesti djelujući kao vrhunski inhibitori rasta. Razvijaju imunوسي sistem same biljke na određene bolesti, te kada je u pitanju razvoj patogenih gljivica luče brojne enzime koji djeluju preventivno. Također ova gljivica je vrlo važna i kada su u pitanju alternativni izvori energije. Za zaštitu usjeva od bolesti najefikasnije je djelovati u samu srž biljke, točnije pripravak *Trichoderme* spp. najučinkovitije je aplicirati na samo sjeme. Primjenom u vrijeme sjetve postiže se kolonizacija površine sjemena koji supresira naseljavanje patogena na kutikulu sjemena te otežava kontaminaciju (Samuel i sur. 2006.).

U većini zemalja za biološku kontrolu koriste se vrste roda *Trichoderma*, koje smanjuju razvoj bolesti, povećavaju otpornost biljaka na stres, potiču bržu razgradnju komposta te biljke brže dolaze do hranjivih nutrijenata, što u konačnici stimulira rast biljaka (Harman, 2000.).

Korištenje gljive *Trichoderma* spp. reducira se primjena kemijskih fungicida, te se povećava zdravlje biljke i postiže se čitav niz pozitivnih učinaka na okoliš u cjelini (Monte, 2001.).

Korištenje *Trichoderma* spp. troškovi su znatno manji u odnosu na korištenje drugih sredstava. Učinkovitost ove gljivice potvrđena je i u kontroli brojnih gljivičnih štetočina. Koristi se i u kontroli bakterija i virusa štetnika usjeva (Hanson i Howell, 2002.).

Trichoderma spp. je aseksualna saprofitska gljiva s telomorfnim stadijem koja pripada redu *Hypocerales*, porodici *Hypocreaceae*. Rod *Trichoderma* je prvi spomenut 1794. godine kao zelena plijesan koja raste na oštećenim granama i drugim supstratima. U to vrijeme se smatralo da *Trichoderma* predstavlja samo jedna vrsta - *T. virde* (Bisby, 1939.). Do 1969. se smatralo da postoje dvije vrste, *T. virde* i *T. koningii*. 1969. godine revidirana je taksonomija roda *Trichoderma* i opisano je 9 vrsta s obzirom na karakteristike fijaspora, grananje konidiofora, raspored fijasida i morfologiju konidija (rafai, 1969.). Vrste roda *Trichoderma* od iznimne su važnosti za poljoprivredu jer pogoduju poticanjem razgradnje biljnih ostataka u tlu (Kubicek i Panttila, 1998.).

Gljivice roda *Trichoderma* efikasna je kada su u pitanju patogene gljivice kao što su predstavnici rodova: *Armillaria*, *Botrytis*, *Chondrostereum*, *Colletotrichum*, *Dematophora*, *Diaporthe*, *Endothia*, *Fulva*, *Fusarium*, *Fusicladium*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Monilla*, *Nectaria*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Pseudoperonospora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Venturia*, *Verticillum* (Monte, 2001.).

Trichoderma spp. proizvodi veliki broj antibiotika. Najpoznatiji antibiotici iz roda *Trichoderma* su virdin i gliotoksin. Antibiotici su u uskoj sprezi sa ekstracelularnim litičim enzimima stvaranih od strane roda *Trichoderma* koji razgrađuju stanične stijenke drugih antagonističkih gljiva. Djeluju sinergijski u kombinaciji sa različitim degradirajućim staničnim enzimima gljivica roda *Trichoderma*. Inhibitorska aktivnost kemijskih fungicida apliciranih na patogena *Botrytis* i druge biljne patogene može biti snažnija ukoliko u isti dodamo stanične enzime *Trichoderme* spp. Degradirajući stanični enzimi *Trichoderma* spp. nisu opasni za okoliš kao ni za čovjeka i životinje za razliku od kemijskih sredstva, te stvaraju korisne rezidue u tlu.

Specifičnosti virdina i gliotoksina:

- Stvaraju biološki stimulans i hormone rasta, stvaranje većeg prinosa
- Parazitiraju i uništavaju druge štetne gljive u tlu, prodiru u hife drugih gljiva te apsorbiraju njihov sadržaj;

- Njihovom primjenom u prosjeku se povećava prinos od 10 – 40 %, te se preporučuje primijeniti i na površinama gdje nema napada zbog održavanja mikrobiološkog zdravlja tla, te preventivnog djelovanja;
- Pospješuju razgradnju celuloze i omogućavaju mineralizaciju biljakama nepristupačnih u biljkama pristupačna hraniva;
- Koloniziraju i zauzimaju životni prostor od drugih štetnih gljivica i mikroorganizama u rizosferi;
- Induktivno, sistematično stečen imunitet, odnosno ne specifičan imunološki odgovor biljke na napad štetnih organizama

Antibiotici i niskomolekularni spojevi koje luče gljivice roda *Trichoderma* ometaju kolonizaciju štetnih mikroorganizama i nematoda koje se nalaze u zoni korijena (Błaszczuk i sur., 2014.).

Gljivice roda *Trichoderma* proizvode hlapive i ne hlapive toksične metabolite. Proizvodnja antibiotika u nekim slučajevima korelira sa biološkom kontrolom te tako pročišćeni antibiotici imaju efektivnije djelovanje. Hlapive supstance djeluju inhibitorno na rast micelija *Macrophomina phaseolina* i to od 22 – 50 % (Angappan, 1992.).

Hlapivi antibiotici koji nastaju kao metaboliti gljivice roda *T. harzianum* i *T. atroviride* značajno usporavaju razvoj gljivičnih patogena, dok ne hlapivi sekundarni metaboliti gljive *Trichoderma* spp. djeluju inhibitorno na linearno povećanje patogena (Alfiky i Weisskopf, 2021.)

Poznato je više od 180 sekundarnih metabolita koji predstavljaju različite klase kemijskih spojeva. Dijelimo ih na hlapive antibiotike i spojeve topive u vodi. *T. viride*, *T. harzianum* i *T. konigii* su u stanju proizvesti 6PP (6-pentil- α - piron⁹ koji pripada skupini hlapivih antibiotika i važan je u biokontroli vrsta kao što su *B. cinerea*, *R. solani* i *Fusarium axysporum* (Gams i Bisset, 1998.).

Osim što proizvode spojeve koji su dobri u borbi sa patogenima gljivice roda *Trichoderma* proizvode spojeve koji ubrzavaju klijavost, zeaksantin i gliberelin. Proizvode i kiseline kao što su limunska, glukonska i kumarinska, što uzrokuje oslobađanje fosfora, točnije njegovih mikroelemenata i iona koji će kasnije biti dostupni biljkama (Harmann 2004.).

Također, gljivice roda *Trichoderma* potiču sustavni otpor u biljkama. Razne skupine metabolita mogu igrati ulogu elicitora odnosno nastajanje inducirane otpornosti u interakcijama *Trichoderma* spp. s biljkama (Harmann 2004.).

Antibiotici i sekundarne komponente koje proizvodi *Trichoderma* spp. od iznimne su važnosti u biološkoj kontroli ovog antagonista (Vinale i sur., 2008). Prema Sviasithamparu i Ghisalbertu (1998.) *Trichoderma* spp. proizvodi nekoliko sekundarnih metabolita u koje spadaju antifungalni i antibakterijski antibiotici: pironi, poliketidi i terpeni. Sekundarni metaboliti koji uključuju i metabolite koji nisu direktno vezani uz rast biljke, reprodukciju i razvitak su po kemijskom sastavu različiti od prirodnih komponenti te mogu imati značajnu ulogu u simbiozi, transportu metala, razlikovanju i stimulaciji ili inhibiciji formiranja spora (Demain i Fang, 2000.).

Antibiotike često povezujemo s biološkom kontrolom, Paracelsin je prvi sekundarni metabolit okarakteriziran kao antibiotik koji proizvodi *Trichoderma* spp. (Bruckner i Graf, 1983.).

Trichoderma viride se koristi u biološkoj borbi protiv fitopatogenih gljiva. Optimalna temperatura zarast micelija je od 20 do 28 C, optimalna ph vrijednost je u rasponu od 4,5 do 5,5, relativna vlažnost zraka iznosi 95 %. optimalna temperatura za proces klijanja konidja je od 10 - 35 C (Cavalcante. 2007.).

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

Trichoderma vrste štite biljku od infekcija od strane fitopatogenih gljiva te je korijen koji je u mikorizi s vrstom *T. viride* bujniji što direktno dovodi do povećanja prinosa (Hermosa i sur. 2012.).

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

Kolonije *T. viride* imaju karakterističnu smaragdno zelenu boju. Zbog činjenice da pripada diurnalnim vrstama pri izmjeni noći i dana formira karakteristične tamnožute do zelene

koncentrične krugove. Konidije su veličine 2,5 do 4 μm maslinasto zelene boje. *T. viride* rijetko stvara hlamidospore te ako nastanu najčešće su jajolike, prozirne do blijedožute boje (Samuels i sur. 2006.).

Prepoznatljiva je po svom brzom rastu u uvjetima od 20 - 28C, nalazi se u tlu i poboljšava klijavost sjemena cvjetnica, povećava unos fosfora te proizvodi enzime koji degradiraju celulozni poljoprivredni otpad na alkohol (Samuels i sur. 2006.).

Mikorizne gljive u uzajamnoj simbiozi sa vinovom lozom poboljšavaju njezin rast i ishranu, te vinova loza tako prima mineralne tvari putem micelija gljiva. Gljive kroz cijeli razvoj usavršavaju svoj organizam kako bi se što bolje prilagodile biljkama. U simbiozi gljive imaju idealne uvjete za rast sa stalnom zalihom ugljikohidrata od biljke, zauzvrat gljiva snabdijeva biljku fosforom, vodom te mineralima, također štiti biljku od soli i štetnih metala. Mikorizne gljive imaju sposobnost skladištenja vode i pomažu pri stjecanju dodatne otpornosti na sušu (Savić, 2014.):

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

3. ZAKLJUČAK

Gljiva *Trichoderma* spp. ima odličan potencijal za korištenje u poljoprivredi, te posjeduje brojne kvalitete. Svojim djelovanjem ona smanjuje brojne stresore na biljku. Prednost *Trichoderme* spp. je ta što je potpuno bezopasna za razliku od kemijskih sredstava koje koristimo u konvencionalnoj poljoprivredi. Ima brzu sposobnost kolonizacije i njene prednosti su višestruke. Prisutna je u gotovo svim tipovima tala. Korisna je u zaštiti usjeva jer ima sposobnost mijenjanja genetskog materijala zbog čega biljka postaje otpornija. Također je dokazano da ova gljivica djeluje kao promotor rasta, posebice uz pomoć 6-PAP-a. Njezini sekundarni metaboliti su izuzetno efikasni u kontroli korova, te stvaraju induciranu otpornost biljke ka određenim patogenima. Enzimi *Trichoderme* spp. su efikasni u razgradnji stanične stijenke štetnika koji napada određene kulture što dovodi do ugibanja štetnika. Ova gljiva inducira lokalnu i sistemičnu otpornost na brojne patogene, posebno na sivu plijesan vinove loze - *Botrytis cinerea*. Sve veći broj proizvođača prelazi na ekološki uzgoj, ekološka poljoprivreda umanjuje ili potpuno eliminira onečišćenje tla, zraka i podzemnih voda, ona omogućava održivo gospodarenje prirodnim resursima i čuva plodnost tla, floru i faunu, atmosferu i vode. Uvođenje biološke zaštite značajna je mjera kojom se značajno smanjuje uporaba kemijskih sredstava za zaštitu bilja koji su rizik za čovjekovo zdravlje i okoliš.

4. POPIS LITERATURE

1. Alfiky, A., Weisskopf, L. (2021.): Deciphering Trichoderma–Plant–Pathogen Interactions for Better Development of Biocontrol Applications. *J. Fungi* 2021, 7(1), 61. Str. 1- 18.
2. Angappan, K. (1992.): Biological control of chickpea dry root - rot caused by *Macrophomina phaseolina*.
3. Bayer d.o.o., Bayer Cropscience. (2013.): Priručnik za zaštitu vinove loze, Zagreb.
4. Benitez T., Rincon A.M., Limob M.C., Codon A.C. (2004.) Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. *Int. Microbiol.* 7 (4): 249-260.
5. Bisby, G. R. (1939.). *Trichoderma virde* Pers. ex Fries, and notes on Hypocrea. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 23: 149-168.
6. Błaszczyk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J., Jędryczka, M. (2014.): 42 Trichoderma spp. – application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of plant protection research.* Vol. 54, No. 4 (2014).
7. Brmež, M., Jurković, D., Baličević, R., Štefanić, E., Ranogajec, Lj. (2010.): Najznačajniji štetnici, bolesti i korovi u voćarstvu i vinogradarstvu. Osječko- baranjska županija, Krompak, Valpovo, p.p. 60.
8. Bruckner, H., Graf, H. (1983.): Paracelsin, a peptide antibiotic containing α – amino isobutyric acid, isolated from *Trichoderma reesei* Simmons.
9. Burić, D. (1979.): Vinogradarstvo 2. Radnički univerzitet „Radivoj Čirpanov“, Novi sad.
10. Cavalcante, D. A. (2007.): Avaliação do Tratamento com Água Ozonizada para Higienização de Alface (*Latuca sativa*). Campinas, Sao Paulo: State University of Campinas, MSc thesis.
11. Ciglar, I. (1998.): Integrirana zaštita voćnjaka i vinograda, Zrinski d.d., Čakovec.
12. Cvjetković, B. (2010.): Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze, Zrinski d.d., Čakovec.
13. Cvjetković, B., Sever, Z., Fabek, S. (2016.): Bolesti korijena u hidroponskom uzgoju i osvrt na parazite *Thielaviopsis basicola* (Berk & Broome) Ferraris i *Pythium spp.*. Glasilo biljne zaštite.
14. Demain, A. L., Fanf, A. (2000.): The natural functions of secondary metabolites.

15. Dragun, G. (2010.): Ekološki uzgoj vinove loze.
16. Elad, Y., Freeman, S. (2002.): Biological control of fungal plant pathogens. In: Kempken F (ed) *The Mycota, A Comprehensive Applications*. Springer, Heidelberg, Germany.
17. Fernandez, J., Fernandez-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*.
18. Gams, W., Bissett, J. (1998.): Morphology and identification of *Trichoderma*. Pest management in horticultural ecosystem.
19. Grahovac, M., Inđić, D., Lazić, S., Vuković, S. (2009): Biofungicidi i mogućnosti primene u savremenoj poljoprivredi. *Pestic. Fitomed.*
20. Hanson L.E., Howell C.R. (2002.): Biocontrol efficacy and other characteristics of protoplast fusions between *Trichoderma koningii* and *T. virens*. *Mycol. Res.* 106 (3): 321–328
21. Harman, G. (2000.): Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research in *Trichoderma Harzianum* T22, *Plant Diseases*. Vol 84, 377-393.
22. Herman, G. (2004.): Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma spp.* *Phytopathology*.
23. Heromsa, R., Viterbo, A., Chet, I., Monte, E.: Plant (2012.) – beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158:17-25.
24. Ivančan, N. (2009.). Zaštita vinove loze u vegetaciji. *Glasnik zaštite bilja*. Vol. 32. br. 3., str. 43 – 52.
25. Ivezić, M. (2003.): Štetnici vinove loze i voćaka. Veleučilište u Požegi i Rijeci. Skripta, 1- 133.
26. Jelenić, J., Ilić, J. (2018.): Siva plijesan vinove loze. *Glasnik zaštite bilja*. Vol. 41. br. 3. str. 80-82.
27. Jurković, D. (2009.): Fitopatologija I. poljoprivredni fakultet u Osijeku.
28. Kišpatić, J., Maceljški, M. (1991.): Zaštita vinove loze od bolesti, štetnika i korova. Nakladni zavod Znanje p.p. 232.

29. Kubicek, C. P., Penttila, M. E. (1998.): Regulation of productin of plant polysaccharide degrading enzymes by *Trichoderma*. Taylor and Framcis Ltd. London, pp. 49-71.
30. Kumar, A., Shukla, P., Singh N. K., Dubey A. (2009.): Use of essential oil from *Mentha arvensis* L. to control storage moulds and insects in stored chickpea. *J. Sci. Food Agric.*, 89: 2643-2649.
31. Leroux, P. (2004.): Chemical control of Botrytis and its resistance to chemical fungicides. In: Botrytis: Biology, Pathology and control (Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., Delen N., eds.), Kluwer Academic Publishers, Dorodrecht, Netherlqnds, pp. 195 – 222.
32. Maceljiski, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Barić, B.(2006.): Štetočinje vinove loze, Zrinski d.d., Čakovec.
33. Maletić, E., Karlogan Kontić, J. (2008.): Vinova loza, Školska knjiga, Zagreb
34. Marić – Ivandija, B., Ivandija, T. (2013.): Najvažnije bolesti vinove loze. Glasnik zaštite bilja
35. Martinko, K. (2015.): Interakcija *Trichoderma virde* i *Fusarium solani* u prisutnosti Raxil TM GEL 206, Diplomski rad, Agronomski fakultet, Zagreb.
36. Miličević, T. (2006.): Biološko suzbijanje biljnih patogena – Današnje stanje u svijetu i mogućnost primjene. Glasilo biljne zaštite 6: 310-316.
37. Mirošević, N., Kontić Karlogan, J. (2008.): Vinogradarstvo ; Nakladni zavod Globus, Zagreb.
38. Monte, E., Llobell, A. (2003.): Trichoderma in organic agriculture. Proceedings v World Avocado Congress, 725-733,
39. Oštrkapa – Međurečan, Ž. (2021.): Suzbijanje sive plijesni na vinovoj lozi u ozračju novih trendova i smanjenja uporabe pesticida. Glasilo biljne zaštite. Vol.21 Br.3 Str. 383.
40. Pokoš, V. (2013.): Ekološko vinogradarstvo. Glasnik zaštite bilja. Vol. 36 br. 1.str. 16-25.
41. .Porras P.A., P.G. Neumann, “EMERALD: Event Monitoring Enabling Responses to Anoma-lous Live Disturbances,” Proceedings National Information Systems Security Conference, NSA/NIST, Baltimore, MD, October 1997.

42. Ribereau – Gayon, G. (1960.): Les Modalites de l` Action de *Botrytis cinerea* sur la Baie de Raisin. *Vitis*, 2: 113-116.
43. Raifi, M. A., (1969.): A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Pap.*, 116:1-56.
44. Russell, P. (2005.): A century of fungicide evolution. *The Journal of Agricultural Science*, 143(1), 11_25.
45. Samuels, G. J., Jaklistich, W. M., Dood, S. L. (2006.); *Hypocrea riufa* /*Trichoderma* virde: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia.
46. Savić, D. (2014.). Mikoriza: simbioza korijena i gljiva. Dostupno na: <http://www.pportal.net/mikoriza-simbioza-korijena-i-gljive>.
47. Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L.: Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Glicoladium*
48. Topalovec- Pintarić, S. (2000.): Urođena i stečena otpornost *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. na botricide u vinogradima i suodnos rezistentnih patotipova. Doktorska disertacija. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
49. Topalovec – Pintarić, S., Cvjetković, B., Miličević, T. (2002.): The sensitivity of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. to new botryticides in the protection of vineyards, *Plant Protection Science*, 38(2), 670-673.
50. Topalovec- Pintarić, S., Cvjetković, B. (2003.): Biofungicides – New Solutions for Controlling Plant Diseases. 47. seminar biljne zaštite, Opatija, Hrvatska, 11-14.02.2003., str. 23.
51. Vann Den Berg, L., Lentz, C.P.(1968.): The effect of relative humidity and temperature on survival and growth of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Botany*, 46(12): 1477-1482, 12.1139/b68-203.
52. Vinale, F., Nigro, M., Sivasithamparam, K., Flematti, G., Ghisalberti, E.L., Ruocco, M., Varlese, R., Marra, R., Lanzuise, S., Eid, A., Woo, S.L., Lorito, M. (2013.): Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. *FEMS Microbiol. Letters.*, 347 (2013), pp. 123-129..

ZAKONI I DRUGI PRAVNI PROPISI:

1. Pravilnik o preradi, pakiranju, prijevozu i skladištenju ekoloških proizvoda. („Narodne novine“ br. 129/09).
2. Pravilnik o stručnoj kontroli u ekološkoj proizvodnji („Narodne novine“ br.68/11).
3. Zakon o ekološkoj proizvodnji poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda („Narodne novine“ br. 12/01, 14/01 i 79/07).

5.SAŽETAK

Danas uzročnik bolesti vinove loze – gljiva *Botrytis cinerea* predstavlja jednu od najvažnijih bolesti koja smanjuje prinose, i otežava proces vinifikacije. U vlažnoj i kišovitoj sezoni napada sve zelene dijelove biljke. *Botrytis cinerea* je poznata po brzom razvijanju rezistentnosti te se kemijsko suzbijanje ove gljivice nije pokazalo uspješnim. Zbog potrebe za ekološkim proizvodima danas se u zaštiti bilja sve više koriste mikroorganizmi. Upotreba biopreparata ima svoje nedostatke i prednosti. Ograničeni interes za upotrebu, kompleksna proizvodnja, nemogućnost eradikativnog djelovanje, te uži krug djelovanja spadaju pod nedostatke, dok je najvažnija prednost upotrebe biopreparata smanjenje korištenja kemijskih pesticida, sigurnost i praktičnost. *Trichoderma* je sveprisutna u tlu. Ova je gljivica za razliku od brojnih kemijskih preparata potpuno bezopasna kako i za okoliš tako i za čovjeka. Gljivice roda *Trichoderma* svojom brzom kolonizacijom u tlu pomažu ponovnom uspostavljanju ravnoteže koja je narušena zbog korištenja kemijskih sredstava zbog kojih je došlo do trovanja tla i zagađenja okoliša. Ona ne uzrokuje rezistenciju patogenosti gljiva i bakterija, te se može koristiti neograničeno.

Ključne riječi: *Botrytis cinerea*, benefitne gljive *Trichoderma* spp., ekološka proizvodnja, bolesti vinove loze.

6.SUMMARY

Today, the causative agent of vine disease - the fungus *Botrytis cinerea* is one of the most important diseases that reduces yields and complicates the vinification process. In the wet and rainy season, it attacks all green parts of the plant. *Botrytis cinerea* is known for the rapid development of resistance, and chemical control of this fungus has not been successful. Due to the need for ecological products, microorganisms are increasingly used in plant protection today. The use of biopreparations has its advantages and disadvantages. Limited interest in use, complex production, impossibility of eradication, and a narrower range of action fall under the disadvantages, while the most important advantage of the use of biopreparations is the reduction of the use of chemical pesticides, safety and practicality. *Trichoderma* is ubiquitous in the soil. Unlike numerous chemical preparations, this fungus is completely harmless both to the environment and to humans. Fungi of the genus *Trichoderma*, with their rapid colonization in the soil, help restore the balance that has been disturbed due to the use of chemical agents that caused soil poisoning and environmental pollution. It does not cause resistance to the pathogenicity of fungi and bacteria, and can be used indefinitely

Keywords: *Botrytis cinerea*, , benefit *Trichoderma* fungi, ecological production, vine diseases.

7. POPIS SLIKA

Slika 1. prikaz vinove loze

Izvor: <https://www.agromedia.rs/wp-content/uploads/2022/11/vinograd.jpg>

Slika 2. Prikaz napada plamenjače na grozdu

Izvor: https://wiki.poljainfo.com/wp-content/uploads/2015/08/plamanjaca_na_grozdu.jpg

Slika 3. prikaz napada plamenjače na listu vinove loze

Izvor: <https://cdn.agroklub.com/upload/images/text/thumb/plamenjaca-vinove-loze2-880x495.jpg>

Slika 4. Pepelnica vinove loze

Izvor: https://medjimurje.hr/upload/publish/16317/pepelnica-vinove-loze-2_585d1c538c7b4.jpg

Slika 5. Crna pjegavost vinove loze

Izvor: https://www.krizevci.net/vinograd/slike/tn_40_crna_pjegavost.JPG

Slika 6. Crvenilost lišća vinove loze

Izvor: <https://cdn.agroklub.com/upload/images/text/thumb/depositphotos-406935606-x1-1-880x495.jpg>

Slika 7. Biološki ciklus *Botrytis cinerea*

Izvor: <https://www.researchgate.net/publication/221921262/figure/fig3/AS:304754648469508@1449670578557/Life-cycle-of-Botrytis-cinerea-In-laboratory-conditions-a-fitness-cost-of-the-HydR3.png>

Slika 8. Simptomi bolesti na grozdu

Izvor: https://media.sciencephoto.com/image/c0378350/800wm/C0378350-Grapes_infected_with_Botrytis_cinerea.jpg

Slika 9. Simptomi bolesti na listovima

Izvor: <https://hrcak.srce.hr/file/372084>

Slika 10. *Trichoderma* spp.

Izvor: <https://www.adelaide.edu.au/mycology/fungal-descriptions-and-antifungal-susceptibility/hyphomycetes-conidial-moulds/trichoderma>

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Sveučilišni diplomski studij, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

Diplomski rad

Primjena benefitne gljive *Trichoderma* spp na patogena *Botrytis cinerea* u vinovoj lozi

Zvonimira Eljuga

Sažetak:

Danas uzročnik bolesti vinove loze – gljiva *Botrytis cinerea* predstavlja jednu od najvažnijih bolesti koja smanjuje prinose, i otežava proces vinifikacije. U vlažnoj i kišovitoj sezoni napada sve zelene dijelove biljke. *Botrytis cinerea* je poznata po brzom razvijanju rezistentnosti te se kemijsko suzbijanje ove gljivice nije pokazalo uspješnim. Zbog potrebe za ekološkim proizvodima danas se u zaštiti bilja sve više koriste mikroorganizmi. Upotreba biopreparata ima svoje nedostatke i prednosti. Ograničeni interes za upotrebu, kompleksna proizvodnja, nemogućnost eradikativnog djelovanje, te uži krug djelovanja spadaju pod nedostatke, dok je najvažnija prednost upotrebe biopreparata smanjenje korištenja kemijskih pesticida, sigurnost i praktičnost. *Trichoderma* je sveprisutna u tlu. Ova je gljivica za razliku od brojnih kemijskih preparata potpuno bezopasna kako i za okoliš tako i za čovjeka. Gljivice roda *Trichoderma* svojom brzom kolonizacijom u tlu pomažu ponovnom uspostavljanju ravnoteže koja je narušena zbog korištenja kemijskih sredstava zbog kojih je došlo do trovanja tla i zagađenja okoliša. Ona ne uzrokuje rezistenciju patogenosti gljiva i bakterija, te se može koristiti neograničeno.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: Suzana Kristek

Broj stranica: 35

Broj grafikona i slika: 10

Broj tablica: 0

Broj literaturnih navoda: 55

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Botrytis cinerea*, benefitne gljive *Trichoderma* spp, ekološka proizvodnja, bolesti vinove4 loze

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Doc.dr.sc. Jurica Jović, predsjednik povjerenstva
2. Prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor
3. Doc.dr.sc. Toni Kujundžić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica fakulteta Agrobiotehničkih znanosti u Osijeku i u digitalnom repozitoriju diplomskih radova fakulteta Agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Graduate thesis

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

University Graduate Studies, course Viticulture and enology

Application of the beneficial fungus *Trichoderma* spp. to the pathogen *Botrytis cinerea* in grapevines

Zvonimira Eljuga

Abstract:

Today, the causative agent of vine disease - the fungus *Botrytis cinerea* is one of the most important diseases that reduces yields and complicates the vinification process. In the wet and rainy season, it attacks all green parts of the plant. *Botrytis cinerea* is known for the rapid development of resistance, and chemical control of this fungus has not been successful. Due to the need for ecological products, microorganisms are increasingly used in plant protection today. The use of biopreparations has its advantages and disadvantages. Limited interest in use, complex production, impossibility of eradication, and a narrower range of action fall under the disadvantages, while the most important advantage of the use of biopreparations is the reduction of the use of chemical pesticides, safety and practicality. *Trichoderma* is ubiquitous in the soil. Unlike numerous chemical preparations, this fungus is completely harmless both to the environment and to humans. Fungi of the genus *Trichoderma*, with their rapid colonization in the soil, help restore the balance that has been disturbed due to the use of chemical agents that caused soil poisoning and environmental pollution. It does not cause resistance to the pathogenicity of fungi and bacteria, and can be used indefinitely

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: Suzana Kristek

Number of pages: 35

Numbers of figures: 10

Number of tables: 0

Number of references: 55

Number of appendices: 0

Original in: Croatian

Keywords: *Botrytis cinerea*, benefit *trichoderma* fungi, ecological production, vine diseases

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. Doc.dr.sc. Jurica Jović, predsjednik
2. Prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor
3. Doc.dr.sc. Toni Kujundžić, član

Thesis deposited at: Library of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek and digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek