

Zaštita rana od rezidbe primjenom vrsta roda *Trichoderma*



**Mreža za razmjenu i prijenos inovativnog znanja između
europskih vinogradarskih regija**



Projekt je financiran sredstvima Europske unije putem programa za istraživanja i inovacije Obzor 2020, ugovor broj 652601.

Impressum

Institut za poljoprivredu i turizam

Zaštita rana od rezidbe primjenom

vrsta roda *Trichoderma*

Projekt Winetwork (Obzor 2020)

Voditelj projekta u Institutu za poljoprivredu i turizam

Marijan Bubola

Izdavač

Institut za poljoprivredu i turizam

Karla Huguesa 8, 52440 Poreč

Autori

Suradnici na projektu WINETWORK

(IFV, IPTPO, SIVE, VINIDEA, FEUGA, ADVID, RLP, EKF)

Autori (Institut za poljoprivredu i turizam)

Kristina Grozić, Marijan Bubola, Danijela Poljuha

Recenzent

Vincenzo Mondello, Univeristé de Reims Champagne-Ardenne (Francuska)

Dizajn i grafičko oblikovanje

Institut Francais de la Vigne et du Vin (IFV), South-West

Kristina Grozić, Institut za poljoprivredu i turizam

Tiskano

Rujan, 2017.

Primjena vrsta roda *Trichoderma* ¹

UVOD

Bolesti drva vinove loze značajno ograničavaju produktivnost i dugovječnost vinograda u većini vinogradarskih regija svijeta. Uzročnici bolesti drva vinove loze (eng. *Grapevine trunk diseases*) su fitopatogene gljive koje napadaju višegodišnje drvenasto tkivo vinove loze, uključujući deblo, krakove i reznike (Baumgartner i sur., 2013). Mnogobrojne vrste gljiva, taksonomski različite pripadnosti, mogu razviti infekciju u višegodišnjem drvu infekcijom rana nastalih rezidbom. Rane od rezidbe podložne su infekciji i nekoliko mjeseci nakon nastanka reza. Značajno je istaknuti da trenutno ne postoje kurativne mjere suzbijanja bolesti drva, pa se suzbijanje ove skupine bolesti temelji na preventivnom suzbijanju, kojim se sprječava ili reducira razvoj novih infekcija. Zaštita rana od rezidbe primjenom bioloških pripravaka jedna je od mjera preventivne zaštite vinograda od bolesti drva. U tu svrhu komercijalno su dostupne vrste roda *Trichoderma* (taksonomska pripadnost, koljeno: Ascomycota), antagonističke vrste gljiva koje se s patogenim vrstama gljiva skupine bolesti drva nadmeću za izvor hrane, a pri tome ne pričinjavaju štete vinovoj lozi.

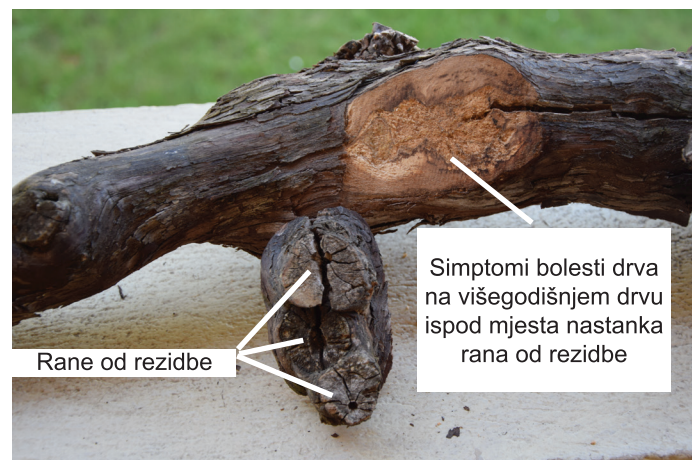


Slika 1. Simptom bolesti drva (eske) na listu sorte Teran (autor fotografije: K. Grozić)

PRAKTIČNA PRIMJENA

Kolonizacija drva vrstama roda *Trichoderma* razlikuje se ovisno o vrsti i soju gljive. Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja, gljive koloniziraju dubinu rane od 1 do 2 cm i time sprječavaju razvoj infekcija uzročnicima bolesti drva. Brzina kolonizacije rane ovisi o fiziološkom stanju vinove loze, klimatskim uvjetima koji pre-

vladavaju tijekom rezidbe i odlikama antagonista. Rezidba se najčešće provodi tijekom zime kada je let spora većine uzročnika bolesti drva najintenzivniji, pa je primjena *Trichoderma* spp. poželjna neposredno nakon rezidbe. Rane od rezidbe mogu biti dulje vrijeme podložne novim infekcijama (do četiri ili više mjeseci), ali najkritičniji period razvoja novih infekcija kreće se dva do osam tjedana nakon rezidbe (Eskalen i sur., 2007, Van Niekerk i sur., 2011).



Slika 2. Razvoj simptoma bolesti drva u višegodišnjem drvu sorte Malvazija istarska (autor fotografije: K. Grozić)

1- Period primjene *Trichoderma* spp.

Primjena *Trichoderma* spp. (u obliku biofungicida) uglavnom nije ograničena klimatskim uvjetima, budući da su aktivne i na temperaturi od 10°C, ali primjenom pri temperaturama višim od 10°C može se povećati brzina kolonizacije rane i samim time učinkovitost preventivnog suzbijanja uzročnika bolesti drva. Pojedina istraživanja ukazuju na veću učinkovitost zaštite rana od rezidbe ukoliko se primjena izvrši pet do šest sati nakon rezidbe (Harvey i sur., 2006, Mutawila i sur., 2016). Valja također istaknuti da je glavna *Trichoderma* spp. osjetljiva na mraz.

Pojedini proizvođači komercijalnih pripravaka (biofungicida) koji sadrže različite *Trichoderma* vrste i sojeve, preporučuju aplikaciju pripravka nakon početka fenofaze suzenja, jer biljni sokovi potiču razvoj antagonista i intenzivniju kolonizaciju rane. Primjena *Trichoderma* spp. neposredno prije pojave kiša može ometati početak kolo-

Primjena vrsta roda *Trichoderma* ²

nizacije i isprati spore pa je provjera vremenske prognoze prije same aplikacije vrlo značajna.

Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja, inokulacija vinove loze vrstama roda *Trichoderma* već prilikom proizvodnje cijepova u rasadniku, uz dodatnu primjenu do dvije godine nakon sadnje i zaštitu rana od rezidbe iz godine u godinu, doprinosi učinkovitosti preventivnog suzbijanja bolesti drva vinove loze (Sosnowski, 2016).

Da bi primjena *Trichoderma* spp. bila učinkovita u preventivnoj zaštiti vinove loze, potrebno je zaštititi što veći udio rana na trsu, a ovisno o ekonomskoj isplativosti pripravci se mogu primijeniti premazivanjem ili strojnom primjenom (prskanje ili raspršivanje).

2- Tehnika primjene *Trichoderma* spp.

Preventivnu zaštitu rana od rezidbe preporuča se započeti u vinogradu starosti godinu dana i nastaviti s primjenom svake sljedeće godine neposredno nakon rezidbe (Sosnowski, 2016). Postoje različite metode primjene pripravaka koji sadrže *Trichoderma* spp., a osnovna podjela je na ručno premazivanje rana i strojnu primjenu prskanjem ili raspršivanjem. Strojna primjena biofungicida u vinogradarstvu obično se provodi

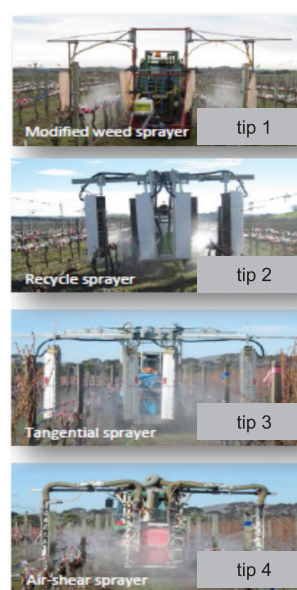
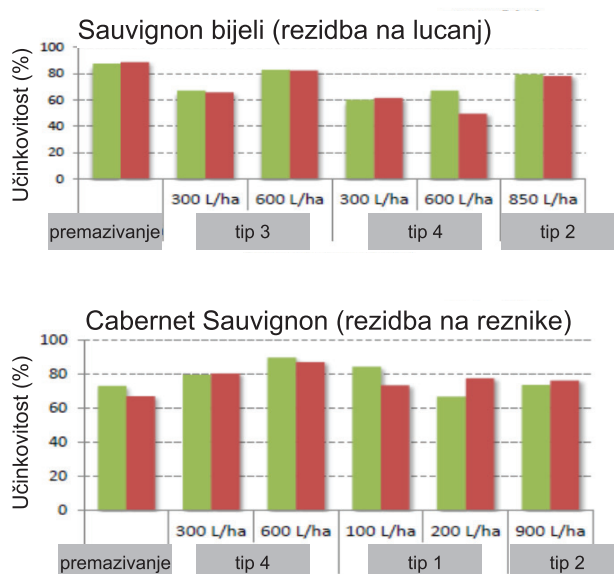
pomoću leđnih ili traktorskih raspršivača (Slika 3).

Ekonomski vrlo učinkovita primjena *Trichoderma* spp., uz visoku pokrivenost tretirane površine, može se postići korištenjem recirkulirajućih tunelskih raspršivača. Nadalje, primjena pripravka uz visoku potrošnju vode, niski pritisak, veći promjer kapljica i sapnica (dizni) usmjerenih na rane od rezidbe daje rezultate koji se mogu izjednačiti s učinkovitošću premazivanja rana (Sosnowski, 2016).

Recirkulirajući tunelski raspršivači postižu različiti postotak pokrivenosti rana od rezidbe, ovisno o modelu raspršivača, korištenom utrošku vode i uzgojnom obliku (Slika 3) (Sosnowski, 2016).

Tijekom pripreme prskalice/raspršivača za primjenu *Trichoderma* spp., potrebno je kvalitetno isprati spremnik i sve ostale dijelove koji su u kontaktu s pripravkom jer bi rezidui fungicida mogli umanjiti aktivnost i visinu populacije *Trichoderma* spp.

Primjenu *Trichoderma* spp. potrebno je izvršiti na sve rane nastale rezidbom ili nekim mehaničkim oštećenjem kako bi se sprječio razvoj novih infekcija uzročnicima bolesti drva.



Slika 3. Metode primjene pripravaka koji sadrže *Trichoderma* spp.: usporedba učinkovitosti primjene različitih raspršivača i ručnog premazivanja u zaštiti rana od rezidbe (eutipoza ■, bo-triosferijsko sušenje ■). (Sosnowski i sur., 2016)



Značajni ograničavajući čimbenici koji mogu utjecati na odabir *Trichoderma* vrsta su cijena i dostupnost pripravka na tržištu te visoka varijabilnost učinkovitosti suzbijanja.

Mnogobrojni čimbenici mogu utjecati na učinkovitost (antagonizam) *Trichoderma* spp. (Di Marco i sur., 2004, Mutawila i sur., 2011a):

- odabir pripravka koji sadrži jednu ili više vrsta roda *Trichoderma*;
- antagonističke karakteristike odabrane *Trichoderma* spp.;
- utjecaj sorte vinove loze na razvoj *Trichoderma* spp.;
- utjecaj fenofaze tijekom koje je izvršena primjena na razvoj *Trichoderma* spp.;
- vremenski period između rezidbe i primjene;
- interakcija vinove loze i *Trichoderma* spp.;
- interakcija *Trichoderma* spp. i okoliša.



NEKOLIKO ČINJENICA O ISTRAŽIVANJU VRSTA RODA *TRICHODERMA*

Jedna od značajnih preventivnih mjera suzbijanja bolesti drva vinove loze je zaštita rana od rezidbe primjenom fungicida (bioloških ili kemijskih), koja može biti značajno ograničena jer dostupnost pripravaka nije jednaka u svim zemljama članicama EU (djelatne tvari nisu registrirane ili nemaju dozvolu primjene za navedenu svrhu), a veliki broj taksonomski različitih uzročnika bolesti drva teško je suzbiti jednom aktivnom tvari. Osim toga, izazov je postići učinkovitu zaštitu rana od rezidbe zbog njihove višemjesečne podložnosti infekciji, a ispunjavanje svih minimalnih uvjeta za učinkovitu primjenu biofungicida vrlo je zahtjevno (materijalno i vremenski) (Rolshausen i sur., 2010).

Integracija biološke i kemijske zaštite vinove loze može omogućiti bolju učinkovitost suzbijanja bolesti drva pri čemu je potrebno uzeti u obzir potencijalan negativan utjecaj kemijskih fungicida na korisne mikroorganizme (*Trichoderma* spp.).

Zaštitom rana nastalih rezidbom ili nekim drugim mehaničkim oštećenjem, primjenom korisnih mikroorganizama ili stvaranjem fizičke barijere, sprječava se razvoj patogena inhibiranjem nji-



Slika 4. Primjena pripravaka koji sadrže vrste roda *Trichoderma* (autor fotografija: N. Burghardt, EKF)

Primjena vrsta roda *Trichoderma* ⁴

hova razvoja (Newsome, 2012). Pojedine vrste roda *Trichoderma* značajni su antagonisti koje imaju svojstvo kompeticije i hiperparazitima te je stoga primjena u biološkoj zaštiti vinograda s obzirom na njihovu visoku učinkovitost sve učestalija. Mehanizam interakcije antagonist-patogen-biljka domaćin (vinova loza) nije u potpunosti razjašnjen i pretpostavlja se da se temelji na proizvodnji spojeva koji inhibiraju rast patogena, kompeticiji s patogenom za hranjive tvari i životni prostor te stimulaciji vegetativnog porasta i otpornosti biljke domaćina (Di Marco i sur., 2004).

Početkom 2000. godine započela je glavna ispitivanja učinkovitosti *Trichoderma* spp. u suzbijanju bolesti drva vinove loze (Tablica 1). Istraživanja su pokazala zadovoljavajuću učinkovitost *Trichoderma* spp. u suzbijanju najučestalijih bolesti drva vinove loze i zaštiti rana od rezidbe u vinogradarskoj i rasadničarskoj proizvodnji. Zahvaljujući širokom spektru djelovanja, *Trichoderma* spp. mogu spriječiti razvoj novih infekcija velikog broja patogena drva u trajanju do nekoliko mjeseci nakon primjene. Jedan od nedostataka primjene živih mikroorganizama u zaštiti vinove loze je njihova podložnost klimatskim uvjetima koji prevladavaju u pojedinoj vinogradarskoj regiji ili proizvodnoj godini, koja posebice utječe na brzinu kolonizacije i dugotrajnost aktivne zaštite rana od rezidbe (Bruez i sur., 2014, Di Marco, 2007).



Slika 5. *Trichoderma* spp. (autor fotografije: A. Konterkamp, RLP Njemačka)

ZAKLJUČNE NAPOMENE

Preventivan učinak *Trichoderma* spp. u suzbijanju bolesti drva može se pospješiti ukoliko se:

- pripravak koji sadrži *Trichoderma* spp. primijenjen što je prije moguće nakon rezidbe,
- *Trichoderma* spp. primijenjen raspršivačem (leđni ili traktorski) uz visoki utrošak vode ili premazivanjem svih rana,
- poštuju upute navedene na pripravku (temperatura zraka u vinogradu tijekom primijene),
- primjena izvrši na suhe rane i prije razdoblja s kišom,
- započinje s primjenom u jednogodišnjem vinogradu i nastavi svake sljedeće godine nakon rezidbe.

Tablica 1. Antagonističke gljive i bakterije primijenjene u preventivnom suzbijanju bolesti drva

Botriosferijsko sušenje	Eutipoza	Eska
<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Trichoderma atroviride</i> , Benzimidazol-otporni sojevi. Primjena: zaštita rana od rezidbe.	<i>Trichoderma</i> spp., <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Trichoderma atroviride</i> , Benzimidazol-otporni sojevi. Primjena: degradacija toksičnih metabolita, zaštita rana od rezidbe.	<i>Trichoderma</i> spp., <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Trichoderma atroviride</i> , <i>Trichoderma longibrachiatum</i> , Benzimidazol-otporni sojevi. Primjena: zaštita rana od rezidbe.
<i>Bacillus subtilis</i> EE izolat Primjena: zaštita rana od rezidbe.		
		<i>Pythium oligandrum</i> Primjena: induciranje otpornosti kolonizacijom korijena.

Aloi C., G. Bigot G., P.P. Bortolotti P.P., M. Cotromino M., S. Di Marco S., F. Faccini F., A. Montermini A., L. Mugnai L., R. Nannini R., F. Osti F., F. Reggiori F., (2014). Remedier® (*Trichoderma Asperellum* e *Trichoderma Gamsii*): nuova opportunità di contenimento del complesso del mal dell'Esca della vite. Risultati di quattro anni di sperimentazione in Italia. Atti Giornate Fitopatologiche. (2014), 2, 363-372

Baumgratner K. (2013) Development of early-detection technologies for trunk diseases of grape. OECD Theme 2. Sustainability in Practice.

Bertsch C., M. Ramírez-Suero, M. Magnin-Robert, P. Larignon, J. Chong, E. Abou-Mansour, A. Spagnolo, C. Clément and F. Fontaine (2013) Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood (review) Plant Pathology, 62, 243–265.

D'Enjoy G., Nesler A., Frati S. (2016) *Trichoderma atroviridae* SC1 is a tool for life-long protection of grape against trunk diseases Natural Products & Biocontrol.

Di Marco S., F. Osti, A. Cesari (2004) Experiments on the control of esca by *Trichoderma* Phytopathol. Mediterr., 43, 108–115

Eskalen A., A.J. Feliciano, and W.D. Gubler. (2007) Susceptibility of grapevine pruning wounds and symptom development in response to infection by *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora*. Plant Dis. 91:1100-1104

Harvey I.C., J.S. Hunt (2006) Penetration of *Trichoderma harzianum* into grapevine wood from treated pruning wounds, New Zealand Plant Protection, 59:343-347

John S., Wicks T.J., Hunt J.S., Scott E.S. (2008) Colonisation of grapevine wood by *Trichoderma harzianum* and *Eutypa lata*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 14, 18–24.

Larignon P. (2004) La constitution d'un groupe international de travail sur les maladies du bois et les premiers résultats des expérimentations menées par l'ITV en laboratoire et en pépinières Les Maladies du Bois en Midi-Pyrénées. 24-27.

Longa C.M.O., Pertot I., Tosi S. (2008) Ecophysiological requirements and survival of a *Trichoderma atroviride* isolate with biocontrol potential. J Basic Microbiol. 48:269–277

Mondello V. (2016) BCAs used to control GTDs

(Esca, Botryosphaeria and Eutypa dieback) WInetwork project SWG meeting minutes.

Mugnai L. (2012) What preventative measures could growers take to prevent the entry of GTD agents into a vineyard? –Presentation at Wineskills Masterclass on Grapevine Trunk Disease.

Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert (2015) Development of benzimidazole resistant *Trichoderma* strains for the integration of chemical and biocontrol methods of grapevine pruning wound protection BioControl, 60:387-399

Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert (2016) Optimisation of time of application of *Trichoderma* biocontrol agents for protection of grapevine pruning wounds. Australian Journal of Grape and Wine Research 22, 279–287

Mutawila C., P.H. Fourie, F. Halleen, L. Mostert (2011) Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by *Trichoderma* species against trunk pathogens Phytopathol. Mediterr. 50 (Supplement), S264–S276

Newsome J. (2012) Grapevine Trunk Disease, A review.

Rolshausen P. E., J. R. Úrbez-Torres, S. Rooney-Latham, A. Eskalen, R. J. Smith, W. D. Gubler (2010) Evaluation of pruning wound susceptibility and protection against fungi associated with grapevine trunk diseases Am. J. Enol. Vitic. 61:1

Sosnowski M., D. Mundy, P. Vanga, M. Ayres (2016) Practical management of grapevine trunk diseases NZ wine project outcome.

Van Niekerk J., W. Bester, F. Halleen, P. Crous, and P. Fourie (2011) The distribution and symptomatology of grapevine trunk disease pathogens are influenced by climate. Phytopathologia Mediterranea 50 (4), 98–111

Forscher testen Mittel gegen «Rebenkiller»-Pilz Esca

<http://www.rheinpfalz.de/lokal/aus-dem-sued-westen/artikel/forscher-testen-mittel-gegen-rebenkiller-pilz-esca/>

G. E. Harman, Cornell University. <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>

Dodatne informacije

www.winetwork-data.eu



U izradi ovog rada sudjelovali su svi partneri projekta WINETWORK, a hrvatsku su verziju dodatno prilagodili i uredili: Kristina Grozić, Marijan Bubola i Danijela Poljuha.

Posebno se zahvaljujemo na suradnji članu znanstvene grupe projekta WINETWORK: Vincenzo Mondello.