

# Učinkovitost različitih mjera zaštite u suzbijanju Botrytis cinerea Pers. i utjecaj na urod te kakvoću grožđa i mošta cv. Cabernet sauvignon (Vitis vinifera L.)

---

Kujundžić, Toni

Doctoral thesis / Disertacija

2021

*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:151:342565>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-08**



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](#)



REPUBLIKA HRVATSKA  
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

**Toni Kujundžić, mag. ing. agr.**

**UČINKOVITOST RAZLIČITIH MJERA ZAŠTITE U SUZBIJANJU  
*Botrytis cinerea* Pers. I UTJECAJ NA UROD TE KAKVOĆU GROŽĐA  
I MOŠTA cv. CABERNET SAUVIGNON (*Vitis vinifera* L.)**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, 2021.

REPUBLIKA HRVATSKA  
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

**Toni Kujundžić, mag. ing. agr.**

**UČINKOVITOST RAZLIČITIH MJERA ZAŠTITE U SUZBIJANJU  
*Botrytis cinerea* Pers. I UTJECAJ NA UROD TE KAKVOĆU GROŽĐA  
I MOŠTA cv. CABERNET SAUVIGNON (*Vitis vinifera* L.)**

- Doktorska disertacija -

Osijek, 2021.

REPUBLIKA HRVATSKA  
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

**Toni Kujundžić, mag. ing. agr.**

**UČINKOVITOST RAZLIČITIH MJERA ZAŠTITE U SUZBIJANJU  
*Botrytis cinerea* Pers. I UTJECAJ NA UROD TE KAKVOĆU GROŽĐA  
I MOŠTA cv. CABERNET SAUVIGNON (*Vitis vinifera* L.)**

- Doktorska disertacija -

**Mentor: prof. dr. sc. Karolina Vrandečić**

**Povjerenstvo za ocjenu:**

1. dr. sc. Vladimir Jukić, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednik
2. dr. sc. Mato Drenjančević, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član
3. dr. sc. Anita Pichler, izvanredna profesorica Prehrambeno - tehnološkog fakulteta u Osijek, član

Osijek, 2021.

REPUBLIKA HRVATSKA  
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

**Toni Kujundžić, mag. ing. agr.**

**UČINKOVITOST RAZLIČITIH MJERA ZAŠTITE U SUZBIJANJU  
*Botrytis cinerea* Pers. I UTJECAJ NA UROD TE KAKVOĆU GROŽĐA  
I MOŠTA cv. CABERNET SAUVIGNON (*Vitis vinifera* L.)**

- Doktorska disertacija -

Mentor: prof. dr. sc. Karolina Vrandečić

**Javna obrana doktorske disertacije održana je 10. ožujka 2021. godine pred**

**Povjerenstvom za obranu:**

1. dr. sc. Vladimir Jukić, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednik
2. dr. sc. Mato Drenjančević, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član
3. dr. sc. Anita Pichler, izvanredna profesorica Prehrambeno - tehnološkog fakulteta Osijek, član

Osijek, 2021.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Doktorska disertacija

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Poslijediplomski sveučilišni (doktorski) studij: Poljoprivredne znanosti

Smjer: Zaštita bilja

UDK:

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Poljoprivreda

Grana: Fitomedicina

Učinkovitost različitih mjera zaštite u suzbijanju *Botrytis cinerea* Pers. i utjecaj na urod te kakvoću grožđa i mošta cv. Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera* L.)

Toni Kujundžić, mag. ing. agr.

Disertacija je izrađena na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: prof. dr. sc. Karolina Vrandečić

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati učinkovitost različitih oblika zaštite na pojavu i intenzitet zaraze s *B. cinerea* na kultivaru Cabernet sauvignon u vinogorju Đakovo te utvrditi razlike u kvalitativnim i kvantitativnim karakteristikama grožđa koje se javljaju pri primjeni različitih oblika zaštite s obzirom na zarazu uzrokovanu sivom plijesni. Istraživanje je provedeno u periodu od tri godine na Vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Od kemijskih sredstava korišteni su Teldor SC 500 i Switch 62,5 WG, od bioloških preparata korišteni su preparati Trichodex WP i Serenade. Agro-ampelotehničke mjere obuhvaćale su: uklanjanje bazalnih listova i zaperaka, propuhivanje grozdova i primjenu kalcijevog klorida. Prosječan urod po trsu u 2015. godini iznosio je 1,18 kg, u 2016. godini 5,32 kg, a 2017. godini 3,18 kg. Prosječan sadržaj šećera u moštu bio je od 87,96 °Oe (2016.) do 97 °Oe (2017.). Ukupna kiselost mošta kretala se od 5,29 g/L (2015.) do 11,13 g/L (2016.). Prosječna vrijednost pH mošta bila je u rasponu od 3,18 (2016.) do 3,55 (2015.). Sadržaj ukupnih polifenola bio je od 442,42 mg/L (2015.) do 848,05 mg/L (2017.). Najmanji sadržaj ukupnih antocijana iznosio je 127,60 mg/L (2015.), a najveći 328,14 mg/L (2017.). Najmanja antioksidacijska aktivnost utvrđena je u 2015. godini (7,90 mg GAE/100 g), a najveća u 2017. godini (28,45 mg GAE/100 g). Najmanji postotak polimerne boje iznosio je 5,03 % (2017.), a najveći 21,28 % (2015.). Ocjena bolesti odrađena je prema EPPO skali (2001.) te je prosječna ocjena u 2015. godini iznosila 3,96. U 2016. godini utvrđena je sporadična prisutnost bolesti (1,25) na jednom tretmanu (konvencionalna zaštita botriticidima), dok u 2017. godini kod svih tretmana prisutnost bolesti nije zabilježena. Analizom varijance nije utvrđen statistički značajan utjecaj tretmana na ispitivane parametre niti je interakcija tretmana i godine bila značajna, osim u slučaju razlika u urodu kod tretmana skup ampelotehničkih mjera i primjena kalcijevog klorida za 2016. i 2017. godinu. Utvrđen je statistički značajan utjecaj godine na sve ispitivane parametre.

Broj stranica: 126

Broj slika i grafikona: 35

Broj tablica: 37

Broj literaturnih navoda: 207

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Botrytis cinerea*, biofungicidi, botriticidi, defolijacija, vinova loza

Datum obrane: 10. ožujka 2021.

Povjerenstvo za obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Vladimir Jukić – predsjednik

2. izv. prof. dr. sc. Mato Drenjančević – član

3. izv. prof. dr. sc. Anita Pichler – član

Disertacija je pohranjena u: Nacionalna i sveučilišna knjižnica u Zagrebu, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Sveučilište u Zagrebu, Sveučilište u Rijeci, Sveučilište u Splitu

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

PhD thesis

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Postgraduate university study: Agricultural sciences

Course: Plant protection

UDK:

Scientific Area: Biotechnical Sciences

Scientific Field: Agriculture

Branch: Fitomedicine

### The Effectiveness of Various Protection Means in Suppression *Botrytis cinerea* Pers. and Their Influence on Grape Yield and Must Quality cv. Cabernet Sauvignon ( *Vitis vinifera* L.)

Toni Kujundžić, M.Eng.Sc., Agriculture

Thesis performed at Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Supervisor: PhD Karolina Vrandečić, full professor tenure

The aim of this study was to examine the effectiveness of different forms of protection on the occurrence and intensity of *B. cinerea* infection on the cultivar Cabernet Sauvignon in the Đakovo vineyards and to determine the differences in qualitative and quantitative parameters that occur when applying different forms of protection with regard to infection caused by gray mold. The research was conducted for a period of three years at a Viticulture and winemaking experimental station Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek. Fungicides that were used were Teldor SC 500 and Switch 62.5 WG, and biofungicides Trichodex WP and Serenade. Ampelotechnical measures include: removal of basal leaves and cotyledons, blowing of clusters and application of Calcium Chloride. The average value of yield per vine in 2015 was 1.18 kg, in 2016 5.32 kg, and in 2017 3.18 kg. The average sugar content in the must ranged from 87.96 °Oe (2016) to 97 °Oe (2017). Total acidity was measured in the range of 5.29 g / L (2015) to the highest measured 11.13 g / L (2016). For the pH level, the average value ranged from 3.18 (2016) to 3.55 (2015). Total polyphenols ranged from 442.42 mg / L (2015) to 848.05 mg / L (2017). The lowest content of total anthocyanins was 127.60 mg / L (2015), and the highest was 328.14 mg / L (2017). In terms of antioxidant activity, the lowest average content of 7.90 mg / 100g (GAE) was determined in 2015. The highest average antioxidant activity was measured in 2017. (28.45 mg / 100g GAE). The highest average value of polymer color was 5.03% (2017), and the highest was 21.28% (2015). The assessment of the disease was conducted according to the EPPO scale (2001). Average presence of the disease in 2015 was 3.96. In 2016 presence of the disease (1.25) was determined in one treatment (conventional protection with botryticides), while in 2017, the presence of the disease was not recorded in all treatments. ANOVA (p <0.01) revealed a statistically significant difference between the treatments a set of ampelotechnical measures and calcium chloride (for 2016 and 2017), while between other treatments there was no significant difference in grape yield or interaction between treatments and year. A statistically significant influence of the year on all examined treatments was determined.

**Number of pages:** 126

**Number of figures:** 35

**Number of tables:** 47

**Number of references:** 207

**Original in:** croatian

**Key words:** *Botrytis cinerea*, biofungicides, botrycides, defoliation, grapevine

**Date of the thesis defense:** March 10, 2021

#### Reviewers:

1. PhD Vladimir Jukić, associate professor – president
2. PhD Mato Drenjančević, associate professor – member
3. PhD Anita Pichler, associate professor – member

**Thesis deposited in:** National and University Library, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, University of Zagreb; University of Rijeka; University of Split

## KAZALO

1. UVOD .....	1
1.1. Pregled literature .....	3
1.1.1. Uzročnik sive plijesni .....	3
1.1.2. Agro-ampelotehničke mjere suzbijanja <i>B. cinerea</i> .....	9
1.1.3. Biološke mjere suzbijanja <i>B. cinerea</i> .....	15
1.1.4. Kemijske mjere suzbijanja <i>B. cinerea</i> .....	18
1.2. Ekološki uvjeti proizvodnje.....	23
1.3. Karakteristike podloge, kultivara i uzgojnog oblika .....	26
1.4. Sastav grožđa i mošta .....	28
1.5. Cilj istraživanja i hipoteze .....	36
2. MATERIJAL I METODE RADA .....	37
2.1. Pedološke karakteristike lokacije .....	37
2.2. Klimatske prilike istraživanog područja .....	40
2.3. Postavljanje pokusa .....	48
2.4. Pokazatelji kvalitete mošta .....	53
2.5. Statistička analiza podataka.....	56
3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA .....	58
3.1. Urod .....	58
3.2. Broj grozdova po trsu .....	61
3.3. Masa grozda .....	63
3.4. Sadržaj šećera u moštu.....	65
3.5. Ukupna kiselost mošta .....	68
3.6. pH mošta.....	71
3.7. Sadržaj ukupnih polifenola .....	74
3.8. Sadržaj ukupnih antocijana.....	77
3.9. Antioksidacijska aktivnost.....	80
3.10. Polimerna boja .....	83
3.11. Ocjena bolesti.....	86
4. RASPRAVA.....	90
5. ZAKLJUČCI .....	104
6. LITERATURA.....	106
7. SAŽETAK .....	124
8. SUMMARY .....	125



## 1. UVOD

Vinogradarstvo je važna grana poljoprivredne proizvodnje te uz vinarstvo baštini dugu tradiciju u Republici Hrvatskoj. Proizvodnja grožđa i vina u Hrvatskoj odvija se u četiri vinogradarske regije (NN 32/19): Slavonija i hrvatsko Podunavlje, Hrvatska Istra i Kvarner, Dalmacija te Središnja bregovita Hrvatska.

Prema podacima iz Vinogradarskog registra Republike Hrvatske u 2019. godini vinogradi su zauzimali 19 022,09 ha, a površine pod kultivarom Cabernet sauvignon u svim regijama iznosile su 681,80 ha, dok se u vinogradarskoj podregiji Slavonija sorta uzgajala na 103,41 ha (APPRRR, 2019.).

U svijetu postoji veliki broj kultivara vinove loze koji se koriste u različitim oblicima na različite načine. Prema podacima Međunarodne organizacije za vinovu lozu i vino (OIV, 2019.) u 2018. godini vinogradarska proizvodnja odvijala se na 7,5 milijuna hektara. Španjolska zauzima 14 % svjetskih površina vinograda, prati je Kina s 11 % te Francuska s 10 % i Italija s 9 %. Globalna proizvodnja grožđa iznosi više od 77,8 milijuna tona godišnje, a najviše se proizvodi u Kini - 11,7 mil. tona, zatim u Italiji - 8,6 mil. tona, u Sjedinjenim Američkim Državama - 6,9 mil. tona te u Španjolskoj - 5 mil. tona (OIV, 2019.).

Prema OIV-u na više od 1/3 ukupnih vinogradarskih površina zasađeno je 13 kultivara vinove loze, dok su 33 kultivara vinove loze posađena na 50 % od ukupnih površina u svijetu. Budući da se neki kultivari uzgajaju u mnogim zemljama nazivaju se i "međunarodni kultivari". Jedan od vodećih međunarodnih kultivara te ujedno i najrašireniji vinski kultivar vinove loze je Cabernet sauvignon koji zauzima 4 % od ukupnih svjetskih vinogradarskih površina, odnosno uzgaja se na 341 000 ha (OIV, 2017.). Prinosi Cabernet sauvignona variraju u rasponu između 2 do 14 t/ha, ovisno o klimatskim i uzgojnim uvjetima.

Redoviti problem koji se javlja kod svih sorata vinove loze u proizvodnji su bolesti. *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel je jedna od najznačajnijih i ekonomski važnih bolesti na vinovoj lozi. Konidijski oblik (*Botrytis cinerea* Pers. : Fr.) pričinjava značajne štete u proizvodnji. U početku se gljiva hrani na saprofitski način na ostacima cvjetnih kapica, te kada vremenski uvjeti postanu povoljni prelazi u parazitski način ishrane. Najveće štete nastaju ranom zarazom cvata i one su ujedno i glavni izvor zaraze u narednim fazama rasta i razvoja (Pearson i Goheen, 1988.). Kultivar Cabernet sauvignon bere se i do 45 dana prije u mediteranskom dijelu Republike Hrvatske u odnosu na kontinentalni dio. U mediteranskom dijelu pojava sive plijesni je sporadična te su gubitci od ove bolesti

minimalni (3 do 5 %), dok u kontinentalnom dijelu siva plijesan može nanijeti štete od 50 do 60 % (Topolovec–Pintarić., 2000.). Godišnje se u svijetu izgubi od 10 do 100 milijardi dolara zbog šteta koje uzrokuje *B. cinerea* (Boddy, 2016.).

Prema Genescope-u (2002.) botriticidi koji se koriste za kontrolu *B. cinerea* koštali su oko 540 milijuna eura u 2001. godini, što je predstavljalo oko 10 % globalnog tržišta svih fungicida. Proizvodnja vinskih i stolnih kultivara vinove loze zahtjeva potrošnju od 50 % vrijednosti ukupnog tržišta botriticida, pri čemu se na kulture iz porodice *Solanaceae*, *Cucurbitaceae*, jagode te ukrasno bilje troši tek 5 – 9 % (Steiger, 2007.).

Zaštita od *B.cinerea* u proizvodnji grožđa u prosjeku predstavlja 9 % ukupne količine potrošenih sredstava za zaštitu bilja; 33 % otpada na *Plasmopara viticola*; 22 % na *Uncinula necator*; 16 % na insekticide i 14 % na herbicide. Promatrajući troškove zaštite od sive plijesni (svi usjevi, sve zemlje) ona u svijetu iznosi oko 40 eura/ha, ali gledajući pojedine kulture proizvođač će platiti manje ili više ovisno o vrijednosti usjeva, zemlji i vrsti proizvoda koji uzgaja. Za kontrolu iste bolesti raspon troškova znatno varira: između 15 eura/ha za bundevu u Kini, 50 eura/ha za zaštitu rajčice u Španjolskoj, 80 eura/ha za zaštitu jagoda u SAD-u, 100 eura/ha za zaštitu grožđa u Francuskoj te više od 130 eura/ha za zaštitu citrusa u Japanu (Steiger, 2007.).

Iz navedenih podataka vidljiv je značaj i šteta koju uzrokuje *B. cinerea* u poljoprivrednoj proizvodnji. Protiv pojave sive plijesni vinogradari se bore u sklopu redovitih mjera zaštite vinove loze.

Mjere i postupci koji se koriste za suzbijanje sive plijesni mogu se podijeliti na kemijske, ampelotehničke i biološke mjere. Ovo istraživanje imalo je za cilj utvrditi utjecaj navedenih mjera zaštite u suzbijanju *B.cinerea* te utjecaj na prinos grožđa i pokazatelje kvalitete mošta (količina šećera u moštu, pH mošta, ukupna kiselost mošta, sadržaj ukupnih polifenola, sadržaj antocijana u bobici, antioksidacijska aktivnost, polimerna boja).

## 1.1. Pregled literature

### 1.1.1. Uzročnik sive plijesni

Rod *Botrytis* jedan je od prvih opisanih rodova gljiva, Micheli ga je opisao 1729. De Bary (1866., 1884., 1886.) je bio uvjeren da su *Botrytis cinerea* i *Botryotinia* (Peziza) *fuckeliana* genetski povezane. Na temelju pretpostavki 1864. nazvao ju je *Peziza fuckeliana*, ali bez ikakvog opisa, prikazavši je kao savršeni apotecijski stadij *B. cinerea* Pers. Fuckel (1869.) je *P. fuckelianu* stavio u rod *Sclerotinia*, ali ju je nakon toga Whetzel 1945. prebacio u rod *Botryotinia*. Dugi niz godina je *P. fuckeliana* bila krivo deklarirana zbog nedostatka valjanog materijala. Gregory (1949.) je opisao materijal iz apotecija; sklerocij i makrokonidije prema de Bary-u i pohranio ih u Britanski muzej (Natural History) u Londonu te ponovno uspostavio valjanost de Baryjeva imena. Godine 1953. Groves i Loveland potvrđuju Gregoryeve tvrdnje, nakon što su utvrdili genetsku povezanost između *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel i *Botrytis cinerea* Pers. uspoređujući ih sa pohranjenim materijalom u Britanskom muzeju (Jarvis, 1977.). Postoje dva stadija u kojima se pojavljuje ova gljiva, nespolni (anamorfni) stadij *Botrytis cinerea* Pers. i spolni (teleomorfni) stadij *Botryotinia fuckeliana*. Prema Fournier i sur. (2005.) *B. cinerea* čine dvije filogenetske vrste: *B. cinerea sensu stricto* i *B. pseudocinerea*. Populacija *Botrytis cinerea* s.s., je najučestalija i najznačajnija.

Zapisi o gljivičnim bolestima iz antičkog ili srednjovjekovnog doba su vrlo rijetki te su po modernim standardima nepotpuni i neprecizni. U starim antičkim zapisima spominje se truljenje bobica u vinogradima pa je za pretpostaviti da se radi o štetama izazvanim gljivičnim infekcijama. Svega nekoliko povijesnih zapisa upućuje na očite gljivične bolesti kod grožđa (rimskog Plinija Starijeg u prvom stoljeću ili kasnije Konrada von Mengenbergera oko 1350. godine u Njemačkoj). Infekcije s *B. cinerea* su prisutne od davnina, a na grožđu su postale ekonomski značajne sa negativnim utjecajem na prinos i kvalitetu tek kod plantažnog uzgoja visokorodnih kultivara vinove loze. Intenzivna proizvodnja grožđa i zahtjevi proizvođača za većim sadržajem šećera dovode do pomicanja vremena berbe, što predstavlja okidač za širenje *B. cinerea* te se on iz saprofitske faze nastanjuje na povoljniji medij. Klimatski uvjeti pogoduju širenju bolesti *B. cinerea* te je ona danas jedna od najozbiljnijih prijetnji za svakog vinogradara. Slično vrijedi i za druge kulture koje napada ovaj uzročnik bolesti (Rosslenbroich i Stuebler, 2000.).

*B. cinerea* parazitira veliki broj biljnih vrsta (Cvjetković, 2010., Yunis i Elad, 1989.). Elad i sur. (2016.) ističu da *Botrytis* vrste (*B. calthae*, *B. convoluta*, *B. elliptica*, *B. galanthina*, *B. hyacinthi*, *B. narcissicola*, *B. paeoniae*, *B. porri*, *B. tulipae* i *B. cinerea*) napadaju oko 596 rodova različitih biljaka koje predstavljaju više od 1400 biljnih vrsta. *B. cinerea* parazitira više od 220 biljnih vrsta koje pripadaju u više od 170 rodova kultiviranih biljaka (Walker i sur., 2015.). Zaražava različite dijelove domaćina, u različitim fazama razvoja kod različitih vrsta od sadnica do faze zriobe (Gullino, 1992.).

Prije se smatralo da *B. cinerea* djeluje kao nekrotrof, ali Elad i sur. (2016.) ističu da može djelovati i kao endofit. Konidije *B. cinerea* se najčešće prenose vjetrom, dok su rjeđe pojave širenja insektima i kišom. Ozljede nastale od biotskih (Slika 1.) i abiotskih čimbenika mogu olakšati zarazu. *B. cinerea* inficira vinovu lozu (Viret i sur., 2004.), najčešće prodiranjem micelija kroz pore ili ozljede, ali hife mogu i mehanički probiti kutikulu uz pomoć infekcijskog klina kojim prodire kroz kutikulu i epidermu pritiskom od 7 bara (Cvjetković, 2010.).



Slika 1. Ozljede na bobicama nastale ishranom osa i stršljena olakšavaju zarazu parazitnim gljivama (Fotografirao T. Kujundžić)

Spolni stadij je rijedak i nema značajniju ulogu u širenju parazita, dok je daleko prisutniji i štetniji spolni stadij (*Botrytis cinerea*) koji se najčešće i koristi prilikom opisa patogena. Naziv siva plijesan povezan je s karakterističnom sivom i sivkastosmeđom bojom makrokonidija. Prema Cvjetković (2010.) gljiva može napasti sve nadzemne dijelove vinove loze (pupove, listove, internodije, vrhove mladica, grozdiće u cvatnji, grozdove, peteljke). Može zaraziti stabljiku, cvjetove, lišće, plodove, a može se naći i u sjemenkama (Yahaya i

sur. 2015.). Zrela i starija tkiva su najosjetljivija. Štete mogu nastati tijekom skladištenja i prijevoza proizvoda nakon žetve ili berbe na naizgled zdravim usjevima (Dean i sur., 2012.).

Hranidbene preferencije *B. cinerea* mogu se razlikovati s obzirom na prisutnost izvora ugljika (glukoza, fruktoza i saharoza) i dušika (Cotoras i sur., 2009.). Uspostavljanjem kontakta između biljke domaćina i parazita, konidija razvija infektivnu strukturu nazvanu apresorij koji mehanički prodire kroz kutikulu (Rolke i sur., 2004.). Novoformirani apresorij izlučuje litičke enzime (kutinaze i lipaze), kako bi se probio kroz kutikulu i vanjski epitelni zid.

Primarne zaraze kreću u rano proljeće iz oblika koji služe za prezimljavanje, a mogu se nalaziti u samom vinogradu ili na drugim biljkama u okolini. Prezimljavanje sive plijesni moguće je u formi micelija i sklerocija na biljnim ostacima i/ili na trsu i rozgvi ispod kore te na zaraženim bobicama i grozdovima (Slika 2.) preostalim iz prethodne godine (Jarvis, 1980., Dewey i Grant-Downton, 2016.). Sklerocije su nakupine micelnog tkiva i bogate su rezervnim tvarima potrebnim za prezimljavanje. Klijanjem sklerocija može nastati direktno infektivni micelij ili konidijski stadij (Topolovec–Pintarić., 2000.) ili se formiraju apoteciji s askusima i askosporama.



Slika 2. Zaraženi grozdovi preostali iz prethodne godine (Fotografirao T. Kujundžić)

---

Prema Dorado i sur. (2001.). *B.cinerea* se nalazi i u tlu, ali nema značajniju ulogu u ostvarivanju infekcije

Konidije se naseljavaju na vanjske cvjetne dijelove prije otvaranja cvjetova, a najčešće u samoj cvatnji te ostvaruju zarazu primarno u zoni cvata (McClellan i Hewitt, 1973., Ciliberti i sur., 2015.). Ukoliko se ostvari zaraza prije i tijekom cvatnje, zaraženi cvjetovi propadaju te se zaraza ne širi dalje zbog obrambenih reakcija biljke domaćina (Cvjetković, 2010.). Takva pojava je rijetka zbog specifičnih uvjeta koji trebaju biti ispunjeni (prohladno ili vlažno vrijeme u cvatnji) i obično ne izaziva značajnije štete. Zaraza se može ostvariti i na ostacima odumrlih cvjetnih dijelova unutar grozda, preko bobice tijekom ozrnjavanja do faze šare te u zriobi (Sarig i sur., 1996.). S obzirom na vrijeme nastanka zaraze sivom plijesni (Kišpatić i Maceljski., 1991.) razlikujemo zelenu (prije faze šare) i kiselu plijesan (zaraza nastaje krajem mjeseca srpnja). Pojava zelene plijesni rijetko se događa na bobicama dok su još zelene. Takve bobice krajem lipnja i početkom srpnja poprimaju smeđu boju te se na njima pojavljuje paučinasta prevlaka konidija. Najčešće se šire iz unutrašnjosti grozda prema periferiji (Cvjetković, 2010.). Kisela plijesan javlja se najčešće krajem srpnja s karakterističnom smeđom bojom bobica uz promjenu konzistencije (omekšavaju). Na takvim bobicama pojavljuje se siva prevlaka i u njima prestaje nakupljanje šećera; takve bobice ostaju kisele do trenutka berbe (Kišpatić i Maceljski, 1991.).

Ukoliko nisu oštećene, zelene bobice ne predstavljaju povoljan supstrat za realizaciju infekcije. Voštana prevlaka sprječava zadržavanje vlage te na bobicama nema izvora hrane. Iz tog razloga patogen se nalazi u fazi mirovanja. Micelij najčešće ostaje pritajen na peteljčicama grozdova za vrijeme fenofaze zatvaranja grozdova; čak do dva mjeseca. Rastom bobica, voštana prevlaka postaje tanja i ispucala što omogućava lakše ostvarivanje infekcije. Kako bi se formirali sporonosni organi potreban je period vlaženja uz odgovarajuće temperature, a optimalne iznose 20 do 23 °C (Steel i sur., 2011.). Kada sadržaj šećera u bobici prijeđe 40 °Oe, bobica postaje povoljan supstrat za ishranu patogena. Kritičan period slijedi do trenutka berbe, ukoliko su ispunjeni prethodno navedeni uvjeti (Cvjetković, 2010.).

Prema Webb (1919.) optimalni pH za klijanje konidija je u rasponu od 3,0 do 7,0, iako micelij može rasti i u rasponu pH od 2,0 do 8,5.

Istraživanja provedena kod vrsta roda *Vitis*, pokazala su da vinova loza koristi prirodna svojstva pokožice i drugih organa koji služe kao obrambene strukture, a ta svojstva su

sljedeća: povećan broj staničnih slojeva epiderme, izraženija kutikula, zadebljali voštani sloj, smanjeni broj puči i povećana gustoća dlačica na naličju lista (Gabler i sur., 2003.). Također je zabilježena aktivacija induciranih obrambenih mehanizama tijekom infekcije kako bi se smanjila degradacija pektina uzrokovana gljivičnim napadom (De Lorenzo i sur., 2001.) uz oksidativni utrošak i akumulaciju fitoaleksina u stanicama bobica i lišća (trans-resveratrol i  $\alpha$ -viniferin) potrebnih za aktivaciju obrane (Verhagen i sur., 2011.). Strukturne promjene povezane su s gljivičnim primarnim infekcijskim procesima (stvaranjem apresorija i penetracijom u biljno tkivo), dok su reakcije na to povezane s kasnijim procesima infekcije. Kritični trenutak za primarne zaraze je u vrijeme cvatnje, zbog smanjenog sadržaja resveratrola koji djeluje protektivno (Keller i sur., 2003.).

Štete izazvane sivom plijesni možemo podijeliti na izravne i neizravne. U izravne štete spadaju otpadanje bobica i truljenje grozdova koje na nekim osjetljivim kultivarima vinove loze može biti jako veliko. Neizravne štete, utječu na kemijski sastav plodova i otežavaju vinifikaciju (Kišpatić i Maceljski, 1991.).

Prema Topolovec-Pintarić (2000.) preradom grožđa zaraženog s *B. cinerea*, štete posljedično mogu nastati i u procesu vinifikacije. Zoecklein (2008.) ističe da mošt dobiven iz grožđa zaraženog sa sivom plijesni redovito ima manji sadržaj amonijskog dušika, piridoksina i tiamina te je otežana normalna fermentacija uz mogućnost nastanka nepoželjnog sumporovodika.

Infekcija sivom plijesni uzrokuje značajne metaboličke promjene u plodovima. Dolazi do povećanja razine prolina, glutamata, arginina i alanina nakupljenih u tkivima, praćenih proizvodnjom glicerola, glukonske i jantarne kiseline dobivenih razgradnjom fenilpropanoida (ciklus sinteze flavonoida- antocijanina), flavonoidnih spojeva i saharoze. Pokazalo se da je heksokinazna aktivnost potrebna za razvoj *B. cinerea* uvjetovana prisutnošću jednostavnih šećera (Hong i sur., 2012.). U većini organizama glukoza je najvažniji supstrat heksokinaze, a glukoza-6-fosfat je njen najvažniji proizvod. Heksokinaza ima sposobnost prijenosa anorganske fosfatne skupine iz ATP-a na supstrat, čime se stvaraju povoljni energetske uvjeti za normalan razvoj patogena.

Osim štetnih djelovanja, *B. cinerea* može biti koristan ako se pojavi u obliku „plemenite plijesni“. Ukoliko su povoljni vremenski uvjeti za razvoj, kao i visoka relativna vlažnost zraka uz optimalnu temperaturu, javlja se štetan oblik sive plijesni. Ako su vremenski uvjeti nepovoljni za razvoj sive plijesni, izrazito niska temperatura uz relativno nisku vlažnost

zraka, tada *B. cinerea* uzrokuje promjene u sastavu bobica koje su poželjne za proizvodnju vina visoke kakvoće.

Naime, uslijed nepovoljnih uvjeta, gljiva svojim prodiranjem stvara veliki broj otvora preko kojih bobice gube vodu, čime se povećava koncentracija šećera. Radovanović (1970.) ističe kako je za izgradnju 1 g suhe tvari gljive *B. cinerea* potrebno oko 10 g šećera. Isti autor navodi kako dolazi do promjena u omjeru šećera i vode i do značajne potrošnje organskih kiselina grožđa prilikom energetskih procesa izgradnje micelija. Posljedično potrošnja kiselina u grožđu je dva puta veća u odnosu na šećere što omogućuje smanjenje ukupne kiselosti, povećanje sadržaja šećera i pH vrijednosti.

*B. cinerea* je specifičan patogen, jer pod određenim klimatskim uvjetima može biti koristan, uzrokujući plemenitu trulež u bobicama grožđa koje se koriste za proizvodnju slatkih vina (Sauternes, Tokaj). Najprestižnija vina dobivena od grožđa zaraženog plemenitom plijesni prodaju se po cijenama i do 500 eura po butelji. Ipak, ukupni utjecaj sive plijesni na vinogradarstvo je izrazito negativan (Dean i sur., 2012.).

Prema Russellu (2005.) mjere za suzbijanje *B. cinerea* mogu se podijeliti u četiri kategorije: stvaranje otpornih kultivara, agro-ampelotehničke mjere zaštite, kemijske mjere zaštite i biološke mjere zaštite.

Stvaranje otpornih kultivara započelo je 2005. godine, prenošenjem gena iz ječma koji kodira sintezu hitinaze (chi 26) iz ječma. Istraživanja su ubrzo prekinuta zbog toga što su transgene biljke pokazale jednak stupanj osjetljivosti na *B. cinerea* kao i kontrolne (GMO-Safety, 2005. prema Pazzi, 2008.).

Prema Tanović i sur. (2011.) stupanj pasivne tolerantnosti na *B. cinerea* razlikuje se između sorata, a određuju ga različite morfološke i fiziološke specifičnosti od kojih su posebno bitne one koje sprječavaju dulje zadržavanje vode na površini biljnog tkiva.

U kojem će se intenzitetu zaraza sivom plijesni javiti zavisi o nizu čimbenika: intenzitetu zaraze iz prethodne sezone, stupnju prezimljavnja organa za konzervaciju parazita, sporulaciji, osjetljivosti kultivara, stvaranju mikropora na brzorastućem tkivu, sadržaju šećera u bobicama, zbijenosti grozdova, deformaciji bobica, prinosu po trsu, pretjeranoj bujnosti, površini i broju listova u zoni grožđa, okolinskim čimbenicima (temperaturi zraka, relativnoj vlažnosti zraka itd.), rezidbi i uzgojnom obliku te ishrani i zadržavanju vode unutar nasada (Evans, 2010.).



Iako nije poznato da *B. cinerea* proizvodi mikotoksine štetne za ljudsko zdravlje, infekcija može omogućiti lakše naseljavanje za druge patogene kao što su *Penicillium*, *Aspergillus* i *Trichothecium* vrste koje mogu proizvesti mikotoksine (Serra i sur., 2005.).

### 1.1.2. Agro-ampelotehničke mjere suzbijanja *B. cinerea*

Korištenjem različitih malčeva (biljni malč, papir, fermentirana komina, folije različitih boja) moguće je smanjenje sporulacije *B. cinerea* od 3 do 20 puta u odnosu na tlo koje nije prekriveno malčem. Tehnike manipulacije staništima imaju za cilj poboljšati djelotvornost prirodne biološke kontrole uz pomoć malčeva unesenih u vinograd, što može ubrzati raspad micelija *Botrytis* u vinogradu tijekom zime (Jacometti i sur., 2007.). Smanjenje mogućnosti zaraze iz primarne infekcije ujedno ne znači i smanjenje kasnijih zaraza i štete na grožđu (Mundy i Agnew, 2002.). Isti autori navode da puno veći značaj za realizaciju zaraze imaju vremenske prilike u fazi dozrijevanja i primjena ampelotehničkih mjera u vinogradu.

Agrotehnička mjera koja može utjecati na intenzitet napada *B. cinerea* je gnojidba. Ustanovljeno je da kalcij smanjuje prisutnost *B. cinerea* kod nekoliko kultura (Chardonnet i sur., 2000; Yermiyahu i sur., 2006.), dok prekomjerna primjena dušika povećava osjetljivost biljaka na *B. cinerea* (Yermiyahu i sur., 2006.).

Kubik i sur. (1991.) su utvrdili da je ukupna količina kalcija (endogeni plus primijenjeni) kod voća tretiranog u kasnom dijelu sezone (kolovoz i rujan) bila veća nego kod kontrolnih tretmana. Primijenjeni kalcij može utjecati na endogeni nekom vrstom autoregulacije te se endogeni kalcij može značajno smanjiti. Pretpostavka autora je da se kalcij dodan voću vjerojatno akumulira u slobodan prostor plodova i nije čvrsto vezan za stanične strukture. Aplikirani kalcij se lako može isprati i izgubiti (Ferguson i Watkins, 1983.).

Primjenom kalcij klorida može se smanjiti zaraza bobica sivom plijesni (Al-Qurashi i Awad, 2013.). Sadržaj kalcija ima veliki značaj u razvoju otpornosti vinove loze prema sivoj plijesni. Povećana koncentracija kalcija u bobici izaziva mirovanje gljivice, budući da kation kalcija smanjuje količinu eksudata koji stimuliraju razvoj parazita (Chardonnet i Doneche, 1995.). Otpornost bobice na sivu plijesan, prema Doneche i Chardonnet, (1996.) određena je vremenom primjene kalcija te je najučinkovitiji trenutak primjene kalcija prije faze šare.

Utjecaj kalcija na razvoj *Botrytis* kod širokolisne veprovine (*Ruscus hypoglossum* L.) je ispitivan kod uzgoja presadnica u spremnicima s perlitom, inertnim medijem i zemljom, u sličnim uvjetima. Stalna gnojidba topivim kalcijem [Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] kroz zonu korijena

rezultirala je smanjenjem truleži do 78 % kod presadnica. Kontrolne biljke tretirane su gnojivom N-P-K. Folijarna primjena  $[Ca(NO_3)_2]$  na širokolisnu veprovinu, te primjena  $CaCl_2$  ili  $CaSO_4$  na reznicama uronjenim u vodu, rezultirala je također značajnim smanjenjem truljenja. Primjena  $CaSO_4$  i  $[Ca(H_2PO_4)_2]^+$   $CaSO_4$  dobivenog iz gnojiva koja sadrže 22 % Ca i postupno oslobađaju katione, učinkovito smanjuje osjetljivost mladica na infekciju *B. cinerea* (Elad i Kirhsner, 1992.). Pozitivna djelovanja kalcija također su utvrdili autori Elad i Volpin (1993.) koji su gnojili grah i rajčicu uzgajane u perlitu sa  $CaCl_2$  i  $[Ca(NO_3)_2]$ . Gnojidba kalcijem je statistički značajno smanjila intenzitet napada *B.cinerea*.

Identifikacija i komercijalizacija novih i djelotvornijih metoda zaštite u kombinaciji sa biofungicidima bila bi od velike važnosti za proizvođače i potrošače u skoroj budućnosti.

Prema Ferrer i sur. (2011.) uzgojni oblik i zimska rezidba značajno utječu na razvoj sive plijesni s obzirom da se rezidbom regulira broj pupova kojim se regulira gustoća nasada i mikroklima trsa te ističu da zbijenost grozdova ima snažnu povezanost sa napadom *B.cinerea*.

Ampelotehničke mjere imaju za cilj regulaciju rasta i razvoja vinove loze, poboljšanje mikroklimatskih uvjeta i smanjenje količine inokuluma u nasadu.

Generalno gledajući i dalje vrijede pravila koja su Winkler i sur. (1974.) istaknuli prije više od 40 godina:

1. Rezidba smanjuje vegetativni potencijal vinove loze budući da se uklanjaju pupovi i u njima pohranjene hranjive tvari.
2. Prekomjerna ili nestručna rezidba smanjuje biološki potencijal vinove loze nekoliko godina, a da bi se to izbjeglo rezidbom treba izbalansirati uklanjanje pupova odnosno uspostaviti poželjan omjer vegetativnog i generativnog potencijala.
3. Vegetativni potencijal djelomično ovisi o sposobnosti vinove loze za brzu proizvodnju vegetativnih dijelova. Balansiranje prinosa u odnosu na postojeći habitus postiže se zalamanjem zaperaka i prorjeđivanjem grozdova.
4. Veliko opterećenje trsova (velik broj pupova i mladica) dovodi do potrošnje hrane na stvaranje prekomjernog broja mladica i lišća, tijekom faze rasta grožđa te se odgađa dozrijevanje.

5. Ukoliko se ne provodi vršikanje, pospješuje se rast mladica i odgađa dozrijevanje grožđa.
6. Debljina mladica dobar je pokazatelj potencijala vinove loze. Treba odrediti poželjan omjer broja ostavljenih pupova u odnosu na debljinu mladice.
7. Optimalna bujnost i opterećenje odnosi se na maksimalan broj grozdova koji mogu normalno sazrijeti unutar vegetacijske sezone. Prorjeđivanje grozdova nema utjecaja na brzinu dozrijevanja. Potencijal vinove loze je produkt trenutnih okolinskih uvjeta, kao i uvjeta u prethodnim vegetacijskim sezonama te genetskog potencijala kultivara.

Svitlica i sur. (2015.) ističu važnost mjera zelene rezidbe koje doprinose smanjenju napadu s *B. cinerea* što ima odraza na kvalitetu grožđa i budućeg vina. Stapleton i sur. (1990.) te Kozina (1999.) ističu pozitivno djelovanje djelomične defolijacije na smanjenje intenziteta zaraze grozdova s *B. cinerea*. Ustanovljeno je da djelomična defolijacija ima isti, pozitivan učinak na smanjenje napada sive plijesni kao da se radilo o primjeni tretmana fungicidom, a znatno je olakšana i kontrola napada ostalih štetnika.

Defolijacija lišća u zoni grožđa djeluje na asimilacijski kapacitet vinove loze i sadržaj tvari u grožđu koje određuju kakvoću mošta te utječe na fenolni i aromatski profil budućeg vina (Hunter i Visser, 1990.). Utjecaj defolijacije na svojstva koja određuju kakvoću mošta u velikoj mjeri ovise i o okolišnim čimbenicima.

Intenzitet i vrijeme obavljanja defolijacije ne mora dovesti do smanjenja učinkovitosti fotosinteze i gubitka asimilata. Uklanjanjem listova prije ili za vrijeme faze šare dolazi do kompenziranja fotosintetske aktivnosti povećanjem površine i aktivnosti susjednih listova (Hunter i Visser, 1988.), a osim toga dolazi i do povećanja površine listova na zapercima (Koblet i sur., 1994.).

Pojavi sive plijesni pridonose osjetljiva tkiva koja se vlaže tijekom dužeg vremenskog razdoblja (Elad, 2016.). Primjena zaštitnih sredstava i uklanjanje lišća pomažu u smanjenju infekcije s *B. cinerea* promjenom mikroklimе u zoni grozdova, osiguravanjem cirkulacije zraka i izlaganja suncu (Percival i sur., 2016; Stehmann, 1995.).

Prema autorima Baiano i sur. (2015.) defolijacija vinove loze utjecala je na povećanje sadržaja šećera i smanjenje ukupne kiselosti kod grožđa.

Bešlić i sur. (2011.) istraživali su tijekom dvije godine utjecaj defolijacije listova smještenih pri osnovi mladica kod kultivara Prokupac u tri termina (cvatnja, oplodnja i šara) promatrajući kakvoću mošta i strukturu grozdova. Uklanjanje šest bazalnih listova u fazi cvatnje rezultiralo je povećanjem sadržaja ukupnih fenola i antocijana u pokožici bobice.

Pojava i intenzitet zaraze grozdova s *B. cinerea* može se značajno smanjiti (47-79 %) uklanjanjem lisne mase i zaperaka jer se na taj način mijenja mikroklima unutar nasada (Ferree i sur., 2003.).

Douglas i sur. (2017.) istraživali su utjecaj različitih vremenskih termina uklanjanja listova na intenzitet napada *B. cinerea* kod sorte Cabernet sauvignon. Pokus je proveden u razdoblju od tri godine u Brazilu. Sorta Cabernet sauvignon bila je cijepljena na podlogu Paulsen 1103. Uzgojni oblik bio je dvokraki kordonac, s razmakom sadnje 3,0 m x 1,5 m. Tretmani su se sastojali od uklanjanja listova u različitim fenofazama: faza pune cvatnje, faza nakon oplodnje, bobica veličine graška, faza šare i u fazi 15 dana nakon faze šare te od kontrolnih tretmana. Prisutnost parazita kontrolirala se tjedno na grozdovima od prvih simptoma do berbe. Autori su krivulje napretka bolesti napravili i usporedili prema: pojavi simptoma, vremenu do maksimalne zaraze i postotku zaraženosti grozdova. Rezultati su pokazali da rano uklanjanje listova ima utjecaj i preporučuje se kod suzbijanja *B. cinerea* kod sorte Cabernet sauvignon u navedenom vinogorju.

Autori Lee i Skinkis (2013.) istraživali su utjecaj uklanjanja listova u zoni grozdova kod sorte Pinot crni. Uklanjanje je provedeno u tri razvojne faze (cvatnja, rast i razvoj bobica i zatvaranje grozdova), uz kontrolni tretman bez uklanjanja listova. Udio antocijana ispitivan je tijekom dvije godine (2010. i 2011.) na dvije lokacije. Uklanjanje listova u vrijeme cvatnje rezultiralo je najvišim nakupljanjem antocijana u grožđu (Lokacija A = 85,24 mg/100 g i lokacija B = 125,06 mg/100 g), u usporedbi s tretmanom bez uklanjanja listova (kontrola; mjesto A = 57,91 mg/100 g i mjesto B = 97,56 mg/100 g). Čak je i uklanjanje listova pri zatvaranju grozda povećalo sadržaj antocijana u pokožici (mjesto A = 73,22 mg/100 g i mjesto B = 118,93 mg/100 g) u usporedbi s kontrolom, ali su ukupni antocijani bili niži kod tretmana pri uklanjanju listova u vrijeme cvatnje. Rezultati su se neznatno razlikovali po lokacijama vinograda i podlogama.

Song i sur. (2018.) istraživali su utjecaj uklanjanja listova i prorjeđivanja grozdova prije faze šare na kvalitetu grožđa dva kultivara (Cabernet sauvignon i Ugni blanc). Rezultati su pokazali da uklanjanje listova nije utjecalo na sadržaj šećera kod obje sorte, dok se ukupna

kiselost uglavnom smanjila uklanjanjem listova i prorjeđivanjem grozdova. Vrijednost pH mošta bio je viši kod većine tretmana. Utvrđeno je značajno povećanje ukupnih fenola i tanina kod obje sorte te ukupnih antocijana kod Cabernet sauvignona u odnosu na Ugni blanc. Što se tiče monomernih antocijana, postotak malvidina i njegovih derivata smanjen je uklanjanjem listova i prorjeđivanjem grozdova. Na povećanje fenolnih spojeva, veći i značajan utjecaj imalo je prorjeđivanje grozdova nego uklanjanje listova. Kombinacija srednje razine uklanjanja listova i prorjeđivanja grozdova najviše je pogodovala nakupljanju fenolnih tvari. Prorjeđivanje grozdova također može značajno poboljšati sintezu flavanola i stilbena. Utjecaj tretmana je bio statistički značajan na sadržaj i raznolikost aromatičnih spojeva kod obje sorte grožđa.

Pavić i sur. (2019.) istraživali su utjecaj različitih termina defolijacije na antioksidacijsku i antibakterijsku aktivnost ekstrakata pokožice grožđa kod sorti Frankovka i Merlot. Tretmani su bili sljedeći: kontrolni tretman bez defolijacije, defolijacija neposredno nakon cvjetanja i defolijacija prije početka faze šare. U obje ispitivane sorte utvrđeno je statistički značajno povećanje ukupne koncentracije fenola, kao i antioksidacijskog i antibakterijskog djelovanja ekstrakata. Defolijacija neposredno nakon cvatnje kod sorte Merlot utjecala je na povećanje ukupne koncentracije antocijana, antioksidacijskog djelovanja i značajnog povećanja antibakterijskog učinka na istraživane bakterije. Defolijacija prije početka faze šare rezultirala je najvećim sadržajem ukupne koncentracije antocijana kod sorte Frankovka. Generalno gledajući defolijacija neposredno nakon cvatnje dala je bolji učinak u odnosu na defolijaciju prije početka šare.

Utjecaj uklanjanja listova u različitim fazama razvoja na prisutnost *B. cinerea* kod sorte Cabernet sauvignon je istražen u tretmanima koji su se sastojali od uklanjanja listova u slijedećim fenološkim fazama: punoj cvatnji, fazi ozrnjavanja, faza rasta bobica, u fazi šare te 15 dana nakon početka šare uz kontrolne tretmane bez uklanjanja listova. Prisutnost bolesti se pratila svaka dva tjedna u grozdovima od prvih simptoma do berbe. Rezultati su pokazali da je preporučljivo rano uklanjanje listova te da pridonosi kontroli *B. cinerea* kod sorte Cabernet sauvignon (Würz i sur., 2017.).

Prema istraživanju autora Mijowska i sur. (2016.) uklanjanje listova imalo je značajan utjecaj na sastav grožđa. Tretmani sa defolijacijom rezultirali su povećanim koncentracijama topljive suhe tvari i nižim sadržajem ukupnih kiselina u grožđu, posebno kod tretmana defolijacije prije cvatnje. Međutim, defolijacija nije imala značajan utjecaj na prinos i na pH

reakciju. Tretmani sa defolijacijom imali su povećan sadržaj ukupnih polifenola, kao i količinu antocijanina, flavonola i flavan-3-ola u grožđu. Na kvantitativni sastav polifenolnih spojeva u grožđu utjecalo je vrijeme uklanjanja lišća. Kod tretmana prije cvatnje, uočene su najveće vrijednosti ukupnih polifenolnih spojeva i sadržaja antocijanina. Defolijacija u fazi prije cvatnje je rezultirala porastom flavonola.

Drenjančević i sur. (2018.) su u dvogodišnjem istraživanju promatrali učinke uklanjanja bazalnih listova prije cvatnje (tri i šest listova) na sastav vina kod sorte Cabernet sauvignon u vinogorju Ilok. Autori ističu značaj vremenskih uvjeta te preporučuju prilagodbu uklanjanja listova vremenskim uvjetima.

Autori Moreno i sur. (2015.) istraživali su utjecaj defolijacije prije cvatnje na kvalitativni i kvantitativni sastav fenolnih spojeva u pokožici grožđa vinove loze Tempranillo. Tretmani su uključivali: kontrolne tretmane bez defolijacije i defolijaciju prije faze cvatnje, u sezoni 2009. i 2010. U pokožicama grožđa identificirana su i kvantificirana 42 fenolna spoja, uključujući antocijane, flavonole, flavanole (katehin i epikatehin i flavanol dimere B1, B2 i B3), te hidroksicimetne kiseline. Tretman sa defolijacijom nije statistički značajno utjecao na koncentraciju ukupnih antocijana. Uočeno je beznačajno povećanje ukupnih flavanola kod tretmana sa defolijacijom. Uklanjanje lišća povećalo je koncentracije flavonola (glikozidi miricetina, kvercetina, kaemferola i izorhamnetina), hidroksicinaminskih kiselina i stilbena na specifične načine ovisno o okolinskim uvjetima unutar sezone, godina je imala značajan utjecaj na ispitivane parametre. Defolijacija prije cvjetanja može pridonijeti poboljšanju stabilnosti boje vina jer je povećana koncentracija spojeva koji imaju sposobnost tvorbe kompleksnih antocijana.

Defolijacija nije utjecala na pokazatelje kvalitete mošta, ekstrakta pokožice grožđa i vina. (Drenjančević i sur., 2017.). Godina berbe je statistički najznačajniji izvor varijabilnosti sadržaja šećera mošta, antioksidacijskog sadržaja ekstrakta pokožice grožđa, kao i pH te ukupne kiselosti vina. Istraživanje je pokazalo da bi se tretman ranog uklanjanja lišća u istočnom kontinentalnom dijelu Hrvatske mogao koristiti za proizvodnju manje količine visokokvalitetnog crnog vina Cabernet sauvignona bogatog antocijanima.

Martínez-Lüscher i sur. (2019.) naglašavaju da je izloženost sunčevom zračenju važan čimbenik koji utječe na sastav grožđa. Sunčevo zračenje pojačava sintezu flavonola te na taj način utječe na flavonole u grožđu. Autori su ispitivali čimbenike koji utječu na nakupljanje i profil flavonola te njihov potencijal kao indikatora za procjenu ukupne izloženosti bobica

grožđa sunčevom zračenju. Utvrđena je snažna povezanost između globalnog zračenja, zalamanja zaperaka, prozračnosti špalira i postotka kempferola i kvercetina. Porast koncentracije navedenih flavonola bio je povezan sa smanjenjem postotka miricetina. Ukupni sadržaj flavonola, postotci kempferola, kvercetina i miricetina imali su značajne korelacije s uklanjanjem zaperaka. Profil flavonola povezan je sa indeksom vlažnosti kroz promjene u vigoru i sa indeksom površine lišća. Profil flavonola također je reagirao na zalamanje zaperaka i uklanjanje lišća u zoni grožđa. Potvrđena je pouzdanost profila flavonola kao indikatora za procjenu arhitekture nasada ili učinka sunčevog zračenja na grožđe.

Bolji mikroklimatski uvjeti mogu se postići različitim uzgojnim oblicima s različitim opterećenjima (Savage i Sall, 1984.). Bolja prozračnost rezultira povećanjem evaporacije čime se izaziva stres u stanicama patogena koji se nalazi na biljnim organima (Thomas i sur., 1988.) te posljedično dovodi do smanjenja pojave i jačine napada *B. cinerea* (English i sur., 1989.; Stapleton i Grant, 1992.).

### 1.1.3. Biološke mjere suzbijanja *B. cinerea*

Alternativu ili dopunu primjeni konvencionalnih pesticida mogu predstavljati biološke mjere (Filajdić i sur., 2003.). Biofungicidi su komercijalizirani biološki pripravci na bazi živih organizama ili njihovih produkata (Miličević, 2020.).

Biopesticidi mogu nastati kao rezultat metabolizma mikroorganizama (toksini, kristali, spore i antibiotici), djeluju antagonistički na uzročnike bolesti, nisu opasni za ljude i ekološki su sigurni. Oni proizvode i vitamine, enzime i biljne hormone koji mogu djelovati na imunosni sistem biljaka povećavajući njihovu otpornost (Grahovac i sur., 2009.). Prednost takvih sredstava je što se mogu koristiti i na područjima gdje su kemijski fungicidi zabranjeni. Takva mjesta uključuju rekreacijske zone, urbana područja, jezera i potoke te područja u blizini škola (Koul, 2011.).

Mehanizam djelovanja bioloških sredstava je: kompeticija za hranjive tvari i životni prostor, antibioza, hiperparazitizam, i induciranje otpornosti biljke domaćina (Pearson i Goheen, 1988.).

Globalno tržište biofungicida procjenjuje se na 1,63 milijarde USD u 2020. godini, a predviđa se da će do 2025. godine potrošnja porasti na 3,44 milijarde USD, (<https://www.globenewswire.com>).

U Republici Hrvatskoj 5% od ukupnih vinogradarskih površina nalazi se u ekološkom načinu proizvodnje (Tablica 1.).

Tablica 1. Površina ekoloških trajnih nasada (ha). Izvor: Državni zavod za statistiku

Naziv	2013.	2014.	2015.	2016.	2017.	2018.
1. Jabuke	186	235	361	477	470	539
2. Kruške	45	49	74	82	93	108
3. Breskve	23	28	39	48	48	44
4. Nektarine	5	7	10	6	10	11
5. Marelice	16	36	55	61	75	104
6. Trešnje i višnje	134	330	422	421	520	554
7. Šljive	417	473	657	801	725	869
8. Bobičasto voće (bez jagoda)	79	194	301	494	500	671
9. Orašasto voće	2 036	2 259	3 521	5 146	6 401	7 401
2. Citrusi	-	4	9	15	14	15
<b>3. Vinogradi</b>	<b>791</b>	<b>931</b>	<b>913</b>	<b>1 119</b>	<b>1 010</b>	<b>1 002</b>
4. Maslinici	1 330	1 472	1 334	1 536	1 750	1 872
5. Ostali trajni nasadi (uključujući rasadnike, damsku ružu, božićna drveća, rogač, dud i dr.)	7	1	38	41	54	30
Ukupno	5 368	6 192	7 924	10 358	11 790	13 310

Do 2016. godine primjetno je povećanje vinogradarskih površina u sustavu ekološke proizvodnje u RH koje iznose 1 119 ha (Tablica 3.) dok u 2017. godini slijedi značajan pad koji iznosi 9,74 %, a nastavlja se i u narednoj godini s manjom stopom.

Prema autorima Miličević i Kaliterna, (2014.) u svijetu je za komercijalnu primjenu registrirano više od 100 bioloških pripravaka za suzbijanje biljnih patogena. U Tablici 2. prema Abbey i sur., (2019.) su prikazani biofungicid registrirani za suzbijanje *B.cinerea*.



Tablica 2. Pregled biofungicida registriranih za suzbijanje *B.cinerea* u nekim od članica Organizacije za gospodarsku suradnju i razvoj (OECD), prema Abbey i sur., (2019.)

Djelatna tvar	Proizvod	Proizvođač	OECD članica
<i>C. rosea</i>	ATCC 204433	ATCC company	SAD
<i>G. catenulatum</i> J1446	Prestop WP	Plant products	SAD, Kanada, Belgija, Finska
<i>T. harzianum</i> T 77	Eco-77	Plant Health Products	Južna Afrika
<i>A. pullulans</i> D14940 i D14941	Botector	Biotechnological plant protection (Bioferm)	Kanada, SAD, Austrija, Italija, Slovenija, Grčka, Mađarska, Slovačka i Portugal
	Boni Protect		Austrija, Slovenija, Mađarska, Italija, Nizozemska, Belgija, Poljska, Slovačka i Grčka
<i>T. harzianum</i> T22	Trianum P	Koppert, Canada	Kanada
	Plantshield	Bioworks Inc.	SAD, Nizozemska
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ATCC 23350	ATCC company	SAD
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> D747	Double Nickel 55	Certis, USA	Kanada i SAD
	Triathlon BA	OHP Inc.	SAD
<i>B. subtilis</i> QST 713	Serenade MAX	Bayer Crop Science, Canada	SAD, Kanada, Ujedinjeno Kraljevstvo, Italija, Španjolska, Njemačka, Turska, Japan, Francuska, Novi Zeland
	Serenade ASO	Bayer Crop Science, USA	Kanada i SAD
	Cease	Bioworks Inc.	Kanada i SAD
<i>B. subtilis</i> GB03	Companion	Growth Products Ltd.	SAD, Ujedinjeno Kraljevstvo, Italija, Grčka, Turska
<i>Streptomyces griseoviridis</i> strain K61	Mycostop	Vedera	Kanada, SAD i Europa
<i>Streptomyces lydicus</i> WYEC 108	Actinovate SP	Monsanto	Kanada i SAD, Turska

Preparat na bazi *Bacillus amyloliquefaciens* (stari naziv *B. subtilis*) registriran je u RH za suzbijanje *B.cinerea* i dolazi pod nazivom Serenade ASO (Miličević, 2020.).

Na istraživanju i razvoju bioloških sredstava na bazi mikroorganizama (*Trichoderma*, *Bacillus*, *Ulocladium* i *Streptomyces*) radi se dugi niz godina, od prvih spoznaja štetnosti kemijskih preparata na zdravlje ljudi i okoliš.

Vrste roda *Trichoderma* su prisutne u većini poljoprivrednih zemljišta. Antagonističke sposobnosti su poznate od 30-ih godina prošlog stoljeća. Hife *Trichoderma* imaju afinitet prema drugim gljivama, obavijaju se oko njih uz pomoć lecitina te razgrađuju stanični zid

ciljnog gljivičnog organizma sekrecijom različitih litičkih enzima (Grahovac i sur., 2009.). Također i sojevi *Bacillus* se zbog anagonističkih sposobnosti prema *B. cinerea*, koriste u ekološkoj proizvodnji grožđa (Maachia i sur., 2015.). Razvijeni su mnogi komercijalni proizvodi na bazi *Bacillus* spp. koji su testirani i imaju potvrđenu djelotvornost pri suzbijanju sive plijesni. Tu spadaju pripravci kao što su: „Kodiak HB“ dobiven od *B. subtilis* GB03 (Mahaffee i Backman, 1993.) i „Serenade“ dobiven iz *B. subtilis* QST-713 (Marrone, 2002.). Esterio i sur., (2000.) su uspoređivali djelotvornost *B. subtilis* i konvencionalne zaštite na suzbijanje *B. cinerea* kod stolnog grožđa. Ističu gotovo jednaku djelotvornost navedenog biološkog i kemijskog pripravka. Dobre rezultate primjenom različitih bioloških sredstava na bazi: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Aureobasidium pullulans*, *Ulocladium oudemansii* i *Candida sake* te *B. subtilis* utvrdili su Calvo-Garrido i sur. (2019.). Oni su tijekom perioda od tri godine na različitim lokacijama jugozapadnog dijela Francuske proveli ukupno 10 pokusa. Primjena bioloških sredstava obavljena je u bitnim fenofazama ili pri velikom riziku od napada *B. cinerea*, ukupno je obavljeno 5 – 6 tretiranja unutar sezone. Usporedba tretmana obavljena je vizualnom detekcijom bolesti u trenutku berbe. Ističu dobru djelotvornost *B. subtilis* u kontroli sive plijesni.

Uspješna biološka kontrola *Botrytis* ovisi o temeljitom poznavanju ekologije i epidemiologije patogena u vinogradima (Elmer i Michailides 2004.).

#### 1.1.4. Kemijske mjere suzbijanja *B. cinerea*

Najučestalija mjera borbe protiv uzročnika sive plijesni je uporaba kemijskih sredstava-fungicida. Šezdesetih godina prošlog stoljeća pronađeni su djelotvorniji fungicidi sa specifičnim djelovanjem aktivnih tvari i izvrsnom učinkovitošću, pa su nazvani „botriticidima“ (Tanović i sur., 2011.).

Uobičajene djelatne tvari koje se danas koriste za kontrolu *B. cinerea* su: boskalid, fluopiram, ciprodinil i pirimetanil (Avenot i Michailides, 2010.).

Prema Leroux, (2007.) botriticidi se mogu svrstati u pet grupa:

- fungicidi koji inhibiraju respiraciju (ftalimidi, piridin-karboksamidi)
- fungicidi antimikrotubularnog djelovanja (benzimidazoli)
- fungicidi koji izazivaju poremećaje u osmoregulaciji (fenilpiroli i dikarboksamidi)
- fungicidi koji izazivaju poremećaje u sintezi metionina (anilinopirimidini)

- fungicidi koji izazivaju poremećaje u biosintezi sterola (hidroksianilidi).

Inhibitori respiracije (tiram, kaptan, folpet, klorotalonil, diklofluanid) su jedni od prvih botriticida (Leroux i sur. 2007.). Način djelovanja navedenih djelatnih tvari je u inhibiranju aktivnosti enzima sukcinat-dehidrogenaze, ometaju normalan protok elektrona u respiratornom lancu (kompleks II), te dolazi do zaustavljanja disanja kod patogena. Pripadaju u FRAC grupu C2. Kod većine njih je utvrđena rezistentnost patogena (Rewal i sur., 1991; Malathrakis, 1989.). U ovu grupu pripadaju i piridin-karboksamidi među koje spadaju djelatne tvari boskalid i fluopiran. Ne pokazuju unakrsnu rezistentnost sa drugim botriticidima i smanjuju napad pepelnice na vinovoj lozi (Glasnik zaštite bilja, 2017.).

Antimikrotubularno djelovanje fungicida (karbendazim, benomil, metil-tiofanat) zasnovano je na vezivanju fungicida na bjelančevinu  $\beta$ -tubulin, inhibiraju aktivnost enzima adenozin-deaminaze te zaustavljanja sintezu nukleinskih kiselina čime je onemogućena normalna dioba stanica patogena. Spadaju u FRAC grupu A2. Sistemični su fungicidi s protektivnim i kurativnim djelovanjem (Glasnik zaštite bilja, 2017.) Nedostatak ovih djelatnih tvari je pojava rezistentnosti te se nisu zadržali u praksi (Topolovec-Pintarić, 2000.). U biljci se transportiraju ksilemom i imaju translaminarno djelovanje.

Početak primjene sintetskih botriticida prikazan je u Tablici 3. (Russell, 2005. i Leroux, 2004., prema Tanović i sur., 2011.).

Tablica 3. Povijesni pregled primjene fungicida u zaštiti od sive plijesni (Russel, 2005. i Leroux, 2004., prema Tanović i sur., 2011.).

Godina	Djelatna tvar	Kemijska grupa	Tipična doza primjene g/ha
1942.	tiram	ditiokarbamati	2000
1952.	kaptan	ftalimidi	1500
1952.	folpet	ftalimidi	1500
1960.	dikloran	nitroanalini	1500
1964.	klorotalonil	ftalonitrili	750-1250
1964.	diklofluanid	sulfamidi	2000
1968.	benomil	benzimidazoli	250-1250
1974.	iprodition	dikarboskimidi	750
1975.	vinklozolin	dikarboskimidi	750
1976.	karbendazim	benzimidazoli	500
1976.	procimidon	dikarboksimid	750
1990.	fludioksionol	fenilpiroli	500
1992.	pirimetanil	anilinopirimidini	800
1992.	fluzinam	dinitroanilini	750
1994.	ciprodinil	anilinopirimidini	375
1998.	fenheksamid	hidroksianilidi	750
2004.	boskalid	karboksamidi	600

Fungicidi koji izazivaju poremećaje u mehanizmima osmotskih signala su: vinklozolin, procimidon, iprodion, fludioksonil i dikloran. Fungicidi iz ove grupe inhibiraju enzim MAP/histidin-kinazu što dovodi do sprječavanja prijenosa i pretvaranja osmotskih signala pa dolazi do pucanja staničnih stjenki te propadanja micelija i prokljalih konidija uslijed povećanja turgora. Pripadaju u FRAC grupu E3, kontakti su fungicidi s preventivnim djelovanjem. Utvrđena je pojava rezistentnosti ovih fungicida sa drugim gljivama iz roda *Botrytis*. Imaju srednji do visok rizik za razvoj rezistentnosti te ih je potrebno pažljivo koristiti (Glasnik zaštite bilja, 2017.).

Fungicidi iz grupe anilinopirimidina djeluju na način da inhibiraju biosintezu metionina i lučenja hidrolitičkih enzima te na taj način dolazi do sprječavanja sinteze proteina kod patogena. Pripadaju u FRAC grupu D1. U ovu grupu spadaju fungicidi ciprodinil i

pirimetanil. Ciprodinil je sistemični fungicid, te se nakon folijarne primjene apsorbira i transportira akropetalnim putem, sustavom provodnih žila ksilema. Pirimetanil djeluje preventivno i kurativno. Oba sprječavaju penetraciju i porast micelija gljiva unutar i na površini lista. Botriticidi iz skupine anilinopirimidina, pirimetanil i ciprodinil su u prvim ispitivanjima pokazivali potencijal razvoja rezistentnosti. Ciprodinil na hrvatskom tržištu dolazi u kombinaciji s fludioksonilom u preparatu Switch 62,5 WG (Glasnik zaštite bilja, 2017.).

Toksična doza ( $LD_{50}$ ) za djelatnu tvar ciprodinil iznosi  $\sim 0,10$  mg/l za klijanje spora te 0,01 mg/l za rast micelija (Leroux, 2007.).

Fungicidi iz grupe hidrokšanilida (Grupa III.) inhibiraju biosintezu ergosterola u staničnim membranama kod patogena. Djeluju drugačije u odnosu na predstavnike inhibitora biosinteze ergosterola iz grupe I. i II., oni inhibiraju enzim 3-keto reduktazu (erg27) i proces C4- demetilacije u biosintezi ergosterola u stanicama gljiva. Pripadaju FRAC grupi G3. Imaju mali do srednji rizik za razvoj rezistentnosti. Iz skupine hidrokšanilida s djelatnom tvari fenheksamid nalazi se sredstvo Teldor SC 500 te ima dobre toksikološke karakteristike (Glasnik zaštite bilja, 2017.).

Toksična doza ( $LD_{50}$ ) za djelatnu tvar fenheksamid iznosi  $> 10,00$  mg/l za klijanje spora, te 0,01 mg/l za rast micelija (Leroux, 2007.).

U grupu hidrokšanilida pripadaju još prokloraz i tebukonazol, ali zbog slabijeg učinka na *Botrytis* i utvrđene fitotoksičnosti se ne upotrebljavaju u vinogradarstvu (Leroux, 2007.).

U Tablici 4. prikazana su sredstva koja imaju botriticidno djelovanje, čija uporaba je dozvoljena u Republici Hrvatskoj.

Tablica 4. Dozvoljeni botriticidi prema službenoj stranici Ministarstva poljoprivrede (FIS)

Naziv sredstva	Naziv aktivne tvari	Način djelovanja	Registracija važi do:
Folpan 80 WDG	folpet	kontaktno	31.12.2023.
Luna sensation	fluopiram, trifloksistrobin	sistemično	31.01.2025.
Armicarb	kalijev hidrogen karbonat	kontaktno	29.07.2019.
Zaftra AZT 250 SC	azoksistrobin	sistemično translaminarno	12.7.2020.
Zakeo 250 SC	azoksistrobin	sistemično, translaminarno	12.7.2020.
Scala	pirimetanil	kontaktno, translaminarno	30.4.2021.
Geoxe	fludioksonil	kontaktno	31.10.2021.
Tazer	azoksistrobin	sistemično	31.12.2022.
Luna privilege	fluopiram	sistemično	31.1.2025.
Topsin M 500 SC	tiofanat-metil	sistemično	31.10.2020.
Teldor SC 500	fenheksamid	kontaktno	16.12.2020.
Switch 62,5 WG	ciprodinil, fludioksonil	-	31.12.2023.
Signum	piraklostrobin, boskalid	-	31.12.2023.
Pyrus 400 SC	pirimetanil	inhibitorno	31.12.2023.
Mystic EC	tebukonazol	sistemično	31.12.2023.
Maxim 025 FS	fludioksonil	kontaktno	31.12.2023.
Forum star	folpet, dimetomorf	-	31.12.2023.
Folicur EW 250	tebukonazol	sistemično	31.12.2023.
Dithane DG NEOTEC	mankozeb	-	31.12.2023.
Chorus 75 WG	ciprodinil	-	31.12.2023.
Cantus	boskalid	-	31.12.2023.

Problem koji se javlja kod velikog broja botriticida je pojava rezistentosti patogena. Rezistentnost prema Tanović i sur. (2011.) nastaje na način da se intenzivnom primjenom fungicida mijenja selekcijski pritisak na životnu sredinu uzročnika bolesti.

Rezistentnost odnosno neefikasnost pojedinog sredstva uzrokuje višestruke štete na način da osim utroška novca imamo izostanak djelovanja sredstva koje može dovesti do značajnih štete na usjevima. Uspješno kontroliranje rezistentnosti uključuje poznavanje stvari koje utječu na izvor, razvoj i širenje patogena. Nasljedni faktori uzročnika i uvjeti primjene

fungicida direktno utječu na pojavu rezistentnosti (Tanović i sur. 2011.). Na nasljedne faktore ne možemo utjecati, ali na uvjete primjene možemo. Potrebno je u antirezistentnu strategiju uključiti sljedeće: izbjegavati korištenje samo jednog fungicida, ograničiti broj tretiranja u toku vegetacije, koristi fungicide samo u nužnim situacijama, pridržavati se preporučenih doza, izbjegavati eradikativnu primjenu fungicida, koristiti programe integrirane zaštite i mijenjati djelatne tvari (Brent i Hollomon, 2007.)

## **1.2. Ekološki uvjeti proizvodnje**

Pri uzgoju vinove loze imaju važnu ulogu imaju klimatski čimbenici od kojih se ističu oborine i temperatura. Ukupna količina i raspored tijekom vegetacijskog razdoblja, u fenofazama cvatnje i oplodnje te sazrijevanja grožđa utječu na vinogradarsku proizvodnju.

Vinogradarska zona obuhvaća vinorodno područje koje karakteriziraju slični klimatski uvjeti te su u skladu s propisima utvrđeni posebni enološki postupci dozvoljeni unutar granica zona (NN 32/2019.).

Vinogradarske zone su prema Uredbi (EU) br. 1308/2013. Europskog parlamenta i Vijeća od 17. prosinca 2013. godine sljedeće:

- Zona A
- Zona B
- Zona C I.
- Zona C II.
- Zona C III. (a i b).

Od postojećih zona u Republici Hrvatskoj se nalaze ukupno tri zone. Zona B obuhvaća područja zasađena vinovom lozom u sljedećim podregijama: Moslavina, Prigorje-Bilogora, Plešivica, Pokuplje i Zagorje-Međimurje. Zona C I. obuhvaća područja zasađena vinovom lozom u podregijama: Hrvatsko Podunavlje i Slavonija. Zona C II. obuhvaća područja zasađena vinovom lozom u podregijama: Hrvatska Istra, Hrvatsko primorje, Dalmatinska zagora, Sjeverna Dalmacija te Srednja i Južna Dalmacija.

Najmanja količina oborina potrebna za proizvodnju grožđa na godišnjoj razini iznosi oko 300 - 350 mm, dok je optimalna količina oko 600 - 800 mm godišnje. Mirošević i Karoglan Kontić (2008.) navode da velike količine oborina tijekom cvatnje ometaju cvatnju i oplodnju, dok u fazi dozrijevanja velika količina vode može uzrokovati pucanje bobica.

Prema navodima istih autora, trsu je u pravilu potrebno između 250 i 700 litara vode za proizvodnju 1 kg suhe tvari.

Kako bi se pojedine fenofaze vinove loze mogle normalno odvijati, potrebne su određene sume aktivnih i efektivnih temperatura. Vegetacijsko razdoblje za uzgoj vinove loze najčešće se računa od početka travnja do kraja listopada. Jedan od najvažnijih pokazatelja koji treba uzeti u obzir prilikom izbora kultivara za određeno proizvodno područje je suma temperatura unutar vegetacijskog razdoblja. Najčešće korištena toplinska podjela vinogradarskih područja je Winklerova (1965.) kojom su srednje dnevne temperature zraka od 10 °C definirane kao biološka nula. Svaka prosječna dnevna temperatura zraka veća od biološke nule je aktivna temperatura, a oduzimanjem biološke nule od aktivne temperature dobivamo sumu efektivnih temperatura. Vinogradarska područja zbog svojih posebitosti nisu pogodna za uzgoj svih kultivara vinove loze, zbog toga nam je bitna Gasparinova podjela koja razvrstava kultivare prema sumama srednjih dnevnih temperatura koje su potrebne za dozrijevanje pojedine skupine kultivara (Maletić i sur., 2008.):

- kultivari koji rano dozrijevaju - 2264 °C
- kultivari srednjeg vremena dozrijevanja - 3560 °C
- kasni kultivari - oko 5000 °C.

Klasifikacijom sorata može se utvrditi mogućnost odnosno ograničenja proizvodnje vinove loze na pojedinom području.

#### *Vinogorje Đakovo*

Pokušalište Mandićevac nalazi se u vinogorju Đakovo, vinogradarska podregija Slavonija, vinogradarska regija Slavonija i hrvatsko Podunavlje. U istu regiju pripadaju još sljedeća vinogorja: Slavonski Brod, Nova Gradiška, Požega – Pleternica, Kutjevo, Daruvar, Pakrac, Feričanci, Orahovica – Slatina i Virovitica. O nižim jedinicama detaljno se govori u Pravilniku o zemljopisnim područjima uzgoja vinove loze (NN 76/2019). Klasifikacija je napravljena prema okolinskim uvjetima za uzgoj vinove loze. Područja za uzgoj vinove loze Republike Hrvatske dijele se na: vinogradarske zone, regije, podregije, vinogorja i vinogradarske položaje.

Prema navedenom zakonu vinogradarska podregija predstavlja dio unutar vinogradarske regije koje je geografski zadano područje sa sličnim klimatskim i pedološkim uvjetima, sličnim sortimentom i ostalim agrobiološkim uvjetima, koji omogućuju proizvodnju grožđa, mošta i vina, specifičnih svojstava karakterističnih za podregiju (NN 32/2019).



Vinogradarske površine u podregiji Slavonija nalaze se na obroncima planinskih masiva (Psunj, Papuk, Krndija, Dilj i Pakračko gorje) na brežuljkastom reljefu, prikladnih nadmorskih visina što omogućava proizvodnju kvalitetnih i vrhunskih vina.

Srednja godišnja temperatura se kreće oko 10,5 °C sa tipičnim oscilacijama za kontinentalni tip klime. Godišnja količina oborina iznosi između 700 - 900 mm s dobrim rasporedom unutar vegetacijskog perioda (Maletić i sur., 2008.).

Vinogradarska proizvodnja na području Slavonije baštini dugu tradiciju. Vino se prema geografu Strabonu na području Panonije proizvodilo i prije rimskog osvajanja što ukazuje na dugu tradiciju uzgoja vinove loze na tom području. Tijekom rimskog vladanja Car Domicijan zabranjuje uzgoj kvalitetnih kultivara vinove loze u Panoniji, favorizirajući na taj način stare rimske provincije. Takva zabrana traje od 1. do 3. stoljeća (Šimić, 2017.). Također i tijekom razdoblja pod Osmanlijama (1536.–1686.) dolazi do stagniranja vinogradarstva na području Slavonije. Nakon tog razdoblja obnavljaju se zapušteni vinogradi i sade novi (Marijanović, 2017.).

Uzgoju vinove loze u vinogorju Đakovo uvelike su doprinijeli biskupi: Nikola Ogramić, Petar Bakić, Josip-Antun Čolnić, Antun Mandić i Josip Juraj Strossmayer.

Poseban doprinos pridvoračkom zaleđu, podizanjem novih nasada i značajnijih površina dao je biskup Antun Mandić. On je nastavio sadnju i od malenog vinograda kojeg je posadio Josip-Antun Čolnić povećao površine na 30 jutara (1806.). Koliko je brinuo i kako je uredio vinograde dovoljno govori da je u tadašnje vrijeme mjesto Mandićevac dobilo ime po svome „rukosadniku“ Mandiću (Cepelić i Pavić, 1900.).

Godine 1893. u Trnavi i Mandićevcu pojavila se filoksera. Biskup Strossmayer je puno pažnje posvećivao vinogradarstvu te je ubrzo uz pomoć strukovnjaka vinogradara priredio matičnjak za nove nasade kako bi dobili što jeftinije i što bolje cijepove. Matičnjaci su uključivali: „Ripariu“, „Monticulu“ – (Rupestris) i „Solonisem“. Cijepljenjem američkih podloga na europske plemke već 1897. godine započelo je obnavljanje devastiranih vinograda, ali ne kao u prošlosti na svim površinama koje su se naizgled činile prikladne za podizanje vinograda, već su u obzir uzeti kriteriji kao što su položaj i kakvoća tla. Tako su od dotadašnjih 130 jutara, nove površine za podizanje vinograda iznosile oko 100 jutara, a ostale površine iskorištene su za sadnju voćaka. Kultivari cijepljeni na američke podloge posađene u Mandićevcu su: Graševina, Burgundac bijeli, Moslavac, Portugizac, Frankovka, Slankamenka i Skadarka (Cepelić i Pavić, 1900.).

### 1.3. Karakteristike podloge, kultivara i uzgojnog oblika

#### *Podloga SO4*

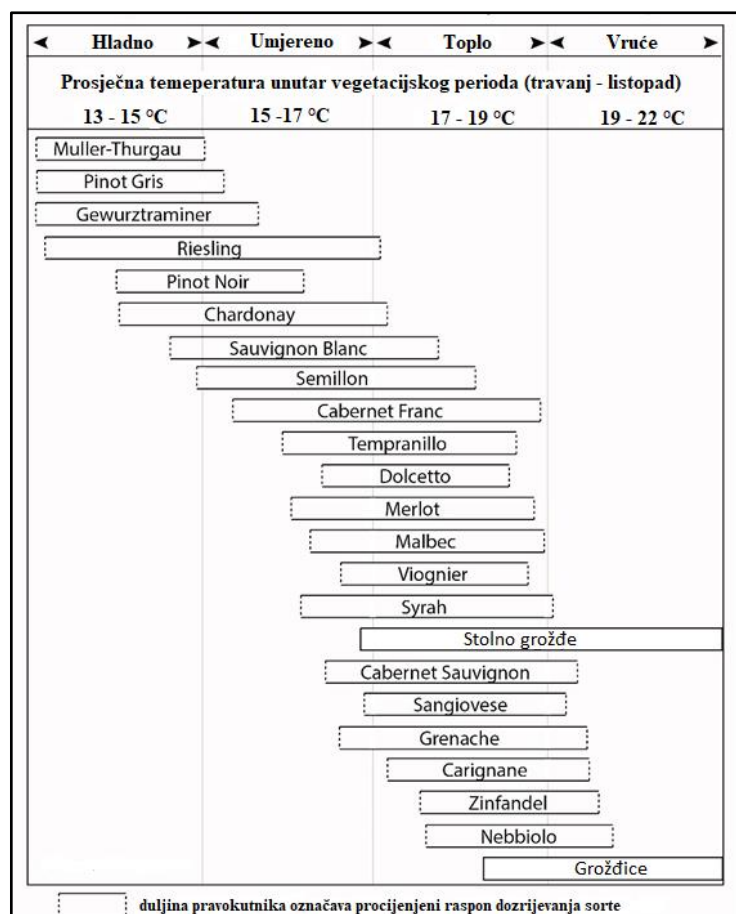
Križanac je nastao iz populacije *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* Teleki 4B. u vinogradarskoj školi Oppenheim u Njemačkoj. Nalazi se u većini vinogradarskih proizvodnih regija u svijetu. U Republici Hrvatskoj najviše je rasprostranjena u kontinentalnom dijelu zemlje. Ranije dozrijeva i do 15 dana u usporedbi s podlogom Kober 5BB te se zbog toga najčešće i koristi u kontinentalnim dijelovima pri izboru kultivara s kasnijim dozrijevanjem. Podnosi 40 do 45 % ukupnog vapna, i 17 do 19 % fiziološki aktivnog vapna. Dobro se ukorjenjuje, otporna je na filokseru, ima dobar afinitet s kultivarima *V. vinifera*. Visoko je otporna na nematode. Preporučena je za bolja vinogradska tla, za razliku od podloge Kober 5BB koja može uspjati i na siromašnijim tlima s višim sadržajem vapnenca u tlu. Znatno utječe na nakupljanje šećera bez promjene koncentracije ukupnih kiselina u moštu (Mirošević i Turković, 2003.).

#### *Kultivar Cabernet sauvignon*

Cabernet sauvignon je međunarodno prepoznatljiv vinski kultivar crnog grožđa nastao spontanom križanjem Cabernet franca i Sauvignona bijelog, a porijeklo vuče iz Francuske (Bowers i Meredith, 1993.). Kultivar je široko rasprostranjen. Dominantna područja u proizvodnji Cabernet sauvignona su Francuska koja obuhvaća više od 55 000 hektara, Čile, Argentina, SAD-a (Kalifornija), Australija, Južna Afrika i Novi Zeland. Osim u Francuskoj, Cabernet sauvignon se uzgaja i na značajnim površinama u Italiji, Španjolskoj, Njemačkoj i Švicarskoj (OIV, 2017.). Pretpostavlja se da je Cabernet sauvignon u naša vinogorja introducirana iz njegove domovine Francuske za vrijeme obnove vinograda, nakon širenja filoksera, krajem devetnaestog stoljeća (Mirošević i Turković, 2003.).

Cvijet Cabernet sauvignona je morfološki i funkcionalno dvospolan. Sorta u vegetaciju kreće razmjerno kasno (Slika 3.) tako da u pravilu, izbjegava opasnost od kasnih proljetnih mrazeva, a dozrijeva u trećem razdoblju (Cindrić i sur, 2000.).

Ima dobru tolerancu na sušu i kratkotrajna kišna razdoblja u jesen. Prema tlu nije zahtjevan, kao i za većinu kultivara vinove loze uzgoj je optimalan na brežuljkastim položajima (Mirošević i Turković, 2003.).



Slika 3. Podjela kultivara grožđa prema temperaturnim zahtjevima. Izvor: Jones i sur. (2012.)

Cabernet sauvignon je tipičan kultivar malih grozdova visoke kakvoće koja u svom uzgojnom arealu daje visokokvalitetna vina. Daje vina intenzivne rubin-crvene boje s prijelazom na ljubičastu, puno, ekstraktno s dosta alkohola, aromatično s karakterističnim travnatim okusom i skladnim sadržajem ukupnih kiselina, specifičnoga sortnog mirisa i okusa (Mirošević i Turković, 2003.).

#### *Guyot uzgojni oblik*

Uzgojni oblik korišten u istraživanom vinogradu se naziva Guyot. Pripada među najjednostavnije uzgojne oblike s mješovitim rezom. Oblikuje se na način da se u trećoj godini najprikladnija rozgva prikrati na visinu uzgojnog oblika koji može varirati od 60 do 100 cm (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008.). Potrebno je ostaviti dvije mladice koje se nalaze na najvišoj poziciji kako bi iz njih kasnije mogli formirati elemente uzgojnog oblika. Ostale mladice koje se nalaze prema tlu se uklanjaju. U idućoj godini mladica koja se nalazi na nižoj poziciji se prikrađuje na dva pupa te se naziva prigojni reznik, a mladica iznad nje

se prikrađuje na 8-10 pupova te se naziva lucanj. U narednim godinama se postupak ponavlja, te je u pravilu najniži pup potencijalni element za prigojni reznik, a pup iznad lucanj.

#### **1.4. Sastav grožđa i mošta**

##### *Bobice*

Bobicu sačinjava: pokožica, sjemenke i pulpa sa groždanim sokom. Za vrijeme porasta bobica tijekom vegetacije kod većine sorata ona je zelene boje, te u to vrijeme i sama sudjeluje u procesu fotosinteze. Pojavom faze šare boja se mijenja od zelene prema zeleno-žutoj, crvenkastoj ili plavoj boji i postaje intenzivnija približavanjem faze pune zrelosti. Vinske sorte u pravilu imaju sitnije i zbijenije bobice, dok stolne sorte imaju rastresitije i krupnije bobice. Najveća masa bobica se postiže u fazi pune zrelosti i tada bobice dosegnu 92-98 % ukupne težine grožđa (Radovanović, 1970.).

Pokožica predstavlja zaštitni omotač bobice i građena je iz više slojeva. Svojstvo elastičnosti omogućava pokožici da ne povećava svoju težinu tijekom rasta bobica. Zaštitni voštani sloj bobice se naziva mašak, on sadrži eterična ulja i spoj metilni ester antranilne kiseline. Za proizvodnju vina prema Radovanoviću (1970.) pokožica je izuzetno značajna, što se vidi iz njenog kemijskog sastava koji je prikazan u Tablici 4.

Tablica 4. Kemijski sastav pokožice grožđa (Radovanović, 1970.)

<b>Kemijski sastav pokožice (%)</b>	
Voda	53-82
Pentoza	1-1,2
Heksoze	malo
Celuloza	3,5
Pektin, biljne smole i sluzi	0,9
Kiseline	0,13-0,67
Taninske tvari	0,01-2,3
Tvari boje	1,0-15,4
Dušični spojevi	0,8-1,9
Masti	1,5
Pepeo	2,0-3,7

### *Pulpa*

Predstavlja oko 75-80 % težine bobice. Građeno je od velikih stanica s celulozno-pektinskom membranom, a unutrašnjost je ispunjena sokom (moštom). Na membranu stanice otpada samo 0,3-0,5 % težine bobice, ostatak otpada na mošt. Kemijski sastav mesa bobice (Zoričić, 1996.) prikazan je u Tablici 5.

Tablica 5. Kemijski sastav mesa bobice prema Zoričić (1996.)

<b>Kemijski sastav mesa bobice (%)</b>	
Voda	75-80
Šećer	18-25
Organske kiseline	0,5
Mineralne tvari	0,3-1
Celuloza	0,6

### *Sjemenke*

Broj sjemenki unutar bobica se kreće u rasponu od 0 - 4. Maseni udio sjemenki unutar bobica varira, a prema Radovanović (1970.) od 100 kg bobica možemo dobiti 2 do 5 kg sjemenki. Kemijski sastav sjemenki prikazan je u Tablici 6., prema autoru Cotea (1985.).

Tablica 6. Kemijski sastav sjemenki grožđa prema Cotea (1985.).

<b>Kemijski sastav sjemenki (%)</b>	
Voda	28-40
Celuloza	28
Dušične tvari	0,28-1,2
Tanini	4-6
Ulje	10-25
Mineralne tvari	2-4
Zasićene masne kiseline	U tragovima

*Mošt*

U prosjeku se od 100 kg grožđa dobije 90 litara masulja, odnosno 75-80 litara mošta. (Radovanović, 1970.). U fazi pune zrelosti, ovisno o sorti specifična težina mošta se kreće između 1,060 – 1,120.

Na kakvoću grožđa i mošta utječu: kultivar, klima, agrotehnika, sastav tla, bolesti vinove loze, tuča, posolica, način berbe, prijevoz i slično (Zoričić, 1996.).

Utjecajem sunčeve energije, ugljičnog dioksida i klorofila se stvara šećer, najvećim dijelom u listu, ali i u zelenim bobicama. Pojavom šare počinje sazrijevanje grožđa te se povećava količina šećera i smanjuje ukupna kiselost. Tijekom razvoja bobice najvećim dijelom je zastupljena glukoza u odnosu na fruktozu. Pri kraju sazrijevanja, odnos se mijenja u korist fruktoze, te su u fazi pune zrelosti omjeri oba jednostavna šećera podjednaki (Zoričić, 1996.).

Tijekom dozrijevanja u bobici se javljaju sljedeći monosaharidi (heksoze i pentoze) i disaharidi (saharoza). Od monosaharida u moštu su najviše zastupljeni glukoza i fruktoza (heksoze), dok su šećeri iz grupe pentoza manje značajni.

Na osnovi glavnih sastojaka (šećera i organskih kiselina) vrši se gospodarsko-tehnološka procjena vrijednosti pojedinog kultivara vinove loze (Herjavec, 2019.).

### *Ukupna kiselost*

Uz šećere, kiseline su među najvažnijim komponentama mošta i vina. Utječu na svježinu okusa, modificirajući percepciju drugih okusa te daju balans vinu. Organske kiseline daju vinu mikrobiološku i fizikalno–kemijsku stabilnost (Jackson, 2014).

Najzastupljenije organske kiseline grožđa i mošta su: vinska, jabučna i limunska. Osim navedenih u manjem postotku se nalaze i: jantarna, glikolna, oksalna, glukonska i glukuronska kiselina. Omjer i udio kiselina, posebno vinske i jabučne rezultira promjenom u kiselosti mošta. Ukupna kiselost mošta je obično u rasponu od 4,5 – 15 g/L izražene kao vinska, ovisno o kultivaru vinove loze, klimatskih uvjeta i stupnja zrelosti. Najjača organska kiselina prisutna u grožđu je vinska kiselina ( $C_4H_6O_6$ ). Stvaranje vinske kiseline se odvija u mladim organima, bobici i lišću. Sintetizira se iz L-askorbinske kiseline, što čini glavnu razliku u usporedbi s drugim organskim kiselinama, koje se sintetiziraju u oksidativnom metabolizmu šećera (Loewus i Stafford 1958.). Nakon što se formiraju bobice, vinska kiselina prelazi iz slobodnog oblika u vezani, te tijekom dozrijevanja grožđa prelazi u tartarate (soli), na taj način se smanjuje udio vinske kiseline i u punoj zrelosti je gotovo i nema u slobodnom obliku (Radovanović, 1970.).

Osim količine jako bitan je omjer i ravnoteža šećera i kiselina; vina sa niskom kiselošću imaju tup okus, dok su vina sa skladnim omjerom kiselina lepršava i daju dozu svježine. Kiselost vina i pH vrijednost su povezani. Poželjno je da se ukupna kiselost kreće u rasponu od 5,5 do 8,5 g/L, a vrijednost pH od 3,1 do 3,4 jedinice (Jackson, 2014.).

Vinska kiselina je najjača kiselina u vinu te daje osnovni okus kiselosti, o njenoj prisutnosti prvenstveno ovisi realni aciditet (pH) mošta.

Među solima vinske kiseline, u grožđu i moštu, najviše su prisutne: kalijev primarni tartarat, kalijev sekundarni tartarat, kalcijev primarni tartarat, kalcijev sekundarni tartarat. Najzastupljeniji je kalijev primarni tartarat. Slabo je topiv u vodi i alkoholu. Taloži se na dnu i stjenkama posuda te narušava stabilnost vina. Kalcijeve soli vinske kiseline su slabo topive, tako da se i one talože u obliku vinskog kamena (90 % K tartarati i 10 % Ca tartarati). Niske temperature ubrzavaju taloženje tartarata. Vinska kiselina se nalazi i u krutim dijelovima grozda. Komina sadrži 3 - 5 % vinske kiseline, dok talog nakon alkoholne fermentacije sadrži i do 20 % vinskog kamena (bogat izvor za tehničko dobivanje) (Radovanović, 1970.).

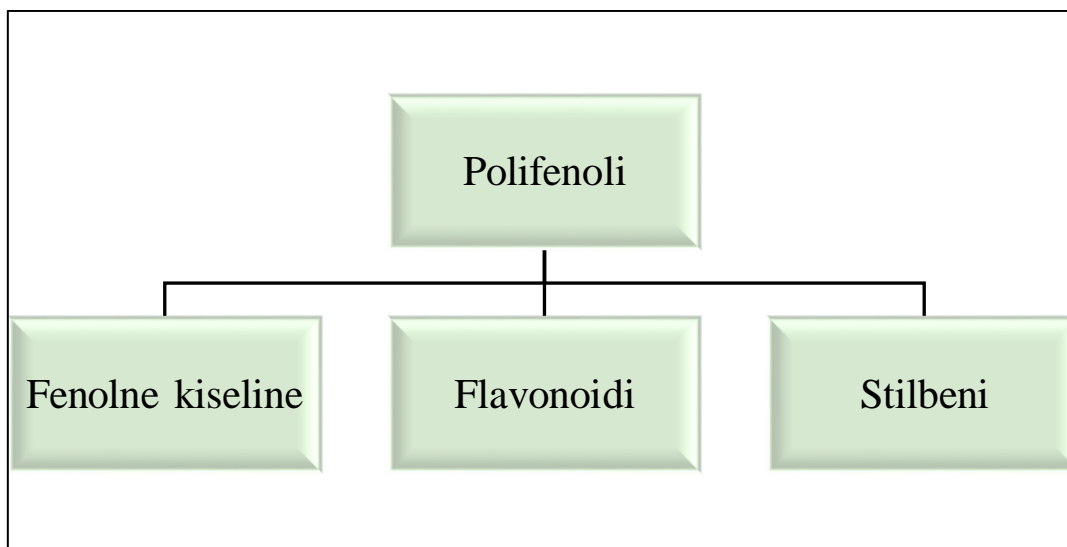
### *Realna kiselost*

Realna kiselost (pH) predstavlja koncentraciju vodikovih iona u moštu ili vinu koji su pokazatelji kiselosti. Ukupna kiselost i jačina disocijacije pojedinih kiselina utječu na pH. Vrijednost koncentracije vodikovih iona najviše ovisi o količini vinske kiseline u moštu i vinu jer ona najjače disocira. Vrijednost pH kod mošta i vina uglavnom se kreće između 2,8 i 3,8. Kiselija vina imaju pH vrijednost ispod 3,2 dok se kod nedovoljno kiselih ova vrijednost kreće i do 3,5. Kiselija vina se brže bistre i lakše čuvaju, jer nizak pH ima povoljan utjecaj na manji razvoj neželjenih mikroorganizama te su takva vina stabilnija za čuvanje (Zoričić, 1996.).

### *Polifenolni spojevi*

Grožđe i proizvodi od grožđa su namirnice bogate antioksidacijskim spojevima (Zhou i sur., 2012.). Blagotvorno djelovanje se pripisuje činjenici da grožđe sadrži mnogo benfitnih tvari, kao što su fenolni spojevi sa antioksidacijskim i antitumogenim djelovanjima (Fahmi i sur., 2013.).

Polifenoli su podijeljeni u tri glavne skupine prikazne na Slici 4.:



Slika 4. Osnovna podjela polifenola (prema Manach i sur., 2004.)

Prema blagotvornim svojstvima najvažniji polifenoli grožđa su flavonoidi među koje ubrajamo antocijanine i flavanole (Peterson i sur., 1998.).

Polifenoli su po strukturi aromatski spojevi s više hidroksilnih grupa. Slobodan oblik se rijetko nalazi u prirodi, najčešće su u esterificiranom ili konjugiranom obliku (Čović i sur,



2009.). Imaju utjecaj na kvalitetu budućeg vina te se zbog toga ekstrahiraju iz grožđa i koriste u raznim industrijama (He i Giusti, 2010.).

Uloga polifenola kod biljka je protektivna te služe kao molekule uključene u zaštitu od UV zračenja, inhibiraju razvoj štetnih mikroorganizama i štite od oksidacijskog stresa (Manach i sur., 2004.).

Fenolni spojevi se klasificiraju u flavonoide i ne-flavonoide, imaju minimalno jedan aromatski prsten s jednom ili više hidroksilnih skupina (Del Rio i sur., 2013.).

Vinova loza je biljka bogata fenolnim spojevima koji su uglavnom distribuirani u pokožici, stabljici, listovima i sjemenkama grožđa. Prema istraživanju Pastrana-Bonilla i sur. (2003.) ukupna koncentracija fenolnih spojeva varira od 23,8 mg/g GAE (ekvivalent galne kiseline) u pulpi, 351,6 mg/g GAE u listu, 374,6 mg/g GAE u pokožici, do 2178,8 mg/g GAE u sjemenkama. Utjecaj na fenolni sastav spojeva kod vinove loze ovisi o nizu čimbenika te fenolni sadržaj pokožice grožđa ovisi o: kultivaru, sastavu tla, klimi, (Koundouras i sur., 2006.) geografskom položaju, agro i ampelo zahvatima i izloženosti gljivičnim infekcijama (Bruno i sur., 2007; Lutz i sur., 2011.).

Najveći udio fenolnih spojeva kod grožđa čine neflavonoidi i flavonoidi. Neflavonoide u grožđu nalazimo u obliku fenolne kiseline i stilbena, a od flavonoida zastupljeni su flavonoli, flavanoli i flavan-3-oli (Jackson, 2014.).

### *Antocijani*

Ime potječe od grčkih riječi anthos (cvijeće) i kyanos (plav). Prirodni vodotopivi pigmenti, s različitim nijansama boja: plava, purpurna, ljubičasta, crvena i narančasta. Nalaze se u lišću i plodovima. Njihovu strukturu čini flavilijev kation. U grožu se nalazi pet najznačajnijih antocijana: malvidin, delfinidin, petunidin, peonidin i cijanidin (Pomar i sur., 2005.).

Fenolni spojevi uglavnom uključuju: proantocijanidine, antocijanine, flavonole, resveratrole i fenolne kiseline (Dopico-García i sur., 2008.). Proantocijanidini su glavni fenolni spojevi u sjemenki grožđa i koži grožđa (Hernandez-Jimenez i sur., 2009.).

Antocijanini su pigmenti i odgovorni su za crvenu boju grožđa. Najčešće okolišni čimbenici imaju veći utjecaj na ukupni sadržaj antocijana u grožđu nego na njegov sastav, koji je usko povezan sa sortom vinove loze (Flamini i sur., 2013.). Najveća koncentracija antocijana se nalazi u pokožici (Falchi i sur., 2006.). U crnom vinu antocijanini i flavonoidi su glavne dvije skupine fenolnih spojeva (Bell i sur., 2000.). Ukoliko je kvaliteta vina

izbalansirana oni daju vinu trpkooću ili astrigenciju te doprinose kvaliteti vina. Polifenolna trpkooća pripada taktilnom osjećaju koji je uzrokovan najčešće interakcijom polifenola, uglavnom polimernih, i proteina koji se nalaze u ljudskoj slini (Gawel, 1998.).

Prema istraživanju Yamane i sur. (2006.) nakupljanje antocijana u pokožici grožđa bilo je značajno veće pri temperaturama od 20 °C nego pri 30 °C, a najosjetljiviji temperaturni period je bio jedan do tri tjedna nakon početka šare.

Mendoza i sur. (2013.) istraživali su antifungalno djelovanje antocijana dobivenih ekstrakcijom iz različitih sorti grožđa (Cabernet sauvignon, Carménère i Syrah) na rast micelija *B. cinerea*. Ekstrakt koji je dobiven s lokacije loze Misiones de Rengo od kultivara Cabernet sauvignon bio je najaktivniji. Ekstrakt vinove loze s lokacije Miguel Torres od kultivara Cabernet sauvignon nije inhibirao rast micelija *B. cinerea*.

#### *Antioksidacijska aktivnost*

Antioksidansi su molekule koje reagiraju sa slobodnim radikalima na način da prekidaju lančane reakcije koje mogu izazvati oštećenja dijelova stanice (Rastija, 2007.).

Za procjenu antioksidacijske aktivnosti fenolnih spojeva najčešće se koristi DPPH metoda (1,1-difenil-2-pikrihidrazil) koja spada u indirektno metode određivanja sposobnosti hvatanja slobodnih radikala.

Postoje mnoga istraživanja koja su pokušavala odgonetnuti koji su fenolni spojevi i kemijska struktura odgovorni za antioksidacijske aktivnosti ekstrakta kod grožđa. Za iste fenolne spojeve kod koncentracija 50 % i 25 % pokazale su iste antioksidacijske aktivnosti, dok su razlike nastale tek kod koncentracija od 10 %, što sugerira da antioksidacijski kapacitet fenolnih kiselina ima granicu zasićenja koncentracijom, te iznad granice aktivnost se ne može dalje povećavati s koncentracijom (Dani i sur., 2009.).

Radovanović i sur. (2009.) i Chatterjee i sur. (2005.) ističu kako odnos između fenolnih spojeva i antioksidacijskog kapaciteta nije ujednačen u rezultatima različitih istraživanja, te naglašavaju da osim koncentracije na antioksidacijske sposobnosti fenolnih spojeva utječu i drugi faktori.

Prema istraživanju Rivero- Pérez i sur. (2008.) malvidin-3-glukozid je pokazao najveću antioksidacijsku aktivnost kod vina. Iako je fenolni indeks kod pulpe grožđa niži nego u pokožici, posjeduju jednake količine reaktivnosti na hidroksilne radikale (Falchi i sur., 2006;

Arnous i sur., 2002.), antioksidacijska aktivnost nastaje kao posljedica flavanola, a ne samo zbog antocijana.

Sjemenke grožđa sadrže najveći antioksidacijski kapacitet, prema autorima Garavaglia i sur. (2016.) on iznosi 42,18 mmol/g Troloxa.

#### *Polimerna boja*

Kompleks koji antocijani tvore s bisulfitom je bezbojan. Boja koja nastaje polimerizacijom antocijana, formiranjem kompleksa antocijani/tanini je otporna na djelovanje bisulfitu. Apsorbanca uzorka tretiranog bisulfitom, na 420 nm predstavlja stupanj posmeđivanja. Gustoća boje se definira kao suma apsorbanci na 420 nm i  $\lambda_{vis-max}$ . Omjer između polimerne boje i gustoće boje se koristi kao postotak boje koja je nastala polimerizacijom sastojaka (Pichler i sur., 2015.).

### 1.5. Cilj istraživanja i hipoteze

Ciljevi istraživanja su sljedeći:

1. Ispitati učinkovitost različitih oblika zaštite (kemijska, biološka i agro-ampelotehnička) na pojavu i intenzitet zaraze s *B. cinerea* na kultivaru Cabernet sauvignon u vinogorju Đakovo.
2. Utvrditi razlike u urodu, sadržaju šećera u moštu, ukupnoj kiselosti, pH vrijednosti te sadržaju ukupnih polifenola i antocijana u bobici koje se javljaju pri primjeni različitih oblika zaštite obzirom na zarazu s *B. cinerea*.
3. Utvrditi utjecaj godine (vremenskih prilika: srednje mjesečne temperature i količine i rasporeda oborina tijekom aktivne vegetacije) u tri godine istraživanja na kvantitativna i kvalitativna svojstva grožđa i mošta, kao i intenzitet zaraze s *B. cinerea*.

Na temelju postavljenih ciljeva hipoteze su:

1. Ne postoje razlike u utjecaju različitih oblika zaštite (kemijska, biološka i agro-ampelotehnička) na intenzitet zaraze s *B. cinerea*.
2. Ne postoje razlike u utjecaju različitih oblika zaštite na urod, sadržaj šećera u moštu, ukupnu kiselost, pH vrijednost te sadržaj ukupnih polifenola i antocijana u bobici.
3. Godine (vremenske prilike) utječu na zarazu s *B. cinerea*, te posljedično na urod i pokazatelje kvalitete mošta.

## 2. MATERIJAL I METODE RADA


### 2.1. Pedološke karakteristike lokacije

Eksperimentalni rad je obuhvaćao vremensko razdoblje od tri godine: 2015., 2016. i 2017., a proveden je u vinogradu Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek na lokaciji Mandićevac.

Vinograd je posađen 2013. godine, a radovi koji su prethodili su: krčenje starog vinograda, tanjuranje, oranje, uklanjanje i spaljivanje preostalih drvenastih dijelova, rigolanje, ravnanje terena, analiza tla, otvaranje pedološkog profila, gnojidba mineralnim gnojivom i stajnjakom prema preporuci Zavoda za agroekologiju i zaštitu okoliša Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Vinograd se prostire na jugoistočnim obroncima Krndije. Najviša kota terena se nalazi na 208 m nadmorske visine. Površina vinograda iznosi 1,44 ha, južne ekspozicije s padom orijentiranim na zapad – istok (9,8 %). Međuredni razmak u vinogradu iznosi 2,2 m, a unutar reda 0,8 m, (5 681 biljaka/ha). Istraživanje je obavljeno na kultivaru Cabernet sauvignon koji je cijepljen na podlogu SO4 (*V. berlandieri* x *V. riparia*).

Na lokalitetu Mandićevac otvaranjem pedološkog profila (Slika 5.) utvrđeno je postojanje četiri horizonta: A-E-B-C (Rastija, 2012.). Tip tla je definiran kao prijelaz iz tipično lesiviranog u lesivirano - pseudoglejno tlo (Tablica 7.) te pripada klasi eluvijalno-iluvijalnih tala karakteristične građe profila s horizontima.

Tablica 7. Pedomorfološke značajke profila P1 – Mandićevac, (Rastija, 2012.)

 <p>Slika 5. Pedološki profil (Fotografirao M. Drenjančević)</p>	Oznaka	Dubina (cm)	Boja: svijetlo sivo smeđa Tekstura: praškasta ilovača Struktura: praškasta CaCO <sub>3</sub> : nije utvrđen
	P	0 – 50	
	Btg	50-100	Boja tla: žuto smeđa Tekstura: praškasto glinasta ilovača Struktura: krupno mrvičasta CaCO <sub>3</sub> : nije utvrđen
	C	100 ≥	Boja tla: žuta Tekstura praškasto glinasta ilovača Struktura: praškasta CaCO <sub>3</sub> : nije utvrđen

Horizont P je nastao rigolanjem prethodnog vinograda koji je iskrčen, miješanjem humusno akumulativnog, eluvijalnog i dijela iluvijalnog horizonta te je nastao jedan antropogeni horizont dubine do 50 cm, karakteristične sivo-smeđe boje, praškasto ilovaste teksture sa sadržajem čestica gline od 22,9 % . Nakon toga slijedi iluvijalni argiluvični koji karakterizira akumuliranje gline iz gornjeg debljine je 50 cm i žuto-smeđe boje. Tekstura podoraničnog horizonta (Tablica 8.) je praškasto glinasta sa nešto većim sadržajem gline od 29,38 %.

Tablica 8. Teksturni sastav (Rastija, 2012.)

Lokalitet	Profil	Dubina	Krupni pijesak (%)	Sitni pijesak (%)	Krupni prah (%)	Prah (%)	Glina (%)	Teksturna oznaka
Mandićevac	1	0-50	0,88	2,22	41,31	32,66	22,92	PrI
		50-100	0,81	1,15	37,71	30,94	29,38	PrGI
		-100	0,51	1,13	38,5	31,17	28,69	PrGI

Antropogeni horizont je malo porozan, osrednjeg kapaciteta tla za vodu, malog kapaciteta tla za zrak i osrednje zbijenosti (Tablica 9.).

Tablica 9. Pedofizikalna svojstva (Rastija, 2012.)

Lokalitet	Dubina (cm)	Trenutna vlaga tla (%)	Poroznost tla (%)	Ocjena	Retencijski kapacitet tla za vodu (%)	Ocjena
Mandićevac	0-50	26,03	41,3	malo porozno	37,63	Osrednji
	50-100	23,56	40	malo porozno	37,88	Osrednji

Iluvijalni horizont je male poroznosti, osrednjeg kapaciteta za vodu, malog kapaciteta za zrak i jako zbijen (Tablica 10.).

Tablica 10. Gustoća tla i gustoća pakovanja (Rastija, 2012.)

Lokalitet	Dubina (cm)	Volumna gustoća tla ( $\text{gcm}^{-3}$ )	Gustoća čvrste faze ( $\text{gcm}^{-3}$ )	Gustoća pakovanja	
				$\text{gcm}^{-3}$	Ocjena zbijenosti
Mandićevac	0-50	1,51	2,57	1,71	srednja zbijenost
	50-100	1,58	2,63	1,84	jaka zbijenost

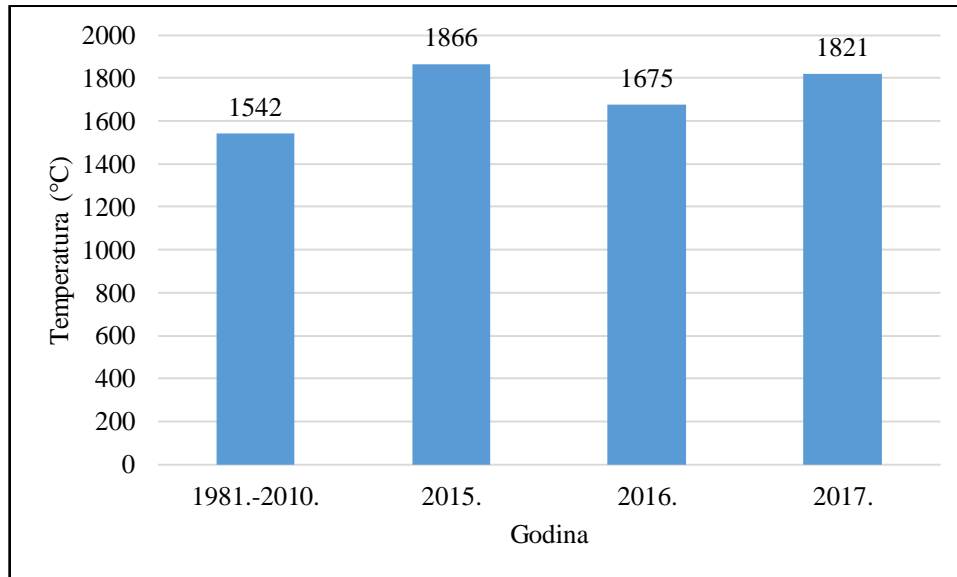
Iz kemijskih analiza tla prikazanih u Tablici 11. vidljiva je jaka kiselost tla s prosječnom pH (KCl) vrijednosti 5,12. Prosječan sadržaj humusa iznosi (1,64% ) te se radi o vrlo slabo humoznom tlu. Tlo je vrlo bogato opskrbljeno fosforom (39,13 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$ /100g tla). Prosječan sadržaj kalija iznosio je 19,42 mg  $\text{K}_2\text{O}$ /100 g tla u oraničnom sloju koji je dobre opskrbljenosti, dok je sadržaj kalija u podoraničnom sloju iznosio 27,20 mg  $\text{K}_2\text{O}$ /100g te je tlo u tom horizontu vrlo bogato opskrbljeno kalijem. Kemijska svojstva tla ukazuju na kiselu reakciju, prisutnost karbonata nije utvrđena.

Tablica 11. Rezultati kemijske analize tla

Lokalitet	Profil	Dubina (cm)	pH		mg/100g tla		Humus%	Hk $\text{cmol}(+)\text{kg}^{-1}$
			$\text{H}_2\text{O}$	KCl	$\text{P}_2\text{O}_5$	$\text{K}_2\text{O}$		
Mandićevac	1	0-30	6,19	5,09	31,08	19,42	1,52	3,06
		30-60	6,25	5,16	47,19	27,20	1,76	3,24

## 2.2. Klimatske prilike istraživanog područja

Prosječna suma aktivnih temperatura istraživanog područja iznosi 3600 °C, te je područje pogodno za uzgoj kultivara srednjeg vremena dozrijevanja. Sume efektivnih temperatura prikazane su u Grafikonu 1.



Grafikon 1. Suma efektivnih temperatura za višegodišnji prosjek i godine istraživanja (DHMZ)

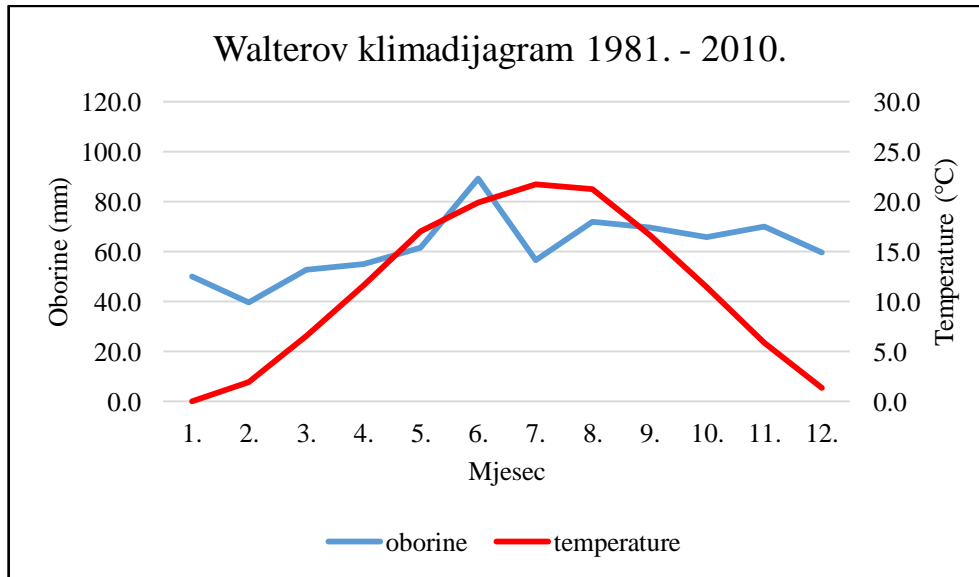
Višegodišnja suma (1981. – 2010.) efektivnih temperatura navedenog područja iznosi 1542 °C, te prema Winklerovoj podjeli pripada drugoj zoni ( 1390 – 1670 °C), odnosno proizvodnoj zoni B prema Uredbi (EU) br. 1308/2013. Prosjek trogodišnjeg razdoblja u kojem je provedeno istraživanje (2015. – 2017.) iznosi 1787 °C, što ukazuje na porast temperatura unutar vegetacijskog perioda, te su postignute efektivne temperature koje su karakteristične za proizvodnu zonu C I (1671. – 1940. °C).

Prikupljeni podatci oborina i temperatura dobiveni su od Državnog hidrometeorološkog zavoda u Zagrebu za najbližu meteorološku postaju koja se nalazi u Đakovu. Za sate sijanja sunca prikazani su podatci za najbližu postaju na kojoj se mjeri insolacija – Osijek.

Prema tridesetogodišnjim podacima DHMZ-a najmanja godišnja količina oborina iznosila je 445,7 mm (2000.), a najveća količina oborina zabilježena je tijekom 2010. godine i iznosila je 1096,3 mm. Što se tiče oborina tijekom vegetacijske sezone, najmanja količina zabilježena je tijekom 2000. godine i iznosila je 251,1 mm. Najveća količina oborina tijekom vegetacije zabilježena je 2010. godine i iznosila je 730,9 mm. Najmanja prosječna godišnja

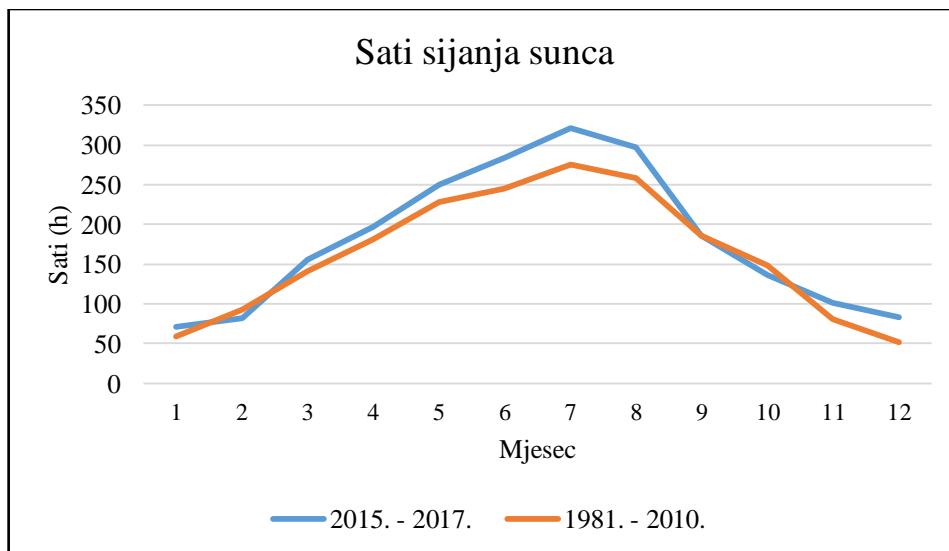


temperatura zabilježena je 1985. godine i iznosila je 9,9 °C, a najveća prosječna godišnja temperatura je zabilježena tijekom 2000. godine i iznosila je 12,7 °C.



Grafikon 2. Walterov klimadijagram višegodišnjeg prosjeka temperatura i oborina za područje Đakova u razdoblju 1981/2010. godina (DHMZ)

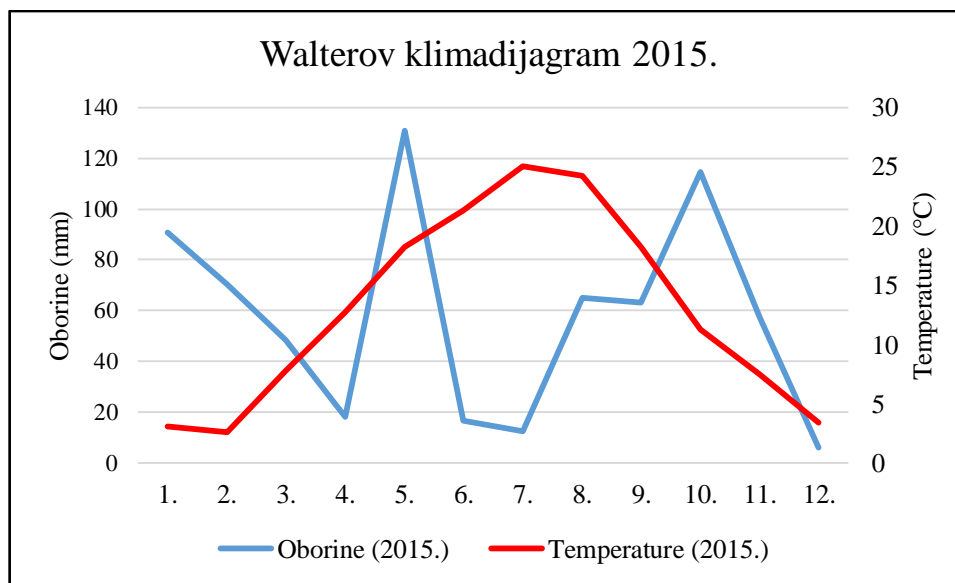
Višegodišnji prosjek oborina za razdoblje (1981. – 2010.) iznosi 744 mm, sa deficitom u srpnju i kolovožu. Prosječna godišnja temperatura u istom periodu iznosi 11,3 °C (Grafikon 2.)



Grafikon 3. Sati sisanja sunca (h) po mjesecima za period 2015. – 2017. i 1981. – 2010. godina (DHMZ)

Višegodišnji prosjek sati sijanja sunca (Grafikon 3.) iznosi 1946. Tijekom razdoblja 2015. – 2017. godine prosječan broj sunčanih sati bio je 2166, što predstavlja povećanje od 10,15 % u odnosu na višegodišnji prosjek.

Količina oborina unutar vegetacijskog perioda (2015.) iznosila je 420,8 mm (Grafikon 4.) dok je za isto razdoblje višegodišnji prosjek (1981.- 2010.) iznosio 471,3 mm, što čini razliku od 10,71%.



Grafikon 4. Walterov klimadijagram (Đakovo) za 2015. godinu (DHMZ)

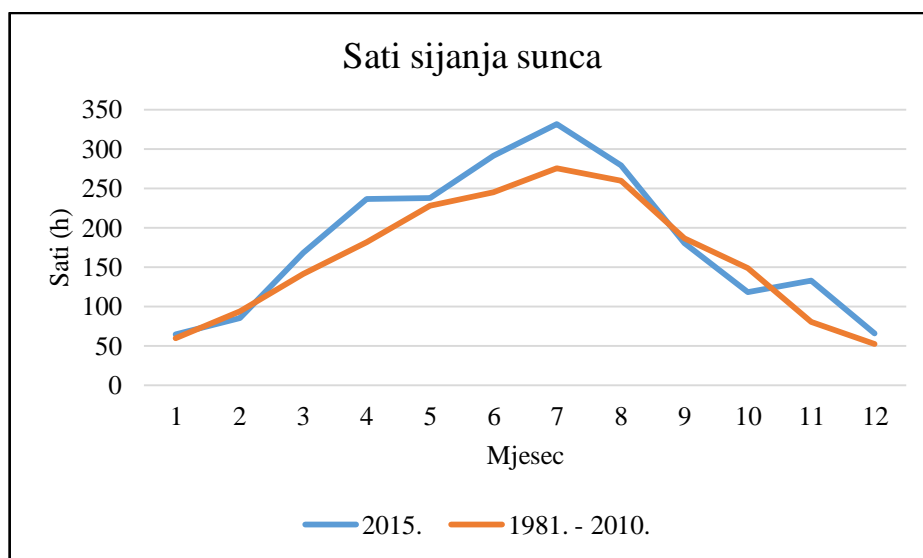
Tijekom vegetacije u 2015. godini zabilježen je deficit oborina i u travanju i u lipanju i u rujnu u odnosu na višegodišnji prosjek u kojem je uobičajena pojava deficita oborina samo u srpnju i kolovozu. Svibanj je obilježen kao kišovit sa ukupnom količinom oborina od 130,8 mm, što iznosi povećanje od 111,65 % za količinu oborina istog mjeseca višegodišnjeg prosjeka.

Prosječna temperatura zraka (2015.) bila je viša za 1,6 °C u odnosu na višegodišnji prosjek.

Tablica 12. Temperatura zraka (°C) i oborine (mm) unutar vegetacijskog perioda 2015. godine i višegodišnji prosjek za područje Đakova (DHMZ)

Mjesec								
Godina	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan	Listopad	Prosjek
<b>Srednje mjesečne temperature (°C)</b>								
2015.	12,7	18,2	21,3	25,0	24,2	18,2	11,3	18,7
1981. - 2010.	11,7	17,1	19,9	21,8	21,3	16,7	11,5	17,1
<b>Količina oborina (mm)</b>								<b>Ukupno</b>
2015.	18,2	130,8	16,8	12,4	64,9	63,1	114,6	420,8
1981. - 2010.	55,3	61,8	89,4	56,6	72,3	69,9	66,0	471,3
<b>Broj vrućih dana (Tmax ≥ 30 °C)</b>								<b>Ukupno</b>
2015.	-	-	-	1	-	-	-	1
1981. - 2010.	-	-	-	1	-	-	-	1

Tijekom srpnja 2015. godine, zabilježen je jedan vruć dan ( $T_{max} \geq 30 \text{ °C}$ ) s dnevnom prosječnom temperaturom od  $30,0 \text{ °C}$  (Tablica 12.). U tridesetogodišnjem periodu svega jedan dan tijekom srpnja (2007.) iznosio je  $30,2 \text{ °C}$ .

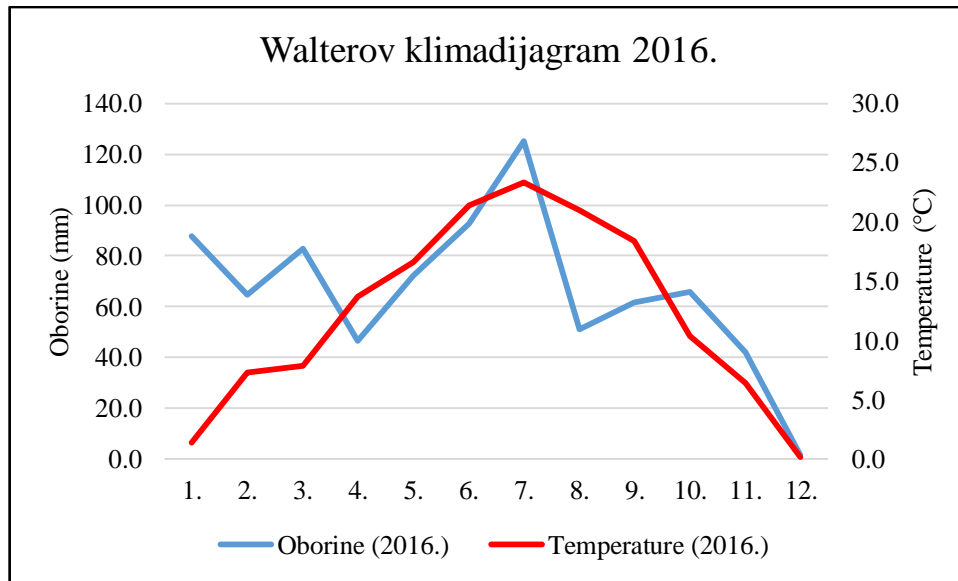


Grafikon 5. Sati sijanja sunca (h) za 2015. godinu i višegodišnji prosjek (DHMZ)

Tijekom 2015. ukupan broj sunčanih sati bio je 2186 (Grafikon 5.), što predstavlja povećanje od 10,98 % u odnosu na višegodišnji prosjek.

Tijekom vegetacijskog perioda 2016. godine količina oborina iznosila je 515 mm, što je za 8,48 % više u odnosu na višegodišnji prosjek. Najveća količina oborina je zabilježena tijekom srpnja 125,2 mm (Grafikon 6.), što predstavlja povećanje od 121,20 % u usporedbi s višegodišnjim prosjekom čime je izbjegnuta uobičajeni sušni period u srpnju.

U istom periodu prosječna temperatura bila je viša za svega 0,7 °C u odnosu na višegodišnji prosjek.

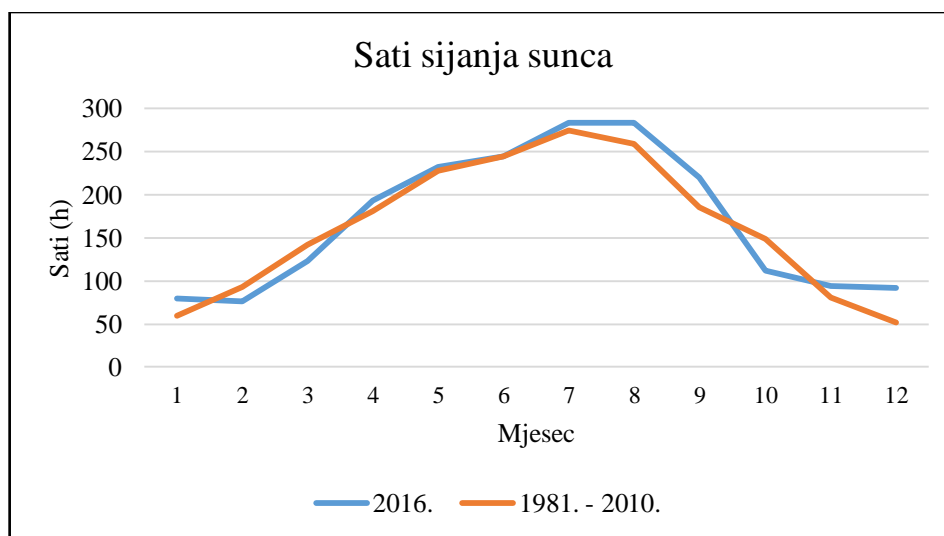


Grafkon 6. Walterov klimadijagram (Đakovo) za 2016. godinu (DHMZ)

Tijekom 2016. godine (Tablica 13.), nije zabilježen nijedan vruć dan ( $T_{max} \geq 30$  °C).

Tablica 13. Temperatura zraka (°C) i oborine (mm) unutar vegetacijskog perioda 2016. godine i višegodišnji prosjek za područje Đakova (DHMZ)

Mjesec								
Godina	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan	Listopad	Prosjek
<b>Srednje mjesečne temperature (°C)</b>								
2016.	13,7	16,6	21,4	23,3	21,0	18,4	10,4	17,8
1981. - 2010.	11,7	17,1	19,9	21,8	21,3	16,7	11,5	17,1
<b>Količina oborina (mm)</b>								<b>Ukupno</b>
2016.	46,5	72,1	92,7	125,2	51,0	61,5	66,0	515,0
1981. - 2010.	55,3	61,8	89,4	56,6	72,3	69,9	66,0	471,3
<b>Broj vrućih dana (Tmax ≥ 30 °C)</b>								<b>Ukupno</b>
2016.	-	-	-	-	-	-	-	-
1981. - 2010.	-	-	-	1	-	-	-	1

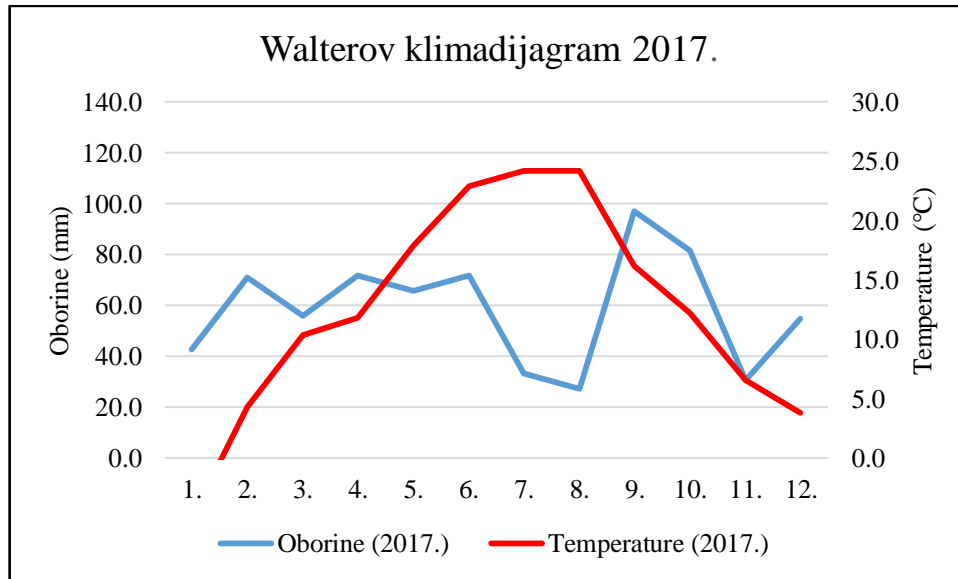


Grafikon 7. Prosjek sati sisanja sunca (h) za 2016. godinu i višegodišnji prosjek (DHMZ)

Tijekom 2016. godine ukupan broj sunčanih sati bio je 2031 (Grafikon 7.), što predstavlja povećanje od 4,18 % u odnosu na višegodišnji prosjek.

Tijekom vegetacije 2017. godine, ukupna količina oborina iznosila je 448,4 mm, što je manje za 4,88 % u odnosu na višegodišnji prosjek. Sušno razdoblje započelo je od svibnja i potrajalo je do kraja kolovoza (Grafikon 8.). Najsušniji mjesec bio je kolovoz sa 27,1 mm

oborina, dok je višegodišnji prosjek za isti mjesec iznosio 72,3 mm te je deficit iznosio 62,52 %.



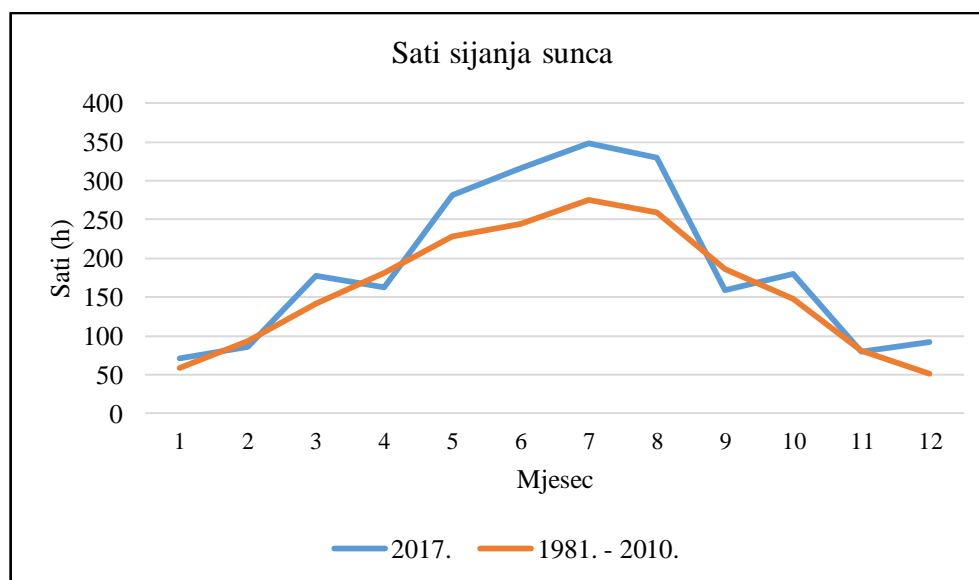
Grafikon 8. Walterov klimadijagram (Đakovo) za 2017. godinu (DHMZ)

Prosječna temperatura za vegetacijsko razdoblje tijekom 2017. godine iznosila je 18,5 °C, što je za 1,4 °C porast u odnosu na višegodišnji prosjek.

Broj vrućih dana ( $T_{max} \geq 30$  °C) tijekom 2017. godine bio je najviši u posljednjih 30 godina ukupno su zabilježena tri dana (Tablica 14.) sa prosječnom dnevnom temperaturom ( $T_{max} \geq 30$  °C), dok je za isto razdoblje u periodu (1981. – 2010.) zabilježen svega jedan dan sa  $T_{max} \geq 30$  °C.

Tablica 14. Temperatura zraka (°C) i oborine (mm) unutar vegetacijskog perioda 2017. godine i višegodišnjeg prosjek za područje Đakova (DHMZ)

Mjesec								
Godina	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan	Listopad	Prosjeak
<b>Srednje mjesečne temperature (°C)</b>								
2017.	11,8	17,9	22,9	24,2	24,2	16,2	12,2	18,5
1981. - 2010.	11,7	17,1	19,9	21,8	21,3	16,7	11,5	17,1
<b>Količina oborina (mm)</b>								<b>Ukupno</b>
2017.	71,7	65,8	71,9	33,3	27,1	97,0	81,6	448,4
1981. - 2010.	55,3	61,8	89,4	56,6	72,3	69,9	66,0	471,3
<b>Broj vrućih dana (Tmax ≥ 30 °C)</b>								<b>Ukupno</b>
2017.	-	-	-	1	2	-	-	3
1981. - 2010.	-	-	-	1	-	-	-	1



Grafikon 9. Prosjeak sati sisanja sunca (h) za 2017. godinu i višegodišnji prosjeak (DHMZ)

Tijekom 2017. godine ukupan broj sunčanih sati bio je 2211 (Grafikon 9.), što predstavlja povećanje od 11,98 % u odnosu na višegodišnji prosjeak.

### 2.3. Postavljanje pokusa

Pokus je postavljen kao višegodišnji u trajanju od tri godine po slučajnom bloknom rasporedu sa šest varijanata u četiri repeticije (Tablica 15.).

Tretmani u pokusu su bili sljedeći:

1. Kontrola bez botriticidne zaštite (Kontrola I) – „KBAZ“
2. Konvencionalna zaštita botriticidima (Switch 62,5 WG i Teldor SC 500) – „KZB“
3. Skup ampelotehničkih mjera (defolijacija, plijevljenje, ventiliranje grozdova) - „SAM“
4. Primjena *Trichoderme harzianum* (Trichodex WP) – „TH“
5. Primjena *Bacillus subtilis* (Serenade) – „BS“
6. Primjena kalcijevog klorida – „CaCl<sub>2</sub>“

Tablica 15. Plan pokusa

Repeticija	Naziv tretmana					
I	KBAZ	KZB	SAM	TH	BS	CaCl <sub>2</sub>
II	TH	CaCl <sub>2</sub>	KBAZ	BS	SAZ	SAM
III	BS	TH	CaCl <sub>2</sub>	SAZ	SAM	KBAZ
IV	SAM	KBAZ	TH	CaCl <sub>2</sub>	BS	SAZ

Jedan retman je uključivao 18 biljaka, ponovljen u četiri repeticije. Površina pokusa iznosila je 855,36 m<sup>2</sup> i uključivala je 432 trsa (Slika 6.).



Slika 6. Pokusna parcela (Fotografirao T. Kujundžić)



Primjena pojedinih tretmana izvedena je kako slijedi: Trichodex WP (četiri puta u toku vegetacije), Serenade (četiri puta u toku vegetacije), CaCl<sub>2</sub> (šest puta u toku vegetacije), Switch 62,5 WG (dva puta u toku vegetacije) i Teldor SC 500 (jedan puta u toku vegetacije) obavljena je motornim leđnim atomizerom „Stihl SR 400“ u ranim jutarnjim ili večernjim satima pri mirnom vremenu kako bi se spriječilo zanošenje preparata na druge varijante u pokusu. Također leđni atomizer je bio korišten za ventiliranje grozdova (četiri puta u toku vegetacije). Uklanjanje listova i zaperaka je obavljano uzastopno tijekom vegetacije (ukupno 8 puta). Korištenjem plastičnih folija između tretmana i repeticija, dodatno se sprječavalo zanošenje korištenih pripravaka. Tijekom vegetacijske sezone odrađena je primjena pojedinih tretman kao što je prikazano u Tablici 16.

Tablica 16. Primjena pojedinih tretmana na pokusnoj parceli

BBCH skala	Naziv tretmana					
	KBAZ	KZB	SAM	TH	BS	CaCl <sub>2</sub>
55 - 57	-	-	+	-	-	-
	-	-	+	-	-	-
61 - 63	-	-	+	-	-	+
69 - 71	-	+	+	+	+	+
71 - 73	-	-	+	-	-	+
73 - 75	-	-	+	+	+	+
77 - 79	-	+	+	+	+	+
81 - 83	-	+	+	+	+	+

KBAZ - kontrola bez botriticidne zaštite, KZB - konvencionalna zaštita botriticidima, SAM - skup ampelotehničkih mjera, TH - *Trichoderma harzianum*, BS - *Bacillus subtilis*, CaCl<sub>2</sub>- kalcijev klorid

(-) – bez primjene tretmana

(+) – primjena tretmana

Korištenje botriticida Switch 62,5 WG i Teldor SC 500 kod tretmana KZB obavljeno je naizmjenično kako bi se izbjegla moguća pojava rezistentnosti.

Primjena sredstava za zaštitu bilja ostalih značajnih bolesti i štetnika kod vinove loze obavljena je traktorskim atomizerom. U Tablici 17. prikazana su sredstva za zaštitu bilja korištena tijekom tri godine istraživanja.

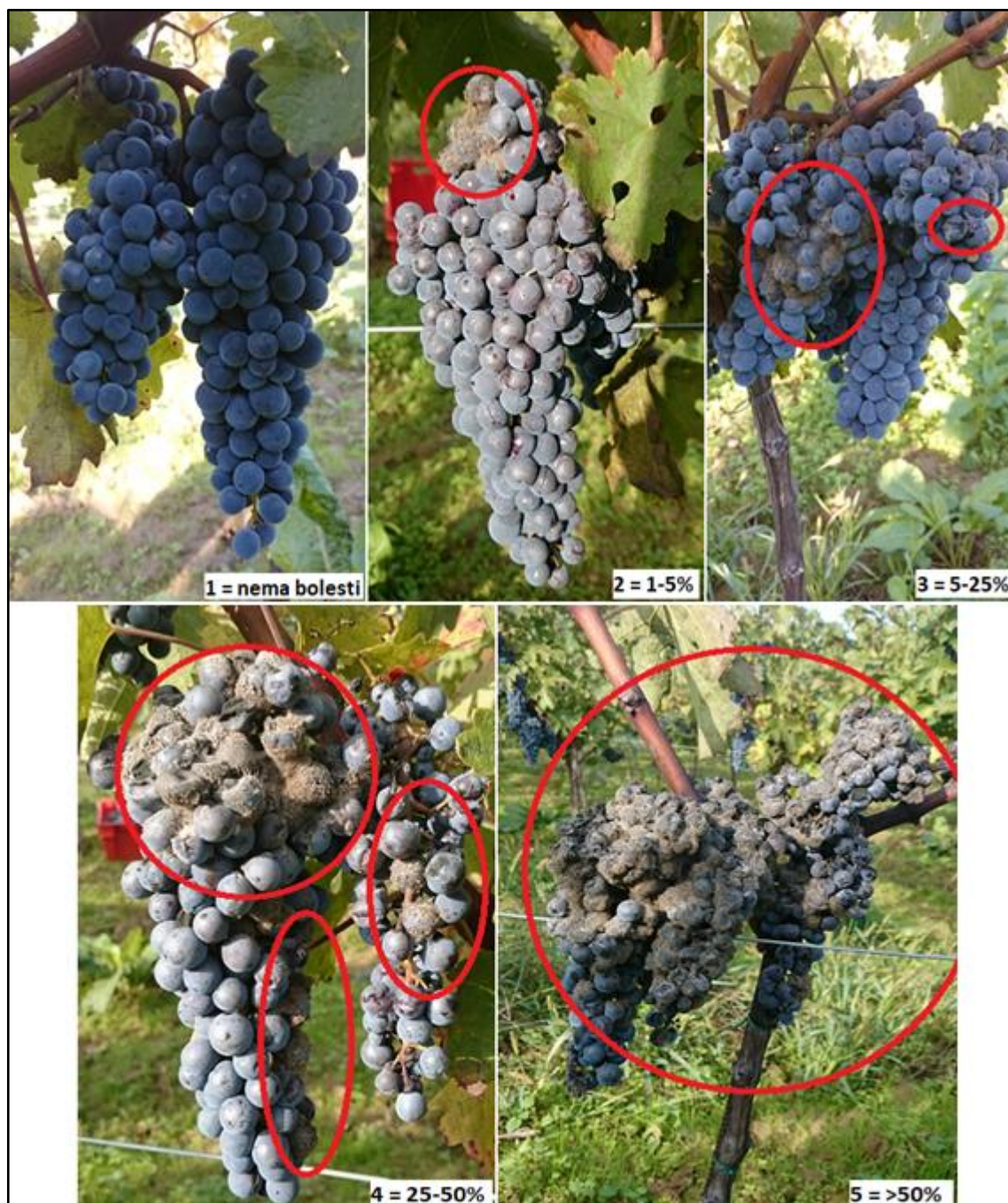
Tablica 17. Popis primjenjenih zaštitnih sredstava na pokusnoj parceli

Broj tretiranja	BBCH skala	Naziv sredstva (djelatna tvar)
I	0 - 11	Cuprablau Z ( <i>bakarni oksiklorid</i> ) - 1 % + Chromosul 80 ( <i>sumpor</i> ) - 0,5 %
II	13 - 15	Mankozeb 80 WP ( <i>mankozeb</i> ) - 0,25 % + Chromosul 80 ( <i>sumpor</i> ) - 0,5 %
III	15 - 55	Mildicut 25 SC ( <i>ciazofamid</i> ) - 1L/ha + Karathane Gold 350 EC ( <i>meptil-dinokap</i> ) - 0,06 %
IV	55 - 57	Mildicut 25 SC ( <i>ciazofamid</i> ) - 2L/ha + Domark 40 ME ( <i>tetrakonazol</i> ) - 0,07 %
V	68 - 71	Mildicut 25 SC ( <i>ciazofamid</i> ) - 2L/ha + Domark 40 ME ( <i>tetrakonazol</i> ) - 0,07 % + Chromosul 80 ( <i>sumpor</i> ) - 0,3 % + Sumialfa 5 FL ( <i>esfenvalerat</i> ) - 0,02 % + Switch 62,5 WG ( <i>ciprodinil, fludioksonil</i> ) - 0,08 %
VI	71 - 73	Ridomil Gold MZ PEPITE ( <i>metalaksil-m, mankozeb</i> ) - 0,25 % + Dynali EC ( <i>difenkonazol, ciflufenamid</i> ) - 0,6 L/ha
VII	73 - 75	Mildicut 25 SC ( <i>ciazofamid</i> ) - 4 L/ha + Systhane 24 E ( <i>miklobutanil</i> ) - 0,01 % + Karathane Gold 350 EC ( <i>meptil-dinokap</i> ) - 0,05 % + Teldor SC 500 ( <i>fenheksamid</i> ) - 1,5 L/ha
VIII	75 - 77	Amaline Flow SC ( <i>zoksamid, tribazični bakreni sulfat</i> ) - 2,8 L/ha + Vivando KS ( <i>metrafenon</i> ) - 0,02 % + Decis 2,5 EC ( <i>deltametrin</i> ) - 0,4 L/ha
IX	81 - 89	Champion FLOW SC ( <i>bakarni hidroksid</i> ) - 0,4 % + Chromosul 80 ( <i>sumpor</i> ) - 0,4 % + Switch 62,5 WG ( <i>ciprodinil, fludioksonil</i> ) - 0,08 %

Svaki tretman je ocjenjen zasebno te je određen postotak zaraze grozdova s *B. cinerea* prema skali koju propisuje EPPO (2001.):

- 1 = nema bolesti
- 2 = 1 - 5 %
- 3 = 5 - 25 %
- 4 = 25 - 50 %
- 5 = > 50%.

Ocjena bolesti obavljena je neposredno prije berbe (Slika 7.).



Slika 7. Ocjena bolesti prema EPPO skali (Fotografirao T. Kujundžić)

Berba je obavljena ručno uz brojanje grozdova i vaganje uroda svakog trsa pojedinačno digitalnom vagom. Iz uroda svake parcelice formiran je prosječni uzorak (Slika 8.). Prikupljeni uzorci su u najkraćem vremenskom roku (istog dana) odveženi na daljnju analizu u laboratorij (Slika 9.).



Slika 8. Objedinjavanje grožđa pojedine parcelice i uzimanje prosječnog uzorka

(Fotografirao T. Kujundžić)



Slika 9. Prikupljeni uzorci spremni za transport (Fotografirao T. Kujundžić)

Iz prosječnog uzorka, u laboratoriju za Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, određeni su sljedeći pokazatelji kvalitete grožđa i mošta:

- količina šećera u moštu
- pH mošta
- ukupna kiselost mošta.

U laboratoriju za tehnologiju vina Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek odrađene su sljedeće analize:

- sadržaj ukupnih polifenola
- sadržaj antocijana u bobici
- antioksidacijska aktivnost
- polimerna boja.

#### **2.4. Pokazatelji kvalitete mošta**

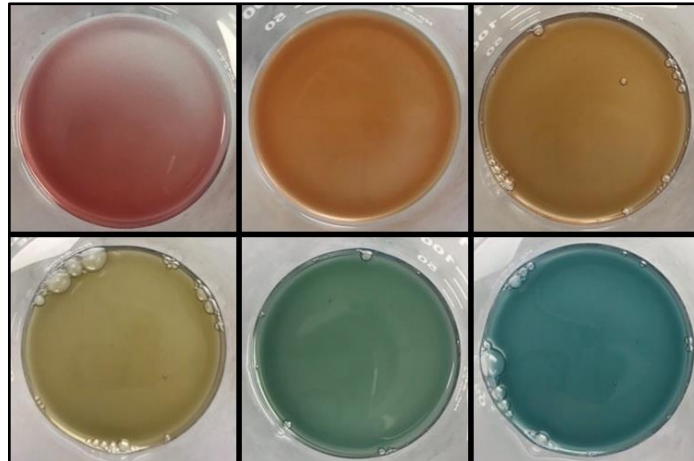
Priprema uzoraka za određivanje sadržaja šećera u moštu, ukupne i realne kiselosti napravljena je iz prosječnog uzoraka grožđa svake parcelice (muljanjem i filtriranjem). Na taj način se dobiva čist uzorak bez krutih dijelova. Otklanjanjem prvih nekoliko kapi filtrata dobije se bistri mošt koji je korišten u navedenim analizama.

##### *Sadržaj šećera u moštu*

Sadržaj šećera određen je digitalnim refraktometrom (Hanna HI96814). Leća refraktometra treba biti prekrivena moštom te se rade dva uzastopna mjerenja iz čega se izračunava prosjek. Budući da je uređaj baždaren na 20 °C, za svako odstupanje od navedene temperature treba napraviti korekciju koja je utvrđena od strane (OIV-a) i može se provjeri u korekcijskoj tablici. Sadržaj šećera je izražen u stupnjevima Oecshlovim (°Oe).

##### *Određivanje ukupne i realne kiselosti mošta*

Određivanje ukupne kiselosti obavljeno je metodom neutralizacije (Oeno 21/2004; NN 106/2004). U Erlenmeyerovu tikvicu se doda pripremljen uzorak (10 ml mošta), zatim reagens (bromtimol plavo) te se titrira uz postepeno dodavanje 0,1 M otopine (Slika 10.) NaOH do pH 8,2. Količina ukupnih kiselina se dobije množenjem utrošak NaOH sa faktorom 0,75. Dobiveni rezultat je izražen u ekvivalentima vinske kiseline g/L. Vrijednost pH je određena uz pomoć pH-metra (827 pH lab, Metrohm, Switzerland).



Slika 10. Promjena boje uzorka prilikom određivanja ukupne kiselosti mošta (Fotografirao T. Kujundžić)

Priprema uzoraka za određivanje polifenola, antocijana, antioksidacijske aktivnosti i polimerne boje obavljena je prema protokolu Rustioni, i sur. (2014.). Kao materijal za ekstrakciju korištena je pokožica (Slika 12.). Iz prosječnog uzorka se odvaja deset pokožica te se preliju sa 20 ml pripremljene otopine (70% etanol, 29% voda, 1% kloridna kiselina). Potom su uzorci odloženi u tamni prostor 16 – 19 h. Nakon toga je pokožica izdvojena te je uzorak centrifugiran. Dobiveni supernatant je korišten za daljnje analize.

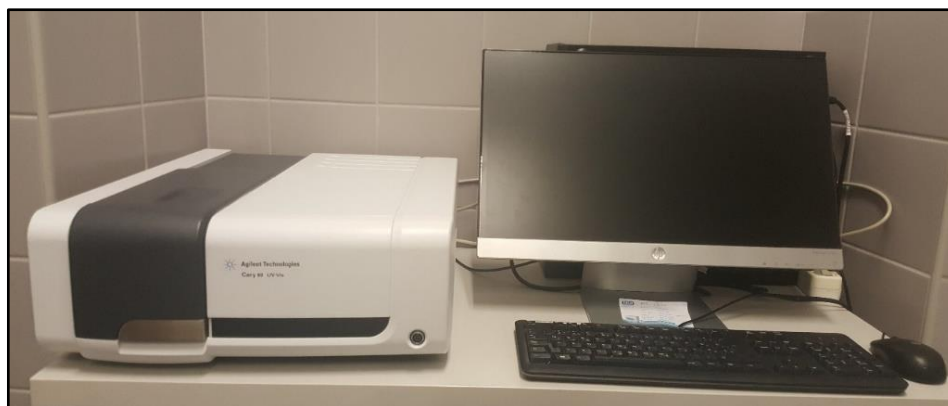


Slika 12. Odvajanje i vaganje pokožice (Fotografirao T. Kujundžić)

#### *Određivanje ukupnih polifenola*

Polifenoli su određeni pomoću Folin-Ciocalteu metode (Ough i Amerine, 1988.). U 0,2 mL uzorka dodano je 1,8 mL destilirane vode, 10 mL 3,3% FC otopine te 8 mL 7,5 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Za slijepu probu umjesto uzorka korištena je destilirana voda. Nakon čuvanja

uzoraka 2 sata u mraku, izmjerena je absorbanca spektrofotometrom „Cary 60“ (Slika 11.) na 765 nm, a koncentracije polifenola su određene interpolacijom pomoću kalibracijske krivulje za galnu kiselinu (mg GAE/L).



Slika 11. Spektrofotometar „Cary 60“ (Fotografirao T. Kujundžić)

### *Određivanje antocijana*

Antocijani su određeni pomoću pH-diferencijalne metode koja se zasniva na strukturnoj transformaciji kromofora antocijana u ovisnosti o promjeni pH (Giusti i Wrolstad, 2001.). Za analizu je otpipetirano 0,2 mL uzorka u dvije kivete te u jednu dodano je 2,8 mL pufera pH vrijednosti 1, a u drugu 2,8 mL pufera pH vrijednosti 4,5. Nakon 15 minuta mjerena je absorbanca na 512 nm i 700 nm. Koncentracija antocijana izračunata je prema formuli:

$$c \text{ (antocijana) (mg/kg)} = (A \times M \times FR \times 1000) / \varepsilon \times l$$

gdje je:

A - absorbancija uzorka, a izračunava se prema izrazu:

$$A = (A_{512\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{512\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

M - 449,2

FR - faktor razrjeđenja

$\varepsilon$  - molarna absorptivnost; 26 900

l - duljina kivete; 1 cm

(\*M i  $\varepsilon$  za cijanidin-3-glukozid).

*Određivanje antioksidacijske aktivnosti*

Za određivanje antioksidacijske aktivnosti primijenjena je metoda po Brand-Williams i sur. (1995.) s malim modifikacijama. Antioksidacijska aktivnost određena je primjenom 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) reagensa za kojeg je karakteristično smanjenje ljubičaste boje praćene mjerenjem absorbance na 517 nm. Do promjene absorbance dolazi zbog reakcije reagensa s antioksidansima. Za analizu je u kivetu otpipetirano 0,2 mL uzorka i dodano 3 mL DPPH reagensa otopljenog u etanolu ( $A_{517nm}=1.000$ ), a absorbanca je mjerena nakon 15 min na 517 nm. Rezultat je izražen preko kalibracijske krivulje Troloxa (mg/100g).

$$\text{DPPH otopine } y = 26448x - 0.0076$$

$$y = \text{Apsorbancija } x = \text{g DPPH/ml}$$

*Određivanje polimerne boje*

Za određivanje polimerne boje korištena je metoda prema Giusti i Wrolstad (2001.). U dvije kivete otpipetirano je 0,2 mL uzorka te je u jednu dodano 3 mL destilirane vode, a u drugu 2,8 mL vode i 0,2 mL kalij bisulfita. Nakon 15 minuta absorbanca je mjerena na 420, 512 i 700 nm, a udio polimerne boje izračunat je na sljedeći način:

Gustoća boje kontrolnog uzorka (tretiranog vodom):

$$\text{Gustoća boje} = [(A_{420nm} - A_{700nm}) + (A_{512nm} - A_{700nm})] \times \text{FR}$$

Boja nastala polimerizacijom (uzorak tretiran bisulfitom):

$$\text{Boja nastala polimerizacijom} = [(A_{420nm} - A_{700nm}) + (A_{512nm} - A_{700nm})] \times \text{FR}$$

FR – faktor razrjeđenja

$$\% \text{ boje nastale polimerizacijom} = (\text{boja nastala polimerizacijom} / \text{gustoća boje}) \times 100$$

**2.5. Statistička analiza podataka**

Statistička analiza podataka napravljena je uz korištenje uobičajenih statističkih procedura. Mjere opisne statistike korištene u ovom radu su: aritmetička sredina, standardna devijacija, koeficijent varijacije te rasponi na uzorku  $n=72$ .

Utjecaj tretmana na ispitivana svojstva testiran je pomoću višefaktorijske analize varijance ( $p < 0,01$ ). Za svojstva kod kojih je utvrđen značajan utjecaj tretmana, razlike srednjih vrijednosti između tretmana ispitane su pomoću Bonferronijevog testa ( $p < 0,01$ ).



U odnosu na neke češće korištene pojedinačne testove (Tukeyev HSD test), kod Bonferronijevog testa je manja mogućnost pogreške tipa I (statistička pogreška koja nastaje kada se pronađe razlika između ispitanih skupina koja u stvarnosti ne postoji). Za procjenu učinka pojedinih tretmana na *B. cinerea* napravljena je jednosmjerna analiza varijance budući da je samo u 2015. godini zabilježena prisutnost bolesti.

Kako bi utvrdili sličnost utjecaja tretmana na ispitivana svojstva, tretmani su grupirani pomoću hijerarhijske klaster analize. Nakon što su dobiveni podatci transformirani „Z – transformacijom“ obavljena je hijerarhijska klaster analiza te su grupiranja napravljena prema „Single linkage„ metodi. Udaljenost između tretmana izračunata je kao kvadratna Euklidova udaljenost.

Svi dobiveni podatci obrađeni su standardnim procedurama uz pomoć statističkog paketa SAS 9.4 for Windows i SAS Enterprise Guide 7.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

### 3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

#### 3.1. Urod

Masa i broj grozdova su glavni elementi koji čine urod. Postoje razlike u masi grozdova i rodnosti pupova između pojedinih kultivara, a velik utjecaj na realizaciju svojstva urod, osim navedenog, imaju vremenske prilike i primjenjena agrotehnika.

U 2015. godini nisu bili formirani svi elementi uzgojnog oblika pa je urod po trsu višestruko manji nego u 2016. i 2017. godini kada je uzgojni oblik dobio konačnu formu.

Prosječan urod po trsu u 2015. godini (Tablica 18.) bio je 1,18 kg. Najmanji prosječan urod po trsu izmjeren je kod varijante SAM (0,90 kg), dok je prosječno najveći urod izmjeren kod KZB (1,32 kg). Koeficijent varijacije oscilira između tretmana (c.v. = 7,16 – 28,30 %), a najveće je zabilježeno kod tretmana SAM.

Prosječan urod po trsu u 2016. godini iznosio je 5,32 kg. Najmanji prosječan urod po trsu izmjeren je kod varijante SAM (4,22 kg), a najveći prosječan urod izmjeren je kod BS (5,80). Koeficijent varijacije bio je u intervalu od 8,78 – 23,02 %, što je manje nego u 2015. godini.

U 2017. godini prosječan urod po trsu za sve tretmane iznosio je 3,18 kg (Grafikon 10.). Najmanja prosječna vrijednost izmjerena je kod tretmana SAM (2,96 kg), a najveća prosječna vrijednost izmjerena je kod tretmana KZB (3,33 kg). Koeficijent varijacije u 2017. godini imao je veći raspon (c.v. = 8,66 – 22,94 %) u odnosu na 2016. godinu.

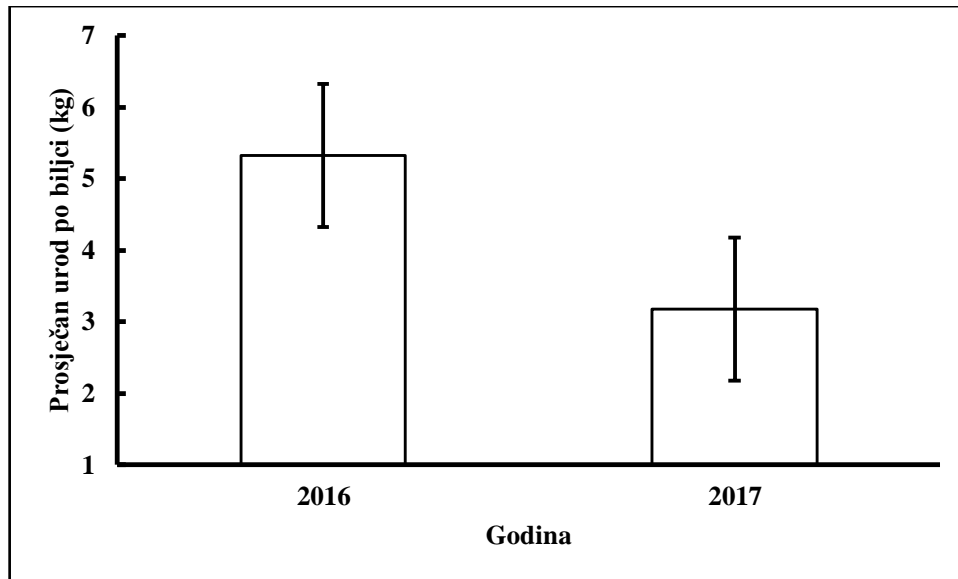
Budući da je 2015. godina bila prva u kojoj se započelo sa formiranjem uzgojnog oblika i da nisu postojali svi elementi karakteristični za uzgojni oblik Guyot (jedan prigojni reznik i jedan lucanj) što direktno utječe na broj pupova i time na elemente uroda (broj grozdova i prosječna masa grozda). Iz tog razloga navedeni parametri su statistički uspoređivani samo u 2016. i 2017. godini, a pokazatelji kvalitete mošta uspoređivani su u trogodišnjem razdoblju.

Dvofaktorijalnom analizom varijance utvrđen je značajan utjecaj godine ( $F = 148,310$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,01$ ) na urod. Utvrđena je statistički značajna razlika (Tablica 19.) između tretmana SAM i  $\text{CaCl}_2$  ( $F = 3,00$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,023$ ). Nije utvrđena interakcija godine i tretmana ( $F = 1,850$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,0127$ ). Razlike između srednjih vrijednosti uroda pojedinih tretmana prikazane su u Tablici 19.

Tablica 18. Prosječan urod po tretmanima (kg/trsu)

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	1,18	0,21	0,99	1,44	18,06
	KBAZ	1,28	0,23	1,08	1,61	18,25
	CaCl <sub>2</sub>	1,27	0,20	1,10	1,56	15,66
	SAM	0,90	0,25	0,68	1,26	28,30
	KZB	1,32	0,19	1,05	1,48	14,19
	TH	1,15	0,08	1,03	1,22	7,16
<b>Prosjek</b>		<b>1,18</b>		<b>0,99</b>	<b>1,43</b>	
2016.	BS	5,80	0,58	5,22	6,55	9,99
	KBAZ	4,91	1,13	3,88	6,44	23,02
	CaCl <sub>2</sub>	5,95	0,68	5,44	6,94	11,50
	SAM	4,22	0,37	4,00	4,77	8,78
	KZB	5,72	0,62	5,05	6,55	10,85
	TH	5,30	0,58	4,66	6,05	10,97
<b>Prosjek</b>		<b>5,32</b>		<b>4,71</b>	<b>6,22</b>	
2017.	BS	3,14	0,45	2,51	3,48	14,35
	KBAZ	3,25	0,49	2,55	3,64	14,95
	CaCl <sub>2</sub>	3,19	0,28	2,86	3,42	8,66
	SAM	2,96	0,49	2,48	3,60	16,51
	KZB	3,33	0,45	2,65	3,58	13,64
	TH	3,21	0,74	2,21	3,97	22,94
<b>Prosjek</b>		<b>3,18</b>		<b>2,54</b>	<b>3,62</b>	

BS - *Bacillus subtilis*, KBAZ - kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> - kalcijev klorid, SAM - skup ampelotehničkih mjera, KZB - konvencionalna zaštita botriticidima, TH - *Trichoderma harzianum*



Grafikon 10. Prosječan urod po trsu u 2016. i 2017. godini, stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

Tablica 19. Razlike srednjih vrijednosti uroda (kg) po tretmanima utvrđene LSD-testom

Tretman	SAM	KBAZ	TH	BS	KZB	CaCl <sub>2</sub>
CaCl <sub>2</sub>	0,98*	0,49	0,32	0,10	0,05	-
KZB	0,93	0,44	0,27	0,05	-	
BS	0,88	0,39	0,22	-		
TH	0,66	0,17	-			
KBAZ	0,49	-				
SAM	-					
LSD 0,05	0,96					

\* Razlike značajne na razini  $p < 0,05$

BS - *Bacillus subtilis*, KBAZ - kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> - kalcijev klorid, SAM - skup ampelotehničkih mjera, KZB - konvencionalna zaštita botriticidima, TH - *Trichoderma harzianum*

### 3.2. Broj grozdova po trsu

Svojstvo broj grozdova po trsu prvenstveno zavisi od broja pupova ostavljenih rezidbom. Naime, zimski pupovi (rodni) se formiraju u prethodnoj vegetaciji i ovisno o vremenskim prilikama, primjenjenoj agro-ampelotehnici te gnojidbi realizira se rodni potencijal. On u izvjesnoj mjeri također zavisi i od temperaturnih kolebanja tijekom zimskog mirovanja i kretanja vegetacije. U koliko dođe do oštećenja pupova uslijed zimskih pozeba i kasnih proljetnih mrazova smanjuje se rodni potencijal zbog propadanja dijela primordija grozdova, a u ekstremnim slučajevima dolazi i do gubitka kompletnog uroda.

Budući da u 2015. godini nisu bili formirani svi elementi uzgojnog oblika, prosječan broj grozdova po trsu je višestruko manji nego u 2016. i 2017. kada je uzgojni oblik dobio konačnu formu.

Prosječan broj grozdova po trsu u 2015. godini (Tablica 20.) bio je 5,38. Najmanji prosječan broj grozdova po trsu ostvaren je na varijanti SAM (4,23), dok je prosječno najveći broj imao tretman s  $\text{CaCl}_2$  (6,10). Koeficijent varijacije je ujednačen za sve tretmane (c.v. = 9,14 – 10,28 %), osim za tretman KBAZ gdje iznosi znatnih 22,47 %, što je i najveće variranje u cijelom trogodišnjem istraživanju za ovo svojstvo.

Najveći prosječan broj grozdova po trsu postignut je u 2016. godini (30,73). Najmanji prosječan broj grozdova po trsu imala je varijanta SAM (26,19), a najveći je ostvaren kod tretmana KBAZ (33,68). Koeficijent varijacije bio je u relativno uskom intervalu od 4,30 – 15,09 %, što je nešto manje nego u 2015. godini.

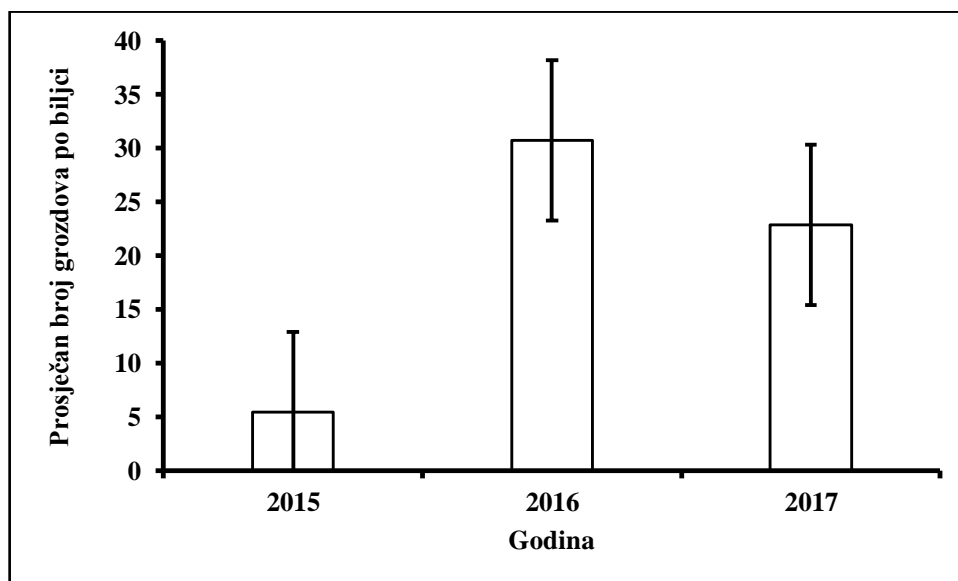
U 2017. godini prosječan broj grozdova po trsu za sve tretmane bio je 22,85 (Grafikon 11.). Najveći prosječan broj grozdova po trsu postignut je na varijanti KZB (24,61), a najmanji prosječan broj grozdova kod tretmana KBAZ (22,05). Koeficijenti varijacije u 2017. godini imali su najmanji raspon (c.v. = 13,04 – 20,46 %).

Kako u 2015. godini nije u potpunosti formiran uzgojni oblik, analiza varijance provedena je za 2016. i 2017. godinu. Utvrđene su samo visoko značajne statističke razlike između godina za istraživano svojstvo ( $F = 60,120$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,010$ ). Između tretmana nisu utvrđene statistički značajne razlike ( $F = 1,080$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,389$ ), kao ni razlike između interakcije godina i tretmana ( $F = 1,690$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,162$ ).

Tablica 20. Prosječan broj grozdova po trsu po tretmanima i godinama

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	5,78	0,56	5,20	6,50	9,73
	KBAZ	4,98	1,12	3,90	6,40	22,47
	CaCl <sub>2</sub>	6,10	0,63	5,40	6,90	10,28
	SAM	4,23	0,39	4,00	4,80	9,14
	KZB	5,68	0,62	5,00	6,50	10,90
	TH	5,53	0,57	4,70	6,00	10,28
<b>Prosjek</b>		<b>5,38</b>		<b>4,70</b>	<b>6,18</b>	
2016.	BS	32,13	3,96	27,61	36,66	12,33
	KBAZ	33,68	1,45	31,72	34,83	4,30
	CaCl <sub>2</sub>	32,76	2,43	30,00	35,66	7,42
	SAM	26,19	2,39	22,88	28,44	9,11
	KZB	29,01	4,38	23,33	34,00	15,09
	TH	30,61	3,67	27,00	35,66	11,98
<b>Prosjek</b>		<b>30,73</b>		<b>27,09</b>	<b>34,21</b>	
2017.	BS	22,26	3,22	17,83	25,55	14,48
	KBAZ	22,05	2,55	19,77	24,50	11,55
	CaCl <sub>2</sub>	23,21	4,71	18,77	29,61	20,29
	SAM	22,71	2,96	19,77	26,44	13,04
	KZB	24,61	4,28	18,72	29,00	17,41
	TH	22,25	4,55	15,88	26,61	20,46
<b>Prosjek</b>		<b>22,85</b>		<b>18,46</b>	<b>26,95</b>	

BS - *Bacillus subtilis*, KBAZ - kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> - kalcijev klorid, SAM - skup ampelotehničkih mjera, KZB - konvencionalna zaštita botriticidima, TH - *Trichoderma harzianum*



Grafikon 11. Prosječan broj grozdova po trsu u godinama istraživanja, stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

### 3.3. Masa grozda

Prosječna masa grozda najviše ovisi o primjenjenim agrotehničkim mjerama u tekućoj godini, količini oborina u vegetacijskom periodu te o broju zametnutih cvatova.

Prosječna masa grozda u 2015. godini (0,22 kg) bila je veća u odnosu na 2016. i 2017. Godinu (Tablica 21.). Najmanja prosječna masa grozda bila je kod tretmana BS (0,20 kg), dok je u istoj godini, najveća prosječna masa bila kod tretmana KBAZ (0,26 kg). Koeficijent varijacije u 2015. godini bio je u rasponu od 3,51 – 19,32 %.

Prosječna masa grozda za 2016. godinu iznosila je 0,17 kg. Najmanja prosječna masa u istoj godini bila je kod tretmana KBAZ (0,15 kg), a najveća izmjerena prosječna masa kod tretmana KZB (0,20 kg). Koeficijenti varijacije bili su najveći u 2016. godini (c.v = 2,42 – 22,32 %) za ispitivano svojstvo u odnosu na ostale godine istraživanja.

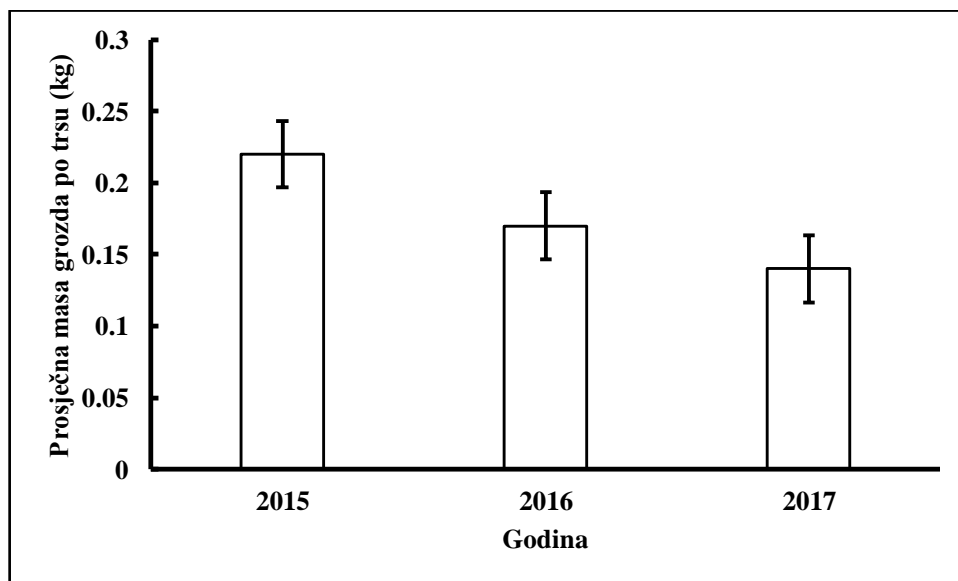
U 2017. godini, prosječna masa grozda iznosila je 0,14 kg (Grafikon 12.), najmanja prosječna masa izmjerena je kod tretmana SAM (0,13 kg), a najveća prosječna masa kod tretmana KBAZ (0,15 kg). Koeficijenti varijacije imali su najmanji raspon u 2017. godini (c.v. = 5,12 – 14,24 %).

Nije utvrđena statistički značajna razlika između tretmana ( $F = 0,724$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,634$ ) niti interakcija tretmana i godine ( $F = 2,087$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,090$ ). Utvrđena je statistički značajna razlika ( $F = 16,324$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,001$ ) između godina za istraživano svojstvo.

Tablica 21. Prosječna masa grozda po tretmanima i godinama (kg)

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	0,20	0,02	0,18	0,22	8,68
	KBAZ	0,26	0,03	0,22	0,28	11,41
	CaCl <sub>2</sub>	0,21	0,02	0,19	0,23	9,70
	SAM	0,21	0,04	0,16	0,26	19,32
	KZB	0,23	0,02	0,21	0,25	7,43
	TH	0,21	0,01	0,20	0,22	3,51
<b>Prosjek</b>		<b>0,22</b>		<b>0,19</b>	<b>0,24</b>	
2016.	BS	0,18	0,04	0,15	0,21	19,84
	KBAZ	0,15	0,03	0,12	0,18	22,32
	CaCl <sub>2</sub>	0,18	0,02	0,15	0,21	13,22
	SAM	0,16	0,02	0,14	0,18	12,04
	KZB	0,20	0,03	0,16	0,22	12,70
	TH	0,17	0,00	0,17	0,18	2,42
<b>Prosjek</b>		<b>0,17</b>		<b>0,15</b>	<b>0,20</b>	
2017.	BS	0,14	0,01	0,13	0,15	5,12
	KBAZ	0,15	0,02	0,13	0,16	10,36
	CaCl <sub>2</sub>	0,14	0,02	0,11	0,15	11,95
	SAM	0,13	0,01	0,12	0,14	6,55
	KZB	0,14	0,01	0,12	0,14	6,35
	TH	0,14	0,02	0,13	0,17	14,24
<b>Prosjek</b>		<b>0,14</b>		<b>0,12</b>	<b>0,15</b>	

BS - *Bacillus subtilis*, KBAZ - kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> - kalcijev klorid, SAM - skup ampelotehničkih mjera, KZB - konvencionalna zaštita botriticidima, TH - *Trichoderma harzianum*



Grafikon 12. Prosječna masa grozda po trsu u godinama istraživanja, stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine



### 3.4. Sadržaj šećera u moštu

Šećeri su važne komponente sastava grožđa. Posebno su bitni kod vinskih kultivara budući da direktno utječu na stil i kategoriju vina koju želimo proizvesti. Na sadržaj šećera utječu: podloga, kultivar, primjenjeni agro-ampelotehnički zahvati (defolijacija, pinciranje, prorjeđivanje itd.) te u najvećoj mjeri godina (klimatske prilike).

Prosječna vrijednost sadržaja šećera u moštu u 2015. godini iznosila je 89,04 °Oe (Tablica 22.). Najmanji prosječni sadržaj šećera je izmjeren kod tretmana BS (86,25 °Oe), a najveći prosječni sadržaj šećera je izmjeren kod tretmana SAM (92 °Oe). Koeficijent varijacije je bio u rasponu od 3,79 – 12,18 % te je u 2015. godini ujedno izmjereno i najveće variranje između tretmana u odnosu na trogodišnji period.

Prosječna vrijednost sadržaja šećera u 2016. godini iznosila je 87,96 °Oe. Najmanji prosječan sadržaj izmjeren je kod tretmana CaCl<sub>2</sub> (86,75 °Oe), a najveći prosječan sadržaj izmjeren je kod tretmana BS (90 °Oe). Koeficijent varijacije u 2016. godini bio je u rasponu od 1,72 – 6,63 %.

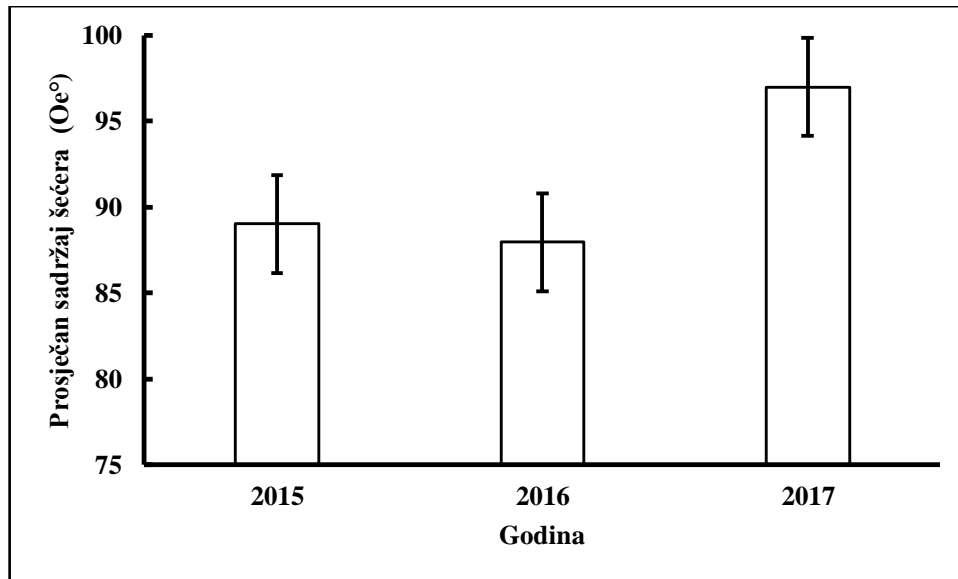
U 2017. godini prosječni sadržaj šećera iznosio je 97 °Oe (Grafikon 13.). Najveći prosječan sadržaj šećera izmjeren je kod tretmana SAM (98,75 °Oe), a najmanji prosječan sadržaj šećera kod tretmana KZB (95 °Oe). Koeficijenti varijacije u 2017. godini imali su najmanji raspon između tretmana (c.v.= 1,27 – 5,42 %).

Za svojstvo sadržaj šećera analiza varijance je provedena za trogodišnji period, budući da brojni autori ističu kako urod i parametri uroda do određene granice ne utječu značajno na ovaj pokazatelj kvalitete mošta. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana ( $F = 0,500$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,772$ ), a niti za interakciju tretman i godina ( $F = 0,620$ ;  $df = 10$ ;  $p < 0,790$ ). Utvrđena je statistički značajna razlika između godina za sadržaj šećera ( $F = 26,170$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,01$ ). U 2017. godini sadržaj šećera je visoko signifikantno veći u odnosu na 2015. i 2016. godinu (Tablica 23.).

Tablica 22. Sadržaj šećera u moštu po tretmanima i godinama (°Oe)

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	86,25	4,57	81,00	92,00	5,30
	KBAZ	87,25	10,63	78,00	100,00	12,18
	CaCl <sub>2</sub>	87,25	3,30	74,00	92,00	3,79
	SAM	92,00	5,48	85,00	98,00	5,95
	KZB	90,00	4,24	84,00	104,00	4,71
	TH	91,50	4,51	85,00	95,00	4,93
<b>Prosjek</b>		<b>89,04</b>		<b>81,17</b>	<b>96,83</b>	
2016.	BS	90,00	2,94	74,00	93,00	3,27
	KBAZ	89,25	4,50	84,00	93,00	5,04
	CaCl <sub>2</sub>	86,75	4,92	81,00	93,00	5,68
	SAM	87,00	4,55	83,00	93,00	5,23
	KZB	87,25	1,50	86,00	89,00	1,72
	TH	87,50	5,80	80,00	94,00	6,63
<b>Prosjek</b>		<b>87,96</b>		<b>81,33</b>	<b>92,50</b>	
2017.	BS	97,00	2,71	95,00	101,00	2,79
	KBAZ	98,00	3,46	95,00	103,00	3,53
	CaCl <sub>2</sub>	95,75	5,19	88,00	99,00	5,42
	SAM	98,75	1,26	97,00	100,00	1,27
	KZB	95,00	4,83	91,00	102,00	5,08
	TH	97,50	2,89	94,00	101,00	2,96
<b>Prosjek</b>		<b>97,00</b>		<b>93,33</b>	<b>101,00</b>	

BS - *Bacillus subtilis*, KBAZ - kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> - kalcijev klorid, SAM - skup ampelotehničkih mjera, KZB - konvencionalna zaštita botriticidima, TH - *Trichoderma harzianum*



Grafikon 13. Sadržaj šećera u godinama istraživanja, stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

Talica 23. Razlike u srednjim vrijednostima sadržaja šećera po godinama utvrđene LSD-testom

Godina	2017.	2016.	2015.
2015.	7,96 **	1,08 n.s.	-
2016.	9,04 **	-	-
2017.	-	-	-
LSD <sub>0,01</sub>	4,19		

\*\*Razlike značajne na razini  $p < 0,01$ , n.s. nije statistički značajno

### 3.5. Ukupna kiselost mošta

Osim mikrobiološke stabilnosti, kiseline utječu i na kvalitetu mošta i vina dajući im balans. Prosječna ukupna kiselost mošta u 2015. godini iznosila je 5,29 g/L (Tablica 24.). Najmanja prosječna ukupna kiselost izmjerena je kod tretmana SAM (4,65 g/L), dok je u istoj godini najveća prosječna ukupna kiselost izmjerena kod tretmana KBZ (6,23 g/L). Koeficijenti varijacije u 2015. godini su imali najveći raspon (c.v. = 2,81 – 28,84).

U 2016. godini prosječna ukupna kiselost iznosila je 11,13 g/L. U istoj godini najmanja prosječna ukupna kiselost bila je kod SAM (10,68 g/L), a najveća prosječna ukupna kiselost izmjerena je kod tretmana BS (11,41 g/L). Koeficijenti varijacije u 2016. godini imali su relativno uži raspon (c.v. = 4,6 -14,01 %) što je manje u odnosu na 2015. godinu.

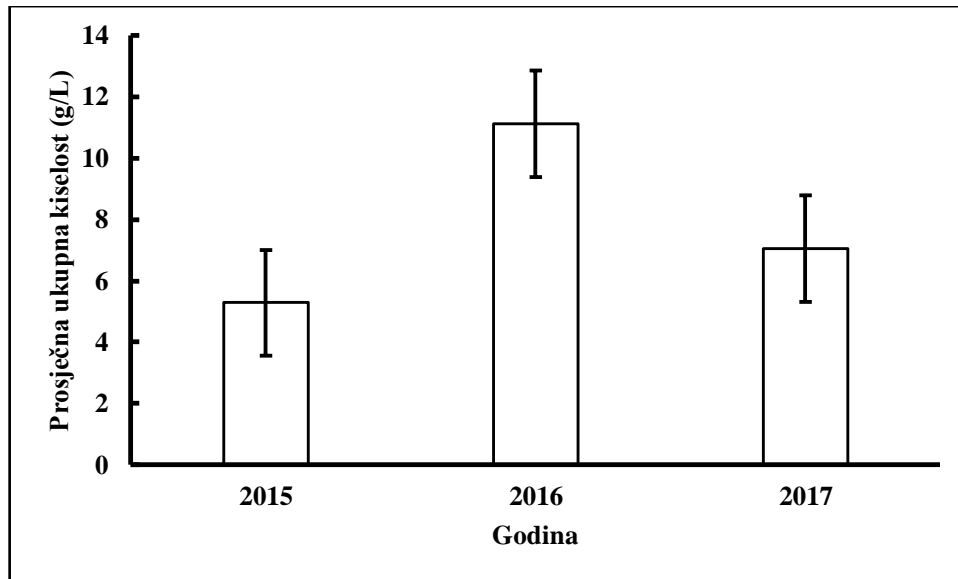
Prosječna ukupna kiselost u 2017. godini iznosila je 7,05 g/L (Grafikon 14.). Najmanja prosječna ukupna kiselost izmjerena je kod tretmana KBZ i SAM (6,78 g/L), a najveća prosječna je izmjerena kod tretmana BS (7,38 g/L). Koeficijenti varijacije u 2017. godini imali su najmanji raspon (c.v. = 2,14 – 13,32 %).

Između tretmana nije utvrđena statistički značajna razlika na ukupnu kiselost mošta ( $F = 1,380$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,247$ ), također nije utvrđena statistički značajna razlika niti za interakcije godine i tretmana na ispitivanu ukupnu kiselost mošta ( $F = 0,740$ ;  $df = 10$ ;  $p < 0,688$ ). Utvrđena je statistički značajna razlika između godina za ukupnu kiselost mošta ( $F = 259,610$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,01$ ). Utvrđene su značajne razlike između srednjih vrijednosti ukupne kiselosti mošta za sve tri godine (Tablica 25.).

Tablica 24. Ukupna kiselost mošta po tretmanima i godinama (g/L)

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	5,33	1,13	3,40	6,90	21,12
	KBAZ	6,23	0,37	3,25	6,65	5,94
	CaCl <sub>2</sub>	5,16	1,20	4,05	6,60	23,29
	SAM	4,65	1,34	3,80	6,65	28,84
	KZB	5,88	1,04	4,90	7,35	17,75
	TH	4,48	0,13	4,35	4,65	2,81
<b>Prosjek</b>		<b>5,29</b>		<b>3,96</b>	<b>6,47</b>	
2016.	BS	11,41	1,60	9,55	13,40	14,01
	KBAZ	11,34	1,27	10,30	12,8	11,20
	CaCl <sub>2</sub>	11,21	0,86	10,00	12,00	7,71
	SAM	10,68	0,49	10,05	11,25	4,60
	KZB	11,08	0,81	10,25	12,00	7,36
	TH	11,05	1,23	9,50	12,50	11,10
<b>Prosjek</b>		<b>11,13</b>		<b>9,94</b>	<b>12,33</b>	
2017.	BS	7,38	0,43	7,80	6,80	5,90
	KBAZ	6,78	0,68	6,00	7,60	10,11
	CaCl <sub>2</sub>	7,20	0,96	5,90	8,10	13,32
	SAM	6,78	0,30	6,40	7,10	4,41
	KZB	7,13	0,40	6,70	7,60	5,66
	TH	7,03	0,15	6,90	7,20	2,14
<b>Prosjek</b>		<b>7,05</b>		<b>6,90</b>	<b>7,20</b>	

BS - *Bacillus subtilis*, KBAZ - kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> - kalcijev klorid, SAM - skup ampelotehničkih mjera, KZB - konvencionalna zaštita botriticidima, TH - *Trichoderma harzianum*



Grafikon 14. Ukupna kiselost u godinama istraživanja, stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

Tablica 25. Razlike u srednjim vrijednostima ukupne kiselosti po godinama utvrđene LSD-testom

Godina	2017.	2016.	2015.
2015.	1,76 **	5,84 **	-
2016.	4,08 **	-	-
2017.	-	-	-
LSD <sub>0,01</sub>	0,80		

\*\* Razlike značajne na razini  $p < 0,01$

### 3.6. pH mošta

Za svojstvo pH mošta, prosječna vrijednost u 2015. godini iznosila je 3,55 (Tablica 26.). Najmanja prosječna izmjerena vrijednost zabilježena je kod tretmana  $\text{CaCl}_2$  (3,42). U istoj godini najveća prosječna pH vrijednost izmjerena je kod tretmana SAM (3,68). Koeficijent varijacije u 2016. godini bio je u rasponu od 1,27 – 9,57 % (KBAZ), što je i najveće variranje u cijelom trogodišnjem istraživanju za ovo svojstvo.

U 2016. godini, prosječna vrijednost iznosila je 3,18. Najmanja prosječna vrijednost iznosila je 3,14 izmjerena kod tretmana KBAZ, a u istoj godini najveća prosječna izmjerena vrijednost iznosila 3,21 izmjerena kod tretmana TH. Koeficijent varijacije bio je u relativno uskom intervalu (c.v. = 1,70 – 3,63 %), što je nešto manje nego u 2015. godini.

Prosječna vrijednost u 2017. godini iznosila je 3,31 (Grafikon 15.). Najmanja prosječna vrijednost izmjerena je kod tretmana  $\text{CaCl}_2$  SAM i iznosila je 3,28, a najveća prosječna vrijednost u 2017. godini iznosila je 3,34 izmjerena kod tretmana KBAZ. Koeficijenti varijacije u 2017. godini imali su najmanji raspon (c.v. = 0,74 – 2,65 %).

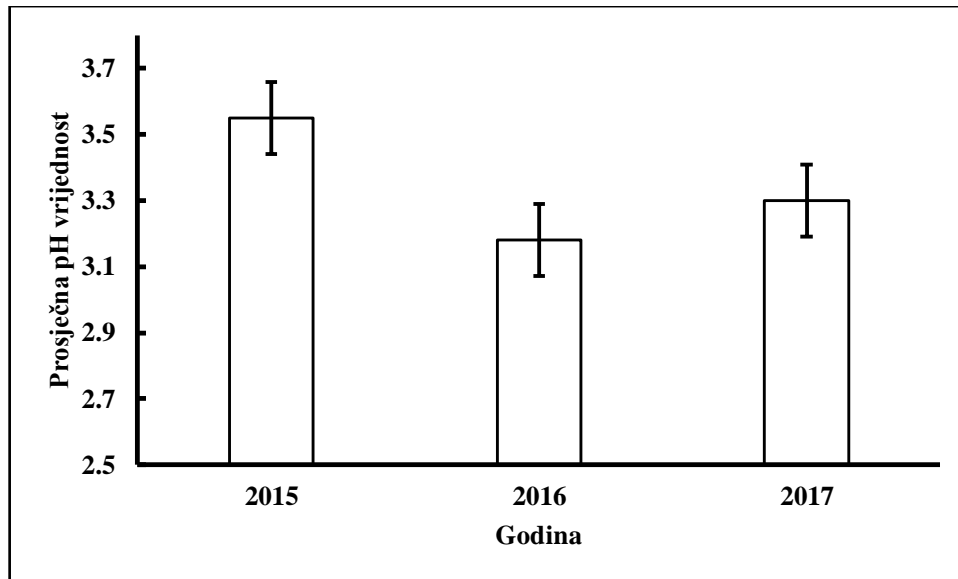
Nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana na ispitivano svojstvo pH vrijednosti mošta ( $F = 1,290$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,284$ ), također nije utvrđena statistički značajna razlika niti između interakcije godine i tretmana na ispitivano svojstvo ( $F = 0,770$ ;  $df = 10$ ;  $p < 0,284$ ). Utvrđena je statistički značajna razlika između godina na ispitivano svojstvo ( $F = 41,410$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,01$ ). U 2015. godini pH vrijednost je bila signifikantno veća u odnosu na 2015. i 2016. godinu (Tablica 27.).

Tablica 26. Prosječna realna kiselost po tretmanima i godinama

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	3,63	0,35	3,17	3,99	9,52
	KBAZ	3,49	0,33	3,13	3,92	9,57
	CaCl <sub>2</sub>	3,42	0,10	3,30	3,55	3,01
	SAM	3,68	0,25	3,31	3,87	6,86
	KZB	3,44	0,13	3,35	3,63	3,78
	TH	3,66	0,05	3,70	3,59	1,27
<b>Prosjek</b>		<b>3,55</b>		<b>3,33</b>	<b>3,76</b>	
2016.	BS	3,20	0,05	3,13	3,26	1,70
	KBAZ	3,14	0,11	3,00	3,26	3,63
	CaCl <sub>2</sub>	3,16	0,06	3,08	3,19	1,74
	SAM	3,20	0,09	3,15	3,33	2,77
	KZB	3,15	0,06	3,06	3,19	1,88
	TH	3,21	0,06	3,14	3,28	1,94
<b>Prosjek</b>		<b>3,18</b>		<b>3,09</b>	<b>3,25</b>	
2017.	BS	3,30	0,08	3,22	3,41	2,39
	KBAZ	3,34	0,07	3,28	3,42	2,00
	CaCl <sub>2</sub>	3,28	0,09	3,17	3,37	2,65
	SAM	3,28	0,05	3,23	3,34	1,40
	KZB	3,31	0,07	3,25	3,41	2,13
	TH	3,32	0,02	3,29	3,34	0,74
<b>Prosjek</b>		<b>3,31</b>		<b>3,24</b>	<b>3,38</b>	

BS - *Bacillus subtilis*, KBAZ - kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> - kalcijev klorid, SAM - skup ampelotehničkih mjera, KZB - konvencionalna zaštita botriticidima, TH - *Trichoderma harzianum*





Grafikon 15. Realna kiselost u godinama mjerenja (N=24), stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

Tablica 27. Razlike u srednjim vrijednostima realne kiselosti po godinama utvrđene LSD-testom

Godina	2017.	2016.	2015.
2015.	0,25 **	0,38 **	-
2016.	0,129 n.s.	-	-
2017.	-	-	-
LSD <sub>0,01</sub>	0,13		

\*\*Razlike značajne na razini  $p < 0,01$ , n.s. nije statistički značajno

### 3.7. Sadržaj ukupnih polifenola

Prosječan sadržaj ukupnih polifenola u 2015. godini iznosio je 442,42 mg/L (Tablica 28.). Najmanji prosječan sadržaj ukupnih polifenola iznosio je 391,05 mg/L, izmjeren kod tretmana TH, dok je u istoj godini najveći prosječan sadržaj iznosio 500,99 mg/L, izmjeren kod tretmana KZB. Koeficijent varijacije u 2015. godini bio je najveći sa rasponom od 14,57 – 46,83%.

U 2016. godini prosječni sadržaj ukupnih polifenola iznosio je 702,63 mg/L. Najmanji prosječan sadržaj je izmjeren je kod tretmana TH (615,98 mg/L), a najveći prosječni sadržaj ukupnih polifenola, izmjeren je kod tretmana KZB (820,34 mg/L). Koeficijent varijacije bio je u relativno uskom intervalu od 8,67 – 36,98 % što je nešto manje u odnosu na 2015. godinu.

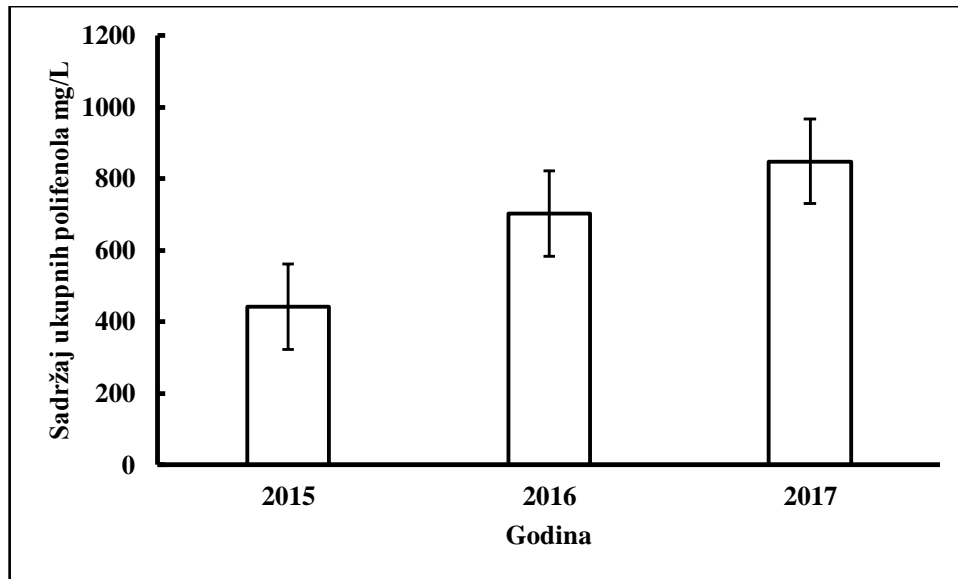
U uzorku 2017. godine izmjeren je prosječan sadržaj ukupnih polifenola od 848,05 mg/L (Grafikon 16.). Najmanji prosječni sadržaj ukupnih polifenola je izmjeren kod tretmana KZB (823,65 mg/L), a najveći sadržaj ukupnih polifenola izmjeren je kod tretmana BS (901,88 mg/L).

Nije utvrđena statistički značajna razlika između tretmana na ispitivani sadržaj ukupnih polifenola ( $F = 0,720$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,610$ ), također nije utvrđena statistički značajna razlika niti za interakciju godine i tretmana na sadržaj ukupnih polifenola ( $F = 0,490$ ;  $df = 10$ ;  $p < 0,890$ ). Utvrđena je statistički značajna razlika između godina na sadržaj ukupnih polifenola ( $F = 40,550$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,01$ ). Utvrđene su značajne razlike između srednjih vrijednosti ukupnih polifenola za sve tri godine (Tablica 29.).

Tablica 28. Prosječan sadržaj ukupnih polifenola (mg/L) po tretmanima i godinama

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	398,15	184,34	241,48	609,10	46,30
	KBAZ	491,52	103,24	342,11	569,76	21,00
	CaCl <sub>2</sub>	449,84	160,57	281,50	653,50	35,69
	SAM	422,97	198,09	203,93	631,34	46,83
	KZB	500,99	157,71	336,68	685,63	31,48
	TH	391,05	56,98	326,94	460,96	14,57
<b>Prosjek</b>		<b>442,42</b>		<b>288,77</b>	<b>601,72</b>	
2016.	BS	622,69	200,55	387,63	876,54	32,21
	KBAZ	652,28	181,38	463,56	888,59	27,81
	CaCl <sub>2</sub>	751,23	65,14	657,07	797,64	8,67
	SAM	753,28	135,54	628,74	882,75	17,99
	KZB	820,34	288,06	521,72	1070,28	35,11
	TH	615,98	227,76	359,22	832,29	36,98
<b>Prosjek</b>		<b>702,63</b>		<b>502,99</b>	<b>891,35</b>	
2017.	BS	901,88	129,23	747,81	1032,28	14,33
	KBAZ	866,15	72,31	787,89	961,25	8,35
	CaCl <sub>2</sub>	825,88	75,00	742,38	909,87	9,08
	SAM	872,49	201,79	621,30	1114,24	23,13
	KZB	823,65	92,48	746,54	958,05	11,23
	TH	798,27	68,53	746,77	899,30	8,58
<b>Prosjek</b>		<b>848,05</b>		<b>53,28</b>	<b>732,12</b>	

BS – *Bacillus subtilis*, KBAZ – kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> – kalcijev klorid, SAM – skup ampelotehničkih mjera, KZB – konvencionalna zaštita botriticidima, TH – *Trichoderma harzianum*



Grafikon 16. Sadržaj ukupnih polifenola u godinama istraživanja, stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

Tablica 29. Razlike u srednjim vrijednostima sadržaja ukupnih polifenola po godinama utvrđene LSD-testom

Godina	2017.	2016.	2015.
2015.	405,64 **	260,22 **	-
2016.	145,42 **	-	-
2017.	-	-	-
LSD <sub>0,01</sub>	121,85		

\*\*Razlike značajne na razini  $p < 0,01$

### 3.8. Sadržaj ukupnih antocijana

U 2015. godini prosječan sadržaj ukupnih antocijana iznosio je 127,60 mg/L (Tablica 30.). Najmanji prosječan sadržaj ukupnih antocijana iznosio je 98,18 mg/L kod tretmana SAM, a najveći prosječan sadržaj ukupnih antocijana 157,05 mg/L kod tretmana KZB. Koeficijent varijacije u 2015. godini bio je u rasponu od 20,34 – 65,11 % te je u toj godini ujedno ostvaren i najveći koeficijent varijacije.

Prosječan sadržaj antocijana u 2016. godini iznosio je 312,94 mg/L. Najmanji prosječan sadržaj je izmjeren kod tretmana BS i iznosio je 268,00 mg/L, dok je najveći prosječan sadržaj antocijana u istoj godini izmjeren kod tretmana KZB i iznosio je 358,53 mg/L. Koeficijent varijacije u 2016. godini kretao se u rasponu od 13,27 – 34,99 %.

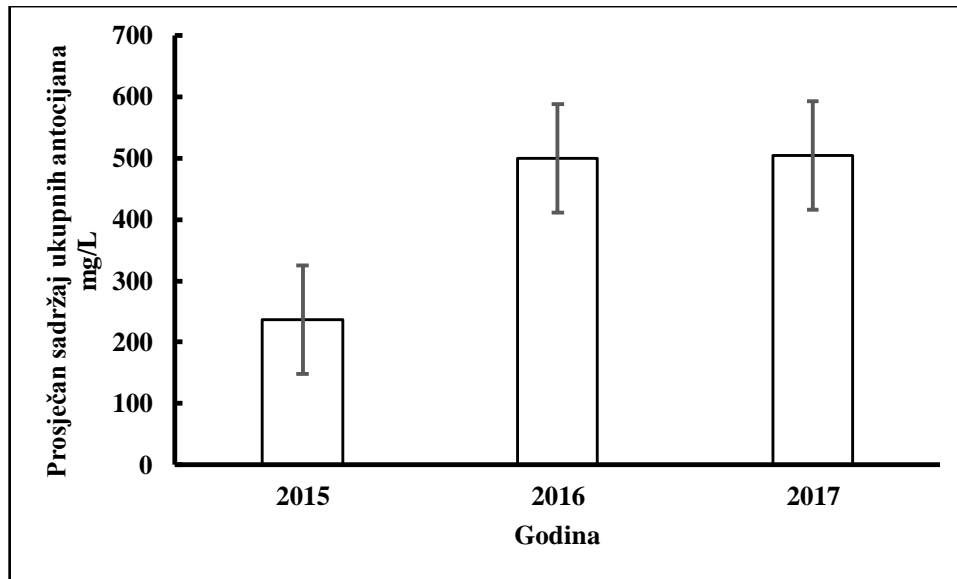
Prosječan sadržaj antocijana u 2017. godini iznosio je 328,14 mg/L (Grafikon 17.). Najmanji prosječan sadržaj izmjeren je kod tretmana CaCl<sub>2</sub> i iznosio je 310,74 mg/L, dok je najveći prosječan sadržaj antocijana iznosio 359,21 mg/l, a izmjeren je kod tretmana KBAZ. Koeficijenti varijacije u 2017. godini imali su najmanje variranje (c.v. = 2,80 – 19,77 %).

Nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana na ispitivani sadržaj ukupnih antocijana ( $F = 0,520$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,763$ ), također nije utvrđena statistički značajna razlika niti između interakcije godine i tretmana na sadržaj ukupnih antocijana ( $F = 0,620$ ;  $df = 10$ ;  $p < 0,794$ ). Utvrđena je statistički značajna razlika između godina na sadržaj ukupnih antocijana ( $F = 73,760$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,01$ ). Nisu utvrđene statistički značajne razlike između srednjih vrijednosti ukupnih antocijana 2016. – 2017. godine (Tablica 31.).

Tablica 30. Prosječan sadržaj ukupnih antocijana u pokožici po tretmanima i godinama

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	121,64	79,20	55,12	224,13	65,11
	KBAZ	131,39	41,09	81,37	173,44	31,27
	CaCl <sub>2</sub>	139,53	43,80	107,09	202,32	31,39
	SAM	98,18	54,58	47,04	147,30	55,59
	KZB	157,05	63,95	104,37	250,16	40,72
	TH	117,79	23,96	94,25	140,56	20,34
<b>Prosjek</b>		<b>127,60</b>		<b>81,54</b>	<b>189,65</b>	
2016.	BS	268,00	85,36	187,53	383,92	31,85
	KBAZ	315,27	61,09	239,05	373,42	19,38
	CaCl <sub>2</sub>	312,61	48,32	245,38	360,57	15,46
	SAM	325,42	43,17	276,84	363,46	13,27
	KZB	358,53	125,44	224,49	518,12	34,99
	TH	297,82	102,02	204,62	389,73	34,26
<b>Prosjek</b>		<b>312,94</b>		<b>229,65</b>	<b>398,20</b>	
2017.	BS	352,37	43,64	287,68	383,22	12,38
	KBAZ	359,21	55,48	294,14	419,27	15,45
	CaCl <sub>2</sub>	310,74	8,72	305,80	323,79	2,80
	SAM	317,70	62,82	258,81	406,37	19,77
	KZB	312,97	58,00	253,13	377,82	18,53
	TH	315,83	42,03	278,17	373,21	13,31
<b>Prosjek</b>		<b>328,14</b>		<b>279,62</b>	<b>380,61</b>	

BS – *Bacillus subtilis*, KBAZ – kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> – kalcijev klorid, SAM – skup ampelotehničkih mjera, KZB – konvencionalna zaštita botriticidima, TH – *Trichoderma harzianum*



Grafikon 17. Sadržaj ukupnih antocijana (mg/l) u godinama mjerenja ( N=24), stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

Tablica 31. Razlike u srednjim vrijednostima sadržaja ukupnih antocijana po godinama utvrđene LSD-testom

Godina	2017.	2016.	2015.
2015.	200,54 **	185,34 **	-
2016.	15,20 n.s.	-	-
2017.	-	-	-
LSD <sub>0,01</sub>	36,86		

\*\*Razlike značajne na razini  $p < 0,01$ , n.s. nije statistički značajno

### 3.9. Antioksidacijska aktivnost

Prosječna antioksidacijska aktivnost u 2015. godini iznosila je 7,90 mg/100g GAE (Tablica 32). Najmanja prosječna antioksidacijska aktivnost izmjerena je kod tretmana TH i SAM i iznosila je 5,10 mg/100g GAE, dok je najveća prosječna antioksidacijska aktivnost u istoj godini izmjerena kod tretmana KZB (11,30 mg/100g GAE). Koeficijent varijacije u 2015. godini imao je najveći raspon (c.v.= 44,70 – 112,63 %).

U 2016. godini prosječna antioksidacijska aktivnost iznosila je 17,60 mg/100g GAE. Najmanja prosječna antioksidacijska aktivnost izmjerena je kod tretmana BS i iznosila je 12,45 mg/100g GAE, a najveća prosječna vrijednost je izmjerena kod tretmana KZB i iznosila je 21,31 mg/100g GAE. Koeficijent varijacije je bio u relativno uskom intervalu od 15,88 – 89,58 %, što je nešto manje nego u 2015.godini.

Prosječna vrijednost antioksidacijske aktivnosti u 2017. godini iznosila je 27,45 mg/100g GAE (Grafikon 18.), najmanja prosječna vrijednost je izmjerena kod tretmana TH (24,46 mg/100g GAE), a najveća prosječna izmjerena vrijednost bila je kod kod tretmana BS (29,59 mg/100g GAE). Koeficijenti varijacije u 2017. godini imali su najmanji raspon (c.v. = 10,44 – 37,80 %).

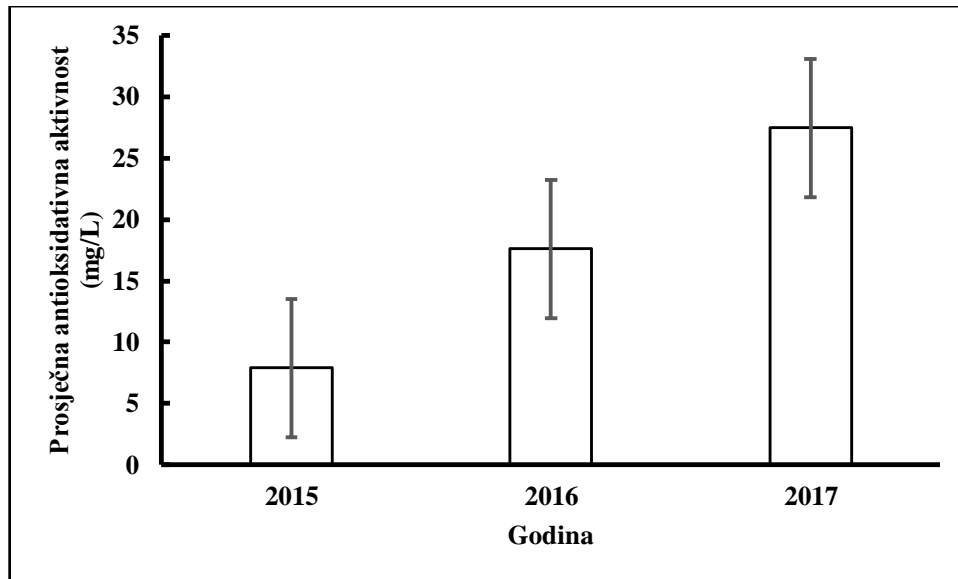
Nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana na ispitivanu antioksidacijsku aktivnost ( $F = 0,710$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,618$ ), također nije utvrđena statistički značajna razlika niti između interakcije godine i tretmana na antioksidacijsku aktivnost ( $F = 0,420$ ;  $df = 10$ ;  $p < 0,929$ ). Utvrđena je statistički značajna razlika između godina na antioksidacijsku aktivnost ( $F = 39,250$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,01$ ). Utvrđene su značajne razlike između srednjih vrijednosti antioksidacijske aktivnosti pojedinih godina (Tablica 33.).



Tablica 32. Prosječna antioksidacijska aktivnost po tretmanima i godinama (mg/100g GAE)

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	7,67	8,64	0,89	19,90	112,63
	KBAZ	8,36	7,01	0,61	17,61	83,86
	CaCl <sub>2</sub>	9,87	4,41	5,97	14,38	44,70
	SAM	5,10	2,47	1,57	7,36	48,50
	KZB	11,30	8,69	2,91	23,49	76,92
	TH	5,10	3,66	0,39	9,23	71,80
<b>Prosjek</b>		<b>7,90</b>		<b>2,06</b>	<b>15,33</b>	
2016.	BS	12,45	11,15	1,57	28,05	89,58
	KBAZ	17,25	7,85	10,29	25,73	45,49
	CaCl <sub>2</sub>	20,82	3,31	15,97	23,33	15,88
	SAM	19,15	6,66	12,04	26,16	34,76
	KZB	21,31	11,37	8,63	34,52	53,36
	TH	14,60	11,55	3,49	27,14	79,12
<b>Prosjek</b>		<b>17,60</b>		<b>8,67</b>	<b>27,49</b>	
2017.	BS	29,59	9,30	18,20	37,93	31,44
	KBAZ	29,36	5,62	24,42	37,16	19,14
	CaCl <sub>2</sub>	28,01	5,06	24,51	35,33	18,07
	SAM	27,52	10,40	15,28	39,51	37,80
	KZB	25,78	7,17	18,01	35,30	27,82
	TH	24,46	2,55	22,17	28,11	10,44
<b>Prosjek</b>		<b>27,45</b>		<b>20,43</b>	<b>35,56</b>	

BS – *Bacillus subtilis*, KBAZ – kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> – kalcijev klorid, SAM – skup ampelotehničkih mjera, KZB – konvencionalna zaštita botriticidima, TH – *Trichoderma harzianum*



Grafikon 18. Antioksidacijska aktivnost (mg/l) u godinama istraživanja, stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

Tablica 33. Razlike u srednjim vrijednostima antioksidacijske aktivnosti po godinama utvrđene LSD-testom

Godina	2017.	2016.	2015.
2015.	19,55 **	9,70 **	-
2016.	9,86 **	-	-
2017.	-	-	-
LSD <sub>0,01</sub>	5,89		

\*\*Razlike značajne na razini  $p < 0,01$

### 3.10. Polimerna boja

Prosječna polimerna boja u 2015. godini iznosila je 21,28 % (Tablica 34.). Tretman  $\text{CaCl}_2$  sadržavao je prosječno najmanji postotak polimerne boje (15,72 %), dok je tretman SAM sadržavao prosječno najveći postotak polimerne boje u istoj godini (29,73 %). Koeficijent varijacije je bio u relativno uskom rasponu (c.v. = 24,62 – 71,05 %).

U 2016. godini prosječna polimerna boja iznosila je 5,68 %. Najmanja prosječna vrijednost je izmjerena kod tretmana KZB (4,61 %), a najveća je izmjerena kod tretmana  $\text{CaCl}_2$ . (6,72 %). Koeficijent varijacije u 2016. godini je imao najveći raspon (c.v. = 31,87 – 49,10 %).

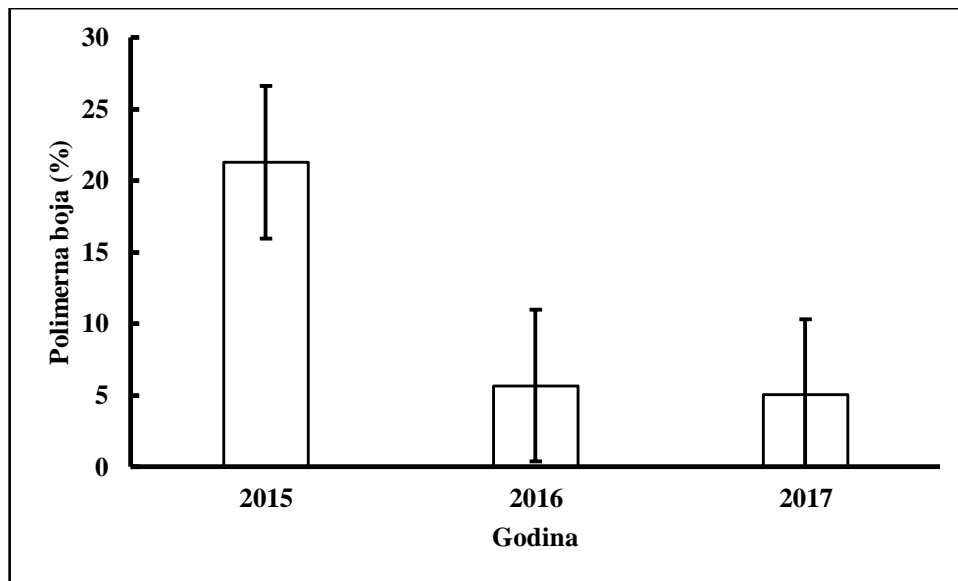
Prosječna polimerna boja u 2017. godini iznosila je 5,03 % (Grafikon 19.). Najmanja prosječna vrijednost je izmjerena kod tretmana TH 4,61 %, a najveća prosječna vrijednost kod tretmana BS (5,51 %). Koeficijenti varijacije u 2017. godini imali su najmanji raspon (c.v. = 13,55 – 36,00 %).

Nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana na ispitivano svojstvo polimerna boja ( $F = 1,180$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,330$ ), također nije utvrđena statistički značajna razlika niti između interakcije godine i tretmana na ispitivano svojstvo ( $F = 1,080$ ;  $df = 10$ ;  $p < 0,393$ ). Utvrđena je statistički značajna razlika između godina na ispitivano svojstvo ( $F = 62,00$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,01$ ). Sadržaj polimerne boje visoko značajno je veći u 2015. Godini u odnosu na 2016. I 2017. Godinu (Tablica 35.).

Tablica 34. Prosječna polimerna boja po tretmanima i godinama (%)

Godina	Naziv tretmana	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	23,55	12,29	11,91	37,29	52,16
	KBAZ	22,92	16,29	11,23	46,49	71,05
	CaCl <sub>2</sub>	15,72	4,30	11,30	20,58	27,33
	SAM	29,73	7,95	21,18	37,11	26,73
	KZB	17,47	4,30	13,44	22,40	24,62
	TH	18,30	5,76	12,62	24,64	31,47
<b>Prosjek</b>		<b>21,28</b>		<b>13,61</b>	<b>31,42</b>	
2016.	BS	6,13	2,18	3,78	8,27	35,64
	KBAZ	5,19	2,30	2,41	8,00	44,36
	CaCl <sub>2</sub>	6,72	2,14	4,69	9,22	31,87
	SAM	5,64	2,35	4,23	9,16	41,78
	KZB	4,61	1,77	3,42	7,24	38,52
	TH	5,78	2,84	3,28	8,50	49,10
<b>Prosjek</b>		<b>5,68</b>		<b>3,64</b>	<b>8,40</b>	
2017.	BS	5,51	1,88	3,59	7,68	34,10
	KBAZ	5,18	0,70	4,22	5,77	13,55
	CaCl <sub>2</sub>	4,48	0,95	3,18	5,35	21,20
	SAM	5,24	0,92	4,56	6,60	17,61
	KZB	5,15	0,82	3,94	5,67	15,86
	TH	4,61	1,66	3,07	6,96	36,00
<b>Prosjek</b>		<b>5,03</b>		<b>3,76</b>	<b>6,34</b>	

BS – *Bacillus subtilis*, KBAZ – kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> – kalcijev klorid, SAM – skup ampelotehničkih mjera, KZB – konvencionalna zaštita botriticidima, TH – *Trichoderma harzianum*



Grafikon 19. Polimerna boja (%) u godinama istraživanja, stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

Tablica 35. Razlike u srednjim vrijednostima polimerne boje po godinama utvrđene LSD-testom

Godina	2017.	2016.	2015.
2015.	20,02 **	15,60 **	-
2016.	0,65 n.s.	-	-
2017.	-	-	-
LSD <sub>0,01</sub>	4,41		

\*\*Razlike značajne na razini  $p < 0,01$ , n.s. nije statistički značajno

### 3.11. Ocjena bolesti

Prosječna ocjena bolesti prema EPPO skali (2001.) u 2015. godini bila je 3,96. Najniža prosječna ocjena (3,50) zabilježena je kod tretmana KZB. Najviša prosječna ocjena bolesti u istoj godini izmjerena je kod tretmana SAM i iznosila je 4,50 (Tablica 36.), odnosno grozdovi kod navedenih tretmana su bili zaraženi u postotku većem od 50 % (Slika 13.). U 2016. godini prosječna ocjena bolesti iznosila je 1 kod većine tretmana, odnosno nije bila zabilježena prisutnost bolesti. U istoj godini prosječna vrijednost ocjene bolesti iznosila je 1,04, te je prisutnost bolesti bila zabilježena samo kod jednog tretmana. U 2017. godini kod svih tretmana nije bila zabilježena prisutnost bolesti.

Tablica 36. Ocjena bolesti po tretmanima i godinama prema EPPO skali (2001.)

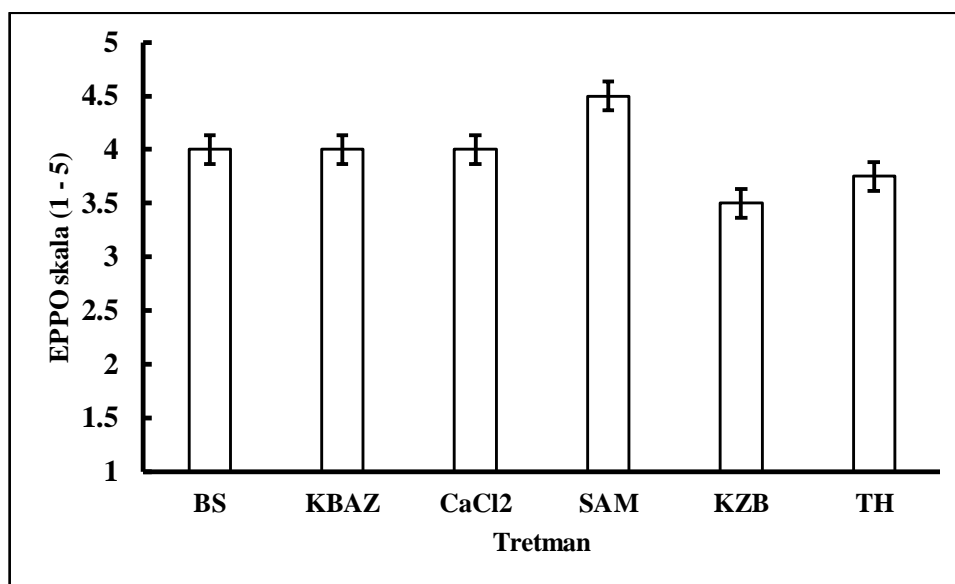
Godina	Naziv tretmana	Ocjena bolesti	Standardna devijacija	Min.	Maks.	Koeficijent varijacije (%)
2015.	BS	4,00	0,82	3,00	5,00	20,41
	KBAZ	4,00	0,82	3,00	5,00	20,41
	CaCl <sub>2</sub>	4,00	0,82	3,00	5,00	20,41
	SAM	4,50	0,58	4,00	5,00	12,83
	KZB	3,50	0,58	3,00	4,00	16,50
	TH	3,75	0,96	3,00	5,00	25,53
<b>Prosjek</b>		3,96	0,76	3,17	4,83	19,35
2016.	BS	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
	KBAZ	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
	CaCl <sub>2</sub>	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
	SAM	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
	KZB	1,25	0,50	1,00	2,00	40,00
	TH	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
<b>Prosjek</b>		1,04	0,08	1,00	1,17	6,67
2017.	BS	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
	KBAZ	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
	CaCl <sub>2</sub>	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
	SAM	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
	KZB	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
	TH	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
<b>Prosjek</b>		1,00	0,00	1,00	1,00	0,00

BS - *Bacillus subtilis*, KBAZ - kontrola bez botriticidne zaštite, CaCl<sub>2</sub> - kalcijev klorid, SAM - skup ampelotehničkih mjera, KZB - konvencionalna zaštita botriticidima, TH - *Trichoderma harzianum*

Budući da je siva plijesan bila značajno prisutna samo u 2015. godini, napravljena je jednosmjerna analiza varijance za navedenu godinu. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između grupa tretmana na ocjenu bolesti ( $F = 0,740$ ;  $df = 5$ ;  $p < 0,604$ ), također nije utvrđena statistički značajna razlika niti unutar grupa tretmana za ocjenu bolesti. U 2015. godini najveće variranje imao je tretman TH (25,53 %), a najmanje tretman SAM (12,85 %).



Slika 13. Zaraženost grozdova sa *B.cinerea* (> 50 %) prema EPPO (2001.) skali (Fotografirao T. Kujundžić)



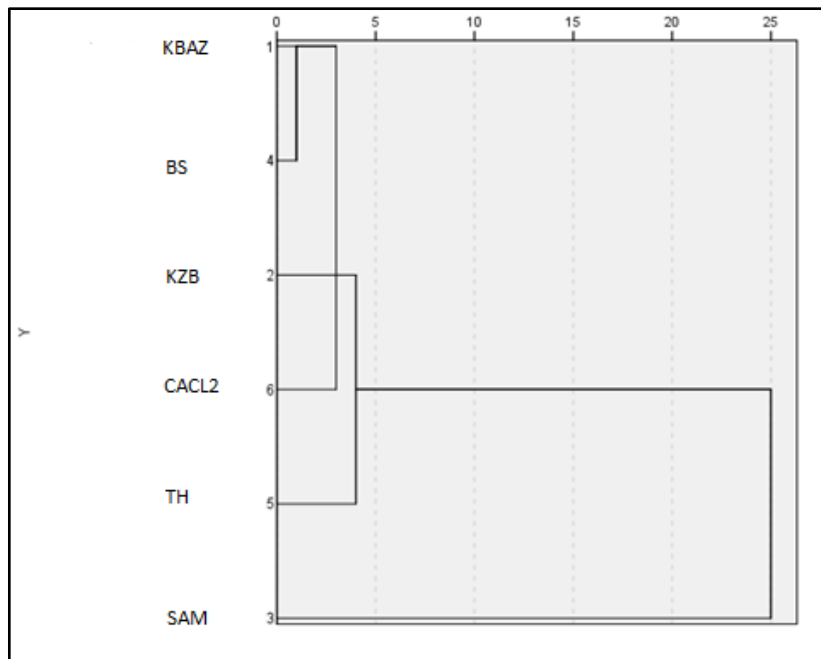
Grafikon 20. Ocjena bolesti (EPPO, 2001.) po tretmanima u 2015. godini, stupci prikazuju prosječnu vrijednost +/- standardna pogreška aritmetičke sredine

Klaster analiza

Grupiranje tretmana je napravljeno s obzirom na njihov združeni učinak (Tablica 37.) na ispitivana svojstva (urod po trsu, broj grozdova po trsu, masa grozdova po trsu, sadržaj šećera, ukupna kiselost, pH, ukupni antocijani, ukupni polifenoli, antioksidacijska aktivnost, polimerna boja i ocjena bolesti) bez obzira na godine.

Tablica 37. Klaster analiza združenog utjecaja tretmana na ispitivane parametre

Tretman	Kvadratna Euklidova udaljenost					
	1.KBAZ	2. KZB	3. SAM	4. BS	5. TH	6. CaCl <sub>2</sub>
1. KBAZ	0,000					
2. KZB	8,067	0,000				
3. SAM	24,653	45,253	0,000			
4. BS	6,548	18,648	22,514	0,000		
5. TH	18,354	33,274	20,212	8,376	0,000	
6. CaCl <sub>2</sub>	8,365	8,163	40,481	12,045	25,048	0,000



Slika 14. Hijerarhijski klaster dijagram

U hijerarhijskom klaster dijagramu formirana su tri klastera (Slika 14). Tretman BS je odvojen u zaseban klaster jer se razlikuje od ostalih tretmana. Tretmani TH, CaCl<sub>2</sub> i KZB čine drugi klaster. Tretmani BS i KBAZ čine treći klaster. Gledajući tretmane pojedinačno, najveća razlika je utvrđena između tretmana SAM - KZB i SAM – CaCl<sub>2</sub>. Najveća sličnost



pri utjecaju tretmana na ispitivane parametre utvrđena je kod tretmana KBAZ – BS i KBAZ–KZB. Slika 15. prikazuje usporedbu između tretmana KZB (lijevo) i tretmana SAM (desno).



Slika 15. Izgled trsa prije i poslije defolijacije (Fotografirao T. Kujundžić)

#### 4. RASPRAVA

##### *Urod, broj i masa grozdova*

Urod predstavlja prvenstveno produkt mase i broja grozdova koji zavise i od drugih elemenata rodnosti (broja krenulih i nekrenulih pupova, broja rodnih i nerodnih mladica, koeficijenta rodnosti i plodnosti te vegetativnog potencijala trsa); kao i od primijenjene agro-ampelotehnike te klimatskih i edafskih uvjeta položaja. Brojna istraživanja su usmjerena na povećanje prinosa, i u pravilu to povećanje do određene granice, ne narušava bitno kakvoću grožđa, ali u slučaju pretjeranog opterećenja može se očekivati smanjenje vegetativnog potencijala vinove loze pa i ubrzano propadanje trsova (prorjeđivanje nasada) i skraćivanje eksploatacijskog perioda (Jackson, 2014.). Zakonskim propisima Republike Hrvatske definirani su najveći dopušteni prinosi grožđa po jedinici površine za pojedine proizvodne zone i kategorije vina. U proizvodnoj zoni C I u kojoj je obavljeno ovo istraživanje dozvoljeni su sljedeći prinosi: za proizvodnju stolnih vina s kontroliranim podrijetlom do 13 t/ha, kvalitetnih vina do 12 t/ha, a vrhunskih vina do 11 t/ha. Zbog toga je važno, osim ostvarenja poželjnog prinosa, pažnju usmjeriti na odnos generativnog i vegetativnog potencijala kod vinove loze te uzeti sve aspekte u obzir kako bi se dugoročno očuvao reproduktivni potencijal za vrijeme eksploatacijskog perioda.

Za svojstvo urod po trsu u našem istraživanju usporedbe su napravljene između rezultata uroda 2016. i 2017. godine, zbog toga što u 2015. godini nisu bili formirani svi elementi uzgojnog oblika na površinama pokušališta Mandićevac. Prosječan urod u 2015. godini iznosio je 6,7 t/ha, u 2016. godini 30,2 t/ha, odnosno u 2017. godini bio je 18 t/ha.

Varijanta SAM dala je značajno manji prinos u 2016. i 2017. godini u odnosu na sve ostale tretmane (Tablica 18., i 19.). Kontinuiranom višegodišnjom primjenom mjera zelene rezidbe (uklanjanje bazalnih listova i potpuno uklanjanje zaperaka tijekom većeg dijela vegetacijskog perioda – varijanta SAM) rezultiralo je značajnim smanjenjem prinosa, jer se ne može zanemariti asimilacijski doprinos zaperaka i bazalnih listova u ukupnoj asimilaciji i stvaranju organske tvari te formiranju rodnog potencijala za naredne sezone. Navedeno je u skladu sa istraživanjima drugih autora (Poni i sur., 2006; Hunter i Visser 1990; Koblet, 1994; Diago i sur., 2010) koji su proučavali mjere zelene rezidbe (defolijacija, prstenovanje) i njihov odraz na urod. Statistički značajne razlike nisu utvrđene kod primjene ostalih tretmana za svojstvo urod po trsu. Možemo pretpostaviti da su važnu ulogu u razlikama

uroda imale klimatske prilike u vrijeme cvatnje. Količina oborina tijekom 2016. godine iznosila je za lipanj i srpanj (217,9 mm) što je znatno više u odnosu na isti period 2017. godine (105,2 mm) pa su oborine značajno utjecale na rast, razvoj i nalijevanje bobica (Tablica 21.). Navedeno je potkrijepljeno i statistički značajnim razlikama za urod grožđa između 2016. i 2017. godine (Tablica 19.). U 2016. godini ostvaren je statistički visoko značajno veći prinos u odnosu na 2017. godinu.

Slične rezultate su utvrdili Agosta i sur. (2012.) u istraživanju utjecaj klimatskih parametara na urod grožđa u pokrajini Mendoza (Argentina) kroz period od 1979. – 2009. godine. Utvrdili su da prinos grožđa značajno ovisi o klimatskim uvjetima unutar vegetacijske sezone. Višak oborina negativno utječu na prinos (povoljni uvjeti za razvoj biljnih bolesti i moguća oštećenja uzrokovana tučom). Vlažna ljeta se mogu povezati s većom vjerojatnošću oštećenja i/ili gubitka grožđa tijekom perioda koji prethodi berbi (zbog veće vjerojatnosti pojave bolesti i oštećenja grožđa), kao i nižim prinosima grožđa u sljedećoj godini zbog smanjenja broja i oštećenja pupova, budući da se pupovi zameću u ljetnim mjesecima prethodne godine.

Keller i sur. (2005.) također naglašavaju utjecaj godine i klimatskih prilika u ostvarivanju prinosa i u višegodišnjem istraživanju su utvrdili slične urode. Važnost utjecaja godine i klimatskih prilika potvrđuju u svojim istraživanjima i Ciotta i sur. (2016.) te Bišof (1991.).

Utvrđen je statistički značajno veći učinak za urod pri primjeni  $\text{CaCl}_2$  u odnosu na primjenu SAM (za godine 2016. i 2017.), dok između ostalih tretmana nisu utvrđene značajne razlike u urodu grožđa kao ni interakcija tretman i godina.

Siva plijesan bila je u većoj mjeri prisutna samo u 2015. godini. Na osnovu ocjena prisutnosti patogena napravljena je jednosmjerna analiza varijance, kako bi se utvrdila učinkovitost pojedinih tretmana na stupanj zaraze. Nisu utvrđene statistički značajne razlike u učinkovitosti pojedinih tretmana na stupanj zaraze s *B. cinerea*. Niti jedna poduzeta mjera nije značajno smanjila stupanj zaraze sa sivom plijesni u 2015. godini. Najvjerojatniji razlog za neučinkovitost primijenjenih oblika zaštite je ekscesna količina oborina u tjednima prije berbe (listopad – 114,6 mm).

Würz i sur. (2020.) istraživali su utjecaj uklanjanja listova na arhitekturu grozdova i mikroklimu oko grozdova koja utječe na razvoj *B. cinerea*. Defolijacija je obavljena u pet različitih fenoloških faza kod sorte Sauvignon bijeli te nisu utvrđene statistički značajne razlike primjenom uklanjanja listova na svojstva prosječna masa grozda i prosječna masa

bobica, broj bobica i indeksa zbijenosti grozda. Uklanjanje listova u fazama cvatnje i ozrnjavanja značajno je smanjilo postotak zaraze, u usporedbi s kontrolnim tretmanima bez uklanjanja.

U 2015. godini prosječan broj grozdova iznosio je 5,38. Kada su formirani svi elementi uzgojnog sustava (2016. i 2017. godina) prosječan broj grozdova po trsu bio je 30,73 odnosno 22,85. Niti jedan od primijenjenih tretmana (kontrola bez botriticidne zaštite, konvencionalna zaštita botriticidima, skup ampelotehničkih mjera, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* i kalcijev klorid) u navedene dvije godine nije utjecao na svojstvo prosječan broj grozdova, a nije utvrđena niti značajna interakcija tretmana i godina za ispitivano svojstvo. Godina je imala statistički značajan utjecaj na ispitivana svojstva.

Svojstvo broj grozdova određeno je prvenstveno klimatskim prilikama u prethodnoj godini, budući da se primordije grozdova formiraju tijekom ljetnog perioda u prethodnoj godini. Broj pupova koji su krenuli utječe i na broj grozdova koji će se formirati te uz prosječnu masu grozda čine bitne faktore prinosa (Lopez-Miranda i sur., 2004.). Broj grozdova predstavlja sortno svojstvo te iz jednog pupa može nastati mladica koja nosi 1 do 3 grozda, iznimno 4 pa čak i 5 grozdova u osobito povoljnim godinama (Christensen, L. P., 2000.).

Prema Tafazoli (1977.) broj grozdova povećao se s povećanjem broja pupova po trsu. Prosječna masa grozdova i sadržaj šećera su se smanjili kada je vinova loza bila preopterećena. Utvrđena je pozitivna korelacija prinosa s brojem grozdova, a negativna sa sadržajem šećera.

Prosječna masa grozda nije ovisila o primijenjenim tretmanima, također ni interakcija tretmana i godina nije imala statistički značajan utjecaj na masu grozda. Utvrđen je statistički visoko značajan utjecaj godine na istraživano svojstvo, što je razumljivo budući da je količina oborina početkom ljeta u 2016. godini bila dvostruko veća nego u 2017. godini te su dobiveni rezultati u skladu sa drugim autorima (Keller, 2010; Grigg i sur., 2018.). Brojni autori (Würz i sur., 2020; Sivilotti i sur., 2016; Molitor i sur., 2011; Hed i sur., 2009.) također nisu utvrdili značajan utjecaj ampelotehničkih zahvata (defolijacija, zbijenost grozdova, prorjeđivanja grozdova) na prosječnu masu grozda.

Siva plijesan može uzrokovati značajan gubitak prinosa (Bulit i Dubos, 1988.). Gubici uzrokovani napadom *B.cinerea* umanjuju i potencijalnu količinu vina koja se mogla

proizvesti. Dubos (1999.) ističe da 35 % trulih bobica uzrokuje smanjenje količine crnog vina za cca. 30 %.

Pojava bolesti je jedan od najvažnijih čimbenika koji može utjecati na urod (Cvjetković, 2010.). Bolest je rezultat interakcije domaćina (vinove loze), patogena i okoliša, a Pearson i Goheen (1988.) osobito ističu značaj vremenskih prilika u ostvarivanju zaraze.

Prosječna ocjena bolesti u 2015. godini iznosila je 3,96 prema EPPO skali (2001.). U 2016. godini samo kod jednog tretmana je zabilježeno prisustvo bolesti sa ocjenom 2. Tijekom 2017. godine nije zabilježeno prisustvo bolesti. Dobivene rezultate moramo promatrati kroz utjecaj klimatskih prilika prisutnih u istraživanom periodu. Tijekom svibnja 2015. godine zabilježeno je 130,8 mm oborina što je dvostruku više od višegodišnjeg prosjeka. Tada je vinova loza bila u fenofazi cvatnje. Prvo tretiranje kemijskim fungicidom je obavljeno u fenofazi krajem cvatnje što je u skladu s literaturnim preporukama. Dobro je poznato da je kritična fenofaza za infekciju grožđa cvatnja, a potom dozrijevanje grožđa.

Krajem cvatnje gljiva se naseljava na odumrle dijelove cvijeta, živi saprofitski i ne uzrokuje bolest. Vlažno i pro hladno vrijeme tijekom cvatnje rezultira zarazom još neotvorenih cvjetića, ali kada temperature narastu cvjetići se suše i otpadaju (Cvjetković, 2010.).

Zelene bobice ukoliko nisu oštećene ne predstavljaju povoljan supstrat za realizaciju infekcije. Voštana prevlaka sprječava zadržavanje vlage te na bobicama nema izvora hrane. Iz tog razloga patogen se nalazi u fazi mirovanja. Micelij najčešće ostaje pritajen na peteljčicama grozdova za vrijeme fenofaze zatvaranja grozdova; čak do dva mjeseca. Rastom bobica, voštana prevlaka postaje tanja i isprekidana što omogućava lakše ostvarivanje infekcije. Kako bi se formirali sporonosni organi potreban je period vlaženja uz odgovarajuće temperature, a optimalne iznose 20 do 23 °C (Steel i sur., 2011.). Kada sadržaj šećera u bobici prijeđe 40 °Oe, bobica postaje povoljan supstrat za ishranu patogena.

Tijekom ljetnog perioda 2015. godine bilo je sušno vrijeme koje nije pogodovalo razvoju bolesti. Druga primjena fungicida je obavljena u fenofazi razvoja bobica. Treći tretman s kemijskim fungicidom je obavljen u fazi dozrijevanja grožđa. Tretman koji je obavlja krajem kolovoza od iznimnog je značaja bez obzira na sušno ljeto koje je prethodilo jer gljiva ostaje latentna do dva mjeseca te se aktivira ukoliko nastupe povoljni uvjeti za njen razvoj.

Biološki preparati Trichodex WP i Serenade su primijenjeni četiri puta tijekom vegetacijskog perioda (prema BBCH skali: 68-71; 73-75; 75-77; i 81-89).

Klimatske prilike tijekom listopada su bile iznimno pogodne za razvoj sive plijesni i tada je zabilježeno 114,6 mm oborina, dok je tridesetogodišnji prosjek za listopad iznosio 66,0 mm. Kišni period je počeo od 5. listopada i trajao je do 20. listopada što znači da je sva količina oborina za listopad pala u razdoblju prije berbe.

U vremenskom periodu koji je prethodio kišnom razdoblju grožđe nije bilo tehnološki zrelo te je zbog toga berba 2015. godine obavljena tek na dan 23. listopada kada je prvi puta bilo moguće neometano obaviti berbu.

Izrazito kišni period koji je počeo početkom listopada je dodatno utjecao na odgađanje tehnološke zrelosti grožđa, a u tom trenutku tretman kemijskim fungicidima nije bilo moguće obaviti zbog dužine karence. Iako se biološki pripravci mogu aplicirati do pred samu berbu jer za takva sredstva nema karence, njihova primjena je bila tehnički neizvodiva zbog kontinuiranih oborina. Također, primijenjeni kemijski botriticidi i biološka sredstva za zaštitu od *B. cinerea* nemaju kurativno niti eradikativno djelovanje. Primjena navedenih sredstava stoga ne bi polučila nikakav učinak. Navedeno potvrđuju i različiti prognozni modeli razvijeni kako bi signalizirali opasnost od napada sivom plijesni. U svim predikcijskim modelima uz temperaturu poseban naglasak je stavljen na vlaženje listova i grožđa. Broome i sur. (1995.) naglašavaju da vlaženje u trajanju od 16 h predstavlja veliku opasnost za ostvarivanje zaraze sa *B. cinerea*, bez obzira na prisutne temperature zraka (12 – 32 °C).

Novo i vrlo opsežno istraživanje Gonzalez-Dominguez i sur. (2019.) ukazuje na optimalnu primjenu botriticida u fenofazama: krajem cvatnje, fazi šare i u fazi dozrijevanja grožđa, što je i korišteno i u ovom istraživanju. Takvom zaštitom je moguće iskoristiti aditivno djelovanje ranih tretmana na širenje parazita te je moguće suzbiti višestruke infekcije tijekom dozrijevanja grožđa.

U 2016. i 2017. godini primjena kemijskih i bioloških fungicida obavljena je (kao i u 2015. godini) prema planu i programu zaštite u pokusu. Vremenske prilike nisu pogodovale razvoju bolesti, stoga nije bilo gubitaka prinosa i promjena kvalitativnih parametara mošta u odnosu na 2015. godinu. Tijekom 2016. i 2017. godine berba grožđa je obavljena na dan 06. listopada u trenutku tehnološke zrelosti grožđa kada je prosječan sadržaj šećera dosegnuo 87 ° Oe odnosno 97 ° Oe. U svim godinama istraživanja nije utvrđena statistički značajna

razlika između primjenjenih tretmana i interakcija tretmana i godina. Utvrđen je statistički značajan utjecaj godine na sve pokazatelje kvalitete. Zaraza s *B. cinerea* je bila prisutna kod svih tretmana, što nam ukazuje na važnost te značaj godine i utjecaja klimatskih prilika na proizvodnju „pod otvorenim nebom“. Iako nije utvrđena statistički značajna razlika, iz Grafikona 20. je vidljivo kako je najniža prosječna ocjena zabilježena kod tretmana KZB te možemo pretpostaviti da su botriticidi imali ulogu u smanjenju napada sa sivom plijesni.

Fungicidi za suzbijanje *B. cinerea* primijenjeni kao preventivni omogućuju bolju učinkovitost od kurativnih tretmana. Nakon pojave infekcije kod većine fungicida je utvrđeno da fungicid mora biti primijenjen do 12 h od početka infekcije kako bi suzbio širenje patogena (Serey i sur., 2007.).

Ferree i sur. (2003.) su primjenom djelatne tvari iprodion i giberelinske kiseline istraživali njihov utjecaj na suzbijanje *B. cinerea* te na rast grozdova, prinos i kvalitetu grožđa. Potvrdili su dobro djelovanje djelatne tvari iprodion, ali nisu utvrdili utjecaj giberelinske kiseline i iprodiona na rast grozdova, prinos i kvalitetu grožđa.

Escribano-Viana i sur. (2018.) su istražili utjecaj kemijskog fungicida (Teldor SC 500) i biološkog preparata (Serenade) na masu grozdova i ukupan prinos grožđa. Razlika u prinosu i masi grozdova između tretmana s biološkim i kemijskim sredstvima nije bila značajna što se podudara sa našim istraživanjem. Razlog zbog čega biološka i kemijska zaštita u našim istraživanjima nisu utjecale na broj, masu grozdova i prinos možemo pripisati činjenici da se od zaštitnih sredstava ni ne očekuje da značajno utječu na navedene parametre. Godina ima daleko značajniji utjecaj, kao i agrotehnika i uzgojni oblik na analizirana svojstva.

Brojni autori (Reynolds i sur., 1996; Elad i Stewart, 2007; Elmer i sur., 2003.) naglašavaju da biološki pripravci možda neće polučiti odgovarajuću zaštitu od *B. cinerea* u uvjetima kada je pritisak bolesti velik i kada su okolišni uvjeti idealni za razvoj patogena. Zbog navedenog Shtienberg (2007.) ističe važnost prognoznih modela i primjenu kemijskih sredstava u uvjetima kada je nužno. Na taj način može se smanjiti ukupna uporaba kemijskih sredstava i mogu postati nadopuna biološkim sredstvima.

Harms i sur. (2007.) istraživali su učinkovitost i dugotrajnost djelovanja različitih botriticida: boskalid, fenheksamid, pirimetanil, tolilfluanid, ciprodinil i fludioksonil, u poljskim uvjetima i laboratoriju. Grožđe je tretirano preporučenom dozom svakog fungicida u fazi šare. Razvoj sive plijesni praćen je tjedno. U 2003. godini, čak 41 dan nakon posljednjeg tretmana, mogla se primijetiti djelotvornost sredstava. Nakon toga, stupanj

učinkovitosti brzo se smanjio u svim varijantama. U 2004. i 2005. godini nije bilo infekcije zbog neodgovarajućih uvjeta za razvoj uzročnika bolesti. U laboratorijskim uvjetima učinkovitost djelovanja fungicida ovisno o aktivnoj tvari se kretala u rasponu između 19 do 44 dana. Nisu zabilježene značajne razlike između različitih botriticida na učinkovitost djelovanja. Značajan gubitak učinkovitosti primijećen je za gotovo sve fungicide gotovo istovremeno. Autori naglašavaju važnost morfoloških i anatomskih karakteristika bobice odnosno pokožice (broj staničnih slojeva pokožice, debljina kutikule i voštanog sloja, količina puči i gustoća dlačica) na dugotrajnost djelovanja zaštitnih sredstava.

Budući da je od zadnje primjene kemijskih fungicida u našem istraživanju prošlo više od 40 dana do pojave kišnog perioda u listopadu 2015. godine nije se mogla niti očekivati efikasna zaštita od *B. cinerea*.

Otpornost *B. cinerea* na fungicide postaje sve veći problem (Leroch i sur., 2011.) te uporaba kemijskih sredstava za zaštitu bilja sve više izaziva brigu zbog mogućih ostataka u vinu i utjecaja na zdravlje ljudi i okoliša (Svitlica i sur., 2015.). Najbolji pristup borbe s uzročnikom sive plijesni je primjena programa integrirane zaštite, koji uključuju mjere poboljšanja mikroklimе u zoni trsa i primjenu sintetičkih fungicida tijekom vegetacijske sezone (Rosslenbroich i Stuebler, 2000.).

Treba kontinuirano proučavati različite mjere borbe u različitim staništima, jer primjena jedne mjere može dati učinke na jednoj ali ne i na drugim lokacijama. Praćenjem zdravstvenog stanja nasada vinove loze i vremenskih prilika, a u skladu s načelima dobre poljoprivredne prakse moguće je odabrati optimalno vrijeme tretiranja sredstvima za zaštitu bilja. Predikcijski modeli koji se baziraju na trokutu bolesti (patogen, domaćin, okolišni uvjeti) su od velike važnosti u integriranoj zaštiti bilja. Postojeći prognozni modeli (Dewey i Yohalem, (2004.) se trebaju implementirati u što veći broj vinograda kako bi se dobila prognozna mreža i na taj način osigurala što kvalitetnija zaštita. U skladu sa najnovijim programima „Green Deal“ i „FarmToFork“ Europske komisije očigledno je da će u budućnosti doći do snažnijih promjena u odnosu na dosadašnju praksu. Navedeni programi imaju za cilj smanjenje uporabe kemijskih pesticida za čak 50 % do 2030. godine.

Budući da na razini Europske unije do 2050. godine neće biti dozvoljena uporaba kemijskih fungicida u budućnosti ćemo se morati više oslanjati na izbor tolerantnijih kultivara, odabirati prikladnije položaje za uzgoj vinove loze sa povoljnijim agroekološkim uvjetima te se uz navedeno oslanjati na biološke preparate.



U godinama koje su izazovne u kontekstu pojave bolesti kao što je 2015. godina ni kemijska sredstva nisu polučila odgovarajuću razinu zaštite. Klimatske prilike znatno utječu na poljoprivrednu proizvodnju u kvalitativnom i kvantitativnom smislu. Postoje velike oscilacije između pojedinih godina te je potreban dugi niz godina istraživanja kako bi dobili jasne odgovore za istraživanu problematiku.

#### *Pokazatelji kvalitete mošta*

Pokazatelji kvalitete mošta uspoređivani su u trogodišnjem razdoblju budući da je utvrđeno da prinos ne utječe značajno na pokazatelje kvalitete mošta. Bravdo i sur. 1985. ističu da prinos od 26 t/ha nije značajno snizio kvalitetu grožđa i vina kod sorte Cabernet sauvignon u usporedbi sa prinosom od 12 t/ha.

Šećeri su nakon vode najzastupljeniji sastojak grožđa, a sa aspekta proizvodnje crnog vina sadržaj šećera u moštu uz ukupnu kiselost i fenolnu zrelost predstavlja osnovni pokazatelj kvalitete. Na osnovu njihovog sadržaja određuje se vrijednost pojedinog kultivara u tehnološkom smislu. Ukazuju i koliki potencijalni sadržaj alkohola možemo očekivati u budućem vinu te na taj način bitno utječu na samu kvalitetu vina. Brojne druge tvari (tvari boje, arome, soli) svojim sadržajem utječu na kakvoću i stil vina.

U našem istraživanju primjenom tretmana nije utvrđen statistički značajan utjecaj na sadržaj šećera u moštu, također nije utvrđena interakcija tretmana i godine. Utvrđen je samo statistički značajan utjecaj godine za istraživano svojstvo. Prosječan sadržaj šećera u 2015. godini iznosio je 89,04 °Oe (Tablica 27.) te su u istoj godini zabilježene prosječne temperature unutar vegetacijskog perioda od 18,7 °C uz sate sijanja sunca 331,5 (srpanj) i 278,1 (kolovoz). U 2016. godini prosječan sadržaj šećera u moštu iznosio je 87,96 °Oe, prosječna temperatura unutar vegetacijske sezone od 17,8 °C uz sate sijanja sunca 283,1 (srpanj) i 283,2 (kolovoz). Za 2017. godinu prosječan sadržaj šećera u moštu iznosio je 97 °Oe, prosječna temperatura unutar vegetacijskog perioda 18,5 °C uz sate sijanja sunca 348,7 (srpanj) i 329,6 (kolovoz). Iz rezultata možemo pretpostaviti izvjesnu povezanost mjesečnih temperatura i insolacije koji su kao važni klimatski čimbenici zasigurno doprinijeli nakupljanju i razlikama u sadržaju šećera te je u godinama sa većim brojem sunčanih sati i većim prosječnim mjesečnim temperaturama ostvaren i veći sadržaj šećera u moštu te je brže nastupila tehnološka zrelost grožđa.

Korištenjem kemijskih i bioloških fungicida (Teldor SC 500 i Serenade) Escribano-Viana i sur. (2018.) nisu utvrdili značajno smanjenje sadržaja šećera u odnosu na kontrolni tretman,

iako je zamjećeno smanjenje sadržaja šećera od 11 g/L mošta pri korištenju Teldora, odnosno 10 g/L pri uporabi sredstva Serenade u proizvodnim uvjetima sjeverne Španjolske. Fenheksamid kao djelatna tvar djeluje na sintezu aminokiselina i bjelančevina, ali takvo djelovanje i smanjenje sadržaja šećera nije potvrđeno u drugim istraživanjima (Mulero i sur., 2015.).

Defolijacijom vinove loze razni autori su dobili oprečne rezultate; Baiano i sur. (2015.) te Mijowska i sur. (2016.) navode značajno pozitivno djelovanje postupka; a s druge strane Sivilotti i sur. (2016.) u istraživanju na kultivaru Merlot nisu utvrdili statistički značajnu razliku u sadržaju šećera. Sličan učinak ostvarili su Song i sur. (2018.); Drenjančević i sur. (2017.); Ferree i sur. (2003.).

Organske kiseline spadaju među bitne komponente mošta i doprinose kvaliteti mošta i vina. Utječu na svježinu okusa, modificirajući percepciju drugih okusa te daju balans vinu i osiguravaju vinu mikrobiološku i fizikalno–kemijsku stabilnost (Jackson, 2014).

Prosječna ukupna kiselost mošta u 2015. godini iznosila je 5,29 g/L, u 2016. godini 11,13 g/L, a u 2017. godini 7,05 g/L. Nije utvrđen statistički značajan utjecaj tretmana na ispitivano svojstvo, također ni interakcija tretmana i godina. Utvrđena je statistički značajna razlika između godina te je ukupna kiselost bila značajno manja u 2015. godini kada je bila jaka zaraza sivom plijesni (ocjena 3,96, EPPO). Metaboličkim procesima *B. cinerea* pri ostvarenju zaraze degradira organske kiseline, prvenstveno vinsku pa je to najvjerojatnije razlog smanjenja ukupne kiselosti mošta u 2015. godini što je u skladu sa navodima Zoecklein (1998.). Prema Ribereau-Gayon i sur., (2006.) *B. cinerea* utječe na kemijski sastav grožđa i mošta. Uzrokuje promjene koje dovode do oksidacije glukoze i njene pretvorbe u glukonsku kiselinu i glicerol. Grožđe zaraženo sivom plijesni ima povećanu pH vrijednost, veću količinu metanola, glicerola, glukonske, octene, a ima smanjen sadržaj vinske i jabučne kiseline 70-90 % u odnosu na zdravo grožđe. Jabučna i vinska kiselina se kao i proteini u grožđu razgrađuju. Vina dobivena preradom zaraženog grožđa su nestabilna, osjetljiva na oksidaciju Zoecklein (1998.).

Istraživana tematika je kompleksna i kroz niz godina istraživanja dobiveni su oprečni rezultati u zavisnosti od lokacije, klime i drugih nekontroliranih varijabli. Baiano i sur. (2015.) i Song i sur. (2018.) su ustanovili da i u različitim terminima defolijacije dolazi do smanjenja ukupne kiselosti mošta. Navedno potvrđuje istraživanje Mijowska i sur. (2016.).

S druge strane, rezultati brojnih istraživanja, nisu potvrdili konstatacije o smanjenju ukupne kiselosti mošta primjenom defolijacije (Drenjančević i sur., 2018; Vilanova i sur., 2012; Šuklje i sur., 2014.) što je potvrđeno i u ovom istraživanju. i teško ih je očuvati (Zoecklein, 1992.).

Ferree i sur. (2003.) nisu utvrdili značajne razlike u primjeni iprodiona i giberelinske kiseline na ukupnu kiselost, a utvrđena je značajna djelotvornost giberelinske kiseline na suzbijanje *B. cinerea*.

Gotovo svi biološki procesi ovise o pH vrijednosti supstrata u kojem se odvijaju (Talley i Alexov, 2010.). Koncentracija vodikovih iona igra važnu ulogu pri stabilnosti bjelančevina (Grey i sur., 2006.). Vrijednost pH kod mošta i vina uglavnom se kreće između 2,8 i 3,8. Kiselija vina imaju pH vrijednost ispod 3,2 dok se kod nedovoljno kiselih ova vrijednost kreće do 3,5 pa i više (Zoričić, 1996.).

Ukoliko je pH vrijednost mošta iznad 3,4 moguć je utjecaj bakterija na tijek fermentacije uslijed nepovoljnih uvjeta za razvoj kvasaca. Jackson (2014.) savjetuje da je bolje napraviti korekciju pH prije fermentacije nego nakon posebno kod bijelih vina, te naglašava da crna vina imaju veći pH od bijelih.

Prosječna pH vrijednost u 2015. godini iznosila je 3,55, u 2016. 3,18, a u 2017. godini izmjerena je prosječna vrijednost od 3,31. Najmanja vrijednost je izmjerena kod tretmana KBAZ u 2016. godini i iznosila je 3,00, a najveća vrijednost je izmjerena kod tretmana BS u 2015. godini i iznosila je 3,99. Nije utvrđen statistički značajan utjecaj tretmana, kao ni interakcija godina i tretmana na ispitivano svojstvo. Utvrđena je statistički značajna razlika između godina za ispitivano svojstvo.

Uklanjanjem listova dolazi do smanjenja pH vrijednosti i kalija u moštu (Hummell i Ferree, 1998; Morrison i Noble, 1990.). Mijowska i sur. (2016.) izvještavaju kako je uklanjanje listova imalo značajan utjecaj na sastav grožđa (šećeri, ukupna kiselost), ali defolijacija nije imala značajan utjecaj na prinos i na pH mošta. Escribano-Viana i sur. (2018.) također nisu zabilježili razlike u promjeni pH korištenjem kemijskih fungicida (Teldor SC 500) i bioloških sredstava (Serenade).

Alternativni pripravci i zamjena konvencionalnim zaštitnim sredstvima kao što su kalijev fosfat i mlijeko nisu utjecali na sadržaj šećera, pH i ukupnu kiselost grožđa (Crisp i sur., 2006.). Njihov utjecaj također nije zabilježen ni u moštu i vinu (Crisp i sur., 2008.). Sredstva

koja se koriste u zaštiti bilja neovisno da li se radilo o kemijskim sredstvima (Switch 62,5 WG i Teldor SC 500) ili biološkim (Trichodex WP i Serenade) obično nemaju djelovanje na smanjenje i/ili povećanje pokazatelja kvalitete mošta i vina te prolaze dugotrajna i kompleksna ispitivanja prije odobrenja njihove komercijalne uporabe što je potvrđeno u istraživanju Escribano-Viana i sur. (2018.).

Polifenoli su sekundarni biljni metaboliti koji imaju obrambenu funkciju (Manach i sur., 2004.) štite od UV zračenja, usporavaju razvoj štetnih organizama i kataliziraju oksidacijski stres. Imaju antioksidacijska, antimutagena, kardioprotektivna, antikancerogena i druga pozitivna djelovanja na ljudski organizam (Toaldo i sur., 2016.).

Prosječan sadržaj polifenola u 2015. godini iznosio je 442,42 mg/L, u 2016. godini 702,63 mg/L, a u 2017. godini izmjeren je prosječan sadržaj polifenola od 848,05 mg/L. Nije utvrđen statistički značajan utjecaj tretmana na sadržaj polifenola kao ni interakcija tretmana i godina. Utvrđen je statistički značajan utjecaj godine na sadržaj polifenola.

U našem istraživanju zaraženo grožđe je imalo manji sadržaj ukupnih polifenola u odnosu na zdravo. U 2015. godini uz prisutnost *B. cinerea* sadržaj ukupnih polifenola je bio manji za 37 % u odnosu na 2016. godinu, odnosno za 48 % u odnosu na 2017. godinu. Dobiveni rezultati su u skladu sa istraživanjima Ky i sur. (2012.). Oni su također zabilježili manji sadržaj ukupnih polifenola od 50 % kod mošta zaraženog sa *B. cinerea* u usporedbi sa moštom dobivenim iz zdravog grožđa. Rezultati našeg istraživanja se također podudaraju sa rezultatima Oszmianski i sur. (1985.) te Pszczółkowski i sur. (2001.) koji su utvrdili manji sadržaj fenolnih komponenti u zaraženom grožđu.

Uklanjanje listova kod vinove loze utječe na asimilacijski kapacitet, a samim time i na fenolni i aromatski profil budućeg vina (Hunter i Visser, 1990.). Bešlić i sur. (2011.) su u dvogodišnjem istraživanju utjecaja defolijacije bazalnih listova ustanovili da uklanjanjem šest bazalnih listova u fazi cvatnje rezultira porastom ukupnih fenola i antocijana u pokožici bobice. Slične rezultate su dobili Song i sur. (2018.) sa uklanjanjem listova i prorjeđivanjem grozdova prije faze šare te ističu kako je veći i značajniji utjecaj na povećanje fenolnih spojeva imalo prorjeđivanje grozdova u odnosu na uklanjanje listova. Kombinacija srednje razine uklanjanja listova i prorjeđivanja grozdova najviše je pogodovala nakupljanju fenolnih tvari. Mijowska i sur. (2016.) su utvrdili da su kod tretmana defolijacije prije cvatnje, uočene najveće vrijednosti ukupnih polifenolnih spojeva i sadržaja antocijanina, te je defolijacija u fazi prije cvatnje rezultirala porastom flavonola.

Izloženost sunčevom zračenju utječe na sastav grožđa (Martínez-Lüscher i sur., 2019.) na način da se pojačava sinteza flavonola uzrokovana sunčevim zračenjem. Njihovi rezultati potvrđuju pouzdanost korištenja profila flavonola kao indikatora intenziteta sunčevog zračenja.

Boju grožđa određuju biljni pigmenti. Najvažniji pigmenti kod crnog grožđa su antocijani. Njihovu strukturu čini flavilijev kation (Rastija, 2007.). Najčešće okolišni čimbenici imaju značajan utjecaj na ukupnu količinu antocijana, dok pojedinačan sastav predstavlja sortno svojstvo (Flamini i sur., 2013.). Najveća koncentracija antocijana se nalazi u pokožici (Falchi i sur., 2006.). U crnom vinu antocijanini i flavonoidi su glavne dvije skupine fenolnih spojeva (Bell i sur., 2000.). Oni daju vinu trpkocu ili astrigenciju te doprinose kvaliteti vina (Gawel, 1998.).

Prosječan sadržaj ukupnih antocijana u 2015. godini iznosio je 127,60 mg/L, u 2016. prosječan sadržaj je iznosio 312,94 mg/L, a u 2017. 328,14 mg/L. Nije utvrđen statistički značajan utjecaj tretmana na sadržaj ukupnih antocijana. Nije utvrđena ni interakcija godina i tretmana. Utvrđen je utjecaj godine na sadržaj ukupnih antocijana. Za pretpostaviti je da povećana insolacija utječe na povećanje ukupnih antocijana. Povećanje broja sunčanih sati (2016. - 2031 h; 2017. - 2211) prati i porast sadržaja ukupnih antocijana (2016. - 312,94 mg/L; 2017. - 328,14 mg/L). Navedeno potvrđuju i rezultati istraživanja Morrison i Noble (1990.) koji ukazuju da osim uklanjanja listova i izloženost grozdova sunčevom zračenju dovodi do povećanja sadržaja antocijana. Osim razlike u broju sunčanih sati, prisutnost *B. cinerea* dovela je da u 2015. godini imamo najmanji sadržaj antocijana u odnosu na ostale godine istraživanja. Imali smo manji sadržaj ukupnih antocijana u 2015. godini u odnosu na 2016. godinu za 59 %; a u odnosu na 2017. godinu smanjenje iznosi čak 61 %. Prisutnost *B. cinerea* rezultirala je smanjenjem antocijana za 82% u istraživanju Ky i sur. (2012.).

*B. cinerea* lučenjem lakaze (p-difenol oksidoreduktaza) pri pH (2,8 i 3,8) oksidira fenolne spojeve (antocijani, flavanoli i hidroksicinaminske kiseline) grožđa i vina u kinone, koji nakon polimerizacije mijenjaju boju u smeđu (Slomczynski i sur., 1995; Scott i sur., 2010.). Navedeni procesi dovode do posmeđivanja kod bijelih vina, a kod crnih vina se gubi boja uz stvaranje taloga od produkata oksidacije (Claus, 2009.). U našem istraživanju tretmani nisu utjecali na sadržaj ukupnih antocijana što se podudara i sa istraživanjima drugih autora (Escribano-Viana i sur., 2018.) koji su također proučavali utjecaj kemijskih (Teldor SC 500)

i bioloških sredstava (Serenade) i njihov utjecaj na sadržaj ukupnih polifenola u grožđu te također nisu zabilježili značajan utjecaj tretmana na ispitivano svojstvo.

Uklanjanje listova nije utjecalo na sadržaj ukupnih i pojedinačnih antocijana (Sivilotti i sur., 2016.). S druge strane Osrečak (2014.) je utvrdila značajan utjecaj defolijacije kod kultivara Teran, dok kod ostala dva kultivara (Merlot i Plavac mali) nije utvrđen utjecaj defolijacije na povećanje sadržaja antocijana.

Yamane i sur. (2006.) ističu da je nakupljanje antocijana u pokožici grožđa bilo značajno veće pri temperaturama od 20 °C nego pri 30 °C, uz najosjetljiviji period jedan do tri tjedna nakon početka šare.

Prema istraživanju Hogan i sur. (2009.) sjemenke grožđa imaju najveću antioksidacijsku aktivnost u odnosu na druge dijelove vinove loze (16,8 - 92 mmol TE/g). Poudel i sur., (2008.), antioksidacijska aktivnost pokožice iznosila je 15,7 – 113,3 mmol TE/g. Najmanja antioksidativna aktivnost utvrđena je u vinu.

Prema Burns i sur. (2000.) polifenoli se smatraju važnima za antioksidacijski potencijal grožđa i vina. Prosječna antioksidacijska vrijednost pokožice u našem istraživanju u 2015. godini iznosila je 7,90 mg/100 g GAE. U zdravom grožđu u 2016. godini iznosila je 17,60 mg/100 g GAE, a u 2017. godini prosječna antioksidacijska vrijednost iznosila je 27,45 mg/100 g GAE što je u skladu sa rezultatima Poudel i sur., (2008.). Razlog je što zdravo grožđe ima daleko bolji i veći antioksidacijski potencijal u odnosu na zaraženo sa *B.cinerea* (Ky i sur., 2012; Oszmianski i sur., 1985.; Pszczółkowski i sur. 2001.). U prilog tome idu i istraživanja autora Jerman i sur. (2011.) koji su istraživali utjecaj ranog uklanjanja lišća na sadržaj polifenola i antocijana te ističu da postoji trend rasta antioksidacijskog potencijala, sa ukupnim sadržajem fenola gdje su vrijednosti jasno povezane ( $r=0,88$ ), što potvrđuje antioksidacijsko djelovanje prisutnih fenola.

Nije utvrđen statistički značajan utjecaj tretmana na ispitivano svojstvo, kao ni interakcija godine i tretmana. Utvrđen je statistički značajan utjecaj godine na ispitivano svojstvo.

Suprotno rezultatima našeg istraživanja, Drenjančević i sur. (2017.) su utvrdili povećanje antioksidacijske aktivnosti kod kultivara Cabernet sauvignon primjenom rane defolijacije.

Polimerna boja je boja koja nastaje polimerizacijom antocijana formiranjem kompleksa antocijani/tanini te je otporna na djelovanje bisulfita. Kompleks koji tvore antocijani sa bisulfitom je bezbojan (Pichler i sur., 2015.).

Prosječna vrijednost za svojstvo polimerna boja u 2015. godini iznosi 21,28 %. U 2016. godini 5,68 %, a u 2017. godini 5,03 %. Nije utvrđen statistički značajan utjecaj tretmana na ispitivano svojstvo polimerna boja. Nije utvrđena ni interakcija godine i tretmana na ispitivano svojstvo. Utvrđen je statistički značajan utjecaj godine na ispitivano svojstvo polimerna boja. Iako nije utvrđena statistička značajnost, vidljivo je povećanje polimerne boje u 2015. godini kada je bio prisutan *B. cinerea*. Višestruko veći sadržaj polimerne boje u 2015. godini može se pripisati oksidacijskim procesima i otapanju tvari boje uzrokovanih napadima sive plijesni.

Jensen i sur. (2008.) su multivarijantnim pristupom pokušali prognozirati fenolni sastav i boju crnih vina analizirajući fenolni sastav ekstrakata grožđa. Istraživanje je obuhvaćalo osam različitih kultivara. Fenolni sastav ekstrakata grožđa i vina pokazao je da su se prosječni odnosi fenola vina i grožđa kretali u rasponu od 0,25 do 7,9 za različite fenolne spojeve. Korelacija između predviđene i izmjerene ukupne boje vina bila je visoka ( $r=0,958$ ), i vrlo bliska koeficijentu korelacije dobivenom za izravnu povezanost antocijana grožđa i ukupne boje vina ( $r=0,961$ ).

Klaster analizom utvrđena je najveća sličnost utjecaja tretmana na ispitivane parametre kod tretmana KBAZ - BS i KBAZ - KZB, a najveća razlika je utvrđena između tretmana SAM - KZB i SAM - CaCl<sub>2</sub>.

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog trogodišnjeg istraživanja različitih mjera zaštite u suzbijanju *B. cinerea* i njihovog utjecaja na urod te kakvoću mošta kultivara Cabernet sauvignon, možemo donijeti sljedeće zaključke:

1. Prvi cilj ovog istraživanja bio je ispitati učinkovitost različitih oblika zaštite (kemijska, biološka i ampelotehničke mjere) na pojavu i intenzitet zaraze s *B. cinerea* na kultivaru Cabernet sauvignon u vinogorju Đakovo.
  - Postavljena je hipoteza da ne postoje razlike u utjecaju različitih oblika zaštite (kemijska, biološka i ampelotehničke mjere) na intenzitet zaraze s *B. cinerea*.

Analizom varijance ( $p < 0,01$ ) nisu utvrđene razlike u djelotvornosti zaštite primjenom bioloških i kemijskih preparata te ampelotehničkih zahvata. U 2015. godini kada se siva plijesan javila u vrlo jakom intenzitetu nismo utvrdili razlike između učinkovitosti provedenih različitih mjera zaštite. Ukoliko nema uvjeta za zarazu (2016. i 2017. godina) ne može se niti očekivati razlika između tretmana obzirom na zarazu s *B. cinerea*. Prosječna ocjena bolesti u 2015. godini iznosila je 3,96 prema EPPO skali (2001.). U 2016. godini samo kod jednog tretmana je zabilježeno prisustvo bolesti sa ocjenom 2. Tijekom 2017. godine nije zabilježeno prisustvo bolesti. Postavljena hipoteza se prihvaća.

2. Utvrditi razlike u urodu, sadržaju šećera u moštu, ukupnoj kiselosti, pH vrijednosti te sadržaju ukupnih polifenola i antocijana u bobici koje se javljaju pri primjeni različitih oblika zaštite obzirom na zarazu s *B. cinerea*.
  - Postavljena je hipoteza da ne postoje razlike u utjecaju različitih oblika zaštite na urod, sadržaj šećera u moštu, ukupnu kiselosti, pH vrijednosti te sadržaju ukupnih polifenola i antocijana u bobici.

Prosječan urod u 2015. godini iznosio je 6,8 t/ha, u 2016. godini 30 t/ha, a u 2017. godini 18,3 t/ha. U 2016. i 2017. godini utvrđen je statistički značajno veći učinak za urod pri primjeni  $\text{CaCl}_2$  u odnosu na SAM, dok između ostalih tretmana nisu utvrđene značajne razlike u urodu grožđa. Interakcija tretmana i godina nije imala statistički značajan utjecaj na prinos.

Postavljena hipoteza se prihvaća jer je utvrđeno značajno odstupanje prinosa tretmana „Skup ampelotehničkih mjera“ u odnosu na tretman sa primjenom kalcijevog klorida ( $p < 0,01$ ). Također hipoteza se prihvaća jer niti u jednoj od istraživanih godina nije utvrđeno da



postoje značajne razlike između bioloških i ampelotehničkih mjera u odnosu na kemijske tretmane. U dobroj godini obično nemamo problema sa bolestima, dok u godinama kada je pritisak bolesti velik, utjecaj godine je presudan. Na temelju analize varijance ( $p < 0,01$ ) nije zabilježen utjecaj tretmana na kvalitativne parametre grožđa i mošta.

3. Utvrditi utjecaj godine (vremenskih prilika: srednje mjesečne temperature i količine i rasporeda oborina tijekom aktivne vegetacije) tijekom tri godine istraživanja na kvantitativna i kvalitativna svojstva mošta, kao i intenzitet zaraze s *B. cinerea*.
  - Postavljena je hipoteza da godina (vremenske prilike) utječu na zarazu s *B. cinerea* i parametre uroda i kvalitete mošta.

Okolinski uvjeti su se razlikovali u istraživanom periodu što je dalo visoko značajni utjecaj na sva ispitivana svojstva. Godina je imala statistički značajan utjecaj ( $p < 0,01$ ) na sva ispitivana svojstva: prosječan urod po trsu, broj grozdova po trsu, masu grozda, sadržaj šećera u moštu, ukupnu kiselost, pH mošta, sadržaj ukupnih antocijana, antioksidativnu aktivnost, polimernu boju i ocjenu bolesti.

Hipoteza se prihvaća jer je utvrđeno da godina utječe na sva ispitivana svojstva. Također se prihvaća i hipoteza da godina (vremenske prilike) utječu na intenzitet zaraze s *B. cinerea*.

Klimatske prilike imaju značajan utjecaj na proizvodnju grožđa. U klimatski povoljnim godinama za rast i razvoj vinove loze kao što su bile 2016. i 2017. godina, nismo imali gubitka uroda i degradacije u kvaliteti, dok je u 2015. godini utvrđen značajan gubitak uroda i niža kvaliteta grožđa zbog jakog napada sa *B. cinerea*. Stoga je nužno da se uz klimatske prilike (suma aktivnih i efektivnih temperatura, količina oborina tijekom vegetacijskog perioda itd.) u procjenu pogodnosti pojedinog kultivara za uzgoj na nekom području uključi i njegova osjetljivost na dominantne uzročnike bolesti. Ovim istraživanjem je obuhvaćeno više komponenti koje se navode kao djelotvorne u suzbijanju sive plijesni. Doprinos ovog istraživanja je taj što na ovim prostorima u skorije vrijeme nije bilo istraživanja usmjerenog na ispitivanje učinkovitosti kemijskih, bioloških i ampelotehničkih mjera na zarazu s *B. cinerea* te ujedno i njihovog utjecaja na kvalitativne i kvantitativne parametre grožđa i mošta. Potrebno je provoditi kontinuirana istraživanja ovog oblika i u budućnosti na različitim područjima kako bi se pratio utjecaj različitih mjera na urod i kakvoću grožđa, osobito danas kada smo izloženi i klimatskim promjenama i promjenama u načinima i oblicima zaštite bilja

---

## 6. LITERATURA

1. Abbey, J. A., Percival, D., Abbey, L., Asiedu, S. K., Prithiviraj, B., Schilder, A. (2019.): Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*) – prospects and challenges. *Biocontrol science and technology*, 29, 207-228.
2. Agosta, E., Canziani, P., Cavagnaro, M. (2012.): Regional Climate Variability Impacts on the Annual Grape Yield in Mendoza, Argentina. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, 51(6), 993-1009.
3. Al-Qurashi, A. D., Awad, M. A. (2013.): Effect of pre-harvest calcium chloride and ethanol spray on quality of 'El-Bayadi' table grapes during storage. *Vitis*, 52(2):61-67.
4. Arnous, A., Makris, D. P., Kefalas, P. (2002.): Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *Journal of food composition and analysis*, 15(6), 655-665.
5. Avenot, H. F., Michailides, T. J. (2010.): Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Protection*, 29(7), 643–651.
6. Baiano, A., De Gianni, A., Previtali, M. A., Del Nobile, M. A., Novello, V., de Palma, L. (2015.): Effects of defoliation on quality attributes of Nero di Troia (*Vitis vinifera* L.) grape and wine. *Food Research International*, 75, 260-269.
7. Bell, J. R., Donovan, J. L., Wong, R., Waterhouse, A. L., German, J. B., Walzem, R. L., Kasim-Karakas, S. E. (2000.): (+)-Catechin in human plasma after ingestion of a single serving of reconstituted red wine. *The American journal of clinical nutrition*, 71(1), 103-108.
8. Bešlić, Z., Todić, S., Matijašević, S., Novaković, M., Kuljančić, I., (2011.): Effect of early basal leaf removal on grape structure and quality of Prokupac (*Vitis vinifera* L.), 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture, Opatija, Croatia 919-923.
9. Bišof, R. (1991.): Utjecaj dužine lucnjeva na prirod i kakvoću grožđa sorte Cabernet sauvignon u vinogorju Bujštine. *Agronomski glasnik: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva*, 53(6), 285-294.
10. Boddy, L. (2016.): Pathogens of autotrophs. *The fungi* (3rd ed.). London: Academic Press, 245–292.

11. Bowers, J. E., Meridith, C. P. (1993.): DNA fingerprint characterization of some wine grape cultivars. *American journal of enology and viticulture*, 44(3), 266-274.
12. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995.): Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology* 28: 25–30.
13. Bravdo, B., Hepner, Y., Loinger, C., Cohen, S., Tabacman, H. (1985.): Effect of crop level and crop load on growth, yield, must and wine composition, and quality of Cabernet Sauvignon. *American journal of enology and viticulture*, 36(2), 125-131.
14. Brent, K. J., Hollomon, D. W. (2007.): Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed (FRAC Monograph No. 1). Fungicide Resistance Action Committee, Brussels, Belgium.
15. Broome, J. C., English, J. T., Marois, J. J., Latorre, B. A., Aviles, J. C. (1995.): Development of an infection model for Botrytis bunch rot of grapes based on wetness duration and temperature. *Phytopathology*, 85(1), 97-102.
16. Bruno, G., Sparapano, L. (2007.): Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: V. Changes in the chemical and biological profile of xylem sap from diseased cv. Sangiovese vines. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71(4-6), 210-229.
17. Bulit, J., Dubos, B. (1988.): Botrytis bunch rot and blight. *Compendium of grape diseases*, 13-15.
18. Burns, J., Gardner, P. T., O'Neil, J., Crawford, S., Morecroft, I., McPhail, D. B., Duthie, G. G. (2000.). Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity, and phenolic content of red wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(2), 220-230.
19. Calvo-Garrido, C., Roudet, J., Aveline, N., Davidou, L., Dupin, S., Fermaud, M. (2019.): Microbial antagonism toward Botrytis bunch rot of grapes in multiple field tests using one *Bacillus ginsengihumi* strain and formulated biological control products. *Frontiers in plant science*, 10, 105.
20. Cepelić, M., Pavić, M. (1900.): Josip Juraj Strossmayer, biskup bosansko-đakovački i srijemski, God. 1850-1900.
21. Chatterjee, S., Poduval, T. B., Tilak, J. C., Devasagayam, T. P. (2005.): A modified, economic, sensitive method for measuring total antioxidant capacities of human plasma and natural compounds using Indian saffron (*Crocus sativus*). *Clinica Chimica Acta*, 352(1-2), 155-163.

22. Chardonnet, C.O., Doneche, B. (1995.): Relation entre la teneur en calcium et la resistance a la digestion enzymatique du tissu pelliculaire au cours de la maturation du raisin. *Vitis* 34:95-98.
23. Chardonnet, C. O., Sams, C. E., Trigiano, R. N., Conway, W. S. (2000.): Variability of three isolates of *Botrytis cinerea* affects the inhibitory effects of calcium on this fungus. *Phytopathology*, 90(7), 769-774.
24. Cindrić, P., Korać, N., Kovač, V. (2000): Vine grape varieties. Agricultural faculty, Novi Sad.
25. Ciliberti, N., Fermaud, M., Languasco, L., Rossi, V. (2015.): Influence of fungal strain, temperature, and wetness duration on infection of grapevine inflorescences and young berry clusters by *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 105(3), 325–333.
26. Ciotta, M. N., Ceretta, C. A., Silva, L. O. S. D., Ferreira, P. A. A., Sautter, C. K., Couto, R. D. R., Brunetto, G. (2016.): Grape yield, and must compounds of 'Cabernet Sauvignon' grapevine in sandy soil with potassium contents increasing. *Ciência Rural*, 46(8), 1376-1383.
27. Claus, H. (2009.): Exoenzymes of wine microorganisms. In *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine* (pp. 259-271). Springer, Berlin, Heidelberg.
28. Cotea, V. (1985.): *Tratat de oenologie. V.1 Vinificația și biochimia vinului*, București: Cereș, 624 p
29. Cotoras, M., Garcia, C., Mendoza, L. (2009.): *Botrytis cinerea* isolates collected from grapes present different requirements for conidia germination. *Mycologia* 101 287–295. 10.3852/08-012.
30. Crisp, P., Wicks, T. J., Bruer, D., Scott, E. S. (2006.): 'An evaluation of biological and abiotic controls for grapevine powdery mildew: 2. Vineyard trials', *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12(3), 203-211.
31. Crisp, P., Walker, C., Grbin, P., Scott, E., Evans, K. J., Savocchia, S., Wicks, T. (2008.): Sustainable Control of Powdery and Downy Mildew Diseases of Grapevine and Impacts of Control on Wine Quality and Vineyard Health.
32. Cvjetković, B. (2010.): Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze. Zrinski d.d., Čakovec.
33. Čović, D., Bojić, M., Medić-Šarić, M. (2009.): Metabolizam flavonoida i fenolnih kiselina. *Farmaceutski glasnik*. 65, 693-704.

34. Dani, C., Oliboni, L. S., Vanderlinde, R., Pra, D., Dias, J. F., Yoneama, M. L., Henriques, J. A. (2009.): Antioxidant activity and phenolic and mineral content of rose grape juice. *Journal of medicinal food*, 12(1), 188-192.
35. Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Foster, G. D. (2012.): The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430.
36. De Lorenzo, G., D'Ovidio, R., Cervone, F. (2001.): The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defense against pathogenic fungi. *Annual review of phytopathology*, 39(1), 313-335.
37. Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A. (2013.): Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 18(14), 1818-1892.
38. Dewey, F. M., Grant-Downton, R. (2016.): Botrytis-biology, detection and quantification. In *Botrytis—the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 17-34). Springer, Cham.
39. Dewey, F., Yohalem, D. (2004.): Detection, quantification and immunolocalisation of Botrytis species. Pages 181-194. In: Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski, and N. Delen (eds.). *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. The Netherlands. 428 pp
40. Diago, M. P., Vilanova, M., Tardaguila, J. (2010.): Effects of timing of manual and mechanical early defoliation on the aroma of *Vitis vinifera* L. Tempranillo wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(3), 382-391.
41. Doneche, B., Chardonnet, C. (1996.): Influence of calcium on the susceptibility of grape berry to *Botrytis cinerea*, programme and Book of Abstracts XI International Botrytis Symposium, Wageningen.
42. Dopico-García, M. S., Figue, A., Guerra, L., Afonso, J. M., Pereira, O., Valentão, P., Seabra, R. M. (2008.): Principal components of phenolics to characterize red Vinho Verde grapes: Anthocyanins or non-coloured compounds?. *Talanta*, 75(5), 1190-1202.
43. Dorado, M., Bermejo, E., González, J. L., Sánchez, A., Luna, N. (2001.): Development influence of *Botrytis cinerea* on grapes. *Advances in food sciences*, 23(4), 153-159.

- 
44. Douglas, A., Brighenti, A., Allebrandt, R., Kretzschmar, A. A. (2017.): Early leaf removal as a strategy to control *Botrytis cinerea* rot in Cabernet Sauvignon grapevine at high altitude regions. *Summa phytopathol.* vol.43, n.2, pp.111-117.
  45. Drenjančević, M., Jukić, V., Zmaić, K., Kujundžić, T., Rastija, V. (2017.): Effects of early leaf removal on grape yield, chemical characteristics, and antioxidant activity of grape variety Cabernet Sauvignon and wine from eastern Croatia. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science*, 67(8), 705-711.
  46. Drenjančević, M., Rastija, V., Jukić, V., Zmaić, K., Kujundžić, T., Rebekić, A., Schwander, F. (2018.): Effects of early leaf removal on volatile compounds concentrations in Cabernet Sauvignon wines from the Ilok vineyards. *Poljoprivreda (Osijek)*, 24(1), 10-17.
  47. Dubos, B. (1999.): La pourriture grise. In: *Maladies cryptogamiques de la vigne: champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne*. Ed. E. Férét (Editions Férét: Bordeaux) pp. 55–71.
  48. Elad, Y., Kirshner, B. (1992.): Calcium reduces *Botrytis cinerea* damages to plants of *Ruscus hypoglossum*. *Phytoparasitica*, 20(4), 285.
  49. Elad, Y., Volpin, H. (1993.): Reduced development of grey mould (*Botrytis cinerea*) in bean and tomato plants by calcium nutrition. *Journal of Phytopathology*, 139(2), 146-156.
  50. Elad, Y., Pertot, I., Prado, A. M. C., Stewart, A. (2016.): Plant hosts of *Botrytis* spp. In Y. Elad & S. Fillinger (Eds.), *Botrytis – the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 413–486). Cham: Springer.
  51. Elad, Y., Stewart, A. (2007.): Microbial control of *Botrytis* spp. In *Botrytis: biology, pathology and control* (pp. 223-241). Springer, Dordrecht.
  52. Elmer P. A. G., Michailides T. M. (2004.): Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops. In: Elad Y, Williamson B, Tudzynski P, Delan N ed. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands. Pp. 243-272.
  53. Elmer P. A. G., Reglinski, T., Wood, P. N., Hill, R. A., Marsden, S.M., Parry, F., Taylor, J. T. (2003.): Suppression of *Botrytis* in grapes using a combination of elicitors and fungal antagonists. 8th International Congress of Plant Pathology. p. 43.
  54. English, J. T., Thomas, C. S., Marois, J. J., Gubler, W. D. (1989.): Microclimates of Grapevine Canopies Associated with Leaf Removal and Control of *Botrytis* Bunch Rot. *Phytopathology* 79: 395-401.
-

- 
55. Eppo. (2001.) Bulletin 31, 299-302.
56. Escribano-Viana, R., Portu, J., Garijo, P., Gutiérrez, A. R., Santamaría, P., López-Alfaro, I., González-Arenzana, L. (2018.): Evaluating a preventive biological control agent applied on grapevines against *Botrytis cinerea* and its influence on winemaking. Journal of the Science of Food and Agriculture, 98(12), 4517-4526.
57. Esterio, M., Auger, J., Droguett, A., Flanagan, S., Campos, F. (2000.): Efficacy of *Bacillus subtilis* (Ehrenberg), Cohn., QST-713 Strain (Serenade™), on *Botrytis cinerea* control in table grape (*Vitis vinifera* L. cv Thompson Seedless). In Proceedings of the XII International Botrytis Symposium, Reims, France. Europol Agro, Abstract L (Vol. 27).
58. Evans, K. (2010.): Expression of interest: Botrytis decision support model. Tasmanian Institute of Agricultural Research.
59. Fahmi, A. I., El-Shehawi, A. M., Nagaty, M. A. (2013.): Antioxidant and Antimutagenic Activities of Taif Grape (*Vitis vinifera*) Cultivars. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 9 (2): 102-117.
60. Falchi, M., Bertelli, A., Lo Scalzo, R., Morassut, M., Morelli, R., Das, S., Das, D. K. (2006.): Comparison of cardioprotective abilities between the flesh and skin of grapes. Journal of agricultural and food chemistry, 54(18), 6613-6622.
61. Ferree, D. C., Ellis, M. A., McArtney, S. J., Brown, M. V., Scurlock, D. M. (2003.): Comparison of fungicide, leaf removal and gibberellic acid on development of grape clusters and botrytis bunch rot of 'Vignoles' and 'Pinot Gris'. Small Fruits Review, 2(4), 3-18.
62. Ferrer, M., Gonzalez-Neves, G., Camussi, G., Echeverria, G., Carbonneau, A. (2011.): Variety, plant architecture and pruning methods: Influence on gray mould of grapevine. Progrès Agricole et Viticole, Montpellier 128 (18) 367-371.
63. Ferguson, I.B., Watkins, C.B. (1983.) Cation distribution and balance in apple fruit in relation to calcium treatments for bitter pit. Sci. Hort. 19, 301–310.
64. Filajdić, N., Vukša, P., Ivanović, M., Rekanović, E. (2003.): Biološke mere zaštite bilja: problemi i perspektive. Pesticidi, 18(2): 69-75.
65. Flamini, R., Mattivi, F., Rosso, M. D., Arapitsas, P., Bavaresco, L. (2013.): Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. International journal of molecular sciences, 14(10), 19651-19669.

- 
66. Fournier, E., Giraud, T., Brygoo Y. (2005.): Partition of the *Botrytis cinerea* complex in France using multiple gene genealogies. *Mycologia* 97:1251–1267.
67. Gabler, F. M., Smilanick, J. L., Mansour, M., Ramming, D. W., Mackey, B. E. (2003.): Correlations of morphological, anatomical, and chemical features of grape berries with resistance to *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 93(10), 1263-1273.
68. Garavaglia, J., Markoski, M. M., Oliveira, A., Marcadenti, A.(2016.): Grape seed oil compounds: Biological and chemical actions for health. *Nutrition and metabolic insights*. NMI-S32910.
69. Gawel, R. (1998.): Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4(2), 74-95.
70. Genescope. (2002.): *Botrytis cinerea* Estimated losses to vineyards in France (Annual Report, UIPP, 2002).
71. Giusti, M. M., Wrolstad, R. E. (2001.): Characterization and measurement of anthocyanins by UV - visible spectroscopy. In: Wrolstad RE and Schwartz SJ (eds) *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons Inc., New York, USA, pp. 5–69.
72. Glasnik zaštite bilja. (2017.): Hrvatsko društvo biljne zaštite/Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Infomart, Zagreb.
73. González-Domínguez, E., Fedele, G., Languasco, L., Rossi, V. (2019.): Interactions among fungicides applied at different timings for the control of Botrytis bunch rot in grapevine. *Crop Protection*, 120, 30-33.
74. Grahovac, M., Indić, D., Lazić, S., Vuković, S. (2009.): Biofungicidi i mogućnosti primene u savremenoj poljoprivredi. *Pestic. fitomed.* (Beograd), 24(4), 245-258.
75. Grey, M. J., Tang, Y., Alexov, E., McKnight, C. J., Raleigh, D. P., Palmer III, A. G. (2006.): Characterizing a partially folded intermediate of the villin headpiece domain under non-denaturing conditions: contribution of His41 to the pH-dependent stability of the N-terminal subdomain. *Journal of molecular biology*, 355(5), 1078-1094.
76. Grigg, D., Methven, D., De Bei, R., Rodríguez López, C. M., Dry, P., Collins, C. (2018.): Effect of vine age on vine performance of Shiraz in the Barossa Valley, Australia. *Australian journal of grape and wine research*, 24(1), 75-87.
77. Gullino, M. L. (1992.): Chemical control of Botrytis spp. *Recent advances in Botrytis research*, 217-222.
78. Harms, M., Erzgräber, K., Alexander E., Ipach, R. (2007.): Sexual mating of *Botryotinia fuckeliana* illustrates PRP8 intein heg activity. In *Book of Abstracts 14th*
-



- International Botrytis Symposium, Cape Town, South Africa, 21-26 October 2007 (pp. 21-21). Long lasting activity of different botryticides on grapes
79. He, J., Giusti, M. M. (2010.): Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual review of food science and technology*, 1, 163-187.
  80. Hed, B., Ngugi, H. K., Travis, J. W. (2009.): Relationship between cluster compactness and bunch rot in Vignoles grapes. *Plant disease*, 93(11), 1195-1201.
  81. Herjavec, S., (2019.): *Vinarstvo*, Nakladni zavod Globus, Zagreb
  82. Hernandez-Jimenez, A., Gomez-Plaza, E., Martinez-Cutillas, A., Kennedy, J. A. (2009.): Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell × Syrah grapes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(22), 10798-10803.
  83. Hogan, S., Zhang, L., Li, J., Zoecklein, B., Zhou, K. (2009.): Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet Franc (*Vitis vinifera*) wine grapes. *LWT-Food Science and Technology*, 42(7), 1269-1274.
  84. Hong Y. S., Martinez A., Liger-Belair G., Jeandet P., Nuzillard J. M., Cilindre C. (2012.): Metabolomics reveals simultaneous influences of plant defence system and fungal growth in *Botrytis cinerea*-infected *Vitis vinifera* cv. Chardonnay berries. *J. Exp. Bot.* 63 5773–5785. 10.1093/jxb/ers228.
  85. Hummell, A. K., Ferree, D. C. (1998.): Interaction of Crop Level and Fruit Cluster Exposure on Seyval Blanc Fruit Composition. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123(5), 755-761.
  86. Hunter, J. J., Visser, J. H., (1988.): The Effect of Partial Defoliation, Leaf Position and Developmental Stage of the Vine on the Photosynthetic Activity of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 9 (2), 9 – 15.
  87. Hunter, J. J., Visser, J. H. (1990.): The Effect of Partial Defoliation on Growth Characteristics of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. I. Vegetative growth. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 11, 18 – 25.
  88. Jackson, R. (2014.). *Wine science – Principles and Applications*, 4th Edition. Academic Press, London, Oxford, Boston, New York, San Diego
  89. Jacometti, M. A., Wratten, S. D., Walter, M. (2007.): Understorey management increases grape quality, yield and resistance to *Botrytis cinerea*. *Agriculture, ecosystems & environment*, 122(3), 349-356.
  90. Jarvis, W. R. (1977.): *Botryotinia* and *Botrytis* species: taxonomy, physiology and pathogenicity-A guide to the literature. Research Branch, Canada Department of Agriculture.

91. Jarvis, W.R. (1980.): Epidemiology. In: The biology of Botrytis (Coley-Smith J.R., Verhoeff K., Jarvis W.R., eds.), Academic Press, London, pp. 219-250.
92. Jensen, J. S., Demiray, S., Egebo, M., Meyer, A. S. (2008.). Prediction of wine color attributes from the phenolic profiles of red grapes (*Vitis vinifera*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(3), 1105-1115.
93. Jerman, T., Lemut, M. S., Trôst, K., Pospišil, M. (2011.): The impact of early leaf removal on polyphenol/anthocyanin content and in vitro antioxidant potential of “Pinot Noir” grapes from Vipava Valley. In Proceedings of 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture, Opatija, Croatia pp. 14-18).
94. Jones, G.V., Reid, R., A. Vilks (2012.): Climate, Grapes, and Wine: Structure and Suitability in a Variable and Changing Climate pp 109-133 in The Geography of Wine: Regions, Terrior, and Techniques, (ed. P. Dougherty) Springer Press, 255 pp.
95. Keller, M. (2010.): Managing grapevines to optimise fruit development in a challenging environment: a climate change primer for viticulturists. Australian Journal of Grape and Wine Research, 16, 56-69.
96. Keller, M., Mills, L. J., Wample, R. L. Spayd, S. E. (2005.): Clusterthinning effects on three deficit-irrigated *Vitis vinifera* cultivars. American Journal of Enology and Viticulture 56:91-103
97. Keller, M., Viret, O., Cole, F. , (2003.): *Botrytis cinerea* infection in grape flowers: defense reaction, latency and disease expression. Phytopathology 93:316-332.
98. Kišpatić, J., Maceljčki, M. (1991.): Zaštita vinove loze od bolesti, štetnika i korova, Nakladni zavod znanje, Zagreb.
99. Koblet, W., Candolfi-Vasconcelos, M. C., Zweifel, W., Howell, G. S. (1994.): Influence of Leaf Removal, Rootstock, and Training System on Yield and Fruit Composition of Pinot noir Grapevines. Am. J. Enol. Vitic., Vol. 45, No. 2.
100. Koul, O. (2011.): Microbial biopesticides: Opportunities and challenges. CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources, 6, 1–26.
101. Koundouras, S., Marinos, V., Gkoulioti, A., Kotseridis, Y., van Leeuwen, C. (2006.): Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(14), 5077-5086.

102. Kozina, B. (1999.): Utjecaj defolijacije na dozrijevanje grožđa i mladica sorte Graševina (*Vitis vinifera* L.). Doktorska disertacija. Zemjodjelski fakultet, Univerzitet Sveti Ćiril i Metod Skopje.
103. Kubik, M., Michalczyk, L., Malinowski, T., (1991.): Does externally applied Ca influence endogenous Ca accumulation in apple fruit? *Fruit Sci. Rep.* 18, 7–16.
104. Ky, I., Lorrain, B., Jourdes, M., Pasquier, G., Fermaud, M., Génay, L., Teissedre, P. L. (2012.): Assessment of grey mould (*Botrytis cinerea*) impact on phenolic and sensory quality of Bordeaux grapes, musts and wines for two consecutive vintages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(2), 215-226.
105. Lee, J., Skinkis, P. A. (2013.). Oregon 'Pinot noir' grape anthocyanin enhancement by early leaf removal. *Food chemistry*, 139(1-4), 893-901.
106. Leroch, M., Kretschmer, M. and Hahn, M. (2011.): Fungicide resistance phenotypes of *Botrytis cinerea* isolates from commercial vineyards in South West Germany. *J. Phytopathol.* 159, 63–6
107. Leroux, P. (2007.): Chemical control of Botrytis and its resistance to chemical fungicides. In *Botrytis: Biology, pathology and control* (pp. 195-222). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
108. 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, Dordrecht, the Netherlands, pp. 195-222.
109. Lutz, M., Jorquera, K., Cancino, B., Ruby, R., Henriquez, C. (2011.): Phenolics and antioxidant capacity of table grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars grown in Chile. *Journal of food science*, 76(7), C1088-C1093.
110. Loewus, F. A., Stafford, H. A. (1958.): Observations on the Incorporation of C into Tartaric Acid and the Labeling Pattern of D-Glucose from an Excised Grape Leaf Administered L-Ascorbic Acid-6-C. *Plant physiology*, 33(2), 155–156.
111. López-Miranda, S., Yuste, J., Lissarrague, J. R. (2004.): Effects of bearing unit, spur or cane, on yield components and bud productivity. *Vitis-Geilweilerhof*, 43(1), 47-48.
112. Maachia, B. S., Rafik, E., Chérif, M., Nandal, P., Mohapatra, T., Bernard, P. (2015.): Biological control of the grapevine diseases 'grey mold' and 'powdery mildew' by Bacillus B27 and B29 strains. *Indian Journal of Experimental Biology*. Feb; 53(2): 109-115.

113. Mahaffee, W. F., Backman, P. A. (1993.): Effects of seed factors on spermosphere and rhizosphere colonization of cotton by *Bacillus subtilis* GB03. *Phytopathology*, 83(10), 1120-1125.
114. Malathrakis N. E. (1989.): Resistance of *Botrytis cinerea* to dichlofluanid in greenhouse vegetables. *Plant Disease* 73: 138-141.
115. Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Pejić, I. (2008.): Vinova loza: ampelografija, ekologija, oplemenjivanje. Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu.
116. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jimenez, L. (2004.): Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 79, 727-747.
117. Marijanović, L. (2017.): Vinogradarstvo i vinarstvo na vlastelinstvu đakovačkih biskupa. Znanstveni skup s međunarodnim sudjelovanjem "Vino i vinogradarstvo u povijesti Slavonije, Srijema i Baranje"-Program skupa i sažeci izlaganja, 31-32.
118. Marrone, P. G. (2002.): An effective biofungicide with novel modes of action. *Pesticide Outlook*, 13(5), 193-194.
119. Martínez-Lüscher, J., Brillante, L., Kurtural, S. K. (2019.): Flavonol profile is a reliable indicator to assess canopy architecture and the exposure of red wine grapes to solar radiation. *Frontiers in plant science*, 10, 10.
120. McClellan, W. D., Hewitt, W. B. (1973.): Early *Botrytis* rot of grapes: time of infection and latency of *Botrytis cinerea* Pers. in *Vitis vinifera* L. *Phytopathology*, 63(9), 1151-1157.
121. Mendoza, L., Cotoras, M., Vivanco, M., Matsuhira, B., Torres, S., Aguirre, M. (2013.): Evaluation of antifungal properties against the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* of anthocyanin rich-extracts obtained from grape pomaces. *Journal of Chilean Chemical Society* 58 (2) 1725-1727.
122. Mijowska, K., Ochmian, I., Oszmiański, J. (2016.): Impact of cluster zone leaf removal on grapes cv. Regent polyphenol content by the UPLC-PDA/MS method. *Molecules*, 21(12), 1688.
123. Miličević, T. (2020.): Biofungicidi i mogućnosti njihove primjene u suzbijanju fitopatogenih gljiva i pseudogljiva. *Glasnik Zaštite Bilja*, 43(4), 72-75.
124. Miličević, T., Kaliterna, J. (2014.): Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja. *Glasilo biljne zaštite*, 14(5), 410-415.
125. Mirošević N., Turković Z. (2003.): Ampelografski atlas, Golden marketing – tehnička knjiga, Zagreb.

- 
126. Mirošević, N., Karoglan Kontić, J. (2008.): Vinogradarstvo, Nakladni zavod Globus, Zagreb
  127. Molitor, D., Behr, M., Fischer, S., Hoffmann, L., Evers, D. (2011.): Timing of cluster-zone leaf removal and its impact on canopy morphology, cluster structure and bunch rot susceptibility of grapes. *OENO One*, 45(3), 149-159.
  128. Moreno, D., Vilanova, M., Gamero, E., Intrigliolo, D. S., Talaverano, M. I., Uriarte, D., Valdés, M. E. (2015.): Effects of preflowering leaf removal on phenolic composition of Tempranillo in the semiarid terroir of western Spain. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66(2), 204-211.
  129. Morrison, J. C., Noble, A. C. (1990.): The effects of leaf and cluster shading on the composition of Cabernet Sauvignon grapes and on fruit and wine sensory properties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41(3), 193-200.
  130. Mulero, J., Martínez, G., Oliva, J., Cermeño, S., Cayuela, J. M., Zafrilla, P., Barba, A. (2015.): Phenolic compounds and antioxidant activity of red wine made from grapes treated with different fungicides. *Food chemistry*, 180, 25-31.
  131. Mundy, D. C., Agnew, R. H. (2002.): Effects of mulching with vineyard and winery waste on soil fungi and botrytis bunch rot in Marlborough vineyards. *New Zealand Plant Protection*, 135-138.
  132. Osrečak, M. (2014.): Influence of partial defoliation and solarization on polyphenolic composition of Merlot, Teran and Plavac mali wines (*Vitis vinifera* L.) (Doctoral dissertation, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu).
  133. Oszmianski, J., Sapis, J. C., Macheix, J. J. (1985.): Changes in grape seed phenols as affected by enzymic and chemical oxidation in vitro. *Journal of Food Science*, 50(5), 1505-1506.
  134. Ough, C. S., Amerine, M. A. (1988.): *Methods Analysis of Musts and Wines*. John Wiley & Sons Inc., New York, USA.
  135. Pavić, V., Kujundžić, T., Kopic, M., Jukić, V., Braun, U., Schwander, F., Drenjančević, M. (2019.): Effects of Defoliation on Phenolic Concentrations, Antioxidant and Antibacterial Activity of Grape Skin Extracts of the Varieties Blaufränkisch and Merlot (*Vitis vinifera* L.). *Molecules*, 24(13), 2444.
  136. Pastrana-Bonilla, E., Akoh, C. C., Sellappan, S., Krewer, G. (2003.): Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(18), 5497-5503.

137. Pazzi, F. (2008.): Genetically modified grapevine: state of research, possible risks and future scenario. Fondazione Diritti Genezici.
138. Pearson, R. E., Goheen, A. C. (1988.): Compendium of Grape Diseases. American Phytopathological Society Press, St. Paul.
139. Percival, D. C., Abbey, J., Lu, H., Harris, L. (2016.): Use of biofungicides to address conventional Botrytis blight control challenges in wild blueberry production. In XI International Vaccinium Symposium 1180 (pp. 241-248).
140. Peterson, J., Dwyer, J. (1998.): Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. Nutrition research, 18(12), 1995-2018.
141. Pichler, A., Pozderović, A., Prskalo, A., Andrašek, I., Kopjar, M. (2015.): Utjecaj geografskih i klimatskih uvjeta na sadržaj tvari arome, polifenola i antocijana u crnim vinima erdetskog vinogorja istočne Slavonije. Glasnik Zaštite Bilja, 38(6), 34-43.
142. Poni, S., Casalini, L., Bernizzoni, F., Civardi, S., Intrieri, C. (2006). Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components, and grape composition. American Journal of enology and Viticulture, 57(4), 397-407.
143. Pomar, F., Novo, M., Masa, A. (2005.): Varietal differences among the anthocyanin profiles of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography. Journal of Chromatography a, 1094(1-2), 34-41.
144. Poudel, P. R., Tamura, H., Kataoka, I., Mochioka, R. (2008.): Phenolic compounds and antioxidant activities of skins and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. Journal of Food Composition and Analysis, 21(8), 622-625.
145. Pszczółkowski, P., Latorre, B. A., Di Lecco, C. C. (2001.): Mold on late harvested Cabernet sauvignon grapes and their effect on must and wine quality. International Journal of Agriculture and Natural Resources, 28(3), 157-163.
146. Radovanović, V. (1970.): Tehnologija vina, Građevinska knjiga, Beograd
147. Radovanović, A., Radovanović, B., Jovančičević, B. (2009.): Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines. Food Chemistry, 117(2), 326-331.
148. Rastija, V., (2007.): Kromatografska analiza polifenola u vinima iz Hrvatske, doktorski rad. Prirodoslovno- matematički fakultet, Zagreb
149. Reynolds, A. G., Veto, L. J., Sholberg, P. L., Wardle, D. A., Haag, P. (1996.): Use of potassium silicate for the control of powdery mildew [*Uncinula necator* (Schwein) Burrill] in *Vitis vinifera* L. cultivar Bacchus. American Journal of Enology and Viticulture, 47(4), 421-428.

- 
150. Rewal N., Coley-Smith, J.R., Sealy-Lewis, H.M. (1991.): Studies on resistance to dichlofluanid and other fungicides in *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology* 40: 554-560.
151. Ribereau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B., Lonvaud, A. (2006.): *Handbook of Enology, Volume 1*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
152. Rivero-Pérez, M. D., Muniz, P., González-Sanjosé, M. L. (2008.): Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2815-2822.
153. Rosslenbroich, H. J., Stuebler, D. (2000.): "*Botrytis cinerea*—history of chemical control and novel fungicides for its management." *Crop protection* 19.8-10: 557-561.
154. Russell, P. (2005): A century of fungicide evolution. *The Journal of Agricultural Science*, 143(1), 11-25.
155. Rustioni, L., Maghradze, D., Popescu, C. F., Cola, G., Abashidze, E., Aroutiounian, R., ... & Nikolaou, N. (2014.): First results of the European grapevine collections collaborative network: validation of a standard eno-carpological phenotyping method. *Vitis*, 53(4), 219-226.
156. Rolke, Y., Liu, S., Quidde, T., Williamson, B., Schouten, A., Weltring, K. M., ... & Tudzynski, P. (2004.): Functional analysis of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-generating systems in *Botrytis cinerea*: the major Cu-Zn-superoxide dismutase (BCSOD1) contributes to virulence on French bean, whereas a glucose oxidase (BCGOD1) is dispensable. *Molecular plant pathology*, 5(1), 17-27.
157. Sarig, P., Zutkhi, Y., Lisker, N., Shkelerman, Y., Ben-Arie, R. (1996.): Natural and induced resistance of table grapes to bunch rots. In *International Postharvest Science Conference Postharvest 96* 464 (pp. 65-70).
158. Savage, S.D., Sall, M. A. (1984.): *Botrytis Bunch Rot of Grapes: Influence of Trellis Type and Canopy Microclimate*. *Phytopathology* 74: 65-70.
159. Scott, E. S., Dambergs, R. G., Stummer, B. E. (2010.): Fungal contaminants in the vineyard and wine quality. In *Managing wine quality* (pp. 481-514). Woodhead Publishing.
160. Serra, R., Braga, A., Venâncio, A. (2005.): Mycotoxin-producing and other fungi isolated from grapes for wine production, with particular emphasis on ochratoxin A. *Res Microbiol*, 156, 515–521
161. Serey, R. A., Torres, R., Latorre, B. A. (2007.): Pre-and post-infection activity of new fungicides against *Botrytis cinerea* and other fungi causing decay of table grapes. *Ciencia e investigación agraria*, 34(3), 215-224.
-

- 
162. Shtienberg, D. (2007). Rational management of *Botrytis*-incited diseases: Integration of control measures and use of warning systems. In *Botrytis: Biology, pathology and control* (pp. 335-347). Springer, Dordrecht.
163. Sivilotti, P., Herrera, J. C., Lisjak, K., Baša Česnik, H., Sabbatini, P., Peterlunger, E., Castellarin, S. D. (2016.): Impact of leaf removal, applied before and after flowering, on anthocyanin, tannin, and methoxypyrazine concentrations in 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) grapes and wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(22), 4487-4496.
164. Slomczynski, D., Nakas, J., Tanenbaum, S. W. (1995.): Production and Characterization of Laccase from *Botrytis cinerea* 61-34. *Applied and environmental microbiology*, 61(3), 907-912.
165. Song, C. Z., Wang, C., Xie, S., Zhang, Z. W. (2018.): Effects of leaf removal and cluster thinning on berry quality of *Vitis vinifera* cultivars in the region of Weibei Dryland in China. *Journal of integrative agriculture*, 17(7), 1620-1630.
166. Stapleton, J. J., W. W., Barnett, J. J., Maraois, W. D., Gubler. (1990.): Leaf removal for pests management in wine grapes, *California Agriculture*, 44 (5), 15-17.
167. Stapleton, J. J., Grant, R.S. (1992.): Leaf Removal for Nonchemical Control of Summer Bunch Rot Complex of Wine Grapes in the San Joaquin Valley. *Plant Dis.* 76: 205-208.
168. Steel, C. C.; Greer, L. A.; Savocchia, S.; Samuelian, S. K. (2011.): Effect of temperature on *\*Botrytis cinerea\**, *\*Colletotrichum acutatum\** and *\*Greeneria uvicola\** mixed fungal infection of *\*Vitis vinifera\** grape berries. *Vitis* 50 (2) 69-71.
169. Stehmann, C. (1995.): Biological Activity of Triasole Fungicides Towards *Botrytis cinerea*, Ponsen & Looine. Wageningen, Netherlands, pp. 3-28.
170. Steiger, D. (2007.): Global economic importance of Botrytis protection. In: Book of Abstracts, 14th International *Botrytis* Symposium, Cape Town, South Africa, 21–26 October 2007 (Fourie, P. and Vivier, M., eds.), Cape Town, South Africa: AFRICAN SUN MeDIA Pty (Ltd.)
171. 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).
-



- 
172. Šimić, J. (2017.): Najranija uporaba vina i počeci vinogradarstva u Slavoniji i Baranji. Znanstveni skup s međunarodnim sudjelovanjem "Vino i vinogradarstvo u povijesti Slavonije, Srijema i Baranje"-Program skupa i sažeci izlaganja, 43-44.
173. Šuklje, K., Antalick, G., Coetzee, Z., Schmidtke, L. M., Baša Česnik, H., Brandt, J., Deloire, A. (2014.): Effect of leaf removal and ultraviolet radiation on the composition and sensory perception of *Vitis vinifera* L. cv. S auvignon Blanc wine. Australian journal of grape and wine research, 20(2), 223-233.
174. Tafazoli, E. (1977.): Cane and bud number effect on yield components of non-irrigated grapes cv. 'Yaghooti'. Scientia Horticulturae, 7(2), 133-136.
175. Talley, K., Alexov, E. (2010.): On the pH-optimum of activity and stability of proteins. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 78(12), 2699-2706.
176. Tanović, B., Hrustić, J., Mihajlović, M., Grahovac, M., Delibašić, G., Vukša, P. (2011.): Suzbijanje *Botrytis cinerea* i problem rezistentnosti na fungicide. Pestic. Fitomed., 26(82), 99-110.
177. Thomas, C. S., Marois, J. J., English, J. T. (1988.): The Effects of Wind Speed, Temperature, and Relative Humidity on Development of Aerial Mycelium and Conidia of *Botrytis cinerea* on Grape. Phytopathology 78: 260-265.
178. Toaldo, I. M., Van Camp, J., Gonzales, G. B., Kamiloglu, S., Bordignon-Luiz, M. T., Smaghe, G., Grootaert, C. (2016.): Resveratrol improves TNF- $\alpha$ -induced endothelial dysfunction in a coculture model of a Caco-2 with an endothelial cell line. The Journal of nutritional biochemistry, 36, 21-30.
179. Topolovec-Pintarić, S. (2000.): Urođena i stečena otpornost *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. na botriticide u vinogradima i suodnos rezistentnih patotipova. Doktorska disertacija. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
180. Verhagen, B., Trotel-Aziz, P., Jeandet, P., Baillieul, F., Aziz, A. (2011.): Improved resistance against *Botrytis cinerea* by grapevine-associated bacteria that induce a prime oxidative burst and phytoalexin production. *Phytopathology*, 101(7), 768-777.
181. Vilanova, M., Diago, M. P., Genisheva, Z., Oliveira, J. M., Tardaguila J. (2012.): Early leaf removal impact on volatile composition of Tempranillo wines. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92, 935-942.
182. Viret, O., Keller, M., Jaudzems, V. G., Cole, F. M. (2004.): *Botrytis cinerea* infection of grape flowers: light and electron microscopical studies of infection sites. *Phytopathology* 94 850–857.
-

- 
183. Walker, A. S., Gladieux, P., Decognet, V., Fermaud, M., Confais, J., Roudet, J., Fournier, E. (2015.): Population structure and temporal maintenance of the multi-host fungal pathogen *Botrytis cinerea*: causes and implications for disease management. *Environmental Microbiology*, 17(4), 1261–1274.
184. Webb, R. W. (1919.): Studies in the physiology of the fungi. Germination of the spores of centrain fungi in relation to hydrogen ion concentration. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 6:201- 222
185. Christensen, L. P. (2000.): Raisin production manual (Vol. 3393). UCANR Publications.
186. Winkler, A. J., Cook, J. A., Kliwer, W. M., Lider, L. A. (1974.): *General Viticulture*. University of California Press, Berkeley.
187. Winkler, A. J. (1965.): *General viticulture*. Univ of California Press.
188. Würz, D. A., Brighenti, A. F., Allebrandt, R., Marcon Filho, J. L., Bem, B. P. D., Araújo Filho, J. V., Kretzschmar, A. A. (2017.): Desfolha precoce como estratégia de controle da podridão de *Botrytis cinerea* na videira Cabernet Sauvignon em regiões de altitude. *Summa Phytopathologica*, 43(2), 111-117.
189. Würz, D. A., Rufato, L., Bogo, A., Allebrandt, R., de Bem, B. P., Marcon Filho, J. L., Bonin, B. F. (2020.): Effects of leaf removal on grape cluster architecture and control of *Botrytis* bunch rot in Sauvignon Blanc grapevines in Southern Brazil. *Crop Protection*, 131, 105079.
190. Yahaya, S. M., Fagwalawa, L. D., Lawan, M. (2015.): Influence of airborne and seed inoculum in the initiation of leaf, stem, and root infection by systemic *Botrytis cinerea* in Lettuce (*Lactuca sativa*). *Plant Pathology and Microbiology Microbiology*, 6, 11.
191. Yamane, T., Jeong, S. T., Goto-Yamamoto, N., Koshita, Y., Kobayashi, S. (2006.): Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(1), 54-59.
192. Yermiyahu, U., Shamai, I., Peleg, R., Dudai, N., Shtienberg, D. (2006.): Reduction of *Botrytis cinerea* sporulation in sweet basil by altering the concentrations of nitrogen and calcium in the irrigation solution. *Plant Pathology*, 55(4), 544–552.
193. Yunis, H., Elad, Y. (1989.): Survival of *Botrytis cinerea* in plant debris during summer in Israel. *Phytoparasitica* 17: 13-21.
194. Zhou, K., Raffoul, J. J. (2012.): Potential anticancer properties of grape antioxidants. *Journal of oncology*.
-

- 
195. 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.
  196. Zoecklein, B. W., Wolf, T. K., Duncan, S. E., Marcy, J. E., Jasinski, Y. (1998.): Effect of fruit zone leaf removal on total glycoconjugates and conjugate fraction concentration of Riesling and Chardonnay (*Vitis vinifera* L.) grapes. *American journal of enology and viticulture*, 49(3), 259-265.
  197. Zoecklein, B. W., Wolf, T. K., Duncan, N. W., Judge, J. M., Cook, M. K. (1992.): Effects of fruit zone leaf removal on yield, fruit composition, and fruit rot incidence of Chardonnay and White Riesling (*Vitis vinifera* L.) grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43(2), 139-148.
  198. Zoričić, M., (1996.): Podrumarstvo, Nakladni zavod Globus, Zagreb.
  199. Rastija, D. (2012.): Pedološka podloga za Idejni projekt demonstracijsko vinogradarsko - vinarskog pokušališta s tradicionalnom slavonskom kućom i podrumom.
  200. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_03\\_32\\_641.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_03_32_641.html)
  201. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/full/2019\\_08\\_76\\_1603.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/full/2019_08_76_1603.html)
  202. <http://www.aprrr.hr/vinogradarski-registar-1128.aspx>
  203. <http://www.meteo.hr>
  204. <http://www.oiv.int/public/medias/5888/en-distribution-of-the-worlds-grapevine-varieties.pdf>
  205. <http://www.oiv.int/public/medias/6782/oiv-2019-statistical-report-on-world-vitiviniculture.pdf>
  206. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/hr/TXT/?uri=CELEX%3A32013R1308>
  207. <https://www.globenewswire.com/news-release/2020/05/20/2036184/0/en/Global-Biofungicides-Industry-2020-to-2025-Plant-Pathogens-Developing-Resistance-to-Chemical-Fungicides-Presents-Opportunities.html>

## 7. SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati učinkovitost različitih oblika zaštite na pojavu i intenzitet zaraze s *B. cinerea* na kultivaru Cabernet sauvignon u vinogorju Đakovo te utvrditi razlike u kvalitativnim i kvantitativnim karakteristikama grožđa koje se javljaju pri primjeni različitih oblika zaštite s obzirom na zarazu uzrokovanu sivom plijesni. Istraživanje je provedeno u periodu od tri godine na Vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Od kemijskih sredstava korišteni su Teldor SC 500 i Switch 62,5 WG, od bioloških preparata korišteni su preparati Trichodex WP i Serenade. Agro-ampelotehničke mjere obuhvaćale su: uklanjanje bazalnih listova i zaperaka, propuhivanje grozdova i primjenu kalcijevog klorida. Prosječan urod po trsu u 2015. godini iznosio je 1,18 kg, u 2016. godini 5,32 kg, a 2017. godini 3,18 kg. Prosječan sadržaj šećera u moštu bio je od 87,96 °Oe (2016.) do 97 °Oe (2017.). Ukupna kiselost mošta kretala se od 5,29 g/L (2015.) do 11,13 g/L (2016.). Prosječna vrijednost pH mošta bila je u rasponu od 3,18 (2016.) do 3,55 (2015.). Sadržaj ukupnih polifenola bio je od 442,42 mg/L (2015.) do 848,05 mg/L (2017.). Najmanji sadržaj ukupnih antocijana iznosio je 127,60 mg/L (2015.), a najveći 328,14 mg/L (2017.). Najmanja antioksidacijska aktivnost utvrđena je u 2015. godini (7,90 mg GAE/100 g), a najveća u 2017. godini (28,45 mg GAE/100 g). Najmanji postotak polimerne boje iznosio je 5,03 % (2017.), a najveći 21,28 % (2015.). Ocjena bolesti odrađena je prema EPPO skali (2001.) te je prosječna ocjena u 2015. godini iznosila 3,96. U 2016. godini utvrđena je sporadična prisutnost bolesti (1,25) na jednom tretmanu (konvencionalna zaštita botriticidima), dok u 2017. godini kod svih tretmana prisutnost bolesti nije zabilježena. Analizom varijance nije utvrđen statistički značajan utjecaj tretmana na ispitivane parametre niti je interakcija tretmana i godine bila značajna, osim u slučaju razlika u urodu kod tretmana skup ampelotehničkih mjera i primjena kalcijevog klorida za 2016. i 2017. godinu. Utvrđen je statistički značajan utjecaj godine na sve ispitivane parametre.

## 8. SUMMARY

The aim of this study was to examine the effectiveness of different forms of protection on the occurrence and intensity of *B. cinerea* infection on the cultivar Cabernet Sauvignon in the Đakovo vineyards and to determine the differences in qualitative and quantitative parameters that occur when applying different forms of protection with regard to infection caused by gray mold. The research was conducted for a period of three years at a Viticulture and winemaking experimental station Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek. Fungicides that were used were Teldor SC 500 and Switch 62.5 WG, and biofungicides Trichodex WP and Serenade. Ampelotechnical measures include: removal of basal leaves and cotyledons, blowing of clusters and application of Calcium Chloride. The average value of yield per vine in 2015 was 1.18 kg, in 2016 5.32 kg, and in 2017 3.18 kg. The average sugar content in the must ranged from 87.96 °Oe (2016) to 97 °Oe (2017). Total acidity was measured in the range of 5.29 g / L (2015) to the highest measured 11.13 g / L (2016). For the pH level, the average value ranged from 3.18 (2016) to 3.55 (2015). Total polyphenols ranged from 442.42 mg / L (2015) to 848.05 mg / L (2017). The lowest content of total anthocyanins was 127.60 mg / L (2015), and the highest was 328.14 mg / L (2017). In terms of antioxidant activity, the lowest average content of 7.90 mg / 100g (GAE) was determined in 2015. The highest average antioxidant activity was measured in 2017. (28.45 mg / 100g GAE). The highest average value of polymer color was 5.03% (2017), and the highest was 21.28% (2015). The assessment of the disease was conducted according to the EPPO scale (2001). Average presence of the disease in 2015 was 3.96. In 2016 presence of the disease (1.25) was determined in one treatment (conventional protection with botryticides), while in 2017, the presence of the disease was not recorded in all treatments. ANOVA ( $p < 0.01$ ) revealed a statistically significant difference between the treatments a set of ampelotechnical measures and calcium chloride (for 2016 and 2017), while between other treatments there was no significant difference in grape yield or interaction between treatments and year. A statistically significant influence of the year on all examined treatments was determined.

**ŽIVOTOPIS**

Toni Kujundžić rođen je 18. veljače 1991. godine u Splitu. Sveučilišni preddiplomski studij Poljoprivrede smjer Hortikultura upisuje 2009. godine na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku. Nakon završenog preddiplomskog studija u listopadu 2012. godine upisuje sveučilišni diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo smjer Vinogradarstvo i vinarstvo koji završava u rujnu 2014. godine s prosječnom ocjenom 4,80. Drugi sveučilišni diplomski studij smjer Povrćarstvo i cvjećarstvo završava u srpnju 2017. godine s prosječnom ocjenom 5,00. Dobitnik je Rektorove i Dekanove nagrade za akademsku 2014./2015. godinu za izniman uspjeh na studiju. Dobitnik je nagrade Lions kluba Osijek te stipendije grada Kaštela za akademsku 2013./2014. i 2014./2015. godinu. Od srpnja 2015. godine zaposlen je kao asistent na Katedri za hortikulturu na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku. Iste godine upisuje poslijediplomski sveučilišni studij Poljoprivredne znanosti smjer Zaštita bilja. U okviru Erasmus programa boravio je dva mjeseca na Ataturk Horticultural Central Research Institute (Turska). Tijekom 2018. i 2019. godine sudjelovao je u programima križanja vinove loze na Julius Kuhn Institutu (Federal Research Centre for Cultivated Plants – Institute for Grapevine Breeding Geilweilerhof, Siebeldingen) u Njemačkoj. Kao autor i koautor objavio je ukupno devet znanstvenih radova od čega se šest radova nalazi u A1 kategoriji. Aktivno govori engleski jezik. Član je Povjerenstva za provedbu postupka zaštite naziva vina oznakom izvornosti ili oznakom zemljopisnog podrijetla pri Ministarstvu poljoprivrede te je član Komisije za ocjenjivanje voćnih likera i rakija pri HGK. Sudjeluje u izvođenju nastave na sljedećim modulima: „Vinogradarstvo“, „Voćarstvo i vinogradarstvo“; na preddiplomskom studiju te „Vinogradarstvo I“, „Vinogradarstvo II“, „Tehnologija vina“, „Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo“ na diplomskom studiju.

---