

## Utjecaj različitih fungicidnih pripravaka na rast kvasaca skupine *Saccharomyces sensu stricto*

### Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi djelovanje četiri različita fungicidna pripravka na bazi djelatnih tvari mankozeb, kaptan, iprodion i zoksamid na kvasce iz skupine *Saccharomyces sensu stricto* u laboratorijskim uvjetima. Kvasci iz ove skupine, posebice vrste *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces paradoxus* od iznimne su važnosti za proizvodnju vina jer svojim metabolizmom utječu na sam proces fermentacije kao i na stvaranje brojnih spojeva važnih za aromu vina. Filter-disk metodom ispitivan je utjecaj fungicidnih pripravaka koji se primjenjuju za suzbijanje bolesti vinove loze u koncentracijama preporučenima od strane proizvođača kao i u nekim umanjenim i uvećanim koncentracijama. Dokazan je utjecaj pripravaka Cadillac 80WP<sup>®</sup>, Electis WG<sup>®</sup> i Stoper<sup>®</sup> na rast ispitivanih sojeva *S. cerevisiae* i *S. paradoxus* dok Kidan<sup>®</sup> nije imao utjecaj na rast kvasaca ni pri jednoj od ispitivanih koncentracija. Najveći negativan utjecaj imao je Cadillac 80WP<sup>®</sup> koji je inhibirao rast ispitivanih sojeva čak i pri upola nižim koncentracijama od propisanih. Nije utvrđena razlika u osjetljivosti između vrsta *S. cerevisiae* i *S. paradoxus*, dok se istovremeno može zaključiti da su referentni sojevi bili osjetljiviji na Cadillac 80WP<sup>®</sup>, Electis WG<sup>®</sup> i Stoper<sup>®</sup> u usporedbi s autohtonim izolatima.

**Cljučne riječi:** fungicidi, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces paradoxus*, filter-disk metoda

### Uvod

Alkoholna fermentacija je složen mikrobiološki proces u kojem najvažniju ulogu imaju kvasci skupine *Saccharomyces sensu stricto*. Njihovo podrijetlo u vinu i danas je tema brojnih rasprava i istraživanja, a najzastupljenije su pretpostavke da dolaze s površine voća (grožđa) ili da predstavljaju autohtonu mikrofloru vinarije (Grba, 2010). Najznačajnije vrste iz ove skupine su *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces paradoxus*. Dok je *S. cerevisiae* najpoznatiji vinski kvasac zbog svoje visoke fermentacijske aktivnosti i dobre otpornosti na ekstremne uvjete kakvi su prisutni u procesu nastanka vina, *S. paradoxus* divlja je vrsta, češće izolirana iz prirodnih staništa. Dobar potencijal za fermentaciju pokazali su sojevi ove vrste izolirani s lokaliteta Jazbina (Redžepović i sur., 2002).

Unatoč značaju kvasaca skupine *Saccharomyces sensu stricto* za proizvodnju vina, njihova je brojnost u početku fermentacije vrlo mala jer na površini grožđa i u samom moštu dominiraju druge vrste kvasaca kolokvijalno nazvani ne-*Saccharomyces* kvasci. Oni obuhvaćaju vrste poput *Torulasporea delbrueckii*, *Pichia kluyveri*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia pulcherrima* (Jolly i sur., 2014) koje mogu značajno utjecati na kvalitetu konačnog proizvoda. Njihova brojnost se smanjuje nekoliko dana nakon početka fermentacije zbog osjetljivosti na nastali alkohol pa vodeću ulogu u daljnjem tijeku te pri završetku fermentacije preuzimaju *Saccharomyces* kvasci, najčešće *S. cerevisiae*.

Brojnost i sastav mikroflora grožđa i mošta pod izravnim je utjecajem brojnih bioloških, fizikalnih i kemijskih čimbenika. Borba protiv važnih bolesti vinove loze poput plamenjače (*Plasmopara viticola*), sive plijesni (*Botrytis cinerea*) i pepelnice (*Uncinula necator*) podrazumijeva

<sup>1</sup> Dr. sc. Ivana Rajnović, Doris Fejer, mag. ing. agr., Sanja Kajić, mag. mol. biol., dr. sc. Marija Duvnjak, prof. dr. sc. Sanja Sikora, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska  
Autor za korespondenciju: irajnovic@agr.hr

upotrebu fungicida, a njihova česta primjena također može značajno utjecati na bioraznolikost kvasaca važnih za fermentaciju što je dokazano u brojnim dosadašnjim istraživanjima (Comitini i Ciani, 2008, Čadež i sur., 2010, Cordero-Bueso i sur., 2014). Iako je u većini istraživanja djelovanje fungicida negativno utjecalo na brojnost populacije kvasaca, Čadež i sur. (2010) u svom istraživanju otkrili su brojniju populaciju kvasaca na grožđu tretiranom s iprodionom u usporedbi s netretiranom kontrolom. Ovo upućuje na pretpostavku da bi pomoćne tvari koje su sastavni dio fungicidnih pripravaka mogle biti izvor energije za neke kvasce, ali i za bakterije koje naseljavaju bobice grožđa. Time bi moglo doći do poremećaja u mikroflori grožđa što bi potencijalno uzrokovalo trulež grožđa te rizik za zdravlje.

Prisutnost fungicida može utjecati na metaboličku aktivnost kvasaca, a time i na sastav vina (Scariot i sur., 2016). Uočeno je i da neki fungicidi imaju vrlo negativan utjecaj na tijek fermentacije (Mlikota i sur., 1996, Calhella i sur., 2006).

U ovom radu ispitivan je utjecaj četiri različita fungicidna pripravka na deset različitih sojeva kvasaca roda *Saccharomyces*. Ispitivano je djelovanje Cadillac 80WP<sup>®</sup>, Electis WG<sup>®</sup>, Kidana<sup>®</sup> i Stopera<sup>®</sup> u četiri različite koncentracije. Ispitivanje je provedeno filter-disk metodom koja se često koristi za *in vitro* procjenu mikrobne aktivnosti odnosno otpornosti na različite tvari poput antibiotika (standardna klinička metoda), herbicida (Blažinkov i sur., 2014, Mubeen i sur., 2006) i fungicida (Čadež i sur., 2010, Shin i sur., 2003)

## Materijali i metode

### Sojevi kvasaca

U istraživanju su korišteni autohtoni i referentni sojevi vrsta *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces paradoxus* koji su dio kolekcije kvasaca Zavoda za mikrobiologiju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Referentni sojevi korišteni u ovom istraživanju nabavljeni su iz National Collection of Agricultural and Industrial microorganismus, Budimpešta, Mađarska. U tablici 1. navedeno je podrijetlo korištenih kvasaca.

**Tablica 1.** Sojevi kvasaca korišteni u istraživanju

**Table 1.** Yeast strains used in this study

Vrsta kvasca / Yeast species	Oznaka soja / Strain designation	Sorta / Grape variety	Lokalitet / Locality	Referenca / Reference
<i>S. paradoxus</i>	RO66	Chardonnay	Jazbina	Redžepović i sur., 2002
<i>S. paradoxus</i>	RO88	Chardonnay	Jazbina	Redžepović i sur., 2002
<i>S. paradoxus</i>	RO102	Chardonnay	Jazbina	Redžepović i sur., 2002
<i>S. paradoxus</i>	RO83	Chardonnay	Jazbina	Redžepović i sur., 2002
<i>S. cerevisiae</i>	1275	Graševina	Kutjevo	Orlić i sur., 2005
<i>S. cerevisiae</i>	1278	Graševina	Kutjevo	Orlić i sur., 2005
<i>S. cerevisiae</i>	1279	Graševina	Kutjevo	Orlić i sur., 2005
<i>S. cerevisiae</i>	1281	Graševina	Kutjevo	Orlić i sur., 2005
<i>S. cerevisiae</i>	NCAIM Y.00801	Referentni soj		
<i>S. paradoxus</i>	NCAIM Y.00802	Referentni soj		

### Fungicidni pripravci

Mankozeb pripada skupini ditiokarbamata, fungicida s kontaktnim i protektivnim djelovanjem (nesistemičnim). Djeluju na veliki broj fitopatogenih gljiva, a svrstan je u grupu malog rizika za razvoj rezistentnosti. Koristi se za suzbijanje uzročnika čađave krastavosti jabuke i kruške, plamenjače vinove loze i krumpira, hrđe i septorioze strnih žita i drugih bolesti. Korišten je fungicidni pripravak Cadillac 80 WP® (Agria S.A.) sa udjelom djelatne tvari od 80 %.

Zoksamid je kontaktni fungicid namijenjen za preventivnu zaštitu od uzročnika plamenjače rajčice i vinove loze, kao i koncentrične pjegavosti rajčice. Pripada skupini toluamida, fungicida koji inhibiraju normalnu diobu stanica kod fitopatogenih gljiva. Ima mali do srednji rizik za razvoj rezistentnosti. Korišten je fungicidni pripravak Electis WG® (Gowan d.o.o.) koji uz 8,3 % djelatne tvari zoksamid sadrži i 66,7 % mankozeba. Zoksamid suzbija Oomycete, a učinkovit je i protiv nekih askomiceta (pr. *Botrytis cinerea*, *Venturia inaequalis*, *Monilinia fructicola* itd.) (Egan i sur., 1998).

Kaptan je fungicid površinskog djelovanja koji suzbija uzročnike najopasnijih bolesti na voću, vinovoj lozi, povrću i cvijeću. Vinovu lozu štiti od plamenjače. Najdjelotvorniji je u preventivnoj primjeni protiv uzročnika čađave krastavosti. Spada u ftalimide koji djeluju na više različitih načina („Multi-site activity“), a pripadaju skupini malog rizika za razvoj rezistentnosti. Fungicidni pripravak Stoper® (Herbos d.d.) sadrži djelatnu tvar kaptan u udjelu 50 % od ukupnog pripravka. Dozvola za upotrebu ovog fungicidnog pripravka u RH istekla je 1.1.2015. godine.

Iprodion je fungicid i kao djelatna tvar čini 25,5 % udjela korištenog fungicidnog pripravka Kidana® (Bayer d.o.o.). Iprodion spada u skupinu dikarboksimida, a na vinovoj lozi suzbija sivu plijesan u koncentraciji od 0.3 %. Spada u opasna sredstva, a na tržištu Europske unije nalazio se od 2010. do 2017. godine nakon koje nije produžena dozvola za njegovu upotrebu. Istraživanja iz ovog rada provedena su prije 2017.

### Filter-disk metoda

Osjetljivost kvasaca *S. paradoxus* i *S. cerevisiae* na različite koncentracije fungicidnih pripravaka Cadillac 80WP®, Electis WG®, Kidan® i Stoper®, ispitivana je u laboratorijskim uvjetima filter-disk metodom. Ova metoda predstavlja standardni postupak za utvrđivanje osjetljivost kvasaca, gljiva i bakterija na različite inhibitore poput pesticida ili antibiotika. Mikroorganizam čija se osjetljivost ispituje dolazi u kontakt s ispitivanim pripravkom koji difundira iz jednog izvora (najčešće papirnati disk prethodno natopljen pripravkom određene koncentracije) na hranjivoj podlozi. Pripravak zatim difundira u okolinu stvarajući takozvanu „zону difuzije“ dok mikroorganizam, u ovom slučaju kvasac, raste unutar zone difuzije do onog gradijenta koji sprječava njegov rast. Na taj način se stvara okrugla zona oko izvora „zona inhibicije“ te se na temelju veličine te zone određuje osjetljivost kvasca na određeni fungicidni pripravak. Testirane su 4 različite koncentracije svakog fungicidnog pripravka: koncentracija preporučena za primjenu od strane proizvođača, koncentracija upola manja od preporučene, srednja vrijednost između preporučene i upola manje od preporučene koncentracije te koncentracija dvostruko veća od preporučene, a u tablici 2. navedene su korištene koncentracije za svaku djelatnu tvar. Kvasci su uzgajani na standardnoj tekućoj hranjivoj podlozi (1 % peptona, 1 % kvasnog ekstrakta, 2 % glukoze), 24 sata na 27°C. Kultura u tekućoj podlozi (1 ml) potom je pomiješana sa 15 ml krute podloge (isti sastav uz dodatak 1,5% agara) u Petrijevoj zdjelici („pour plate method“). Na ohlađene podloge (krute pri sobnoj temperaturi) položeno je 5 steriliziranih filter diskova; 4 sa 4 različite koncentracije fungicidnog pripravka te središnji filter disk, kontrolni, natopljen sterilnom vodom. Svaki pripravak je testiran na deset sojeva u tri ponavljanja. Rezultati rasta su očitavani drugi i peti dan inkubacije na 27 °C.

**Tablica 2.** Koncentracije fungicidnih pripravaka korištene u istraživanju  
**Table 2.** Fungicide concentrations used in this study

Fungicidni pripravak / Fungicide	Koncentracija preporučena od strane proizvođača / Concentration recommended by the manufacturer	Koncentracija upola manja od preporučene / Half of recommended concentration	Srednja vrijednost između preporučene i upola manje koncentracije / Median value between recommended and half of recommended concentration	Koncentracija dvostruko veća od preporučene / Concentration double than recommended
Electis WG®	0,18 %	0,09 %	0,135 %	0,36 %
Cadillac 80WP®	0,25 %	0,125 %	0,19 %	0,5 %
Stoper®	0,3%	0,15%	0,225%	0,6 %
Kidan®	0,3%	0,15%	0,225%	0,6 %

## Rezultati i rasprava

Filter-disk metoda korištena je u ovom istraživanju za procjenu utjecaja različitih fungicidnih pripravaka na rast kvasaca *S. cerevisiae* i *S. paradoxus*. Korištene su koncentracije koje proizvođači preporučuju za primjenu na vinovoj lozi, ali i više i niže koncentracije jer se u praksi često javlja problem nepoštivanja propisa proizvođača što uzrokuje prisutnost organskih rezidua u moštu i vinu iznad zakonskih ograničenja. Osim toga, kemijski fungicidi mogu interferirati s biološkim funkcijama drugih mikroorganizama koji su uključeni u fermentacije (Calhelha i sur., 2005). Ispitivano je ukupno 10 sojeva kvasaca od kojih 4 pripadaju vrsti *S. paradoxus*, 4 vrsti *S. cerevisiae* i 2 referentna soja (tablica 1). U tablici 3. navedeni su rezultati koji predstavljaju zonu inhibicije rasta kvasaca izraženu u mm, dobivenu kao prosjek dva mjerenja (treći i peti dan) u tri ponavljanja (repeticije).

Fungicidni pripravak Cadillac 80WP® pokazao je vrlo velik utjecaj na rast ispitivanih sojeva. Zone inhibicije su pri svim koncentracijama bile od 1,67 do preko 9,67 mm. Pri koncentracijama manjim od preporučenih za primjenu, zone inhibicije bile su znatno veće nego kod sojeva tretiranih drugim djelatnim tvarima (tablica 3). Nije uočena razlika u otpornosti između vrsta *S. cerevisiae* i *S. paradoxus*, no vidljivo je da su tipski sojevi znatno osjetljiviji te su kod njih zone inhibicije iznosile više od 5 mm kod preporučene koncentracije do preko 9 mm kod dvostruke koncentracije. Općenito se može zaključiti da je ovaj fungicidni pripravak imao najveći utjecaj na rast ispitivanih kvasaca.

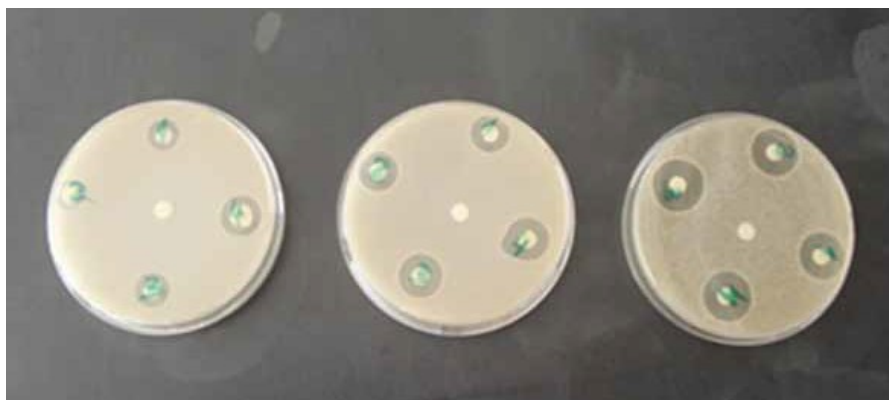
Fungicidni pripravak Electis WG® je pri preporučenoj koncentraciji od strane proizvođača imao tek slab utjecaj na rast ispitivanih kvasaca te se zona inhibicije kretala u vrijednostima oko 1 mm. Pri koncentracijama manjim od preporučenih, ova djelatna tvar nije imala nikakav utjecaj na rast sojeva RO88, RO83 (*S. paradoxus*) i 1281 (*S. cerevisiae*). Na navedene sojeve nije utjecala niti srednja koncentracija između preporučene i upola manje. Zona inhibicije veća od 2 mm javila se tek kod dvostrukih koncentracija. Kao i u slučaju sa mankozebom, tipski sojevi su i ovdje pokazali veću osjetljivost na prisutnost djelatne tvari te je u dvostrukim koncentracijama zona inhibicije iznosila i 5 mm (tablica 3). Poznato je da autohtoni sojevi kvasaca mogu biti dobro adaptirani na različite uvjete u okolišu iz kojeg su izolirani (Pretorius, 2000). Kada je riječ

o kvascima izoliranim iz grožđa/mošta pretpostavka je da takvi uvjeti često podrazumijevaju i tretman grožđa različitim fungicidima što je mogući razlog da su se u ovom istraživanju autohtoni sojevi pokazali otpornijima, u usporedbi s tipskim sojevima, na dva ispitivana fungicidna pripravka.

Od ispitivanih fungicidnih pripravaka, najveću utjecaj na kvasce u ovom istraživanju imao je Cadillac 80WP® koji sadrži 80% djelatne tvari mankozeb. Ista djelatna tvar u pripravku Electis WG sadržana je u udjelu 66% no taj pripravak nije imao velik utjecaj na rast kvasaca. Iz ovog se može zaključiti da mankozeb kao djelatna tvar ima utjecaj na rast ispitivanih sojeva kvasaca.

Kidan® nije pokazao utjecaj ni na jedan od ispitivanih sojeva ni pri jednoj od ispitivanih koncentracija. Zona inhibicije nije uočena čak ni kod dvostrukih koncentracija. U ranijim istraživanjima objavljeno je da rezidue iprodiona nemaju utjecaj na samu fermentaciju (Čadež i sur., 2010.) dok je u *in vitro* dijelu istog rada utvrđen tek slabi utjecaj na neke od vrsta ne-*Saccharomyces* kvasaca. Mlikota i sur. (1996) također nisu utvrdili negativan utjecaj iprodiona na fermentaciju, a Calhelha i sur. (2006) navode da je pet testiranih fungicida iprodiona imao slabiji utjecaj, ali da su *Saccharomyces* sojevi bili otporniji od ostalih vrsta (primjerice *Rhodotorula glutinis*). Štoviše, u istom istraživanju *S. cerevisiae* pokazala se kao jedna od najotpornijih vrsta na utjecaj raznih fungicida.

U ovom istraživanju, značajan utjecaj na rast ispitivanih sojeva kvasca imao je i fungicidni pripravak Stoper®. Suzbijao je rast ispitivanih sojeva pri svim koncentracijama, čak i pri koncentracijama manjima od preporučenih, kod kojih su zone inhibicije iznosile i do 4 mm. Pri preporučenoj i dvostruko većoj koncentraciji zone inhibicije su iznosile 1-2 mm više nego kod umanjenih preporučenih koncentracija (slika 1). Pri preporučenoj koncentraciji najosjetljiviji je bio soj RO83 (*S. paradoxus*). Učinak fungicida kaptana na vinske kvasce *S. cerevisiae* te na fermentaciju vina detaljno je istraživan u radu Scariot i sur. (2016). Ovi autori uočili su da kod stanica kvasca tretiranih kaptanom dolazi do promjena integriteta stanične membrane, smanjenog nakupljanja tiolnih spojeva i povećanja unutarstanične koncentracije ROS (reaktivnog kisika) zbog čega zaključuju da taj fungicid posjeduje nekrotičnu i pro-oksidanu aktivnost uzrokujući zaustavljanje fermentacije i/ili usporenu fermentaciju.



**Slika 1.** Inhibicija rasta soja 1275 (*S. cerevisiae*) u prisutnosti različitih koncentracija Stopera®

**Figure 1.** Growth of the strain 1275 (*S. cerevisise*) inhibited by the presence of different Stopera® concentrations.

Izvor/Source: Fejer, 2012.

Utjecaj raznih drugih fungicida na rast kvasaca ispitivan je u drugim znanstvenim istraživanjima. U istraživanjima Shin i sur. (2003) dokazan je negativan utjecaj klortalonila na rast nekih izoliranih sojeva vrste *S. cerevisiae* filter-disk metodom. Istom metodom je također dokazan negativan utjecaj cimoksanila i diklofluanida, dok je utjecaj penakonozola bio zanemariv (Riberio i sur., 2000). Dokazan je veći utjecaj na druge vrste kvasaca (*ne-Saccharomyces*) koji su prisutni u samom vinogradu te dolaze u izravan kontakt s fungicidima. Primjerice, toksičnost pirimetanila na rast *Hanseniaspora uvarum* i *S. cerevisiae in vivo* i *in vitro* proučavali su Čuš i Raspor (2008). Iako su ostaci pirimetanila u grožđu bili ispod maksimalnih granica ostataka, značajno su utjecali na smanjeno korištenje šećera od strane kvasaca u početku fermentacije te ovi autori zaključuju da bi upravo rezidue fungicida mogle igrati važnu ulogu u rastu i sukcesiji kvasca tijekom spontane fermentacije vina.

**Tablica 3.** Rezultati ispitivanja utjecaja fungicidnih pripravaka na rast autohtonih te referentnih sojeva kvasaca

**Table 3.** Results of testing the influence of different fungicides on indigenous and reference strains growth

Soj kvasca / Yeast strain	Cadillac 80WP®				Electis WG®				Kidana®				Stoper®			
	0,25%	0,13%	0,19%	0,50%	0,18 %	0,09 %	0,135 %	0,36 %	0,30%	0,15%	0,23%	0,60%	0,30%	0,15%	0,23%	0,6%
RO88	3,67	2,33	2,00	5,67	1,00	0,00	0,00	2,33	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	3,33	4,00	4,67
RO102	2,67	3,33	4,67	3,33	1,00	0,67	0,33	1,33	0,00	0,00	0,00	0,00	2,67	1,67	1,67	3,00
RO66	3,67	2,67	3,00	6,00	0,33	0,33	0,67	1,67	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	2,00	2,33	5,00
RO83	5,00	4,00	4,67	8,00	2,00	0,00	0,00	3,67	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	2,33	2,67	6,33
1278	3,33	3,67	3,33	3,00	0,67	0,00	0,33	1,33	0,00	0,00	0,00	0,00	2,67	2,00	2,00	3,00
1279	5,67	5,00	4,67	7,00	1,67	1,00	1,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	2,67	3,00	4,00
1275	2,67	1,67	3,33	5,33	0,33	0,67	0,67	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00	1,33	3,67	4,00	2,00
1281	2,33	2,00	3,00	4,00	1,00	0,00	0,00	1,67	0,00	0,00	0,00	0,00	3,33	2,00	3,33	3,00
00801	5,67	3,67	5,33	8,33	1,67	0,67	0,67	3,33	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	3,33	4,33	4,33
00802	6,00	6,00	5,33	9,67	3,33	0,33	1,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,67	3,00	4,00	4,67

\*Rezultati su izraženi kao izmjerene zone inhibicije (u mm)

Escribano-Viana i sur. (2018.) smatraju da bi upotreba biološkog fungicida (bio-fungicida) u određenoj mjeri mogla zamijeniti kemijske fungicide. U njihovom istraživanju upotreba bio-fungicida na bazi *Bacillus subtilis* (QST713) nije imala učinak na raznolikost i brojnost populacije kvasaca prisutnih na grožđu.

## Zaključak

Korištenom filter-disk metodom u ovom radu, dokazan je utjecaj fungicidnih pripravaka Cadillac 80WP®, Electis WG®, Kidan® i Stoper® na rast ispitivanih sojeva vinskih kvasaca *S. cerevisiae* i *S. paradoxus*. Cadillac 80WP® sa udjelom djelatne tvari mankozeb 80 %, pokazao je najveći utjecaj, dok Kidan® (udio djelatne tvari iprodion 25,5 %) nije imao utjecaj ni na jedan od ispitivanih sojeva ni pri jednoj od ispitivanih koncentracija. Nije utvrđena razlika u osjetljivosti između vrsta *S. cerevisiae* i *S. paradoxus*, dok su na Cadillac 80WP®, Electis WG® i Stoper® bili osjetljiviji referentni sojevi u usporedbi sa autohtonim izolatima. S obzirom na značaj kvasca u proizvodnji vina bilo bi korisno ovaj tip istraživanja proširiti drugim metodološkim pristupom na druge vrste kvasaca, posebno one prisutne na grožđu te na veći broj fungicida.

## Napomena

Rezultati prezentirani u ovom radu nastali su kao rezultat Završnog rada Doris Fejer koji je izrađen na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu pod naslovom „*Utjecaj različitih fungicida na rast kvasaca skupine Saccharomyces sensu stricto*“

## Literatura

- Blažinkov, M., Šnajdar, A., Barić, K., Sikora, S., Rajnović, I., Redžepović, S. (2014) Utjecaj herbicida na rast sojeva kvržičnih bakterija koje noduliraju grašak (*Pisum sativum* L.). *Agronomski glasnik*, 4 (5), 183-191.
- Calhelha, C. R., Andrade, J. V., Ferreira, I.C., Estevinho, L.M. (2005) Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process. *Food Microbiology*, 23, 393-398. DOI: 10.1016/j.fm.2005.04.008
- Comitini, F. i Ciani, M. (2008) Influence of fungicide treatments on the occurrence of yeast flora associated with wine grapes. *Annals of Microbiology*, 58 (3), 489-493.
- Cordero-Bueso, G., Arroyo, T., Valero, E. (2014) A long term field study of the effect of fungicides penconazole and sulfur on yeasts in the vineyard. *International Journal of Food Microbiology*. 189, 189-194. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.013
- Čadež, N., Župan, J., Raspor, S. (2010) The effect of fungicides on yeast communities associated with grape berries. *FEMS Yeast research*, 10, 619-630. DOI: 10.1111/j.1567-1364.2010.00635.x
- Čuš, F. i Raspor, P. (2008) The effect of pyrimethanil on the growth of wine yeasts. *Letters in Applied Microbiology*, 47 (1), 54-9. DOI.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02383.x
- Egan, A., Michelotti, E., Young, D., Wilson, W., Mattiada, H. (1998) RH-7281: a novel fungicide for control of downy mildew and late blight. *Brighton Crop Protection Conference*: 335-342.
- Escribano-Viana, R., López-Alfaro, I., López, R., Santamaría, P., Gutiérrez, A.R., González-Arenzana, L. (2018) Impact of Chemical and Biological Fungicides Applied to Grapevine on Grape Biofilm, Must, and Wine Microbial Diversity *Frontiers in Microbiol.* 2, 9-59. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00059
- Fejer, D. (2012) *Utjecaj različitih fungicida na rast kvasaca skupine Saccharomyces sensu stricto*. Završni rad. Zagreb: Agronomski fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.
- Grba S. (2010) *Kvasci u biotehnološkoj proizvodnji*. Plejada, Zagreb
- Jolly, N.P., Varela C., Pretorius I.S. (2014) Not your ordinary yeast: non-Saccharomyces yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Research*. 14 (2): 215-237. DOI: 10.1111/1567-1364.12111.
- Mlikota, F., Maleš, P., Cvjetković, B. (1996) Effectiveness of five fungicides on grapevine grey mould and their effects on must fermentation. *Journal of wine research*, 7, 103-110. DOI.org/10.1080/09571269608718070
- Mubeen, F., Shiekh, M.A., Iqbal, T., Khan, Q.M., Malik, K., Hafeez, F.Y. (2006) In vitro investigations to explore the toxicity of fungicides for plant growth promoting rhizobacteria. *Pakistan Journal of Botany*, 38 (4): 1261-1269.
- Orlić, S., Očić, N., Jeromel, A., Huić, K., Redžepović, S. (2005) Selection of Indigenous *Saccharomyces cerevisiae* Strains from Kutjevo Wine Growing Area at the Laboratory Scale. *Agriculturae Cospectus Scientificus*, 70, 93-97.
- Pretorius, I.S. (2000) Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeasts*, 16 (8): 675-729. [https://doi.org/10.1002/1097-0061\(20000615\)](https://doi.org/10.1002/1097-0061(20000615))
- Redžepović, S., Orlić, S., Sikora, S., Majdak, A., Pretorius, I.S. (2002) Identification and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces paradoxus* strains isolated from Croatian vineyards. *Letters in applied Microbiology* 35 (4), 305-310. DOI.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01181.x
- Ribeiro, I.C., Verissimo, I., Moniz, L., Cardoso, H., Sousa, M.J., Soares, A.M., Leão C. (2000) Yeasts as a model for assessing the toxicity of the fungicides penconazol, cymoxanil and dichlofluanid. *Chemosphere*, 41, 1637-1642.
- Scariot, F., Jahn, L.M., Longaray Delamare, A.P., Echeverrigaray, S. (2016) The effect of the fungicide captan on *Saccharomyces cerevisiae* and wine fermentation u BIO Web of Conferences 7, 02027 (2016). DOI: 10.1051/bioconf/20160702027
- Shin, J., Kim, Y., Park, J., Kim, J., Rhee, I. (2003) Resistance of *Saccharomyces cerevisiae* to Fungicide Chlorothalonil. *The Journal of Microbiology*, 41 (3), 219-223.

Prispjelo/Received: 16.3.2020.

Prihvaćeno/Accepted: 27.4.2020.



Original scientific paper

## Effect of different fungicides on the growth of yeast from *Saccharomyces sensu stricto* group

### Abstract

The aim of this study was to determine the effect of four different fungicides based on the active substances mancozeb, captan, iprodion and zoxamide on yeasts from *Saccharomyces sensu stricto* groups in laboratory scale. Yeasts from these group, particularly *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces paradoxus* species, are of great importance for wine production, because their metabolism contributes to formation of important compounds but they also affects the fermentation process itself. Filter-paper disc method was employed in order to test the effect of fungicides which are usually applied for the control of grapevine diseases at doses/concentrations recommended by the manufacturers, as well as some lower and higher concentrations. The effect of Cadillac 80WP, Electis WG and Stoper on the tested strains *S. cerevisiae* and *S. paradoxus* species was observed, while Kidan did not affect the growth of yeasts at any of the concentrations tested. The greatest negative impact was observed for Cadillac 80WP, which inhibited the growth of tested strains even when the applied concentrations were lower than prescribed. No differences were found between *S. cerevisiae* and *S. paradoxus* strains regarding their susceptibility to tested fungicides, while it can be concluded that the reference strains were more sensitive to Cadillac 80WP, Electis WG, and Stoper compared to indigenous isolates.

**Keywords:** fungicides, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces paradoxus*, filter-paper disc method

Brajkovići 1g, Pazin | tel: 052/ 691 200  
kopplast@kopplast.hr | www.kopplast.hr

**KOPLAST** d.o.o.  
proizvodnja, trgovina i prijevoz

- proizvodnja plastičnih vaza
- plastični kontejneri za sjetvu i sadnju cvijeća i povrća
- celofani (vrećice/folije) za lončanice i rezano cvijeće
- profesionalni i hobby STENDER supstrati
- SOPARCO termoformirane vaze
- vaze za krizanteme i multifloru

