

ODGAJIVAČKE ODLIKE *EUTYPA LATA* I JEDNOG NEPOZNATOG IZOLATA NA RAZLIČITIM HRANJIVIM PODLOGAMA

Srđan Aćimović, Goran Delibašić
Poljoprivredni fakultet, Beograd - Zemun

Izvod

U radu se iznose podaci o odgajivačkim odlikama dva izolata fitopatogene gljive *Eutypa lata* i jednog nepoznatog izolata. Izolati *E. lata* su dobavljeni iz Nacionalnog instituta za istraživanja u poljoprivredi Francuske (INRA). Korišćene su hranjive podloge od krompira (KDA), paradajza (V8), ovsa (OA), drveta vinove loze (GWA), pivarskog slada (MALC) i vode (WA). Pokazalo se da je porast dva izolata *E. lata*, pri temperaturi od 25 °C, najbrži na podlogama: KDA, V8, OA i GWA, dok je sporulacija je bila najranija i najobilnija na podlogama OA i KDA. Ove podloge koje su omogućile najbrži razvoj i sporulaciju *E. lata* preporučuju se za brzu izolaciju, a samim tim i identifikaciju ovog patogena.

KLjučne reči: *Eutypa lata*, odgajivačke odlike, različite hranjive podloge, KDA, V8, OA, GWA, MALC, WA, preporuke za izolaciju *Eutypa lata*.

Uvod

Među opasne prouzrokovaoče bolesti vinove loze u novije vreme ubraja se i fitopatogena gljiva *Eutypa lata* (**Pers.: Fr.) Tul. i C. Tul.**, prouzrokovaoč eutipoze. Trenutno se smatra najopasnijim gljivičnim patogenom ove biljke. U Australiji *Eutypa lata* prouzrokuje najdestruktivniju bolest kajsije poznatu kao "gumozna bolest" (Ivanović, 2001). Eutipoza vinove loze danas spada u najznačajnije bolesti drvenastog tkiva u komercijalnim zasadima vinove loze. Širom sveta postaje glavna prepreka dugovečnosti vinograda.

Delibašić i sar. (2001) navode prouzrokovaoča eutipoze vinove loze, fitopatogenu gljivu *Eutypa lata*, kao ozbiljan problem u gajenju vinove loze koji se nameće poslednjih godina. Autori dalje navode da u Srbiji i Crnoj Gori *E. lata* još nije zvanično otkrivena, međutim, imajući u vidu njen način širenja (anemohorija), kao i činjenicu da je naša zemlja veliki proizvođač i prerađivač grožđa i voća, upozoravaju da je potrebno naročito obratiti pažnju na ovog opasnog polifagnog patogena. Isti autori navode da ima izvesnih indicija da je *E. lata* prisutna i u našim vinogorjima (lična komunikacija, 2002).

U poslednjih deset godina u više vinogradarskih rejona u Vojvodini zapaženo je sušenje čokota vinove loze kao posledica pojave veoma opasne bolesti koja je determinisana kao eutipoza (Cindrić i sar., 2002). Stojanović i sar. (2002) konstatuju da je u nekim plantažnim vinogradima u Srbiji na čokotima zapažena masovnija pojava simptoma tipičnih za oboljenje "izumiranje ramenih grana" (*Eutypa dieback*) ili eutipozu vinove loze.

Na osnovu vizuelne detekcije čokota sa specifičnim simptomima eutipoze, kao i uzetih uzoraka drveta u vinogradima vršackog, fruškogorskog, kao i iz jednog vinogorja kruševačkog podrejonu, zaključuje se da je eutipoza vinove loze najverovatnije prisutna u Srbiji (Delibašić i Ivanović, lična komunikacija 2004).

Kao dokaz prisustva eutipoze vinove loze u Srbiji neophodno je iz uzetih uzoraka drveta izolovati prouzrokovaoča - gljivu *Eutypa lata*. Poznato je da je izolacija ovog patogena otežana zbog sporijeg rasta u odnosu na druge saprofitne mikroorganizme prisutne u drvetu vinove loze. Tako gljiva može ostati neprimećena na podlozi što dovodi do pogrešne dijagnoze (Lecomte et al., 2000). U nekim slučajevima, da bi se utvrdilo da li je gljiva prisutna ili ne, potrebno je pažljivo sprovesti metodu subkulture što je veoma dugotrajno i zamorno (Lecomte et al., 2000).

E. lata u kulturi obrazuje samo bespolne spore (konidije) u piknidima. Upravo prisustvo konidija je često neophodno da bi se dokazalo prisustvo i potvrdila identifikacija *E. lata*. Međutim, nekim izolatima je potrebno najmanje 1 - 2 meseca da bi obrazovali konidije, dok se kod nekih izolata one uopšte ne obrazuju (Lecomte et al., 2000).

Nakon obrade uzoraka drveta uzetih iz naših vinogorja, nisu pronađene strome sa peritecijama i askosporama *E. lata*, koje kao reproduktivni organi polnog stadijuma isto predstavljaju dokaz prisustva ovog patogena.

Usled raznih otežavajućih okolnosti (antagonizam i brži rast saprofita) izolacija *Eutypa lata* iz uzoraka nije uspela. Odlučeno je da se ispita koje hranljive podloge favorizuju tj. pogoduju razvoju patogena, omogućavajući mu brz porast i sporulaciju.

Materijali i metod rada

Da bi se ispitale odgajivačke i morfološke osobine gljive *Eutypa lata*, iz Nacionalnog instituta za istraživanja u poljoprivredi Francuske (INRA) nabavljena su dva izolata. U nameri da se na različitim hranljivim podlogama prati izgled (boja i oblik), porast i fruktifikacija kolonija ove gljive, napravljeno je 6 različitih vrsta hranljivih supstrata*:

1. KDA - krompir dekstrozni agar (eng. PDA - potato dextrose agar)
2. V8 - podloga od povrća (paradajza) i agara (eng. V8 - vegetable 8)
3. OA - ovseni agar ili podloga od ovsenih pahuljica i agara (eng. OA - oat agar)
4. GWA - podloga od ekstrakta drveta vinove loze i agara (eng. GWA - grapevine wood agar)
5. MALC agar - podloga od pivarskog slada i agara (eng. MALT - maltose agar)
6. WA - podloga od vode i agara ili vodeni agar (eng. WA - water agar)

* Materijal za pravljenje ovih podloga naveden je u radu Aćimovića, 2005. (vidi literaturu).

Nakon sterilizacije u autoklavu, supstrati su sterilno razlivani u Petri kutije prečnika 9 cm. Posle hlađenja, podloge su u sterilnim uslovima zasejane gljivom i stavljene u termostad na temperaturu od 25 °C. Merenja prečnika kolonija lenjirom, kao i vizuelna ispitivanja vršena su na svakoj podlozi svaki drugi dan od dana zasejavanja. U cilju dobijanja što preciznijih rezultata merenja i vizuelnih ispitivanja, svaki izolat je zasejan po tri puta na jednu vrstu hranljive podloge. Na taj način, pri merenjima prečnika kolonija, omogućeno je izračunavanje prosečne vrednosti prečnika kolonija (ΔR) svakog izolata, za svaki drugi dan.

Rezultati i diskusija

Izgled (boja i oblik) kolonija. *Eutypa lata* formira okruglaste kolonije, vlaknastog oboda sa belom paučinastom micelijom u vazdušnom delu (slika 1). Vremenom, na KDA podlozi, a najčešće u poklapanju sa sporulacijom, micelija može promeniti boju u svetlomrku do bledo maslinasto zelenu - i to samo u vidu prstena na srednjoj udaljenosti od centra kolonije. Uporedo sa tim, supstratni deo kolonije, i to samo ispod mesta sporulacije, postaje mrkosiv do crn. Ostatak je bele, krem ili bledo mrke boje. Kod ostalih podloga promene u boji vazdušne micelije nisu detektovane. Promene u boji supstratnog dela micelije - samo ispod mesta sporulacije, jasno se uočavaju na svih podlogama osim na WA podlozi.

Porast kolonija. Na krompir dekstroznoj podlozi (KDA) kolonije *Eutypa lata* su se najbrže razvijale. Izolat F1 je za 8, a F2 za 10 dana ispunio celu površinu Petri kutije (tabela 1). Na podlozi od paradajza (V8) oba izolata ispunila su celu površinu Petri kutije isto prilično brzo - nakon 10 dana (tabela 2). Izolat F1 je na podlozi od ovsas (OA) pokrio celu površinu isto za 10 dana, a izolat F2 za 12 (tabela 3). Oba izolata na podlozi od ekstrakta drveta vinove loze i agara (GWA), celu površinu ispunila su isto nakon 12 dana (tabela 4).

Ubedljivo najsporiji rast oba izolata zabeležen je na podlozi od pivarskog slada (MALC). Celu površinu podloge izolat F1 ispunio je tek nakon 16 dana od zasejavanja. Izuzetno spor rast izolata F2 na ovoj podlozi, prestao je nakon 24 dana, a da pritom izolat nije ni pokrio celu površinu podloge (tabela 5). Na podlozi od vode i agara (WA), izolat F1 celu Petri kutiju ispunio je nakon 14, a izolat F2 tek nakon 20 dana (tabela 6).

KDA (PDA)		ΔR - prosečan prečnik kolonija u mm i sporulacija posle dana (ΔR - average diameter of colonies in [mm] and sporulation after days)													
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
IZOLATI (ISOLATES)	F1	zasejavanje (seeding)	18,6	45	72	90(P)	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	F2		14	37,3	64	87,6	90(P)	P	S	S	S	S	S	S	S
	D		15	25	35,3	46,3	54,6	60 S	69,6 S	75 S	79 S	82,3 S	85 S	86,3 S	90(P) S

Tabela 1. Legenda: KDA - krompir dekstrozni agar podloga; F1 i F2 - dva izolata gljive *Eutypa lata*; D - nepoznati domaći izolat; P - površina podloge u Petri kutiji potpuno je ispunjena kolonijom ($\Delta R = 90$ mm); S - sporulacija; ■ - zaustavljanje porasta i sporulacije

Table 1. Legend: PDA - potato dextrose agar; F1 and F2 - two isolates of *Eutypa lata*; D - unknown isolate from Serbia; P - Petri box surface of medium totally covered with colony ($\Delta R = 90$ mm); S - sporulation i.e. fructification; ■ - stopped growth and sporulation

V8		ΔR - prosečan prečnik kolonija u mm i sporulacija posle dana (ΔR - average diameter of colonies in [mm] and sporulation after days)													
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
IZOLATI (ISOLATES)	F1	zasejavanje (seeding)	17	39	62	84	90(P)	S	S	S	S	S	S	S	■
	F2		15,3	36,6	59,6	82,3	90(P)	P	P	P	P	P	P	P	P
	D		15,3	29	41	52,6 S	63 S	72,6 S	83 S	85,3 S	86,3 S	89 S	■	■	■

Tabela 2. Legenda: V8 - podloga od paradajza i agara (eng.); F1 i F2 - dva izolata gljive *Eutypa lata*; D - nepoznati domaći izolat; P - površina podloge u Petri kutiji potpuno je ispunjena kolonijom ($\Delta R = 90$ mm); S - sporulacija; ■ - zaustavljanje porasta i sporulacije

Table 2. Legend: V8 - vegetable 8, in this case tomato agar; F1 and F2 - two isolates of *Eutypa lata*; D - unknown isolate from Serbia; P - Petri box surface of medium totally covered with colony ($\Delta R = 90$ mm); S - sporulation i.e. fructification; ■ - stopped growth and sporulation

OA		ΔR - prosečan prečnik kolonija u mm i sporulacija posle dana (ΔR - average diameter of colonies in [mm] and sporulation after days)													
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
IZOLATI (ISOLATES)	F1	zasejavanje (seeding)	15,6	33	54,6	71 S	90(P) S	S	S	S	S	S	■	■	■
	F2		12	29	47	63,3	81,6 S	90(P) S	S	S	S	S	■	■	■
	D		15,3	31,3	44	52,6	62	73,3 S	81,6 S	86 S	89 S	90(P) S	■	■	■

Tabela 3. Legenda: OA - podloga od ovsenih pahuljica i agara (eng.); F1 i F2 - dva izolata gljive *Eutypa lata*; D - nepoznati domaći izolat; P - površina podloge u Petri kutiji potpuno je ispunjena kolonijom ($\Delta R = 90$ mm); S - sporulacija; ■ - zaustavljanje porasta i sporulacije

Table 3. Legend: OA - oat agar; F1 and F2 - two isolates of *Eutypa lata*; D - unknown isolate from Serbia; P - Petri box surface of medium totally covered with colony ($\Delta R = 90$ mm); S - sporulation i.e. fructification; ■ - stopped growth and sporulation

GWA		ΔR - prosečan prečnik kolonija u mm i sporulacija posle dana (ΔR - average diameter of colonies in [mm] and sporulation after days)													
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
IZOLATI (ISOLATES)	F1	zasejavanje (seeding)	14,6	35,3	56,3	75	88	90(P)	P	P	S	S	S	S	■
	F2		12	29	48	68,6	85,3	90(P)	P	S	S	S	S	S	■
	D		12,5	18	27,1	34 S	41 S	48,6 S	58,6 S	67 S	72 S	75 S	75,6 S	76 S	76,3 S

Tabela 4. Legenda: GWA - podloga od ekstrakta drveta vinove loze i agara (eng.); F1 i F2 - dva izolata gljive *Eutypa lata*; D - nepoznati domaći izolat; P - površina podloge u Petri kutiji potpuno je ispunjena kolonijom (ΔR = 90 mm); S - sporulacija; ■ - zaustavljanje porasta i sporulacije

Table 4. Legend: GWA - grapevine wood agar; F1 and F2 - two isolates of *Eutypa lata*;

D - unknown isolate from Serbia; P - Petri box surface of medium totally covered with colony (ΔR = 90 mm); S - sporulation i.e. fructification; ■ - stopped growth and sporulation

MALC (MALT)		ΔR - prosečan prečnik kolonija u mm i sporulacija posle dana (ΔR - average diameter of colonies in [mm] and sporulation after days)													
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
IZOLATI (ISOLATES)	F1	zasejavanje (seeding)	16	29,3	43,3	57,6	76	83	88,3 S	90(P) S	S	S	S	S	S
	F2		13,3	21,3	31	43,3	54,6	65	71,6	76,3	79,6 S	83 S	83,3 S	84,3 S	84,3 S
	D		15	23,3	30,2	37	43,3	49,6 S	56,6 S	65 S	72 S	75,6 S	78,3 S	80,3 S	82 S

Tabela 5. Legenda: MALC - podloga od pivarskog slada i agara (eng.); F1 i F2 - dva izolata gljive *Eutypa lata*; D - nepoznati domaći izolat; P - površina podloge u Petri kutiji potpuno je ispunjena kolonijom (ΔR = 90 mm); S - sporulacija; ■ - zaustavljanje porasta i sporulacije

Table 5. Legend: MALT - maltose agar; F1 and F2 - two isolates of *Eutypa lata*; D - unknown isolate from Serbia; P - Petri box surface of medium totally covered with colony (ΔR = 90 mm); S - sporulation i.e. fructification; ■ - stopped growth and sporulation

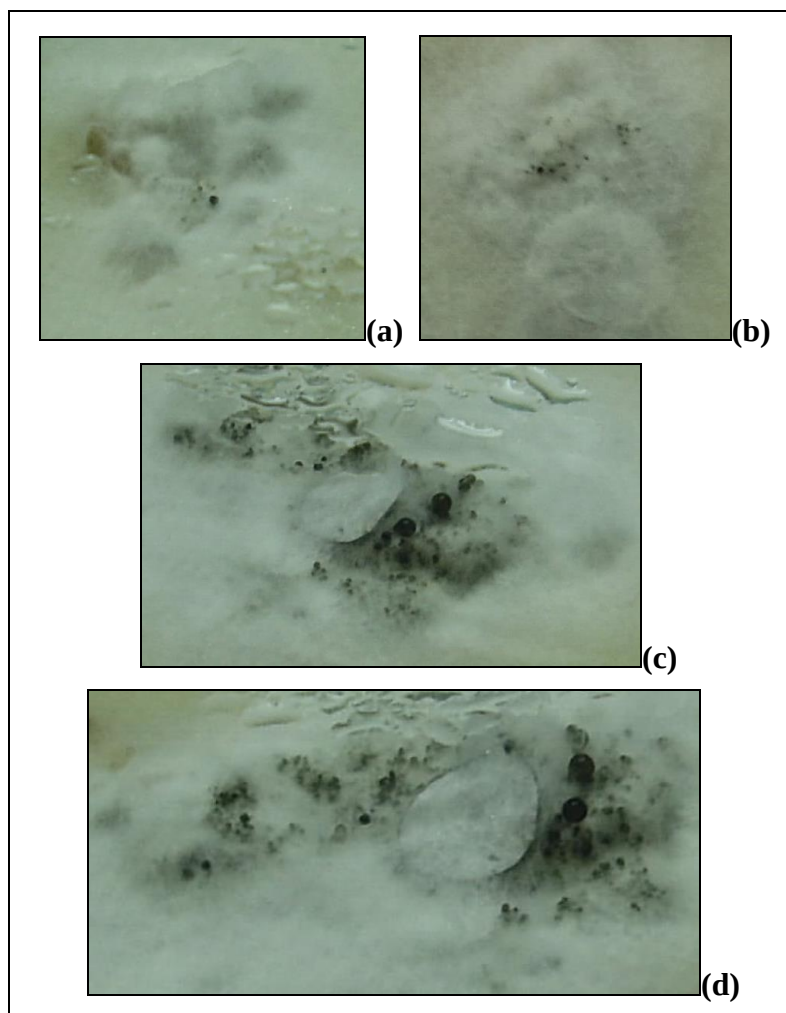
WA		ΔR - prosečan prečnik kolonija u mm i sporulacija posle dana (ΔR - average diameter of colonies in [mm] and sporulation after days)													
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
IZOLATI (ISOLATES)	F1	zasejavanje (seeding)	10	26,3	42	60,3	75,3	88,3	90(P)	P	P	P	P	P	P
	F2		9,3	20	36,3	54,3	70	81,3	85,6	87,3	88,6	90(P)	P	P	P
	D		12,3	20	25,6	34,3 S	42,3 S	49,6 S	57,6 S	64,3 S	67,6 S	69,3 S	■	■	■

Tabela 6. Legenda: WA - podloga od vode i agara (eng.); F1 i F2 - dva izolata gljive *Eutypa lata*; D - nepoznati domaći izolat; P - površina podloge u Petri kutiji potpuno je ispunjena kolonijom (ΔR = 90 mm); S - sporulacija; ■ - zaustavljanje porasta i sporulacije

Table 6. Legend: WA - water agar; F1 and F2 - two isolates of *Eutypa lata*; D - unknown isolate from Serbia; P - Petri box surface of medium totally covered with colony (ΔR = 90 mm); S - sporulation i.e. fructification; ■ - stopped growth and sporulation

Sporulacija. Polni stadijum gljive (teleomorf) nazvan *Eutypa lata*, ne razvija se u kulturi već na mrtvom drvetu vinove loze, gde polnim procesom obrazuje plodonosne organe - peritecije. Bespolni stadijum (anamorf) poznat pod imenom *Libertella blepharis*, razvija se u kulturi ali i na unutrašnjoj strani kore vinove loze (Ivanović, 2001). U kulturi nakon 3-4 nedelje pod konstantnim fluorescentnim svetlom, *L. blepharis* obrazuje crne do sive piknide (plodonosna tela). U piknidima se nalaze jednočelijske bespolne spore (konidije), končastog oblika, prave ili povijene. U vlažnim uslovima piknidi pucaju i iz njih cure kapi crne, krem ili narandžasto-žute boje bogate piknosporama (Munkvold, 2001). Konidije (piknospore) su veličine $18-45 \times 0,5-1,5 \mu\text{m}$, i nepoznate su funkcije.

Dva izolata *E. lata*, na KDA podlozi, sporulisali su u različito vreme. Začeci piknida kod izolata F1 pojavili su se nakon 10 dana, a kod F2 tek nakon 14 dana od zasejavanja (tabela 1). Na podlozi V8 sporulisao je samo izolat F1 - začeci piknida su se pojavili nakon 12 dana. Izolat F2 na ovoj podlozi uopšte nije sporulisao (tabela 2). Izolat F1 na MALC podlozi počeo je sa sporulacijom nakon 14, a F2 nakon 18 dana od zasejavanja (tabela 5). Začeci piknida na podlozi GWA kod izolata F1 pojavili su se nakon 18 dana, a kod izolata F2 dva dana ranije - nakon 16 dana (tabela 4). Začeci piknida i potpuno formirani piknidi sa piknosporama koje cure u crnim kapima, vide se na slici 1.



Slika 1. Sporulacija *Eutypa lata*: (a) i (b) - začeci piknida i (c) i (d) - razvijeni piknidi *Libertella blepharis*, na podlozi od ovsenih pahuljica (OV). Fotografisano 14 dana nakon zasejavanja. Crne loptice predstavljaju kapi bogate piknosporama. One cure iz piknida koji pucaju u vlažnim uslovima.

Figure 1. Sporulation of *Eutypa lata*: (a) and (b) - small, black, untotally formed pycnidia and (c) and (d) - completely formed black pycnidia of *Libertella blepharis* anamorph. Showed on oat agar medium (OA). Photographed after 14 days from seeding. Small, black, shiny spheres represent droplets rich with conidia (pycnospores) which are exuded from a cracked moisturized pycnidia.

Ubedljivo najranije pojavljivanje začetaka piknida zabeleženo je na podlozi od ovsu (OA). Izolat F1 sporulisao je već nakon 8, a F2 nakon 10 dana od zasejavanja (tabela 3). Potpuno suprotno od ovoga, ali i neočekivano, jeste potpuni izostanak sporulacije oba izolata na podlozi WA (tabela 6).

Zapaženo je i da je sporulacija *Eutypa lata* na podlozi od ovsa (OA) bila najobilnija na onim mestima gde se nalaze ovsene pahuljice (slika 1).

Izolat D obuhvaćen merenjima, domaćeg je porekla i pripada razdelu **BASIDIOMYCOTA**. Identifikacija do nivoa vrste nije izvršena. Ova gljiva je najverovatnije saprofit koji obitava na izumrlom drvetu vinove loze kao njegov razarač. Iz tog razloga ovaj izolat neće biti dalje razmatran.

Zaključak

Na podlogama kao što su: KDA, V8, OA i GWA, kolonije *Eutypa lata* su se najbrže razvijale. Već nakon 8 - 10 ili 10 - 14 dana patogen je ispunio celu površinu Petri kutije.

Podloga od ovsa (OA) je najpovoljnije uticala na sporulaciju *E. lata*. Na ovoj podlozi već nakon 8 - 10 dana od zasejavanja započela je sporulacija koja je ujedno bila i najobilnija. Na KDA podlozi sporulacija je bila dobra i započela je nakon 10 - 14 dana od zasejavanja.

Stoga se ove dve podloge, a posebno OA, zbog brzog porasta na njima, izdvajaju kao vrlo dobre za brzu izolaciju kao i sporulaciju *Eutypa lata*. Brza sporulacija omogućava da se brže izvrši i identifikacija.

Međutim, mnoge druge saprofitne gljive prisutne u drvetu vinove loze opet imaju brži porast od porasta *E. lata*. Pored toga mnogi mikroorganizmi deluju i kao antagonisti vršeći supresiju rasta ovog patogena. Stoga se različiti, po *E. lata* selektivni antibiotici mogu upotrebiti stavljanjem u podlogu, da bi sprečili pre svega porast ovih nepoželjnih mikroorganizama. Munkvold (2001) preporučuje kombinovanu upotrebu streptomycin sulfata (streptomycin sulfate), hlortetraciklina HCl (chlortetracycline HCl) i diklorana (dicloran).

Literatura

1. Aćimović, S. (2005): Pojava eutipoze u nekim vinogorjima u Srbiji (diplomski rad). Poljoprivredni fakultet, Beograd.
2. Cindrić, P., Sidor, M., Korać, N. (2002): Bolesti drveta vinove loze - Eutypioza i ESCA. Zbornik rezimea radova sa XII simpozijuma o zaštiti bilja i Savetovanja o primeni pesticida, Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd.
3. Delibašić, G., Babović, M., Jakovljević, D. (2001): *Eutypa lata* - prouzrokovatelj propadanja čokota, nova opasnost u gajenju vinove loze. Zbornik rezimea radova sa V jugoslovenskog savetovanja o zaštiti bilja, Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd.
4. Ivanović, M., Ivanović, D. (2001): Mikoze i pseudomikoze biljaka. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
5. Lecomte, P., Péros, J-P., Blancard D., Bastien. N., Délye, C. (2000): PCR Assays That Identify the Grapevine Dieback Fungus *Eutypa lata*. Applied and Environmental Microbiology (AEM), p. 4475-4480, Vol. 66, No. 100099-2240/00/\$04.00+0, American Society for Microbiology online: <http://www.asmsusa.org>, USA.
6. Marković, S. (1979): Osnove fitopatoloških laboratorijskih metoda. Savezni komitet za poljoprivredu (granična služba za zaštitu bilja i biljni karantin), Beograd.
7. Munkvold, G. P. (2001): Eutypa Dieback of Grapevine and Apricot. Plant Health Progress online: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/diagnosticguide/dieback>.
8. Stojanović, S., Kuzmanović, S., Starović, M., Rajković, S., Tomić, T. (2002): Sušenje vinove loze. Zbornik rezimea radova sa XII simpozijuma o zaštiti bilja i Savetovanja o primeni pesticida, Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd.

Abstract

CULTURAL CHARACTERISTICS OF *EUTYPA LATA* AND ONE UNKNOWN ISOLATE ON DIFFERENT NUTRIENT MEDIA

Srdan Aćimović, Goran Delibašić
Poljoprivredni fakultet, Beograd - Zemun

In order to examine cultural and morphological characteristics of *Eutypa lata* on different nutrient media, two isolates were received from the National Institute for Research in Agriculture (INRA) - France, thanks to Mr. Pascal Lecomte. In order to examine appearance (colour and shape), growth and sporulation i.e. fructification of colonies, 6 different nutrient media have been made: PDA - potato dextrose agar, V8 - vegetable 8 (in this case tomato agar), OA - oat agar, GWA - grapevine wood agar, MALT - maltose agar, WA - water agar. After sterilisation these substrates have been smeared aseptically in a Petri dishes which are 9 cm in diameter. After cooling, media were seeded in sterile conditions with *Eutypa lata* and then placed in thermo-chamber on constant temperature of 25 °C.

Every second day from seeding, measurements and visual observations of colonies have been performed - on all media. In order to gain more precise measuring results and visual observations, every isolate has been seeded three times on one nutrient medium type. By measuring the diameter of colonies in all three Petri dishes - for every medium type, it was enabled to calculate the average diameter of colonies (ΔR) for every isolate, in every second day.

Appearance (shape and colour) of the colonies. *Eutypa lata* forms roundish colonies with fibrous brim and at first white cottony aerial mycelium (the upper side of the colony) (Fig. 1). In reverse colonies are cream-colored. Later, on PDA medium, and the most often in the same time with sporulation, mycelium can change colour in light-grayish to pale olive-green - only in a form of ring situated in a medium range from the colony center. In the same time, substrate part of the colony - only under sporulation sites, becomes dark-gray or black. The rest is white, cream or pale-grayish. On the other nutrient media colour-changes of the aerial mycelium are not detected. Colour-changes of the substrate part of the colony - only under sporulation sites, are clearly visible on all nutrient media except on WA medium.

Growth of the colonies. On PDA medium, *Eutypa lata* colonies had the fastest development. Isolates have covered the whole Petri dish surface in 8 -10 days (Table 1). On tomato medium (V8 i.e. vegetable 8), isolates have covered the whole Petri dish surface also pretty fast - after 10 days (Table 2). On OA medium, isolates have covered the whole surface in 10 - 12 days (Table 3). On GWA medium isolates have covered the whole surface also in 12 days (Table 4). On MALT medium isolates have covered the whole Petri dish surface after 16 - 24 days. Isolate F2 has not even covered the whole Petri dish surface (Table 5). On WA medium, isolates have covered the whole Petri dish surface after 14 - 20 days (Table 6).

Sporulation (fructification). On PDA medium small, untotally formed black pycnidia have appeared after 10 -14 (Table 1). On V8 medium only isolate F1 has sporulated - small, untotally formed black pycnidia have appeared after 12 days. On V8 medium isolate F2 has not sporulated at all (Table 2). On MALT medium isolates have started to sporulate after 14 - 18 days from seeding (Table 5). On GWA medium isolates have started to sporulate after 16 - 18 days (Table 4). Small, untotally formed black pycnidia and completely formed black pycnidia - with conidia which are exuded in a droplet, can be seen on Fig. 1. The earliest sporulation is reported on OA medium, respectively. Isolates have sporulated already after 8 - 10 days from seeding (Table 3). Totally opposite from this but unexpected too, is complete absence of sporulation of both isolates on WA medium (Table 6).

Isolate D which is of domestic origin belongs to division **BASIDIOMYCOTA** and is most probably saprofitic organism which inhabits the dead grapevine wood as its decayer.