

דוח לשנת 2017 לתכנית מחקר מספר 60-01-0002

שנת המחקר 1 מתוך 3 שנים

**בחינת חומרי הדברה כימיים וביולוגיים למניעת הדבקות חדשות באסקה בכרמים בישראל**  
**Preventing new infections of esca in Israeli vineyards using biological and chemical fungicides**

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ולהנהלת ענף גפן ע"י:

ורד נאור, מכון שמיר למחקר, קצרין  
תרצה זהבי, שה"מ מחוז צפון, משרד החקלאות  
ערן הרכבי, שה"מ מחוז צפון, משרד החקלאות  
יעל מלר-הראל, השרותים להגנת הצומח, בית דגן

Vered Naor, Shamir Research institute, POB 97, Katsrin 12900. Email: [vered.spielmann@gmail.com](mailto:vered.spielmann@gmail.com).

Tirtza Zahavi, Shaham - Extension Service, ministry of Agriculture. Email: [tirtzaz@yahoo.com](mailto:tirtzaz@yahoo.com).

Eran Harcabi, Shaham - Extension Service, ministry of Agriculture. Email: [erharc@gmail.com](mailto:erharc@gmail.com)

Yael Meler-Har'el Plant Protection Israeli Service, Beit Dagan. Email: [YaelM@moag.gov.il](mailto:YaelM@moag.gov.il)

תוכן עניינים:	
עמ' 2	תקציר
עמ' 3	מבוא
עמ' 4	שיטות וחומרים
עמ' 6	תוצאות
עמ' 9	דיון
עמ' 10	רשימת ספרות

## תקציר

**הצגת הבעיה:** תופעת האסקה מוגדרת כאשר מתרחש שילוב של שלושה מיני פטריות, שכנראה מתפתחות אחת בעקבות השניה. פצעי הזמירה נחשבים מקור חשוב ומרכזי לחדירת נבגי הפטריות ולהדבקות חדשות. מאידך, במקומות רבים בעולם קיים קושי בניטור נבגי אסקה. לפיכך, יש צורך בשיטות לאיסוף וזיהוי נבגים המתאימות לתנאי ישראל. על מנת לבחון אפשרויות למניעת הדבקה דרך פצעי הזמירה, יש להתאים שיטת הדבקה מלאכותית לתנאי ישראל.

**שיטות העבודה:** נבגים נאספו באמצעות מלכודות וזלין שהונחו בחלקת כרם נגועה. הנבגים נשטפו ונזרעו במצעים שהכילו כלורמפניקול וחומרי הדברה שונים. על מנת לבחון קומפוטנטיות פצע הזמירה להדבקה, הוכנו יחורים מושרשים ממקטעי זמורות רדומות בשלושה מועדים. היחורים הודבקו באופן מלאכותי בשלושת המינים העיקריים של פטריות אסקה.

**תוצאות עיקריות לתקופת הדו"ח הנדון:** בכל המלכודות לא זוהו נבגי אסקה אולם 50% מהמינים שזוהו משוייכים לפטריות פתוגניות שוכנות גזע. היחורים התעוררו תוך 21-29 יום מהשתילה. מועד ההכנה לא השפיע על שיעור ההתעוררות וההשרשה של היחורים או על הצלחת ההדבקה. מידת התקדמות הפטריות תדווח בשנת המחקר השניה.

**מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות:** בשנה ב של המחקר אנו מתכוונים להרחיב מועדי הפריסה של הצבת המלכודות לאורך השנה, על מנת לברר האם נבגי הפטריות האסקה אכן מופצים בתנאים מסויימים. יחד עם זאת, יש לבחון את השאלה האם הסיבה לחוסר הצלחה נובעת ממיסוך הנגרם על ידי שמרים המתפתחים במצע הזריעה. הנחת העבודה היא שהדבקה בפטריות אסקה מתרחשת גם בתנאי ישראל, לכן בשנה ב' יבוצע ניסוי הדברה על פצעי הזמירה כמצוין בתכנית.

דוח שנה א- בחינת חומרי הדברה כימיים וביולוגיים למניעת הדבקות חדשות באסקה

בכרמים בישראל

תכנית מספר 60010002

חוקר ראשי: ורד נאור

## מבוא

מחלת האסקה (*Esca proper*) בישראל היא החמורה מבין מחלות הגזע בגפן. המחלה תוקפת זני מאכל ויין כאחת. בסקר תלת שנתי הנערך על ידנו מ 2014 נמצא כי שיעור המחלה הממוצע ב 11 חלקות ברחבי הארץ הוא 8.7% (טווח 0-29%). בישראל, עד לאחרונה, המחלה נצפתה בכרמים מעל גיל חמש עשרה שנים, אך בשנים האחרונות נראים תסמינים דומים גם בגפנים צעירות יותר (3-5 שנים). מהידוע בעולם, שלוש פטריות עיקריות מעורבות בגרימת הסימפטומים של תופעת האסקה, אף כי ידועים גם מינים נוספים. המינים העיקריים הם (*PCH*) *Fomitiporia*, *Phaeoacremonium aleophilum* (PAL), *Phaeomoniella chlamidospora* (*FOM*) (*Larignon & Dubos 1997*). שני המינים הראשונים קשורים גם למחלות בגפנים צעירות כמו *Petri disease*, נחשבים לפטריות שוכנות עצה (tracheomycotic) ונוכחותם בעצה מתבטאת בנקודות וכתמים חומים המעידים על סתימה וריקבון של צינורות ההובלה. הפטריה השלישית (*FOM*) נחשבת כמפרקת ליגנין וגורמת לריקבון לבן ספוגי של העצה. תופעת האסקה מוגדרת כאשר מתרחש שילוב של שלושת מיני הפטריות, שכנראה מתפתחות אחת בעקבות השניה. פצעי הזמירה נחשבים מקור חשוב ומרכזי לחדירת נבגי הפטריות ולהדבקות חדשות (*Agust'i-Brisach et al., 2015, Diaz & Lattore 2013*). מקור המדבק לכך, הם גופי פרי ונבגים אל מיניים המתפתחים בתוך פצעים וסדקים בגזע ובשאריות גזם, המשתחררים בתנאים המתאימים (*Mostert et al., 2006, Agust'i-Brisach et al., 2015*). לפיכך, הכרחי לפתח שיטות אגרוטכניות המתאימות לתנאי ישראל לטיפול בפצעי הזמירה כמקום האילוח ובגזם כמקור המדבק. מקובל שחדירת הנבגים תלויה בתנאי לחות אויר גבוהה ומ"גיל" פצע הזמירה (*Eskalen & Gubler 2001, van Niekerk et al., 2010*). מכאן שבישראל הדבקה חדשה יכולה להתרחש בחורף בלבד. לכן, מטרת שנה א היתה לבחון פיזור נבגי הפטריות בכרם באמצעות מלכודת נבגים. תוצאות הקדמיות שבידנו הראו כי במצע מלאכותי קיים קושי בזיהוי נביטת נבגים של מיני אסקה (בעלי כושר נביטה איטי) מכלל הנבגים הנאספים במלכודת נבגים ולכן עלה הצורך לפתח מצע המעכב נביטה של מיני פטריות שנבגיהן נובטים במהירות, בעיקר מיני פטריות עובש ויאפשר התפתחות פטריות אסקה המתפתחות לאט. קצב ההתקדמות וההתבססות האיטי של הפטריות בתוך הגפן כ 35-4 ממ לשנה בלבד

(Laveau et al., 2009), מקשים על בחינת היעילות של טיפולים שונים על פי תסמיני עלווה. אחת השיטות המקובלות היא לבודד את גורמי המחלה או לבחון את שינוי צבע רקמת העצה מעל ומתחת לפצע ההדבקה ביחורי זמורה. לפיכך, מטרה נוספת בשנה א היתה לקבוע את המועד המיטבי להדבקה של יחורי זמורה מבחינת יכולת ההשתרשות של היחור והקומפוטנטיות של פצע הזמירה.

## מטרות המחקר

מטרת המחקר הכללית - לבחון שימוש בחומרים כימיים וביולוגיים למניעת הדבקות חדשות דרך פצעי הזמירה במערכת ניסויית המשלבת תנאי שדה ומעבדה.

**מטרת המחקר הממוקדות לשנה א:** 1. פיתוח מצע סלקטיבי להנבטת נבגים הנלכדים במלכודת נבגים. 2. איסוף נבגי אסקה באמצעות מלכודת נבגים בכרם. 3. השפעת מועד הכנת היחורים (מבחינת פנולוגיית הגפן) על: א. שיעור ההשרשה, ב. שיעור הדבקה בתנאי מעבדה.

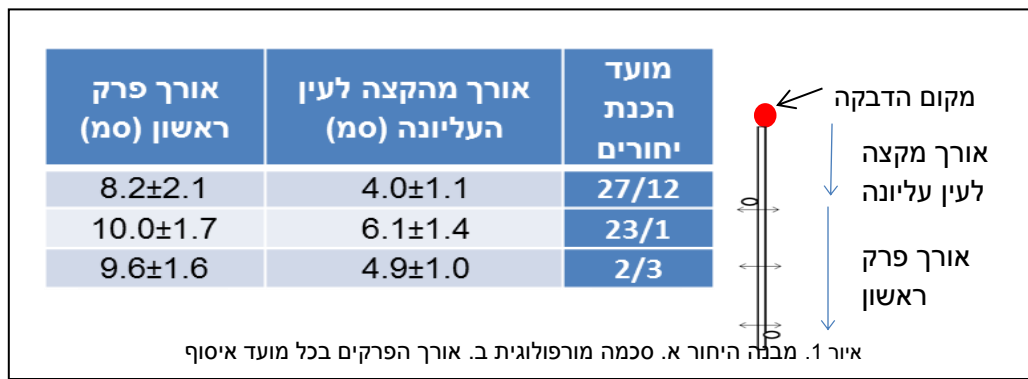
## שיטות וחומרים

**משימה 1:** פיתוח מצע סלקטיבי: לשם כך נערכו מספר ניסויים שבהם נבדקה השפעת החומרים על התפתחות נבגי פניציליום ופטריות אסקה. הנבגים נזרעו במצע potato dextrose agar (PDA) בתוספת 250 chloramphenicol מג/ל וחומרי הדברה שונים בריכוזים שונים. החומרים והריכוזים נקבעו על פי ריכוז מסחרי ועל פי דווח בספרות (Serra et al 2008). הזריעה נעשתה על ידי נגיעת מחט בתפטיר קיים ונגיעה ב12 נקודות בצלחת פטרי על מצע חדש. כל טיפול נזרע ב4 חזרות. הצלחות נאטמו והודגרו בתנאי חדר. מידת העיכוב נמדדה על פי שיעור המושבות שהתפתחו מתוך 12 זריעות וקוטר כל מושבה.

**משימה 2:** מלכודת נבגים: בשלב הראשון התמקדנו בפיתוח שיטה לאיסוף הנבגים ושיטה לשטיפה, סינון וזריעה שיאפשרו לבחון איזה נבגים נאספו במלכודת. הצבת המלכודת וסוג המלכודת נעשו על פי Eskalen & Gubler 2001. מלכודות של זכוכית נושאת מרוחה בזלין משני הצדדים הונחו על זרוע או גזע גפן נגועה באסקה. המלכודות הוצבו סמוך לארועי גשם מתחילת הסתו ועד האביב על גפנים נגועות בחלקת סוביניון בלנק (נטיעת 1993) בקיבוץ אלרום בגובה כ900 מ מעל פני הים ובחלקת פרנץ-קולומבר (נטיעת 1993) במושב סגולה בגובה פני הים. בכל מועד, המלכודות נאספו ונשטפו לאחר כשבוע. הזריעה נעשתה על PDA, PDA 1/4, MA 1/4 (MA) malt agar או MA 1/4. כל מצע הוכן בתוספת כלורמפניקול 250 מג/ל ו/או פניצילין 10 מג/ל ו/או חומר הדברה. הצלחות הודגרו למספר שבועות ב25 מ"צ בחושך. על מנת לזהות

במלכודות בשלב ראשון נוכחות נבגי *Phaeoacremonium* באופן מולקולרי, הופק הדנא כלל הנבגים שבמלכודת והוגבר על יד פריימרים ספציפיים בהשוואה לביקורת חיובית (על פי Aroca et al 2008). זיהוי מינים חשודים מהנבגים שהתפתחו בצלחת נעשה על פי מורפולוגיה של התפטיר ובמידת הצורך על פי ריצוף מקטע ITS.

**משימה 3:** הכנת יחורים: זמורות נאספו בשלושה מועדים בחורף (27 דצמבר, 23 ינואר, 2 מרץ), מחלקת קברנה סוביניון צעירה (נטיעת 2010) בכרם אלרום ללא תסמיני אסקה. בכל מועד, נלקחו מקטעים מהחלק התחתון של הזמורה ליצירת יחורים המייצגים את הסעיפים הנשארים לאחר הזמירה (איור 1). היחורים נשתלו במצע עציצים בעציצים גודל 9 לאחר חידוש

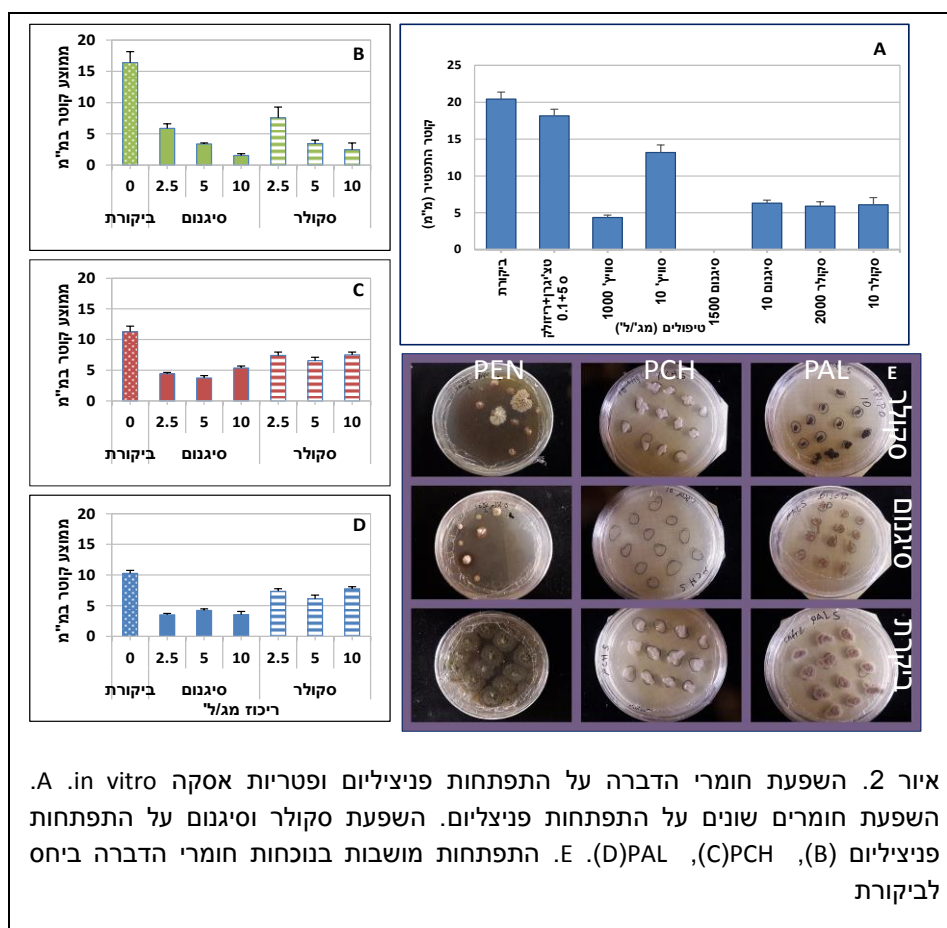


החתך באיזור הניצן התחתון וטבילת בסיס היחור בהורמוריל 6 לעידוד ההשרשה. על מנת לבחון את שיעור ההדבקה, היחורים הודבקו בשלושת המינים העיקריים של פטריות האסקה באופן הבא: מיד לאחר השתילה, חודש החתך העליון, נקדח חור בעומק כ-3 מ"מ והפצע הודבק באחד ממיני פטריות אסקה (20 יחורים לפטריה) על ידי הנחת דסקית אגר עם תפטיר ונבגים. איזור ההדבקה נאטם בפרפילים. היחורים הונחו באקראיות גמורה על המדפים בחדר גידול מבוקר, בטמפרטורה של 24±2 מצ תחת תאורה פלואורוסצנטית בתנאי יום ארוך למשך כ-3 חודשים. בכל מועד שתילה, נבדק שיעור ההתעוררות ושיעור ההשרשה של היחורים כ-3 שבועות מתחילת השתילה. דרגת התפתחות השורשים, שיעור ההדבקה ומרחק החדירה של הפתוגן יחלו להימדד כ-3 חודשים לאחר ההדבקה וידווחו בדוח שנה ב של המחקר.

## תוצאות

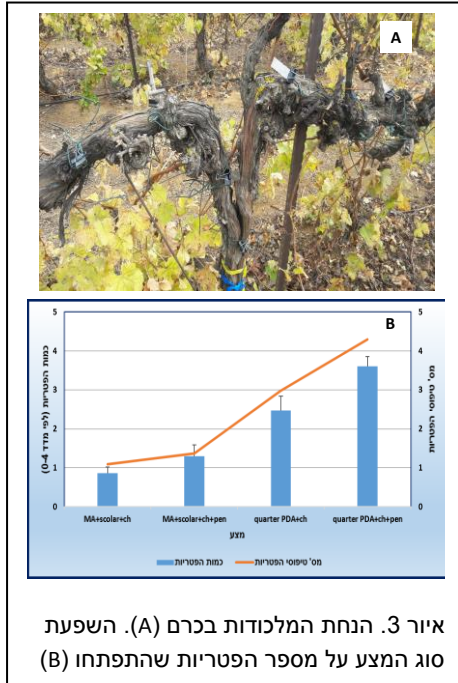
### משימה 1: פיתוח מצע סלקטיבי

קצב התפתחות האיטי של התפטיר של נבגי פטריות האסקה בתנאים המלאכותיים ממוסך על ידי פטריות המתפתחות יותר מהר. מאחר ובעית המיסוך של פטריות האסקה נגרמה במקרים רבים על ידי פטריות עובש שונות, *Penicillium spp* (PEN) שימשה כפטריית מודל בפיתוח המצע הסלקטיבי. מבין חומרי ההדברה שנבדקו סקולר וסיגנום הראו את העיכוב המשמעותי ביותר על התפתחות הנביטה בהשוואה לביקורת (איור 2 A). שני חומרים אלו נבדקו על PCH ו-PAL בהשוואה ל PEN. בריכוז 10 מג/ל נגרמה האטה חזקה יותר בקצב התפתחות התפטיר של PEN בהשוואה ל PCH ו-PAL (איור, 2 תמונה B, D, C, E) מבלי לפגוע בחיוניות הנבגים של פטריות המטרה. בזריעה מחדש של פטריות המטרה על מצע ללא חומרי

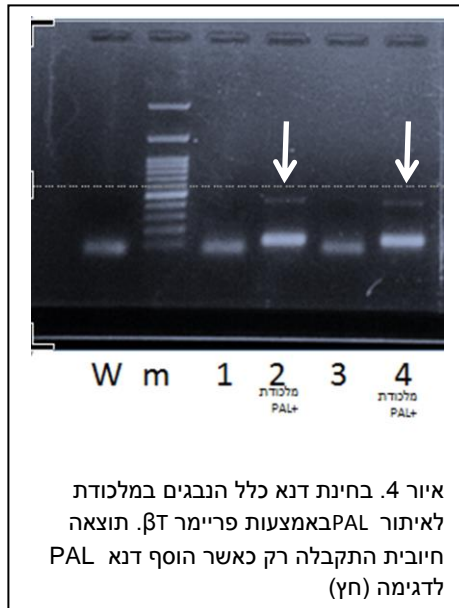


הדברה, נצפתה התפתחות טובה של התפטיר המועתק. לא נמצא הבדל ניכר בשיעור הנביטה ובמידת ההתפתחות של פטריות המטרה בנוכחות 10 מג/ל סקולר בהשוואה לסיגנום באותו ריכוז.

## משימה 2: איסוף נבגים באמצעות מלכודת נבגים



איור 3. הנחת המלכודות בכרם (A). השפעת סוג המצע על מספר הפטריות שהתפתחו (B)



איור 4. בחינת דנא כלל הנבגים במלכודת לאיתור PAL באמצעות פריימר  $\beta$ T. תוצאה חיובית התקבלה רק כאשר הוסף דנא PAL לדגימה (חץ)

מלכודות הנבגים הונחו על גפנים נגועות (איור 3A). המלכודות הונחו סמוך לארועי גשם והוסרו לאחר כשבוע. בעונת המחקר הראשונה הונחו מלכודות בחלקת אלרום ב-11 מועדים לאורך השנה ובחלקת סגולה ב-2 מועדים. הצבת המלכודות ושיטת הבידוד בוצעו על פי Eskalen & Gubler (2001). בעיה מרכזית היתה התפתחות מושבות רבות של שמרים ועובשים, בעיקר פניציליום. לפיכך, בעונה זו התמקדנו בהתאמת השיטה לבידוד הנבגים שנלכדו לתנאים המקומיים. נבחנו שיטות שטיפה וסינון בשלבים שונים של התהליך (טבלה 1) ומצעי גידול שונים (איור 3B). מושבות חשודות זוהו מורפולוגית ועל ידי ריצוף המקטע ITS1/5.8S /ITS2 (Raposo 2007 &

Aroca), אך בכל הניסיונות שבצענו לא הצלחנו לזהות נבגי אסקה. בנוסף, נעשה ניסיון לזהות בשיטה מולקולרית *Phaeoacremonium* מתוך אוסף נבגים שנלכדו במלכודת על ידי הגברה לגן  $\beta$  tubulin התקבלה תוצאה שלילית בהשוואה לביקורת חיובית (תמונה 4). זריעה על מצע PDA או MA בתוספת סיגנום או סקולר גרמה לדילול רב בכמות הפטריות הכוללת שהתפתחו (איור B3). מאידך, בזריעה על מצע PDA ¼ נראתה עלייה בכמות הפטריות ומס' הטיפוסים שהתפתחו על גבי המצע. תוספת של אנטיביוטיקה מסוג פניצילין (100 מג/ל) תרמה גם כן לעלייה בכמות ומס' טיפוסים הפטריות שהתפתחו על המצע. מתוך 117 מושבות חשודות, שבודדו ונוקו- 17 רוצפו וזוהו

על פי מקטע ITS1/5.8S /ITS2 (טבלה 1). 9 מינים מתוכם משוייכים לפטריות פתוגניות שוכנות גזע. נראית כי מספר המינים המשוייכים למחלות גזע שזוהו בקיץ גדול יותר לעומת מספר המינים שזוהו. יש לבחון נקודה זו בהמשך.

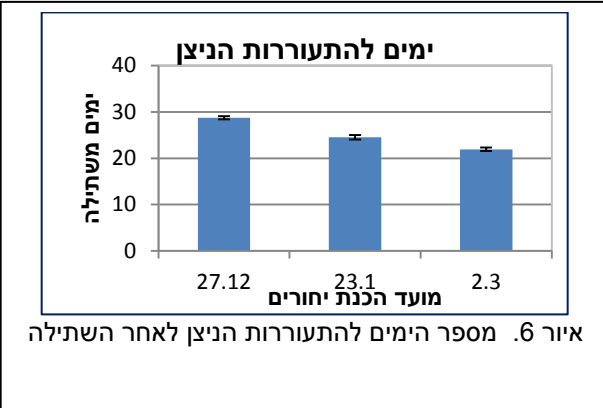
טבלה 1. מיני פטריות שהתפתחו מנבגים שנלכדו במלכודת נבגים

מספר תבדיד	מין עפ ריצוף	מועד בידוד	אורך הרצף	query cover	אחוז התאמה בריצוף	accession number	דווח בהקשר למחלות גזע בגפן (רפרנס)
	<i>Alternaria ventricosa</i>	מאי	1050	53	99	KM454880.1	
	<i>Bothryosphaeria stevensi</i>	מאי	880	60	75	DQ458887.1	ן ( van Niekerk et al 2006)
M17	<i>Cladosporium sp.</i>	דצמבר	714	62	96	HE608787.1	לא
M21	<i>Dendrothyrium varisporum</i>	דצמבר	747	47	99	NR145165.1	לא
M57	<i>Eutypa leptoplaca</i>	מאי	389	90	99	KX881589.1	ן (Trouillas & Gubler 2004)
M53, 58	<i>Eutypa tetragona</i>	אוקטובר	389	90	99	KX881589.1	ן (Trouillas & Gubler 2004)
M18	<i>Hormonema viticola</i>	דצמבר	976	78	99	NR137620.1	לא
M76,78	<i>Kalmusia sp</i>	יוני	548	95	99	MG065740.1	ן (Lendarić 2016)
M67	<i>Kalmusia varisporia</i>	יוני	547	97	99	MG065740.1	ן (Lendarić 2016)
M10	<i>Microdiplodia sp.</i>	דצמבר	539	96	99	KC963954.1	ן (Bruez et al. 2014)
	<i>paraphaeosphaeria sp</i>	יוני	578	95	97	JX496091.1	לא
M15	<i>Paraconiothyrium variable</i>	דצמבר	580	96	99	JX496118.1	לא
T182	<i>Phoma medicagensis</i>	מאי	1209	76	92	LN827697.1	לא
M41	<i>Scopulariopsis sp.</i>	פברואר	614	94	99	LN850790.1	לא
M14	<i>Seimatosporium vitis</i>	דצמבר	349	100	93	KU21882.1	ן ( Váczy 2017 )

**משימה 3: השפעת מועד הכנת יחורים על שיעור ההשרשה ושיעור ההדבקה בפטריות אסקה**

מאחר ושנת המחקר החלה במרץ, ניסוי זה עדיין לא הסתיים והתוצאות המדווחות הן חלקיות. סיכום מלא של הניסוי ידווח בדוח שנה ב של המחקר. היחורים שהודבקו היו בעלי מבנה אחיד: כל יחור הכיל 2 פרקים באורך כולל של 10 סמ (איור 5). כל היחורים התעוררו ללא קשר למועד השתילה. במועד הראשון השני והשלישי הניצנים התעוררו לאחר כ-29, 24 ו-21 יום משתילה, בהתאמה (איור 6). נקודת ההדבקה נעשתה בחלק העליון של היחור, המדמה את פצע הזמירה (איור 5).





## דין

הבעיה המרכזית איתה התמודדנו בשנת המחקר הראשונה היתה להתגבר על קשיים טכניים הקשורים לכידת נבגים של פטריות אסקה. על אף המאמצים הרבים, לא הצלחנו לזהות נבגים הקשורים לפטריות האסקה. הקושי בלכידת נבגים של PCH ו PAL מדווח גם בספרות (Ggramaje et al. 2018). רק ב2 מתוך 13 עבודות המתארות לכידת נבגים המעורבים במחלות גזע בגפן, מדווח על לכידת על נבגים של פטריות המעורבות בתופעת האסקה. יתר על כן Edwards et al (2001) מסבירים את הסיבה לחוסר הצלחה בתנאים השוררים בכרם ובאופן שחרור הנבגים מתוך גופי הפרי. לפיכך, יתכן, שיש לבחון האם מתפתחים גופי פרי מיניים בתנאי הכרם בישראל. בקליפורניה באיזור של גשמי קיץ הצליחו החוקרים ללכוד נבגי PAL ו PCH (Eskalen & Gubler 2001). לעומת זאת, באוסטרליה המאופיינת בחורף מתון, לא הצליחו החוקרים ללכוד את הנבגים (Edwards et al 2001).

אחת הבעיות המרכזיות איתה התמודדנו היתה מניעת התפתחות של מושבות שמרים שמיסכו את התפתחות הנבגים האחרים. תוספת חומרי הדברה למצע הקטינה את מספר המושבות, אך המצע הטוב ביותר מבחינת התפתחות השמרים בהשוואה לשאר המושבות היה  $\frac{1}{4}$  PDA בתוספת אנטיביוטיקה. בניסויים הקדמיים מצאנו כי נבגי PAL או PCH לא מתפתחים בנוכחות מושבות שמרים. השאלה האם זו הסיבה לחוסר הצלחה נבדקת על ידנו כחלק מהמחקר. מאידך, העובדה שהצלחנו להדביק את הזמורות באופן מלאכותי, מאפשרת המשך המחקר בבדיקת ישום חומרי הדברה על פצעי הזמירה. מאחר ובודדנו פטריות אסקה מאיזורי החמה בקצות פצעי זמירה (נאור וזהבי, 2017), אנו מניחים כי הדבקה בפטריות אסקה מתרחשת גם בתנאי ישראל. נקודה זו אנו מבררים כעת.

נאור ו, זהבי ת. (2017). תופעת האסקה בכרם אתילולוגיה והדברה 2014-2016. דוח מסכם למועצת גפן מאכל.

Agustí-Brisach, C., León, M., García-Jiménez, J., & Armengol, J. (2015). Detection of grapevine fungal trunk pathogens on pruning shears and evaluation of their potential for spread of Infection. *Plant Disease*, 99:976-981.

Aroca, A., & Raposo, R. (2007). PCR-based strategy to detect and identify species of *Phaeoacremonium* causing grapevine diseases. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(9), 2911-2918.

Aroca, A., Raposo, R., & Lunello, P. (2008). A biomarker for the identification of four *Phaeoacremonium* species using the  $\beta$ -tubulin gene as the target sequence. *Applied microbiology and biotechnology*, 80(6), 1131-1140.

Bruez, E., Vallance, J., Gerbore, J., Lecomte, P., Da Costa, J. P., Guerin-Dubrana, L., & Rey, P. (2014). Analyses of the temporal dynamics of fungal communities colonizing the healthy wood tissues of esca leaf-symptomatic and asymptomatic vines. *PLoS One*, 9(5), e95928.

Díaz, G. A., & Latorre, B. A. (2013). Efficacy of paste and liquid fungicide formulations to protect pruning wounds against pathogens associated with grapevine trunk diseases in Chile. *Crop Protection*, 46:106-112.

Edwards J., Pascoe I., Daryl J., Cottral E., Taylor P., Lardner R., Scott E., Creaser M., Sosnowski M., Wicks T., Wiechel T., Cole M. (2003). Managing Grapevine Trunk Diseases (Petri Disease, Esca, Eutypa Dieback and Others) That Threaten The Sustainability Of Australian. *Viticulture. Report of the Cooperative Research Centre for Viticulture*. pp 55.

Edwards, J. & Pascoe, I. G. (2004). Occurrence of *Phaeoacremonium chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* associated with Petri disease and esca in Australian grapevines. *Australasian Plant Pathology*, 33(2), 273-279.

Edwards, J., Laukart, N. & Pascoe, I. G., (2001). In situ Sporulation of *Phaeoacremonium chlamydospora* in the Vineyard. *Phytopathologia Mediterranea*, 40(1), 61-66.

Eskalen, A., & Gubler, W. D. (2001). Association of Spores of *Phaeoacremonium chlamydospora*, *Phaeoacremonium inflatipes*, and *Pm. aleophilum* with Grapevine Cordons in California. *Phytopathologia Mediterranea*, 40(3), 429-431.

Gramaje, D., Úrbez-Torres, J. R., & Sosnowski, M. R. (2018). Managing Grapevine Trunk Diseases With Respect to Etiology and Epidemiology: Current Strategies and Future Prospects. *Plant Disease*, 102(1), 12-39.

Larignon, P. & Dubos, B. (1997). Fungi associated with Esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*, 103:147-157.

Laveau, C., Letouze, A.N., Louvet, G.W., Bastien, S.Y. & Guerin-Dubrana, L.U. 2009. Differential aggressiveness of fungi implicated in Esca and associated diseases of grapevine in France. *Phytopathologia Mediterranea*, 48:32-46.

Lendarić, J. (2016). *Molecular identification of fungus isolated from diseased grapevine in Croatia. Doctoral dissertation, University of Zagreb, Department of Plant Pathology.*

Mostert, L., Halleen, F., Fourie, P., & Crous, P. W. (2006). A review of *Phaeoacremonium* species involved in Petri disease and esca of grapevines. *Phytopathologia Mediterranea*, 45(4), 12-29.

.

Rolshausen, P. E., et al. "A reassessment of the species concept in *Eutypa lata*, the causal agent of *Eutypa* dieback of grapevine." *Phytopathology* 96.4 (2006): 369-377.

Serra, S., Mannoni, M. A., & Ligios, V. (2009). Studies on the susceptibility of pruning wounds to infection by fungi involved in grapevine wood diseases in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 47(3), 234-246.

Trouillas F. & Gubler, W. (2004). Identification and characterization of *Eutypa leptoplaca*, a new pathogen of grapevine in Northern California. *Mycological Research*, 108(10), 1195-1204.

Váczy, K. Z. "First report of *Seimatosporium vitis* associated with grapevine trunk disease symptoms in Hungary. (2017). *Plant Disease* 101(1):253.

van Niekerk, J. M., Calitz, F. J., Halleen, F., & Fourie, P. H. (2010). Temporal spore dispersal patterns of grapevine trunk pathogens in South Africa. *European Journal of Plant Pathology*, 127(3), 375-390.

van Niekerk, J. M., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., Fourie, P. H., & Halleen, F. (2004). DNA phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeria* species on grapevines. *Mycologia*, 96(4), 781-798.

van Niekerk, J. M., Fourie, P. H., Halleen, F., & Crous, P. (2006). *Botryosphaeria* spp. as grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 45(4), 43-54