

Značajne viroze i bakterioze oraha (*Juglans regia* L.)

Kordovan, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:345747>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

ZNAČAJNE VIROZE I BAKTERIOZE ORAHA
(Juglans regia L.)

DIPLOMSKI RAD

Ana Kordovan

Zagreb, srpanj 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Fitomedicina

ZNAČAJNE VIROZE I BAKTERIOZE ORAHA
(Juglans regia L.)

DIPLOMSKI RAD

Ana Kordovan

Mentor:

prof. dr. sc. Edyta Đermić

Zagreb, srpanj 2023.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Ana Kordovan**, JMBAG 0178114983, rođena 01.09.1998. u Požegi, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

ZNAČAJNE VIROZE I BAKTERIOZE ORAHA (*Juglans regia* L.)

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Ane Kordovan**, JMBAG 0178114983, naslova

ZNAČAJNE VIROZE I BAKTERIOZE ORAHA (*Juglans regia* L.)

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|----------------------------------|--------|-------|
| 1. | Prof. dr. sc. Edyta Đermić | mentor | _____ |
| 2. | Prof. dr. sc. Boris Duralija | član | _____ |
| 3. | Izv. prof. dr. sc. Darko Vončina | član | _____ |

Zahvala

Ovime zahvaljujem svim profesorima čije me znanje potaknulo na detaljno obrađivanje ove teme i izradu diplomskoga rada.

Posebno želim zahvaliti mentorici prof. dr. sc. Edyti Đermić koja mi je pomogla u ostvarenju ovoga rada i stručno me usmjeravala tijekom njene izrade.

Također zahvaljujem svima koji su vjerovali u mene i uz čiju sam pomoć ostvarila svoje ciljeve.

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Orah (<i>Juglans regia</i> L.).....	2
2.1. Ekonomski značaj i rasprostranjenost	2
2.2. Morfologija.....	4
2.3. Primjena i korisnost	7
3. Biljna virologija	8
3.1. Osnovne značajke virusa	8
3.2. Prijenos biljnih virusa i simptomi viroza.....	9
3.3. Prevencija i zaštita od viroza	9
4. Virus uvijenosti lista trešnje (<i>Cherry leaf roll virus</i> , CLRV).....	10
4.1. Osnovne značajke	10
4.2. Epidemiologija.....	10
4.3. Simptomatologija.....	11
4.4. Mjere zaštite	12
5. Biljna bakteriologija.....	13
5.1. Osnovne značajke bakterija	13
5.2. Prijenos fitopatogenih bakterija i simptomi bakterioza	14
5.3. Prevencija i zaštita od bakterioza	15
6. <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>juglandis</i>	16
6.1. Osnovne značajke	16
6.2. Epidemiologija.....	16
6.3. Simptomatologija.....	17
6.4. Mjere zaštite	19
7. Bakterije iz roda <i>Brenneria</i>	21
7.1. <i>Brenneria nigrifluens</i>	21
7.1.1. Osnovne značajke.....	21
7.1.2. Epidemiologija	22
7.1.3. Simptomatologija	22
7.2. <i>Brenneria rubrifaciens</i>	23
7.2.1. Osnovne značajke.....	23
7.2.2. Epidemiologija	24
7.2.3. Simptomatologija	24

7.3. Mjere zaštite	26
8. <i>Rhizobium radiobacter</i>	27
8.1. Uzročnik	27
8.2. Epidemiologija.....	28
8.3. Simptomatologija.....	29
8.4. Mjere zaštite	29
9. Zaključna razmatranja.....	32
Životopis.....	40

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Ane Kordovan**, naslova

ZNAČAJNE VIROZE I BAKTERIOZE ORAHA (*Juglans regia* L.)

Orah je najvažnija lupinasta voćka umjerene klime u svijetu zbog svoje prilagodljivosti okolišnim uvjetima. Osim toga većina dijelova stabla iskoristiva je za potrebe ljudi. Široko rasprostranjen, orah je čest domaćin patogenim organizmima poput virusa i bakterija. Virozu, koja se pojavljuje na orahu, internacionalnog naziva „*Blackline disease*“, uzrokuje Virus uvijenosti lista trešnje (*Cherry leaf roll virus*, CLRV). Najznačajnije bakterioze oraha su bakteriozna crna pjegavost oraha (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*), bolesti uzrokovane bakterijama *Brenneria nigrifluens* te *Brenneria rubrifaciens* i bakteriozni rak korijena i korijenova vrata oraha (*Rhizobium radiobacter*). Štetnost tih organizama predstavlja velik ekonomski problem jer uzrokuju odumiranje biljnih dijelova te iscrpljivanje biljke uslijed čega se smanjuje ukupan prirod. Kako bi se spriječile štete i osigurao dobar prirod primjenjuje se integrirana zaštita bilja koja uključuje agrotehničke, mehaničke, fizikalne, biološke te kemijske mjere zaštite.

Ključne riječi: orah, virusi, bakterije, štetnost, zaštita bilja

Summary

Of the master's thesis – student **Ana Kordovan**, entitled

IMPORTANT VIRAL AND BACTERIAL DISEASES OF WALNUT *(Juglans regia L.)*

Walnut is the most important nut of global temperate zone due to its adaptability to environmental conditions. Additionally, human utilize most parts of the tree. Widely distributed, walnut is a common host to pathogenic organisms such as viruses and bacteria. The viral disease that occurs in walnuts, commonly known as "Blackline disease", is caused by *Cherry leafroll virus* (CLRV). The most significant bacterial diseases of walnut include Walnut blight (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*), diseases caused by bacteria *Brenneria nigrifluens* and *Brenneria rubrifaciens*, and Crown gall (*Rhizobium radiobacter*). The harmfulness of these organisms brings a significant economic problem as they cause the decline of plant parts and depletion of the plant, resulting in reduced overall fruit yield. To prevent damage and ensure a good yield, integrated plant disease management measures are implemented, including agrotechnical, mechanical, physical, biological and chemical control methods.

Keywords: walnut, viruses, bacteria, damage, plant protection

1. Uvod

Orah (*Juglans regia* L.) je jedna od najuzgajanijih voćarskih kultura u svijetu, pa tako i u Hrvatskoj. U 2021. godini Kina je s 1 100 000 tona proizvedenog oraha u ljusci globalno bila vodeća zemlja po proizvodnji ploda oraha, a iza nje su USA, Iran, Turska i Chile (FAOSTAT, 2023.). Orahova prilagodba prema okolišnim čimbenicima, kao i mogućnost upotrebe plodova i zelenih tkiva za prehrambene, farmaceutske te kozmetičke svrhe, učinile su ga jednom od najtraženijih kultura. Martinez i sur. (2010.) opisali su pozitivan učinak konzumacije ploda oraha na ljudsko zdravlje, posebno na kardiovaskularni sustav, a nedugo za njima Taha i Al-wadaan (2011.) dokazali su značajna antibakterijska, antifungalna i antivirusna svojstva ekstrakata lišća i ljusaka ploda.

S obzirom na sve zastupljeniji uzgoj oraha, potrebno je skrenuti pažnju na razne biljne bolesti, posebice viroze i bakterioze, koje uvelike mogu smanjiti prirod ili čak uništiti biljku, a kod ove kulture im se često ne poklanja opravdana pažnja. Viroze su bolesti uzrokovane parazitskim mikroorganizmima - virusima (Walkey, 1991.). Zaraza ovim sitnim organizmima je lako ostvariva zbog raznih načina na koje se mogu prenositi. Prijenos je često pasivan putem sjemena, polena te zaraženih alata koji se koriste prilikom ubiranja plodova, orezivanja i drugih agrotehničkih zahvata u nasadu. Nakon što virusi uđu u tkivo domaćina, umnožavaju se i pojedini dolaze u provodni sustav biljke, nakon čega se zaraza počinje širiti biljkom (Vukadinović, 2020.). Preventivne mjere i pravovremena identifikacija patogena jedini su načini zaštite od virusnih bolesti. Izrazito značajna viroza uočena na orahu naziva se bolest crne linije (engl. *blackline disease*), a njezin uzročnik je *Cherry leaf roll virus*.

Bakterioze uzrokuju nešto krupniji mikroorganizmi od virusa - bakterije. Bakterije su jednostanični prokariotski organizmi raznih oblika i veličina. Prijenos bakterija također se odvija pasivno, putem insekata, vodom i vjetrom, a nakon što patogen dospije unutar domaćina bakterijske stanice se dijele, populacija naglo raste a zaraza unutar biljke se rapidno širi. Simptomi se razlikuju ovisno o vrsti bakterijskog patogena te domaćina kojeg zaražava, a mnoge bakterije dodatno izlučuju enzime i toksine kojima sprječavaju normalan razvoj biljke (Cooper, 2006.). Preventivne mjere i pravilna dijagnostika igraju veliku ulogu u sprječavanju razvoja velikih šteta ali ako se simptomi pojave, pokušava se razvoj zaraze držati pod kontrolom uz pomoć faktora integrirane zaštite bilja. Među najznačajnijim bakteriozama oraha spominju se bakterijska crna pjegavost (čiji je uzročnik bakterija *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*), zatim bolesti uzrokovane bakterijskim vrstama *Brenneria nigrifluens* i *Brenneria rubrifaciens* te bakterijski rak korijena i korijenova vrata oraha koju uzrokuje bakterija *Agrobacterium tumefaciens*.

Svaka od spomenutih bolesti uzrokuje velike štete na vegetativnim i generativnim organima oraha stoga je vrlo bitno temeljito proučiti spomenute patogene organizme te simptome i štete koje prouzrokuju te pravilne mjere zaštite.

Cilj ovog diplomskog rada je istražiti i analizirati značajne viroze i bakterioze koje se javljaju na orahu te temeljem pregleda recentne literature sistematizirati spoznaje o njima. Razumijevanjem ovih bolesti, njihovih uzroka, simptoma i potencijalnih fitomedicinskih strategija želi se pružiti korisne uvide u preventivne i kontrolne mjere koje se mogu poduzeti kako bi se pokušalo orah zaštititi od razornih učinaka ovih bolesti.

2. Orah (*Juglans regia* L.)

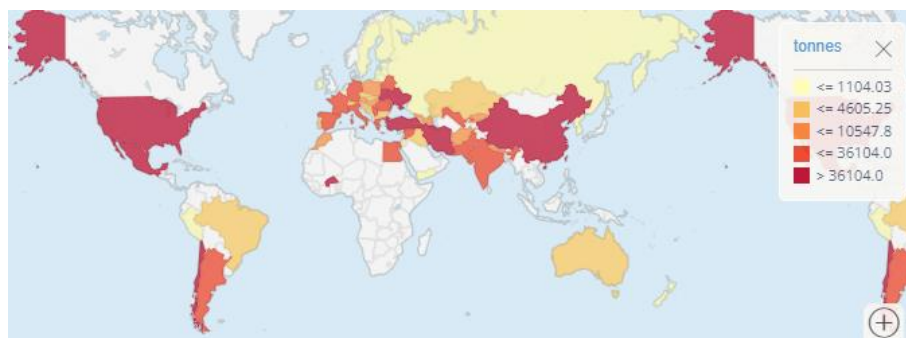
Običan orah, perzijski orah, pitomi orah, europski orah, orah te mnogo drugih naziva podrazumijevaju listopadno stablo vrste latinskoga naziva *Juglans regia* L. Orah pripada u biljke kritosjemenjače, dvosupnice reda Juglandales, porodice Juglandaceae, rod *Juglans* (Plantea.com).

Fokus ovoga rada je na pitomom orahu koji je na području Hrvatske najčešći. Uzgoj pitomog oraha prevladava u kontinentalnoj i mediteranskoj klimi dok su vrste poput brazilskog, indijskog i kokosovog oraha zastupljene u tropima i suptropima (Duralija, 2018.). Orahova prilagodljivost te velika rodnost čine ga jednom od poželjnijih drvenastih kultura. No ipak, idealni uvjeti za njegov rast su vlažno tlo s dobrom drenažom, mnogo svjetla te umjerene temperature zraka (Mcgranahan i Leslie, 2012.). Pogoduju mu blage padine koje ne zadržavaju hladan zrak, a uglavnom se u intenzivnim voćnjacima sade sorte s lateralnim tipom rodnosti jer daju veće prirode od onih s terminalnim tipom rodnosti (Solar, 2018.).

2.1. Ekonomski značaj i rasprostranjenost

Orah potječe iz Azije, sa zapadnog himalajskog lanca te iz Kirgistana, a kasnije se, upravo zbog njegove prilagodljivosti na različite ekološke uvjete, rasprostranio svugdje po svijetu (Martinez i sur., 2010.). U Europu, orah je introducirano još davne 1000. godine prije Krista, a da ga je tamo donio čovjek otkriva Bottema (1980.) u svojem radu „O povijesti oraha u jugoistočnoj Europi“ gdje objašnjava kako je ta tvrdnja potkrijepljena mikro i makro-subfosilima.

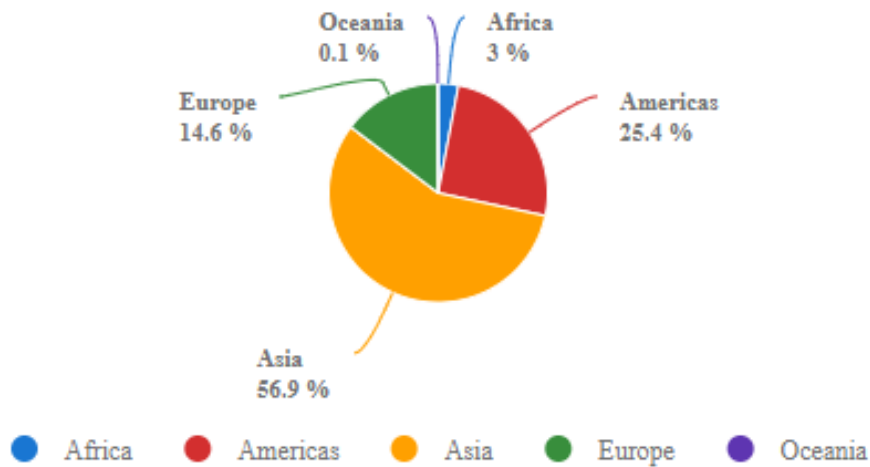
Prema FAOSTAT-u vodeća zemlja u proizvodnji oraha u ljusci na svijetu u 2021. godini bila je Kina s 1 100 000 tona. Iza Kine najveću proizvodnju imale su USA (sa 657 710 t oraha), Iran (386 976.51 t), Turska (325 000 t), Chile (148 000 t), a za njima slijede Burkina Faso, Mexico, Ukrajina itd. Hrvatska se nalazi među zadnjim zemljama navedenim u FAOSTAT tablici s proizvedenih 170 t oraha u ljusci u 2021. godini. Na Slici 1. vidljiv je prikaz prosjeka proizvodnje u zemljama svijeta između 1994. i 2021. godine. Crvenom bojom su označene vodeće zemlje u proizvodnji ploda oraha.



Slika 1. Prikaz prosjeka proizvodnje oraha u svijetu u periodu 1994.-2021. god.

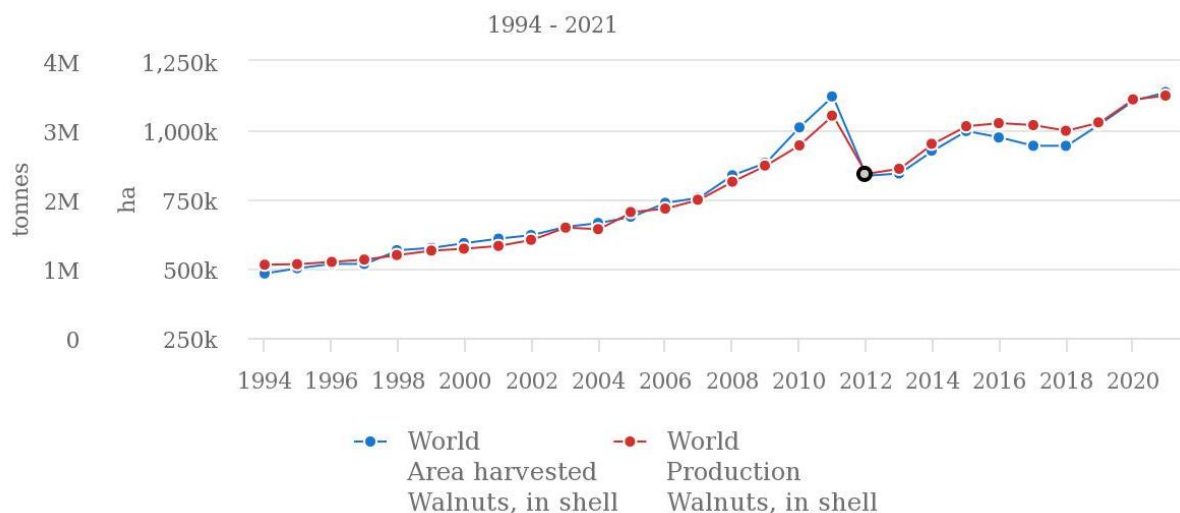
Izvor: FAOSTAT <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> - Pristup 30.4.2023.

Prema tim informacijama zaključak je da se većina cjelokupne proizvodnje oraha u svijetu odvija u Aziji, čak 56.9%, zatim u Americi (25.4%), pa u Europi (14.6%) (Graf 1.)



Graf 1. Distribucija proizvodnje oraha po kontinentima (1994.-2021. g.).
Izvor: FAOSTAT <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> - Pristup 30.4.2023.

Na Grafu 2. prikazani su urodi u globalnoj proizvodnji oraha. Uočava se kako se prirod postupno povećavao kroz godine od 1994. do 2021., međutim, u razdoblju između 2011. i 2012. godine došlo je do njegova pada, a od tada pa do danas ukupan urod ponovo raste.



Graf 2. Prirod oraha u svijetu 1994.-2021. god.
Izvor: FAOSTAT <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> - Pristup 30.4.2023.

2.2. Morfologija

Stablo oraha (Slika 2.) raste do visine 30 m, a krošnja mu je razgranata i bujna (Medved, 2021.).



Slika 2. Stablo oraha.

Izvor: <https://www.arbolapp.es/en/species/info/juglans-regia/> - Pristup 30.4.2023.

Korijenov sustav oraha razvijenog iz sjemena ili cijepljenog na sjemenjak sastoji se od duboke žile srčanice te mnoštva postranog korijenja.

Kora stabla sive je boje s uzdužnim svijetlim prugama. Glatka je, a kasnije kada biljka postane starija na kori se pojavljuju brazde (Slika 3.) (Medved, 2021.).



Slika 3. Kora na stablu oraha.

Izvor: <https://plants.ces.ncsu.edu/plants/juglans-regia/> - Pristup 30.4.2023.

Izbojci su zelenosmeđi sa svijetlim lenticelama te debeli i valjkasti, a na njima se nalaze pupovi koji su zavojito raspoređeni (Slika 4.) (Medved, 2021.).



Slika 4. Izbojak s pupovima.

Izvor: <https://plants.ces.ncsu.edu/plants/juglans-regia/> - Pristup 30.4.2023.

Listovi su neparno perasti, sastavljeni od 5 do 9 liski duguljastog oblika te su posloženi naizmjenično, dugi su do 30 centimetara (Slika 5.). Liske su duge 5-15 cm, a široke oko 5 cm, zaobljene su i cjelovite, a na vrhu ušiljene (Medved, 2021.).



Slika 5. Listovi oraha.

Izvor: <https://silvercreeknursery.ca/products/english-walnut> - pristup 30.4.2023 - Pristup 30.4.2023.

Biljka je jednodomna što znači da se na stablu oraha nalaze i muški i ženski cvjetovi koji su jednospolni, pa su tako muški cvjetovi zelene rese, duljine oko 10 centimetara, koje se nalaze na prošlogodišnjim izbojcima. Ženski cvjetovi se nalaze na vrhovima ovogodišnjih izbojaka, a mogu biti pojedinačni ili u skupinama od 2 do 4 cvijeta. Muški i ženski cvjetovi cvatu ovisno o sorti u travnju i svibnju (Slika 6.) (Medved, 2021.).



Slika 6. Muški i ženski cvjetovi.

Izvor: <https://www.istockphoto.com/photo/flower-of-walnut-gm492500053-40191382> - pristup 30.4.2023 - Pristup 30.4.2023.

Plod je smeđa koštunica koja oko sebe ima zelenu okruglu ovojnica ili mezokarp, koji dozrijevanjem posmeđi. Unutar koštunice nalazi se sjemenka svijetlosmeđe do žućkastobijele boje, naborana je, ali izrazito hranjiva te visoke nutritivne vrijednosti pa se zato u velikim količinama koristi u razne svrhe (Slika 7.). Veličine je od 3 do 5 cm (Plantea.com). Plod dozrije tijekom rujna i listopada (Medved, 2021.).



Slika 7. Plod oraha.

Izvor: <https://plants.ces.ncsu.edu/plants/juglans-regia/> - Pristup 30.4.2023.

2.3. Primjena i korisnost

Visok udio proteina i ulja u plodu rezultirali su njegovom svakodnevnom uporabom kod ljudi diljem svijeta. Orah je, zbog njegove koristi u ljudskoj ishrani, stavljen na FAO listu prioriternih biljaka (Taha i Al-wadaan, 2011.). Osim proteina i ulja, u plodu oraha mogu se pronaći i vitamini, minerali, flavonoidi, polifenoli i još mnogo ljudima korisnih tvari. Fenolni spojevi nemaju nutritivne vrijednosti, međutim zbog svojih antioksidativnih, protuupalnih i antimutagenih svojstava bitan su faktor za ljudsko zdravlje. Mnoga istraživanja provodila su se kako bi se proučila korisnost oraha za zdravlje ljudi pa je tako otkriveno da konzumiranje ploda oraha snižava razinu LDL-a tj. tzv. „lošeg kolesterola“, a da ima pozitivan učinak na HDL tj. tzv. „dobar kolesterol“. Neki izvori navode kako ima i dobar utjecaj na kardiovaskularni sustav kod ljudi (Martinez i sur., 2010.).

Da nisu korisni samo plodovi već skoro svi dijelovi biljke, u svom su radu pokazali Taha i Al-wadaan (2011.) kada su opisali antibakterijska, antifungalna i antivirusna svojstva oraha ekstrakcijom spojeva iz listova, kore te mezokarpa ploda. Vodeni ekstrakti dobiveni iz listova, kore i zelene ovojnice ploda imaju visoka antibakterijska svojstva protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija poput *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* itd. Također je utvrđeno kako takve iscrpine listova i kore imaju antifungalna svojstva protiv patogenih mikrogljiva *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium canis* i *Trichophyton mentagrophytes*, dok vodeni ekstrakti zelene ljuske ploda nisu imali antifungalni učinak na *Candida albicans* i *Cryptococcus neoformans*. Ekstrakt listova u 95%-tnom etanolu i etil-acetatu spriječio je zarazu Virusom mozaika duhana.

Osim na pozitivna svojstva, pažnju treba obratiti i na njegova loša svojstva. Orah u biljnim organima, poput korijena i listova, sadrži spoj hidrojuglon koja u dodiru s kisikom oksidira u toksični juglon. Ako juglon dospije u tlo putem korijenja ili otpalog lišća može uzrokovati venuće i odumiranje biljaka koje rastu oko stabla oraha. Kako bi se to spriječilo bitno je redovito sakupljati lišće koje padne s grana te izbjegavati sadnju osjetljivih biljaka u blizini oraha (Celing Celić, 2019.).

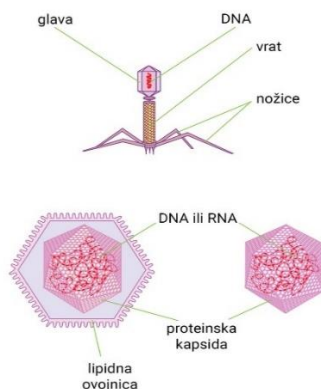
Juglon u dodiru s keratinom u koži čovjeka formira sklerojuglonske komponente koje štite protiv UV zračenja i pomažu pri tamnjenju pa se vodena ekstrakcija zelenih ljuski oraha često koristi i za izradu preparata za tamnjenje kože. Ulje oraha koristi se u kremama za njegu lica, a njegovi ekstrakti sprječavaju upale, oksidativne štete te pojavu tumora (Archoo i sur., 2022.).

3. Biljna virologija

Stotinjak godina prije današnjih saznanja, simptomi uzrokovani virusima pripisivali su se bakterijskim bolestima biljaka i raznim drugim bolestima koje uzrokuju ostali mikroorganizmi koji parazitiraju na biljkama. Prvi zapisi o simptomima za koje danas znamo da ih uzrokuju virusi, spominju bjesnoću kod pasa (opisao ju je Aristotel), velike boginje i dječju paralizu. Bolest za koju se zna da se često pojavljivala na biljkama bila je uzrokovana Virusom šarenila cvijeta tulipana. Nju je prvi puta 1576. god. opisao Carolius Clusius, a tek je 1928. g. definirana kao virusna bolest. U međuvremenu, mnogo je znanstvenika pokušavalo otkriti i identificirati uzročnika raznih bolesti koje su se pojavljivale, ali tek je 1894. god. ruski botaničar Dimitrij Ivanovski došao do velikog otkrića. Proučavao je i danas prisutnu i poznatu mozaičnu bolest duhana (VMD) koju uzrokuje Virus mozaika duhana (TMV). Propuštanjem biljnog soka kroz filter nepropustan za bakterije i veće mikroorganizme, dokazao je kako uzročnik VMD-a nije bakterija jer je filtrirani biljni sok nakon filtracije ostao infektivan. Taj eksperiment ponovio je Martinus William Beijerinck 1898. god. te je uzročnika VMD-a nazvao „*contagium vivum fluidum*“ odnosno „zarazna živa tekućina“. Prvo pravo spominjanje termina „virusi“ dogodilo se 1904. god. kada su Beijerinck i Bayer opisali virus šarenila vrsta iz roda *Abutilon* ili sobni javor. Prije toga naziv „virus“ koristio se kao sinonim za bakterije (Bagi i sur., 2016.).

3.1. Osnovne značajke virusa

Virusi su ekstremno mali, obligatno parazitski, patogeni organizmi koji uzrokuju bolesti zvane viroze (Walkey, 1991.). Veličina virusa može varirati, pa tako manji virusi imaju volumen oko $2 \times 10^4 \text{ nm}^3$, virusi srednjeg volumena su oko $2 \times 10^{13} \text{ nm}^3$, a virusi koji se smatraju velikima imaju volumen od oko $6 \times 10^5 \text{ nm}^3$ (Matthews, 1992.). Zbog svoje sitne građe virusi su vidljivi samo pod elektronskim mikroskopom (Vukadinović, 2020.). Na Slici 8. prikazana je struktura virusa. Virusi se sastoje od infektivne nukleinske kiseline (DNA ili RNA koja prenosi njegove genetske informacije), proteinskog omotača (štiti nukleinsku kiselinu) te lipidne ovojnice koju virus uobičajeno „posuđuje“ od nekog staničnog izvora. (Matthews, 1992.).



Slika 8. Struktura virusa.

Izvor: <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/074ffbb3-a1b7-4fe1-9f4a-1ea3539d642d/biologija-1/m02/j08/index.html> - Pristup 4.5.2023.

Biljni virusi, za razliku od animalnih virusa, rijetko kada sadrže vanjsku ovojnica građenu od fosfolipida i proteina. Proteinska ovojnica pomaže animalnim virusima zaraziti stanice domaćina (Vukadinović, 2020.). Virusi mogu biti štapićasti, izometrični ili baciliformni, ali najčešće su štapićastog oblika (Walkey, 1991.).

Često se postavlja pitanje jesu li virusi živi ili neživi, a jedini zaključak je da imaju karakteristike obaju svjetova. Živim organizmima se mogu smatrati jer kontroliraju svoju replikaciju, imaju funkcionalni genetički sustav i vrlo se lako prilagođavaju raznim uvjetima i domaćinima. Ipak, nemaju klasičnu staničnu građu živih organizama pa se kao takvi ne mogu smatrati potpuno živima (Wilson, 2014.).

3.2. Prijenos biljnih virusa i simptomi viroza

Virusi se prenose pomoću vektora životinjskog porijekla, kao što su insekti, grinje, nematode itd. Osim vektorima, zaraza se prenosi i mehaničkim putem - alatima prilikom ubiranja plodova, skidanja zaperaka ili orezivanja. Jedan od češćih načina prenošenja virusa u voćarstvu i vinogradarstvu je kalemljenjem, što dovodi do velikih ekonomskih gubitaka u poljoprivredi (Bagi i sur., 2016.). Ako se zaražena biljka razmnožava vegetativnim putem, lukovicama, izdancima, gomoljima, dobivene jedinice također će biti virotične. Isto tako, viroze se mogu širiti sadnjom zaraženog sjemena ili prenošenjem zaraženog polena.

Kako bi virusi ušli u tkivo domaćina potrebni su im barem sitni prolazi odnosno oštećenja stanične stijenke jer ne mogu proći kroz neoštećeno tkivo. Nakon ulaska u stanicu virus se umnožava te se zaraza širi na susjedne stanice putem plazmodezmija tj. kanala između stanica. Kako je takav sustav širenja zaraze vrlo spor, virusi koriste provodni sustav biljaka (floem), od tamo se premještaju u okolne stanice i zaraza se širi biljkom (Vukadinović, 2020.).

Simptomi zaraze na domaćinu variraju ovisno o vrsti zaraze i virusa te o domaćinu kojega parazitira. Na biljci može doći do neprimjetne zaraze bez vidljivih simptoma, a ponekad može doći i do potpune smrti biljke (Vukadinović, 2020.).

3.3. Prevencija i zaštita od viroza

Preventivne mjere koje se koriste kako bi se smanjila mogućnost zaraze virusima su uklanjanje cvjetova s voćnih vrsta u vrijeme kada se zaraženi polen prenosi vjetrom na ostala stabla u voćnjaku primjerice kao kod *Prunus necrotic ringspot* virusa. Isto tako, potrebno je saditi zdrav sadni materijal i koristiti čisto, certificirano sjeme (Bagi i sur., 2016.). Vektore koji prenose viruse potrebno je kontrolirati primjenom pesticida (uglavnom insekticida) te modificirati način sjetve, žetve i berbe. Osim toga vrlo je bitna pravovremena i točna identifikacija virusa te poznavanje načina njegova umnožavanja i unosa u domaćina.

Kemijski način suzbijanja virusa nije raspoloživ u praksi, međutim genetskim inženjeringom sve se više proizvode biljke otporne na mnoge patogene organizme (Vukadinović, 2020.).

4. Virus uvijenosti lista trešnje (*Cherry leaf roll virus, CLRV*)

Bolest oraha koju uzrokuje virus uvijenosti lista trešnje (*Cherry leaf roll virus, CLRV*) naziva se bolest crne linije (engl. *blackline disease*). Ta je bolest prvi puta spomenuta 1933. godine, kada se pojavila na perzijskom orahu, a neki izvori navode da se tada pojavila i na trešnji po kojoj je virus dobio ime (Büttner i sur., 2011.). Na području bivše Jugoslavije prvi put je identificiran na PMF-u u Zagrebu u uzorcima bazge iz Sarajeva (Štefanac, 1969.) Osim trešnje i oraha, virus ima mnogo domaćina na kojima uzrokuje štete, a na biljkama iz rodova *Prunus*, *Juglans* i *Olea* reguliran je kao nekarantenski (Bradarić, 2022.). Ovaj virus je prisutan i u Hrvatskoj i detaljno je proučavan na maslini (Godena i sur., 2016.). Osim šteta koje uzrokuju pri zarazi masline nađeno je da može utjecati na kvalitetu ekstradjevičanskih ulja (Godena i sur., 2012.). U Hrvatskoj je ovaj virus potvrđen i na višnji maraski (Ražov i sur., 2021.). Osim na spomenutim kulturama virus CLRV pojaviti se može i na drugim poljoprivrednim kulturama, korovima, grmlju itd. (Woo i sur., 2014.). Porodice biljaka u kojima CLRV ima domaćina, izuzev već spomenutih, su Amaranthaceae, Betulaceae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Oleaceae, Rosaceae, Solanaceae i mnoge drugi (Rodoni i sur., 2018.). Simptomi bolesti pojavili su se ne samo u Europi nego i Americi, Japanu, Novom Zelandu, Australiji, Kini, Čileu i Peru (Woo i sur., 2014.).

4.1. Osnovne značajke

Uzročnik bolesti oraha internacionalnog naziva „bolest crne linije“ (engl. *blackline disease*) je virus (Rodoni i sur., 2018.). Taj virus pripada u red Picornavirales, porodicu Comoviridae, rod *Nepovirus* koje se u literaturi često spominje kao nepovirusi. Naziv „nepovirus“ obično upućuje na to da se određeni virus prenosi nematodama, međutim takav prijenos za uzročnika ove bolesti oraha još uvijek nije otkriven (Bradarić, 2022.). U virologiji je u tijeku uvođenje potpuno nove nomenklature prema kojoj se ovaj virus naziva *Nepovirus trešnje* odnosno *Nepovirus avii* (ICTV, 2022.). Članovi ove skupine virusa sadrže genom sastavljen od dvije molekule RNA pozitivne polarnosti tj. smisla (+RNA). One su odvojeno inkapsulirane u izometrične virusne čestice veličine 28 nm (Woo i sur., 2014.). Obje molekule RNA potrebne su za realizaciju zaraze (Eastwell i sur., 2012.).

4.2. Epidemiologija

Prijenos virusa CLRV najčešći je zaraženim sjemenom i polenom, a da bi se to dogodilo uglavnom je potrebna ljudska interakcija (Rodoni i sur., 2018.). Osim ljudske interakcije, koja je samo posrednik u prijenosu polena s biljke na biljku, CLRV nema biološke prijenosnike. Za zarazu biljke domaćina neophodno je klijanje polena i oplodnja pa je raznim istraživanjima na temelju toga utvrđeno kako postoji velika biološka razlika između izolata virusa iz različitih domaćina. Upravo zbog toga postoji velika specifičnost i barijera kod prenošenja bolesti između biljnih vrsta na kojima virus parazitira (Rebenstorf i sur., 2006.). Virus se također često prenosi

cijepljenjem plemke na podlogu (Rodoni i sur., 2018.), a Bradarić (2022.) spominje najvažniji način na koji se virus prenosi, putem vegetativnog razmnožavanja biljaka. Pod vegetativnim razmnožavanjem biljaka podrazumijeva se razmnožavanje pomoću vegetativnih organa biljke, odnosno stabljike, listova i korijena. Takvim razmnožavanjem od roditeljske biljke nova će biljka biti genetički identična majčinskoj, te će i ona biti virotična (Bioteka, 2014.).

4.3. Simptomatologija

Simptomi se mogu razlikovati ovisno o domaćinu na kojem virus parazitira, te o klimatskim uvjetima u kojima biljka domaćin raste (Rodoni i sur., 2018.). Najizraženiji simptomi javljaju se na običnom orahu (*Juglans regia*) koji je cijepljen na podlogu *Juglans hindisii* „Paradox“. Takva stabla uglavnom odumiru, što je čest ishod na drvenastim kulturama. Mircetich i Rowhani (1984.) u svome su istraživanju pojasnili kako se nekroza kambija i floema javlja na mjestu cijepljenja zbog hipersenzitivne reakcije podloge Paradox. Kada se orah nalazi na vlastitom korijenu zaraza može biti latentna tj. pritajena, bez očitih simptoma (Bradarić, 2022.). Pscheidt i Ocamb (2023.a) prilikom zaraze ovim patogenom primijetili su i simptome poput usporenog rasta izdanaka i žućenja te ranog opadanja listova.

Na običnom orahu ovaj virus uzrokuje već spomenutu bolest „crne linije“. Simptomi ove bolesti pojavljuju se u vidu nekroza i crnih linija na kori debla, a pogotovo na mjestima gdje je plemka cijepljenja na podlogu. Takav primjer prikazan je na Slici 9.



Slika 9. Nekroza u formi crne linije na mjestu cijepljenja plemke na podlogu.

Izvor: <https://www.plantbiosecuritydiagnostics.net.au/app/uploads/2018/11/NDP-10-Cherry-leaf-roll-virus-cherry-and-walnut-strains-V2.pdf> - Pristup 2.4.2023.

Nekroza u obliku linije pogubna je za biljku jer uzrokuje gubitak vigora, odumiranje grana te naposljetku slabljenje i odumiranje cijelog stabla (Slika 10.; Rodoni i sur., 2018.).



Slika 10. Odumiranje stabla kao posljedica CLRV.

Izvor: <https://www.plantbiosecuritydiagnostics.net.au/app/uploads/2018/11/NDP-10-Cherry-leaf-roll-virus-cherry-and-walnut-strains-V2.pdf> - Pristup 2.4.2023.

4.4. Mjere zaštite

Prije primjene bilo kakvih mjera zaštite potrebno je identificirati uzročnika bolesti, pogotovo na onim jedinkama na kojima se simptomi zaraze nisu pojavili ili su manje očiti. Takva identifikacija obavlja se biokemijskim i molekularnim metodama koje uključuju serološku metodu ELISA te molekularnu detekciju koja se najčešće bazira na lančanoj reakciji polimerazom nakon obrnutog prepisivanja (RT-PCR) (Rodoni i sur., 2018.).

Potencijalan alat za razvijanje sorti otpornih na CLRV jest stvaranje genetički modificiranih biljaka iz somatskih embrija (Mir i sur., 2018.). S obzirom da takve sorte oraha još uvijek nisu dostupne, jedini načini da se spriječi zaraza virusom jest korištenje zdravog sadnog materijala i primjena raspoloživih prikladnih agrotehničkih mjera s ciljem izbjegavanja nastanka novih zaraza.

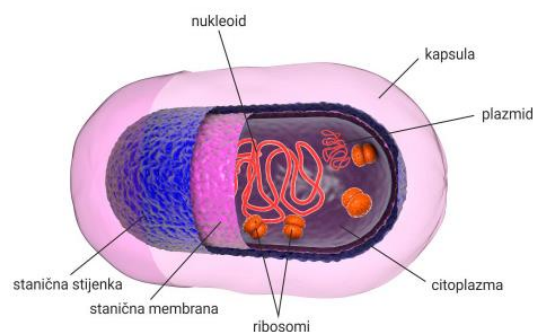
Ako se zaraza ipak pojavila potrebno je maknuti i uništiti sva zaražena stabla, a Pscheidt i Ocomb (2023.a) navode kako bi mjesta gdje su se stabla nalazila trebalo kemijski tretirati herbicidima kako bi se uništilo svo zaostalo korijenje. Takvo korijenje koje sadrži virusni inokulum može uzrokovati nastanak novih zaraza pa je njegovo uništavanje neophodno. U Fitosanitarom informacijskom sustavu Ministarstva poljoprivrede RH odnosno FIS (2023.) bazi ne navode se sredstva za kemijsku kontrolu *Cherry leaf roll virusa*.

5. Biljna bakteriologija

U 17. stoljeću dolazi do prvog otkrića bakterijskih mikroorganizama. Antony van Leeuwenhoek je, koristeći vrlo jednostavan mikroskop, otkrio sitne organizme u kišnici i u zubnim naslagama, a nazvao ih je „*animalcules*“. Tada se ti sitni organizmi još uvijek nisu povezivali s bolestima. Nakon prvog otkrića mnogo je znanstvenika provodilo pokuse vezane uz razna svojstva ovih organizama, međutim tek sredinom 19. stoljeća dolazi do slijedećeg velikog otkrića kada je francuski kemičar Louis Pasteur dokazao kako mikroskopski organizam kvasac uzrokuje fermentaciju vina pri čemu se šećer pretvara u alkohol. Nakon toga, proučavajući bolest dudovog svilca, otkrio je kako se mikrobi šire te postavio teoriju širenja bolesti temeljenu na upravo tim mikroorganizmima. Poslije spomenutih postignuća bilo je za očekivati ostvarivanje novih saznanja o bakterijama, pa su tako Robert Koch i L. Pasteur otkrili bakterijskog uzročnika bolesti antraks, a zatim i prevenciju njegove zaraze cijepljenjem oslabljenim bakterijama. To otkriće smatra se u medicini početkom preventivnog liječenja pomoću cjepiva. Godine 1882. Koch je otkrio da je bakterija uzročnik bolesti tuberkuloze, a tada je izrekao tzv. „Kochove postulate“ u kojima je postavio načela tehnike postizanja čiste bakterijske kulture (Simmons, 1980.). Tim postulatima opisao je kako bakteriju treba uzeti iz mjesta gdje uzrokuje bolest (domaćina), uzgojiti ju u čistoj kulturi, zatim u životinji razmnožiti bolest tj. bakteriju koristeći čistu kulturu te ponovo izolirati čistu kulturu bakterije iz namjerno zaražene životinje (Junior, 2016.). Godine 1929. Alexander Fleming je otkrio lijek koji uništava bakterije nazvan antibiotik – radi se o penicilinu kojeg proizvodi gljiva *Penicillium notatum* (Simmons, 1980.). To otkriće zaokružuje priču o bakteriozama ljudi, životinja i biljaka.

5.1. Osnovne značajke bakterija

Bakterije su jednostanični prokariotski organizmi. To znači da nemaju oblikovanu nukleinsku membranu koja okružuje nukleoid, odnosno nemaju pravu jezgru (Cooper, 2006.). Prosječna veličina stranica bakterija je oko 1 μm (Hrvatska enciklopedija, 2023.). Genetički materijal bakterije sastoji se pretežno od DNA. Bakterijska stanica je građena od citoplazme, nukleoida, plazmida, ribosoma, membrane, stanične stijenke te kapsule (Slika 11.) (Cooper, 2006.).



Slika 11. Građa bakterijske stanice.

Izvor: <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/5e7d944d-1bcf-4564-8ac8-1b0c0c6e1f32/biologija-2/m02/j02/index.html> - Pristup 8.5.2023.

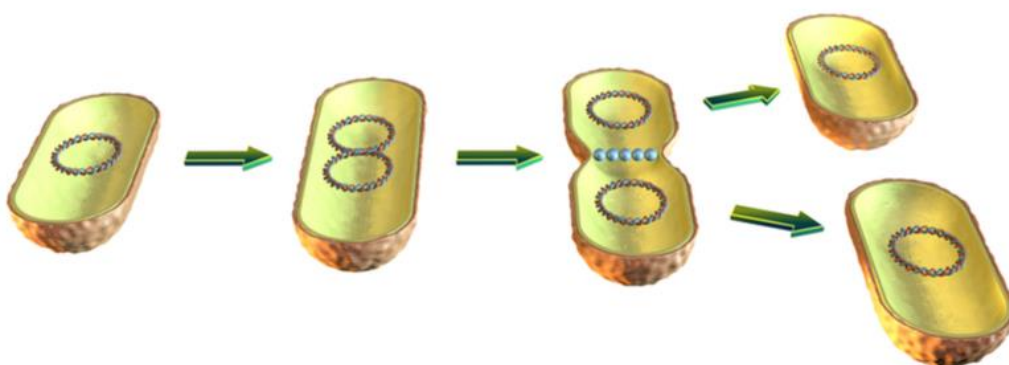
Neke bakterije na svojim stanicama imaju flagele odnosno bičeve pomoću kojih se kreću. Flagela na jednoj bakterijskoj stanici može biti više ili je samo jedan, a njihov raspored na tijelu stanice može biti polaran (na polovima tj. krajevima stanice) ili peritrihi (po cijeloj površini stanice). Najvažnija podjela bakterija svrstava bakterije u 4 skupine (Hrvatska enciklopedija):

- a) prema obliku
- b) prema bojenju po Gramu
- c) prema zahtjevima za kisik
- d) prema sposobnosti stvaranja spora.

Bakterije se prema obliku dijele na kuglaste bakterije ili „koke“, štapićaste ili „bacile“ te zavojite bakterije „spirile“. Bojanjem po Gramu bakterije su podijeljene na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije, a takva podjela vrlo je bitna za osnovnu identifikaciju bakterija. Zahtjevi bakterije za kisikom su razni pa se razlikuju aerobne (ne mogu se razvijati bez prisustva kisika) i anaerobne (ne mogu se razvijati u prisustvu kisika) bakterijske vrste, a pojavljuju se i fakultativno anaerobne bakterije koje se mogu razvijati u prisustvu ili u odsustvu kisika (Cooper, 2006.).

5.2. Prijenos fitopatogenih bakterija i simptomi bakterioza

Kao i većina mikroorganizama, bakterije se često prenose pasivno - pomoću insekata, vode i vjetra te zaraženim sadnim materijalom. Bakterije zahtijevaju postojanje sitnih ranica na tkivu domaćina kako bi mogle ući u njega, osnovati koloniju te prouzročiti zarazu. Bakterije se umnožavaju binarnom diobom stanica tako da se citoplazma i sve ostale strukture u stanici dupliciraju nakon čega dolazi do nastanka dviju potpuno jednakih stanica (Slika 12.).



Slika 12. Binarna dioba stanice bakterije.

Izvor: <https://hr.izzi.digital/DOS/21119/21142.html> - Pristup 8.5.2023.

Ovisno o uvjetima u kojima se nalazi, bakterija stvara koloniju vrlo brzo što znači da se i zaraza brzo širi. Bakterija kolonizira domaćina na način da bakterijska populacija raste između njegovih stanica te apsorbira hranjive tvari. Također, pojedine bakterije izlučuju enzime i toksine koji onemogućuju normalan rast i funkciju biljke domaćina (Cooper, 2006.).

Simptomi bolesti koje nastaju zarazom bakterijama, odnosno bakteriozama, razlikuju se ovisno o domaćinu, vrsti patogene bakterije te uvjetima u kojima domaćin i bakterija žive. Često se simptomi bakterioza mogu zamijeniti sa simptomima zaraza uzrokovanim patogenim mikroglijivama, jer se i pri tome pojavljuju pjege na listovima, kraste, nekroze, promjena boje biljnih organa, klorotični prstenovi na listovima, tumori, a dolazi i do truljenja listova, plodova i korijena biljke. Kod jakih zaraza čest simptom jest curenje sluzi ispunjene bakterijskim inokulumom (Cooper, 2006.).

5.3. Prevencija i zaštita od bakterioza

Kako bi se pokušala izbjeći pojava bakterioznih zaraza u nasadima, potrebno je koristiti zdrav sadni materijal te materijal otporan na određene sojeve bakterija, provoditi rotaciju nasada te voditi računa o korovima koji rastu u nasadu i koji bi mogli biti potencijalni rezervoari zaraze (Goszczyńska i sur., 2000.).

Ako se zaraza ipak pojavila, prva stavka u svakoj pravilnoj zaštiti protiv štetočina jest precizna i pravovremena dijagnostika štetnog organizma. U nasadima domaćina trebali bi se obavljati vizualni pregledi, a kada se uoče štete potrebno je izolirati bakterijski inokulum i pravilno identificirati uzročnika zaraze (Goszczyńska i sur., 2000.).

Ako su raspoloživa, prije nego što se upotrijebe propisana kemijska sredstva za zaštitu bilja, potrebno je koristiti biološka sredstva za kontrolu bolesti (Goszczyńska i sur., 2000.).

Preporučljivo je provoditi integriranu zaštitu bilja uključivanjem svih komponenti zaštite kako bi se pokušala spriječiti zaraza. Integrirana zaštita obuhvaća sve raspoložive mjere, od neizravnih, agrotehničkih i mehaničkih mjera do kemijskih, bioloških i fizikalnih, te tako pruža kompletan sustav zaštite bilja (Chandra Sekhar i sur., 2017.)

6. *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*

Xanthomonas arboricola pv. *juglandis* (Pierce 1901) Vauterin et al. 1995, uzročnik bakterijske crne pjegavosti, najvažnija je vrsta bakterija koja uzrokuje bolest oraha. Uz bakterijski rak i pjegavost koštičavog voća te bakterijsku bolest lješnjaka (koje uzrokuju *X. arboricola* pv. *pruni* te *X. arboricola* pv. *corylina*), bakterijska crna pjegavost smatra se najopasnijom bakterijskom koštičavog te lupinastog voća u svijetu (Zarei i sur., 2022.). Bakterijska crna pjegavost oraha je prvi puta opažena 1901. godine u Kaliforniji, a od tada se pojavljuje u većini zemalja svijeta (Fu i sur., 2021.).

6.1. Osnovne značajke

Xanthomonas arboricola je Gram-negativna bakterijska vrsta koja uzrokuje štete velikom broju raznih drvenastih kultura. Ova bakterijska vrsta pripada u koljeno Proteobacteria, razred Gammaproteobacteria, red Lysobacterales, porodicu Lysobacteraceae te rod *Xanthomonas* (EPPO, 2001.).

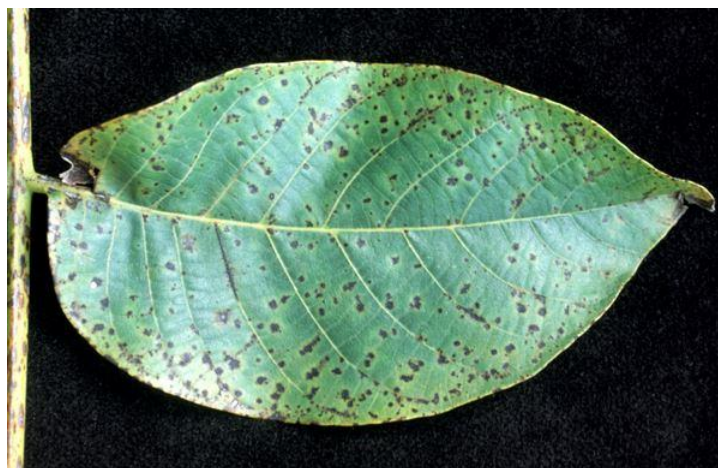
Kolonije ove bakterije na univerzalnim hranjivim podlogama najčešće su žute boje. Na stanicama joj se nalazi jedna polarno smještena flagela što ju čini pokretnom bakterijom. Upravo prema tim značajkama roda *Xanthomonas* spominje ga Dowson 1939. g. Kasnije se otkrilo da neki sojevi formiraju bijele kolonije, no ne i soj *arboricola* (cit. Prema Catara i sur., 2021.). Njegov naziv „arboricola“ upućuje na to da se radi o vrsti koja „živi u stablu“ dakle tamo prezimljuje, od tamo se aktivira i prelazi u druge biljne organe drvenastih kultura (Zarei i sur., 2022.). Ukupno postoji 9 patovara roda *Xanthomonas* koje su štetne za biljne vrste, a postoje i nepatogeni patovari. Patovar koji uzrokuje velike štete na orahu naziva se *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* odnosno *Xaj*. *Xaj* se nalazi na EPPO listi reguliranih nekarantenskih štetnih organizama u prilogu IV članka 5. To znači da se bilje, na kojima su utvrđeni štetni organizmi veći od dozvoljenih pragova, ne smiju unositi u Uniju ili premješati unutar Unije (Službeni list EU, 2019.).

6.2. Epidemiologija

Uzročnik bakterijske crne pjegavosti prenosi se polenom kojega često raznosi kiša no prijenosnici mogu biti i razni kukci. Najčešći način kojim se bolest širi je zaraženim sadnim materijalom iz rasadnika, stoga treba biti vrlo oprezan pri uzgoju sadnica i njihovoj distribuciji (Frutos, 2010.). *Xaj* prezimljuje u dormantnim pupovima i grančicama, a u proljeće ga kiša, vjetar i insekti raznose na ostala stabla te se tako širi zaraza (Bush, 2010.). Bakterija ulazi u tkivo domaćina kroz njegove prirodne otvore i kroz rane na listovima, a kod masovnih zaraza bakterije prodiru čak i kroz ljusku i meso ploda (Fu i sur., 2021.).

6.3. Simptomatologija

Simptomi se pojavljuju se na svim dijelovima oraha koji se nalaze iznad razine zemlje što znači da se mogu pojaviti na deblu i granama, listovima, plodovima, muškim cvjetovima i pupovima (Kalužna i sur., 2021.). Prva pojava simptoma može se uočiti na listovima, stabljikama i apikalnom dijelu ploda u obliku malih vodenih točkica koje postaju tamno smeđe do crne, a mogu oko sebe imati klorotični prsten (Slika 13.).



Slika 13. List sa simptomima zaraze bakterijom *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (*Xaj*).

Izvor: <https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/10.1079/PWKB.Species.56946> - Pristup 5.4.2023.

Apikalna nekroza ploda (Slika 14.) lako se može zamijeniti s izgledom šteta koje uzrokuju fitopatogene gljive iz rodova *Fusarium* ili *Alternaria* stoga treba biti oprezan u prepoznavanju simptoma (Stefani i Giovanardi, 2015.).



Slika 14. Apikalna nekroza ploda oraha.

Izvor: <https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/10.1079/PWKB.Species.56946> - Pristup 5.4. 2023.

Na grančicama se mogu pojavljivati lezije koje tamne, a grančice se suše te odumiru. Ako je vrijeme toplo iz lezija ponekad može istjecati sluz (Slika 15.) ispunjena bakterijskim inokulumom (Kalužna i sur., 2021.).



Slika 15. Bakterijska sluz na površini debla oraha zaraženog bakterijom *Xaj*.

Izvor: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3059.2010.02362.x> - Pristup 5.4.2023.

Kasniji simptomi javljaju se u obliku diskoloracije plodova i naboranih, tamnih jezgara (Slika 16.), ako sitni plodovi već ranije nisu otpali (Lamichhane, 2014.).



Slika 16. Presjek ploda oraha zaraženog bakterijom *X. arboricola* pv. *juglandis*

Izvor: https://www.plantdiseases.org/sites/default/files/plant_disease/narratives/32.pdf - Pristup 5.4.2023.

Štetnost se očituje u tome što bakterioza uzrokuje smanjen prirod te ekonomsku štetu preranim opadanjem plodova te rastom plodova pune veličine, no suhih, naboranih i neupotrebljivih jezgara (Frutos, 2010.). Zarei i suradnici (2022.) zaključili su kako ova bolest može uzrokovati pad priroda i do 70% zato što zaražava sve organe biljke.

6.4. Mjere zaštite

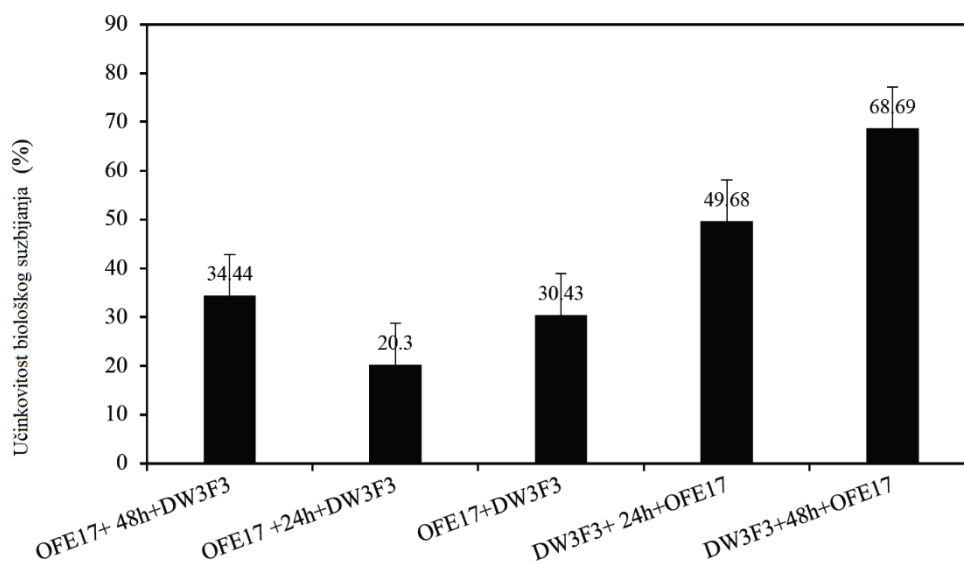
Prije nego što se primjene kemijske i biološke mjere zaštite protiv bakteriozne crne pjegavosti oraha važno je učiniti sve kako bi se zaraza spriječila.

Najefikasniji način kojim se zaraza može spriječiti je sadnja zdravog sadnog materijala. Međutim, kako sprječavanje zaraza treba provoditi i tijekom uzgoja starijih proizvodnih nasada, postoji nekoliko agrrotehničkih mjera kojima se bolest, ako se pojavi, može kontrolirati kako ne bi uzrokovala prevelike štete. Lamichhane (2014.) u svome radu navodi da ako se uspostavi prisutnost patogenog organizma u nasadu, mjere koje bi se trebale primjenjivati su svakako odstranjivanje zaraženih dijelova biljke, provođenje optimalne gnojidbe, navodnjavanje te tretiranje spojevima na bazi bakra, a sve to rezultirat će smanjenjem prisutnog inokuluma patogena. Potrebno je spomenuti kako Lamichhane (2014.) u istoj publikaciji govori o svim patovarima vrste *X. arboricola* te se ne bazira isključivo na *X. arboricola* pv. *juglandis*.

Tretiranje spojevima na bazi bakra provodi se odmah nakon pojave rana i ožiljaka na biljci koji su potencijalni ulazi za bakteriju, a nastaju otpadanjem lišća u jesen ili pojavom sitnih lezija u proljeće uzrokovanih mrazom. Provođenje tretiranja odmah nakon pojave rana i ožiljaka na biljci vrlo je bitno jer sredstva na bazi bakra ne mogu djelovati na patogena nakon što patogen uđe u biljku i zarazi je, s obzirom da se radi o kontaktnim sredstvima. Bakrova sredstva također ne mogu suzbiti bakteriju nakon što ona dospije u dormantne pupove (Lamichhane, 2014.). Osim toga što sredstva na bazi bakra nisu djelotvorna u svim situacijama, isti izvor navodi i da ponekad ona mogu imati loš, fitotoksični utjecaj na listove i plodove, a zabilježena je i pojava rezistentnih vrsta bakterije na ova sredstva, stoga se uvelike primjenjuju alternativne mjere zaštite protiv ove bolesti (Fu i sur., 2021.). U trenutku pisanja ovoga rada dozvoljena sredstva za tretiranje oraha prema Fitosanitarinom informacijskom sustavu (FIS, 2023.) su Bordoška juha Caffaro 20 WP, Champion WG 50, Neoram WG, Cuprablau Z 35 WG i Airone SC, a sva su navedena sredstva upravo na bazi bakra.

Kako bi se pokušala izbjeći loši utjecaji kemijskih sredstava koja se koriste za tretiranje protiv uzročnika ove bolesti, biološki agensi su preuzeli veliku ulogu i postali bitnim dijelom mjera zaštite, u ovome slučaju, oraha. Pod biološkim agensima prvenstveno se smatraju endofiti odnosno mikroorganizmi koji se nalaze i žive unutar biljnog tkiva (Grgić, 2021.). Fu i suradnici (2021.) objasnili su mehanizam djelovanja endofita kao organizma koji cit. „napada patogeni organizam te pojačava rezistentnost biljke domaćina“. Način na koji se to događa je da se aktivira inducirana sustavna otpornost biljke koja će proizvesti molekule za obranu biljke te potaknuti njezin rast (Fu i sur., 2021.).

Do sada je otkriveno nekoliko spojeva, točnije esencijalnih ulja i vodenih ekstrakata, iz biljaka kao što su *Ziziphora persica*, *Mentha piperita*, i *Allium sativum*, a koji su imali snažna antibakterijska svojstva protiv *Xaj*-a. Također, provedena su istraživanja na Novom Zelandu te u Čileu gdje je otkriveno kako bakteriofagi izolirani iz zemlje na kojoj su rasli orasi, i fagi izolirani iz samog stabla oraha, imaju veliku ulogu u biološkom suzbijanju ove bolesti, a izolirano je i 29 korisnih bakterija iz listova oraha (Fu i sur., 2021.). Navodi se kako je od njih vrsta *Pseudomonas fluorescens* pokazala najjače djelovanje te je smanjila simptome zaraze za 41% do 82%. U svom radu pokušali su dokazati djelotvornost endofitnih bakterija iz lista biljke *Osmanthus fragrans* tj. slatke masline koji su prikupili iz grada Xiaogan u Kini. Nakon detaljne laboratorijske analize zaključak istraživanja je kako su i bakterije izolirane iz *O. fragrans* dobra alternativa kemijskim metodama s obzirom da su pokazale jako antagonističko djelovanje prema *Xaj*-u. Međutim, faktor koji je uvelike utjecao na postotak smanjenja pojave zaraze je vrijeme primjene izolata. Izolirane bakterije iz slatke masline primijenjene dan ili dva nakon zaraze bakterijskim inokulumom pokazale su veću učinkovitost nego one primijenjene prije nego je domaćin zaražen *Xaj*-em što dovodi do zaključka da ova endofitna bakterija nije namijenjena za preventivnu zaštitu protiv vrste *Xaj*. Na Grafu 3. prikazana je učinkovitost bioloških agensa primijenjenih 24 i 48 sati prije te nakon zaraze patogenom bakterijom (prema Fu i sur., 2021.).



Graf 3. Prikaz učinkovitosti bioloških agensa u suzbijanju uzročnika bakterijske crne pjegavosti oraha. (OFE17 je izolirana bakterija iz *O. fragrans*; DW3F3 je patogen *Xaj*)

Izvor: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42161-021-00901-6> - Pristup 5. travnja 2023.

Naravno, vrijedi napomenuti kako je potrebno provesti još mnogo istraživanja kako bi se zaštita biološkim agensima protiv bolesti oraha dovela do visoke razine sigurnosti te kako bi se poboljšale metode njihove aplikacije (Anyasi i Atagana, 2019.).

U FIS bazi trenutno je dozvoljen samo jedan biološki baktericid naziva Serenade ASO, a njegova aktivna tvar je *Bacillus amyloliquefaciens* (prije nazivan *subtilis*) soj QST 713.

7. Bakterije iz roda *Brenneria*

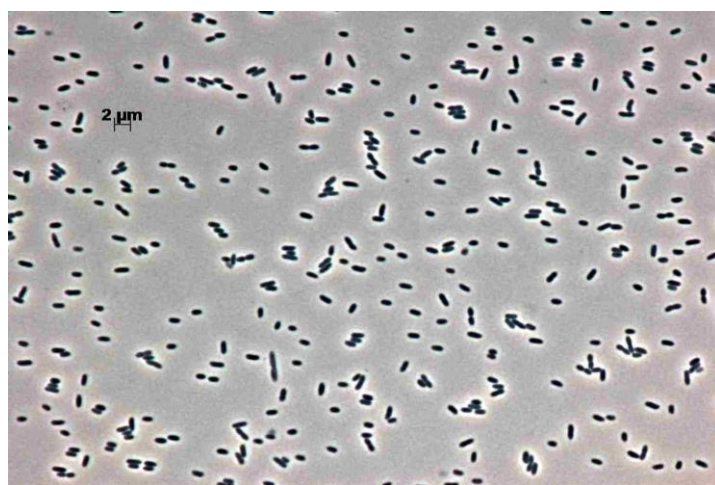
Bakterijske vrste iz roda *Brenneria* nekada su se ubrajale u rod *Erwinia*, a njihov novi naziv opisali su 1998. god. Hauben i sur. Za šest bakterijskih vrsta iz roda *Brenneria* je poznato da uzrokuju bolesti na drvenastim kulturama, a to su: *B. alni*, *B. nigrifluens*, *B. paradisiaca*, *B. quercina*, *B. rubrifaciens* i *B. salicis* (cit. prema Anguiano-Cabello i sur., 2016.). Za potrebe ovoga rada opisane će biti dvije vrste koje uzrokuju najveće štete na običnom orahu, a te dvije vrste su *Brenneria nigrifluens* te *Brenneria rubrifaciens*.

7.1. *Brenneria nigrifluens*

Prvo pojavljivanje bolesti oraha uzrokovane bakterijom *Brenneria nigrifluens* opisano je 1957. g. u Kaliforniji od strane Wilson i suradnika, a od tada su se simptomi počeli pojavljivati i u Italiji, Francuskoj, Iranu, Kurdistanu (Roshangar i Harighi, 2009.). Ostali izvori navode da su se simptomi pojavili i na orasima u Mađarskoj te Turskoj (NCBI, 2020.). Da ova opasna bolest oraha nije strana niti na području Balkana, točnije Srbije, pokazali su i Popović i suradnici (2013.) u svome radu opisujući kako je prva pojava ove bakterije uzrokovala gubitke od ~50% u 30 godina starom nasadu oraha.

7.1.1. Osnovne značajke

Kako je već spomenuto, kauzalni agens bolesti koja uzrokuje površinska oštećenja kore, naziva se *B. nigrifluens* (Wilson et al. 1957.), Hauben i sur. 1999. (cit. prema Schoch i sur., 2020.). Ova bakterijska vrsta (Slika 17.) je Gram-negativna, aerobna te mezofilna, duljine stanice od 1,3 do 3 μm , a promjera od 0,5 do 1 μm (Anguiano-Cabello i sur., 2016.).



Slika 17. Populacija bakterije *Brenneria nigrifluens*.

Izvor: Leibniz-Institut DSMZ <https://bacdiv.dsmz.de/strain/4306> - Pristup 11.4.2023.

Vrsta *Brenneria nigrifluens* spada u koljeno Pseudomonadota (sinonim je Proteobacteria), razred Gammaproteobacteria, red Enterobacterales, porodicu Pectobacteriaceae te rod *Brenneria*. Sinonim naziva njezine vrste je *Erwinia nigrifluens* no danas se on više ne koristi (BacDive, 2022.a).

7.1.2. Epidemiologija

Iako je već spomenuto kako je bakterijska crna pjegavost (uzrokovana bakterijom *Xaj*) jedna od najopasnijih bakterioza oraha, ne smije se zanemariti niti značaj ove bolesti koja može uzrokovati štete kako na mladim biljkama u rasadnicima, tako i na starijim stablima.

Bakterija preživljava u ranama koje uzrokuje na površini kore stabla, a za sada je izvor inokuluma te način na koji se ova bolest širi još uvijek nepoznat. Jedina pretpostavka za sada je da se bolest javlja na onim stablima koja su slaba zbog nedostatka vlage u tlu ili loše kvalitete tla (Plantdiseases.org, 2023).

7.1.3. Simptomatologija

Bolest uzrokovana bakterijom *Brenneria nigrifluens* pogađa koru debla i strukturne grane stabla, oslabljuje ih te tako s vremenom smanjuje prirod. Ova bakterija uzrokuje plitke, površinske lezije koje uglavnom ne ulaze duboko u koru, međutim u teškim slučajevima bolest može doseći i kambij (Loreti i sur., 2008.).

Razinataj i sur. (2020.) objasnili su kako bolest nije jako uočljiva u ranoj fazi zbog površinskih otekuća kore iz čijih rana s vremenom izlazi smeđa tekućina (Slika 18).



Slika 18. Eksudat na kori oraha zaraženog bakterijom *Brenneria nigrifluens*.

Izvor: https://www.plantdiseases.org/sites/default/files/plant_disease/narratives/34.pdf – Pristup 11.4.2023.

Kada bi se u toj fazi uklonio feloderm bila bi uočljiva jaka površinska nekroza tkiva (Slika 19.; Razinataj i sur., 2020.).



Slika 19. Površinska nekroza kore oraha zaraženog bakterijom *Brenneria nigrifluens*.

Izvor: https://www.plantdiseases.org/sites/default/files/plant_disease/narratives/34.pdf – Pristup 11.4.2023.

Yousefikopaei i sur (2007.) u svom istraživanju također spominju pojavu malih longitudinalnih pukotina u kori stabla iz kojih se pojavljuje smeđa tekućina za vrijeme proljetnih i ljetnih mjeseci, a odvajanjem kore uočljiva je plitka nekroza. Opisuju i kako zahvaćene grane ostaju bez vigora, dio listova otpada, dolazi do ranog starenja te na kraju odumiranja.

7.2. *Brenneria rubrifaciens*

Druga opasna vrsta iz roda *Brenneria* naziva se *B. rubrifaciens*. Njezini simptomi nešto su drugačiji od simptoma koji uzrokuje *B. nigrifluens*, a niti njezina štetnost nije zanemariva.

7.2.1. Osnovne značajke

Kao i *B. nigrifluens*, *B. rubrifaciens* je Gram-negativna bakterija, štapićasta je s peritrihim rasporedom flagela. Optimalna temperatura za njezin rast je između 30 i 33 °C što ju čini mezofilnom vrstom (McClellan i Kluepfel, 2009.).

Kada se uzgaja *in vitro* ova bakterijska vrsta proizvodi rubrifacin, pigment crvene boje, a to je ujedno i jedna od glavnih fenotipskih karakteristika kojom se razlikuje od srodne vrste *B. nigrifluens*. Neka istraživanja navode kako pigmenti koje proizvode bakterije mogu utjecati na

kolonizaciju osjetljivih biljnih tkiva domaćina. Međutim specifično kod rubrifacina je to da mu još uvijek nije dokazana biološka uloga u domaćinu (McClellan i Kluepfel, 2009.).

Taksonomski status *B. rubrifaciens* isti je kao onaj prethodno spomenute *Brenneria* vrste: pripada u koljeno Pseudomonadota, razred Gammaproteobacteria, red Enterobacterales, porodicu Pectobacteriaceae te rod *Brenneria*, a puni naziv vrste je *Brenneria rubrifaciens* (Wilson *et al.* 1967) Hauben *et al.* 1999 (BacDive, 2022.b).

7.2.2.Epidemiologija

Brenneria rubrifaciens bakterijska je vrsta koja nije opasna za mlade biljke, njezini simptomi pojavljuju se na stablima oraha starih barem 10 do 15 godina. Patogen prezimljuje u provodnom tkivu i čeka vrijeme za početak aktivacije populacije (kroz masovne diobe stanica bakterija) koja se uglavnom događa krajem proljeća. Izvori navode kako patogen može ostati latentan i prisutan godinama u tkivu domaćina sve dok uvjeti za njegovu aktivaciju ne postanu pogodni, a kada se to dogodi izlazi u biljnom soku koji počinje curiti iz rana. Širi se kroz koru i floem pa tako može utjecati na hranjive tvari koje tamo prolaze (Anguiano-Cabello i sur., 2016.).

7.2.3.Simptomatologija

Glavni simptom koji ukazuje na zaraženost stabla ovim patogenom jesu duboke pukotine u deblu, rupe te eksudat koji curi iz rana ispunjen bakterijama (Slika 20.).



Slika 20. Eksudat na kori oraha zaraženog bakterijom *Brenneria rubrifaciens*.

Izvor: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17429145.2017.1317848> – Pristup 12.4.2023.

Na unutrašnjosti debla uočljive su tamne linije i kanali koje mogu ispuštati smolu. Suprotno od površinskih rana koje uzrokuje srodna bakterija *B. nigrifluens*, vrsta *B. rubrifiaciens* uzrokuje dubinska oštećenja kore i debla. S vremenom dolazi do smanjenja vigora te do pada priroda (Anguiano-Cabello i sur., 2016.).

U svome radu Amirsardari i sur (2017.) prvi puta su pokazali simptome ove bakterijske bolesti na plodovima oraha, a oni su se pojavili u obliku truleži i crnih nekrotičnih područja (Slika 21.).



Slika 21. Simptomi zaraze bakterijom *Brenneria rubrifiaciens* na plodu oraha.

Izvor: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17429145.2017.1317848> – Pristup 12.4.2023.

7.3. Mjere zaštite

Za kvalitetnu zaštitu odnosno prevenciju širenja bolesti prvi korak je pravovremena dijagnostika te ispravno prepoznavanje simptoma bolesti. Kako bi se dijagnostika odradila što preciznije koriste se biokemijski testovi, serološke tehnike, molekularne metode (poput PCR-a i real-time PCR-a) te kromatografske tehnike pomoću kojih se otkrivaju specifični metaboliti kao npr. rubrifacin kod bakterije *B. rubrifaciens* (Anguiano-Cabello i sur., 2016.).

McClean i Kluepfel (2009.) su u svom istraživanju objasnili kako stres uzrokovan nedostatkom vode nakon duge suše može biti značajan faktor u pojavljivanju simptoma bolesti, stoga, kako bi se spriječio takav ishod, trebalo bi, u sklopu ostalih agrotehničkih mjera, nasade oraha navodnjavati sredinom ili krajem zime.

Anguiano Cabello i sur. (2016.) napravili su pregled dijagnostičkih metoda za bakterijske patogene oraha. Ono što su zaključili vrlo je slično zaključku McCleana i Kluepfela (2009.), jer zaključuju da je vrlo bitno održavanje vigora, odnosno snage biljke navodnjavanjem te kontroliranjem vlažnosti tla u nasadima. Spominju i kako je vrlo bitno ne koristiti mehaničke metode kontrole jer odstranjivanjem zaraženih dijelova stabla ono ostaje slabo i osjetljivo. Suprotno tome, u svom istraživanju, Amirsardari i suradnici (2017.) kao jednu od bitnih metoda zaštite oraha spominju odsijecanje zaraženih dijelova biljke, a osim toga navodi se da je poželjno strugati koru na mjestu gdje su se pojavili simptomi, prskati ta mjesta sredstvima na bazi bakra te pokrivati rane trakom za biljke.

U FIS bazi trenutno se ne nalazi niti jedno sredstvo koje bi se moglo primjenjivati za zaštitu oraha od navedene dvije vrste bakterija roda *Brenneria*.

Zaključiti se može kako je najbolja zaštita protiv ovih bakterijskih bolesti pravovremeno i pravilno otkrivanje simptoma zaraze, sadnja zdravih i nezaraženih sadnica te povremeno navodnjavanje nasada, a daljnje metode koje će se primjenjivati ovisit će o stupnju zaraženosti te uvjetima u kojima se nalaze biljke domaćini.

8. *Rhizobium radiobacter*

Vrsta *Rhizobium radiobacter* (*R. radiobacter*; ranije nazivana *Agrobacterium tumefaciens*) uzročnik je bolesti oraha koju se naziva bakteriozni rak korijena i korijenova vrata oraha.

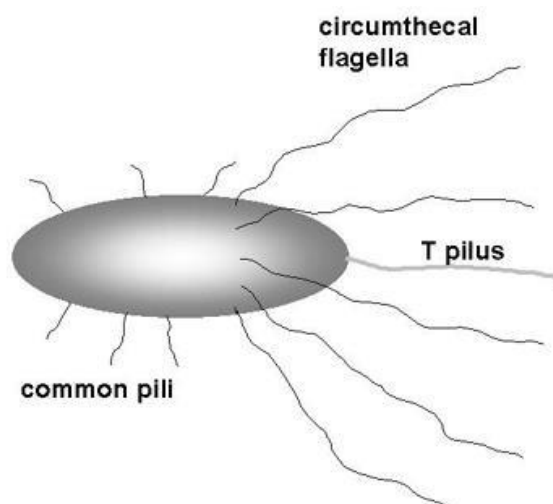
Osim na orahu, ova bolest pojavljuje se na velikom broju drvenastih kultura kao što su jabuka, kruška, trešnja te badem, a nije rijetka niti na ružama, krizantemama, malinama pa čak i na vinovoj lozi. Na kulturama kao što su šećerna repa, rajčica i pamuk ne uzrokuje ekonomske probleme pa se ne smatra opasnom bakteriozom (Kado, 2002.).

Prisutnost bakterije *R. radiobacter* osim u Europi prijavljena je i u Aziji, Americi, Africi te Australiji i na Novom Zelandu (Bradarić, 2022.).

8.1. Uzročnik

Fridiano Cavara je 1897. g. prvi izolirao bakteriju iz vinove loze, tada nazvanu *Bacterium tumefaciens* u laboratoriju u Napulju, a njezin naziv mijenja E. F. Smith 1907. godine u *Phytomonas tumefaciens* (Smith & Townsend) Bergey *et al.*) kada ju je izolirao iz krizanteme u SAD-u. U međuvremenu se pojavljuje pod raznim imenima (cit. prema Kado, 2002.). Do nedavno se za nju koristio naziv *Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend 1907.) Conn 1942., a danas se spominje kao *Rhizobium radiobacter* (Beijerinck and van Delden, 1902.) Young *et al.*, 2001. (ITIS).

Radi se o Gram-negativnoj, aerobnoj bakteriji (Slika 22.), duljine 1-3 μm , a na štapićastom tijelu smještene su joj subpolarne flagele (Kado, 2002.).



Slika 22. Izgled bakterije *Rhizobium. radiobacter*.

Izvor:

https://www.researchgate.net/publication/268388539_PREVALENCE_INCIDENCE_AND_SEVERITY_OF_CROWN_GALL_DISEASE_OF_CHERRY_APPLE_AND_APRICOT_CAUSED_BY_AGROBACTERIUM_TUMEFACIENS_IN_DISTRICT_GILGIT_AND_HUNZA-NAGAR - Pristup 17.4.2023.

Optimalne temperature za njezin rast kreću se između 25 i 29 °C, a na temperaturama iznad 37 °C gubi na virulentnosti (Tekiner i Kotan, 2022.).

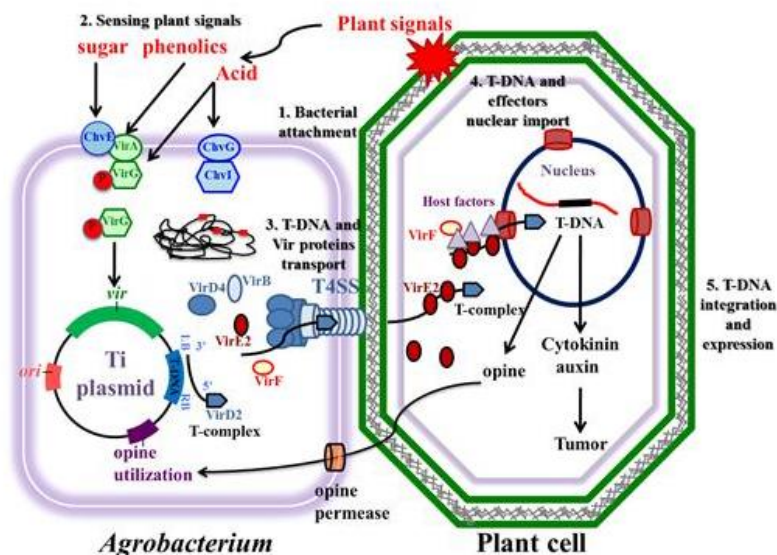
Ovaj patogeni organizam biotrofan je te ima mogućnost izmjene fiziologije svog domaćina što rezultira pojavom tumora ili drugim promjenama u morfologiji (Kado, 2002.).

Rhizobium radiobacter spada u koljeno Proteobacteria, razred Alphaproteobacteria, red Rhizobiales, porodicu Rhizobiaceae te rod *Rhizobium* (ITIS, 2023.).

8.2. Epidemiologija

Bakterija *R. radiobacter* prezimljuje u korijenju ili tlu oko domaćina, a tamo dopijeva iz biljnih tumora koji su se razgradili u tlu nakon kultivacije. Kako bi bakterija zarazila biljku, neophodno je postojanje rana i ozljeda kroz koje može ući. Takve rane mogu nastati nespretnim rukovanjem alatima za uklanjanje korova u blizini domaćina, sisanjem insekata, orezivanjem te kalemljenjem. Najvažnije je pripaziti da se ne koriste kontaminirani alati tijekom održavanja nasada (Kado, 2002.).

Oštećeno tkivo domaćina „privlači“ bakteriju na način da ona osjeti biljne fenolne spojeve te se kreće prema biljnom tkivu koristeći kemijske signale (kemotaksija). U tom slučaju kod vrste *R. radiobacter* se eksprimira gen virulencije koji se nalazi u Ti-plazmidu (tumor-inducirajući plazmid), a zatim se stvara duga nit nazvana T flagela koja igra veliku ulogu u virulenciji tako što pomaže u prijenosu bakterijske DNA u domaćinski DNA. T-DNA bakterije prenosi se u citoplazmu i jezgru biljne stanice integrirajući se u njen genom, a zatim dolazi do proizvodnje proteina koji potiču stvaranje tumorskih stanica (Slika 23.; Kado, 2002.).



Slika 23. Prikaz prijenosa bakterijske DNA u stanicu biljke prilikom zaraze bakterijom *Rhizobium radiobacter*.

Izvor: <https://bioone.org/journals/the-arabidopsis-book/volume-2017/issue-15/tab.0186/Agrobacterium-Mediated-Plant-Transformation-Biology-and-Applications/10.1199/tab.0186.full> - Pristup 17.4.2023.

8.3. Simptomatologija

Tumorske stanice se dijele te stvaraju okruglaste, glatke, krupne tvorevine nazvane tumori. Na Slici 24. prikazan je tumor bijele do bež boje, a takve tvorevine s vremenom dobivaju nepravilan oblik tamnije boje te naborane površine, a mogu narasti i do 30 cm (Bonkowski i sur., 2013.).



Slika 24. Tumor na korijenovom vratu oraha nakon zaraze bakterijom *Rhizobium radiobacter*.

Izvor: https://www.hapih.hr/wp-content/uploads/2022/08/RNOPs-Sadni-materijal-oraha_V2.pdf - Pristup 17.4.2023.

Kako biljka stari, tumori mogu pucati, njih nastanjuju sekundarni mikroorganizmi te tkivo počinje truliti, a nekada se oko primarnog mjesta zaraze mogu pojaviti i sekundarni tumori (Bonkowski i sur., 2013.). S obzirom da tumori remete protok vode i mineralnih tvari iz tla, rezultat je sušenje biljke, zaostatak u razvoju i niži prirod, posebice kod mlađih biljaka badema i oraha (Pscheidt i Ocamb, 2023.b).

8.4. Mjere zaštite

Prije tretiranja kemijskim ili biološkim sredstvima, potrebno je obaviti pregled nasada. Obavlja se vizualni pregled, dakle, stabla se pregledavaju i utvrđuje se postoje li već formirani tumori. U pojedinim slučajevima to je vrlo težak posao jer bakterije mogu prebivati i na korijenu pa simptomi iznad površine tla nisu uočljivi. Ono na što je vrlo bitno pripaziti pri formiranju nasada je mjesto sadnje. Ako se novi nasad postavlja na istom mjestu gdje su prethodnih godina rasla stabla lupinastog voća, postoji velika vjerojatnost da se bakterija zadržala u tlu. Vrsta *R. radiobacter* ima mogućnost preživljavanja u tlu bez domaćina i do dvije i pol godine (Hasey, 2018.). S druge strane, u nasadima gdje su prethodnih godina rasle žitarice vrlo je vjerojatno da nasad nije kontaminiran te da je bez bakterijskog inokuluma. Rotacija usjeva isto je vrlo korisna metoda kojom bi se mogla smanjiti mogućnost postojanja patogenog organizma na lokaciji na kojoj se planira sadnja oraha (Kado, 2002.). Jednako tako važno je koristiti zdrav sadni materijal

ili hibride koji su rezistentni na uzročnika bakterioznog raka oraha, pri sadnji koristiti nekontaminiran alat te pripaziti na moguće mehaničke ozljede koje se mogu dogoditi pri korištenju alata (Hasey, 2018.). Također, pri sadnji treba pripaziti na to da korijen nije suh nego relativno vlažan (UC IPM, 2017.). Pridržavajući se tih savjeta pri postavljanju nasada velika je mogućnost da će se izbjeći zaraza bakterioznim rakom korijena i korijenova vrata oraha.

Ako se zaraza, unatoč provedenim agrotehničkim mjerama zaštite, ipak pojavi potrebno je primijeniti fizikalne, biološke i kemijske mjere kako bi se ona držala pod kontrolom.

Povremeno se uz biološke i kemijske mjere zaštite mogu primjenjivati i fizikalne mjere, kao što je spaljivanje tumora plamenom. Navodi se kako je ova mjera vrlo skupa i vremenski zahtjevna. Odluka hoće li se provoditi ovakva zaštita ovisi o starosti biljke i stadiju bolesti (Fichtner, 2018.). Najprije je potrebno ukloniti tlo oko mjesta koje će se tretirati te zatim plamenom propanskog plamenika prijeći preko zaraženog mjesta na stablu - na taj način se sterilizira mjesto zaraze (Slika 25.; Sacramento Valley Orchards, 2016.).



Slika 25. Steriliziranje mjesta zaraze bakterijom *Rhizobium radiobacter* plamenom.

Izvor: <https://www.sacvalleyorchards.com/walnuts/diseases/treating-crown-gall/> - Pristup 17.4.2023.

Kao vrlo uspješna metoda biološkog suzbijanja bakterioznog raka, pokazalo se korištenje bakterije *Agrobacterium radiobacter* izolat K-84. Ta bakterija srodna je bakteriji *R. radiobacter*, stanovnik je tla, a u biljci ne uzrokuje štete nego pomaže u smanjenju zaraze tumorogenom bakterijom *R. radiobacter* jer ne sadrži Ti-plazmid za kojeg je prethodno navedeno da uzrokuje nastanak tumorskih stanica. Način primjene *A. radiobacter* K-84 je uranjanjem korijena biljke (sadnice) ili sjemena prije sadnje u tlo, u suspenziju te korisne

bakterije (cit. prema Halupecki i Cvjetković, 1999.). Kada K-84 uđe u biljku počinje proizvoditi antibiotik agrocin-84 koji oponaša spoj agropicin A. Agropicin A u tumorima proizvodi zaražena biljka, a on predstavlja izvor hrane za štetnu tumorogenu bakteriju. S obzirom da antibiotik imitira ponašanje spoja agropicina A, koristi isti transportni sustav kojim se kreće bakterija *Rhizobium radiobacter* pa kada bakterija dođe do mjesta koje je sada zauzeo antibiotik, on ulazi u stanicu patogenog bakterijskog organizma te sprječava replikaciju tumorskih DNA. Bitno je spomenuti da postoje i sojevi bakterije otporni na antibiotik agrocin-84 te u takvim slučajevima biološka metoda nije učinkovita (Kado, 2002.).

Kemijski način suzbijanja nije najefikasniji način zaštite jer ne postoji mnogo sredstava koja bi bila učinkovita protiv bakterije *Rhizobium radiobacter*. U FIS bazi ne navodi se niti jedno kemijsko sredstvo za zaštitu za ovu namjenu. Inozemna literatura navodi kako bi se mogla koristiti sredstva na bazi bakra ili jaki oksidansi, ali i dalje nema izrazite učinkovitosti (Kado, 2002.). Jedino sredstvo koje se navodi je Gallex čiji su aktivni sastojci 2,4-ksilenol te meta-krezol. Primijenjen je samo na tek formiranim tumorima kako bi se spriječio njihov daljnji razvoj (Pscheidt i Ocamb, 2023.a).

Upute na pripravku Gallex navode kako je prvo potrebno ukloniti tlo oko mjesta gdje se razvio tumor, zatim je potrebno odstraniti sam tumor i pričekati da se to područje osuši. Sredstvo je potrebno nanijeti na zonu gdje se nalazio tumor ali i na okolne rane i udubine. Nakon što se sredstvo osušilo područje se pokriva tlom bez bakterija te se obavlja pregled nakon 4 mjeseca od intervencije.

Bilo kakvo tretiranje je najbolje obavljati u vrijeme kada se kalus formira brzo zbog brzog rasta stabla, a to je najčešće u proljeće i ljeto (UC IPM, 2017.).

9. Zaključna razmatranja

Rasprostranjenost i široka primjena oraha sa sobom donose i povećanu mogućnost pojave zaraze virusnim i bakterijskim mikroorganizmima. Prije nego što se zaraza dogodi potrebno je obavljati sve preventivne mjere zaštite, a tek nakon pojave simptoma koristiti rigoroznije mjere suzbijanja uzročnika bolesti.

Najznačajnija viroza oraha je bolest crne linije (engl. „*blackline disease*“). Uzročnik ove bolesti jest *Cherry leaf roll virus*. Ovaj virusni patogen oraha prenosi se zaraženim sadnim materijalom, vegetativnim dijelovima biljke, sjemenom i polenom, a čest način širenja bolesti je i cijepljenje plemke na podlogu. Simptomi se javljaju u vidu crne linije odnosno nekroze na mjestu cijepljenja, a osim toga dolazi i do usporenog rasta izdanaka te ranog otpadanja lišća. Nekroza uzrokuje gubitak vigora biljke te odumiranje cijelog stabla. Kako bi se zaraza spriječila potrebno je koristiti zdrav sadni materijal, saditi otporne sorte te održavati nasad i uništavati korove koji mogu biti potencijalni rezervoari virusa.

Na stablu oraha pojavljuju se četiri značajne bakterioze, a najčešća je bakteriozna crna pjegavost čiji je uzročnik bakterija *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (*Xaj*). Prijenos bakterije najčešći je zaraženim sadnim materijalom, a kiša i kukci raznose polen zaražen ovim patogenom. U domaćina bakterija ulazi kroz sitne pore na površini, a kada ga zarazi simptomi se pojavljuju na svim njegovim organima. Apikalna nekroza ploda, klorotični prstenovi i tamne točkice na listovima, tamne lezije na granama, pojava bakterijske sluzi koja curi iz lezija te tamne i naborane jezgre plodova, glavni su simptomi zaraze bakterijom *Xaj*. Bakteriozna crna pjegavost uzrokuje pad priroda do 70%. Agrotehničke i biološke mjere, poput odstranjivanja zaraženih dijelova biljke, provođenja optimalne gnojidbe te korištenja endofita i ekstrakata pojedinih biljnih vrsta, mogu pozitivno djelovati na obranu domaćina te uvelike mogu smanjiti jačinu zarazu. Ako je zaraza ipak preintenzivna treba se provoditi kemijska zaštita propisanim sredstvima.

Dvije su bolesti uzrokovane bakterijskim vrstama iz roda *Brenneria*. Vrsta *Brenneria nigrifluens* uzrokuje površinska oštećenja kore oraha u vidu površinskih lezija koje ne ulaze duboko u koru, a iz kojih se cijedi smeđa tekućina. Ispod kore javlja se jaka nekroza tkiva. Suprotno tome, *B. rubrifaciens* uzrokuje duboke pukotine debla iz kojih također izbija eksudat s bakterijskim inokulumom. Na plodovima *B. rubrifaciens* uzrokuje nastanak crnih nekrotičnih područja tipa truleži. Pravovremena dijagnostika te agrotehničke i mehaničke mjere prvi su i najvažniji korak u zaštiti od ovih bolesti, a dodatne metode potrebno je primjenjivati ovisno o stupnju zaraženosti domaćina.

Zadnja opisana bakterioza oraha, u ovome radu, jest bakteriozni rak korijena i korijenova vrata oraha, koja je također vrlo značajna bakterioza oraha, kao i prethodno spomenute. Njezin uzročnik je bakterijska vrsta *Rhizobium radiobacter*; a simptomi koje uzrokuje su pojava velikih okruglastih tumorskih tvorevina različitih oblika i veličina na korijenu i vratu korijena oraha. Starenjem biljke tumori pucaju, a raspucalo tkivo nastanjuju sekundarni mikroorganizmi pod čijim djelovanjima ono trune. Za prevenciju pojave bolesti potrebno je rotirati usjeve, koristiti zdrav sadni materijal, pokušati koristiti suspenziju antagonističkog izolata *R. radiobacter* K-84

za biološku kontrolu te redovito pregledavati nasad s obzirom na eventualnu pojavu novih tumorskih tvorbi. Nakon pojave bolesti tumori se povremeno mogu spaljivati plamenom te je, ukoliko postoje registrirana sredstva, moguće domaćina tretirati nekim od raspoloživih kemijskih sredstava.

Zaključiti se može kako sve viroze i bakterioze oraha na njemu uzrokuju velike štete, ali se pravovremenom i pravilnom dijagnostikom, te raspoloživom zaštitom nasada, uzročnici bolesti mogu držati pod kontrolom.

Literatura

1. Amirsardari V., Sepahvand S., Madani M. (2017). Identification of deep bark canker agent of walnut and study of its phenotypic, pathogenic, holotypic and genetic diversity in Iran. *Journal of Plant Interactions* 12:1, 340-347.
2. Anguiano-Cabello J., Arredondo-Valdés R., Cerna-Chávez E., Beltran-Beache M., Delgado-Ortiz J.C., Ochoa-Fuentes Y.M. (2016). Review of diagnosis techniques for *Brenneria* spp in walnut (*Juglans regia*). *Revista Mexicana de Fitopatología* 34(2): 158-172.
3. Anyasi R.O., Atagana H.I. (2019). Endophyte: Understanding the Microbes and its Applications. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 22: 154-167.
4. Archoo S., Naikoo S.H., Tasduq S.A. (2022). Role of herbal products as therapeutic agents against ultraviolet radiation-induced skin disorders. In: *Herbal Medicines* (ur. Sarwat M., Siddique H.), Academic Press. 345-360.
5. BacDive. (2022a) Strain identifier. *Brenneria nigrifluens* EN 101 is an aerobe, mesophilic plant pathogen that was isolated from bark canker in Persian walnut tree. [online] <https://bacdive.dsmz.de/strain/4306> (pristupljeno 11. travnja 2023.).
6. BacDive. (2022b) Strain identifier. *Brenneria rubrifaciens* 533c is a mesophilic plant pathogen that was isolated from persian walnut tree. [online] <https://bacdive.dsmz.de/strain/4307> (pristupljeno 12. travnja 2023.).
7. Bagi F., Jasnić S., Budakov D. (2016). *Viroze biljaka - Edicija osnovni udžbenik*. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet. Novi Sad.
8. Bioteka - udruga za promicanje biologije i srodnih znanosti (2014). *Vegetativno razmnožavanje*. [online] <http://www.bioteka.hr/modules/lexikon/entry.php?entryID=326> (pristupljeno 2. travnja 2023.).
9. Bonkowski J., Joseph B., Bayo D. (2013). *Agrobacterium tumefaciens*. Bugwood Wiki. [online] https://wiki.bugwood.org/Agrobacterium_tumefaciens (pristupljeno 17. travnja 2023.).
10. Bottema S. (1980). On the history of the walnut (*Juglans regia* L.) in southeastern Europe. *Acta Bot. Neerl.* 29(5/6), 343-349.
11. Bradarić L. (2022). Regulirani nekarantenski štetni organizmi na sadnom materijalu oraha. [online] https://www.hapih.hr/wp-content/uploads/2022/08/RNQPs-Sadni-materijal-oraha_V2.pdf (pristupljeno 1. travnja 2023.).
12. Bush M.R. (2010). *Disease problems in walnuts attributed to unusual weather*. Washington State University. [online] <https://s3.wp.wsu.edu/uploads/sites/2071/2013/12/Disease-Problems-in-Walnuts.pdf> (pristupljeno 4. travnja 2023.).
13. Büttner C., von Barga S., Bandte M., Myrta A. (2011). *Cherry leafroll virus*. In: Hadidi A, Barba M, Candresse T, Jelkmann W, eds. *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruit*. Minnesota, USA: APS Press. 119–25. [online]

- <https://apsjournals.apsnet.org/action/showCitFormats?doi=10.1094%2F9780890545010.024> (pristupljeno 1. travnja 2023.).
14. Catara V., Cubero J., Pothier J., Bosis E., Bragard C., Đermić E., Holeva M., Jacques M.-A., Petter F., Pruvost O., Robène I., Studholme D.J., Tavares F., Vicente J.G., Koebnik R., Costa J. (2021). Trends in Molecular Diagnosis and Diversity Studies for Phytosanitary Regulated *Xanthomonas*. *Microorganisms* 9(4): 862, 31.
 15. Celing Celić M. (2019). Otrovnost oraha i njegovog lišća - što uzgajati u blizini. Agroklub.com, [online] <https://www.agroklub.com/vocarstvo/otrovnost-oraha-i-njegovog-lisca-sto-uzgajati-u-blizini/54117/> (pristupljeno 30. travnja 2023.).
 16. Chandra Sekhar Y., Prasad Babu A., Nagaraju R. (2017). An outline of plant pathology. Mr.Gajendra Parmar for Parmar Publishers and Distributors, Govindpur Road. [online] http://www.jnkvv.org/PDF/11042020102651plant_pathology.pdf (pristupljeno 8. svibnja 2023.).
 17. Cooper J. (2006). Bacterial plant pathogens and symptomology. [online] https://s3.wp.wsu.edu/uploads/sites/2054/2014/04/BacterialPlantPathogens_001.pdf (pristupljeno 8. maja 2023.).
 18. Duralija B. (2018). Svjetska proizvodnja lupinastog voća. Zbornik sažetaka 13. znanstveno-stručnog savjetovanja hrvatskih voćara s međunarodnim sudjelovanjem. HVZ, 1.-3.3.2018., Daruvar, Hrvatska, str. 31.
 19. Eastwell K.C., Mekuria T.A. Druffel K.L. (2012). Complete nucleotide sequences and genome organization of a cherry isolate of *Cherry leaf roll virus*. *Arch Virol* 157, 761–764.
 20. EPPO global database (2001). [online] <https://gd.eppo.int/taxon/XANTJU> (pristupljeno 4. travnja 2023.).
 21. FAOSTAT (2023). [online] <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> (pristupljeno 30. travnja 2023.).
 22. Fichtner E.J. (2018). Crown gall on walnuts: assessing origin of infection, disease management and prevention. [online] <https://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=28927> (pristupljeno 17. travnja 2023.).
 23. FIS. Fitosanitarni informacijski sustav Ministarstva poljoprivrede RH. (2023). Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja. [online] <https://fis.mps.hr/trazilicaszb/> (pristupljeno 10. travnja 2023.).
 24. Frutos D. (2010). Bacterial diseases of walnut and hazelnut and genetic resources. *Journal of Plant Pathology* 92 (1, Supplement), S1.79-S1.85.
 25. Fu B., Zou L., Lee C., Conard L., Lihua W. (2021). Antagonism and biocontrol of walnut blight by sweet osmanthus endophytic bacterium OFE17. *J Plant Pathol.* 103: 1243–1252.
 26. Godena S., Bendini A., Giambanelli E., Cerretani L., Đermić D., Đermić E. (2012) *Cherry leafroll virus*: Impact on olive fruit and virgin olive oil quality. *European journal of lipid science and technology* 114: 535-541.

27. Godena S., Faggioli F., Luigi M., Saponari M., Loconsole G., Vončina D., Đermić E. (2016) Incidence of viruses on autochthonous and introduced olive varieties in Croatian Istria detected by three diagnostic techniques. *J. Plant Pathol.* 98(3): 657-660.
28. Goszczynska T., Serfontein J.J., Serfontein S. (2000). Introduction to Practical Phytobacteriology, A Manual for Phytobacteriology. SAFRINET-LOOP of BioNET-Internacional. [online] https://www.researchgate.net/publication/237021880_Introduction_to_Practical_Phyto_bacteriology_A_manual_for_phytobacteriology (pristupljeno 8. svibnja 2023.).
29. Grgić S., Baličević R., Vrandečić K., Ereš H., Ilić J. (2021). Primjena endofitnih organizama u zaštiti bilja. *Glasnik zaštite bilja* 4: 48-51.
30. Halupecki E., Cvjetković B. (1999). Tumori vrata korijena, *Glasnik zaštite bilja* 22 (5): 250-252.
31. Hasey J. (2018). Points to Consider in Prevention of Crown Gall. Sacramento Valley Orchard Source. [online] <https://www.sacvalleyorchards.com/walnuts/diseases/preventing-crown-gall/> (pristupljeno 17. travnja 2023.).
32. Hrvatska enciklopedija. Bakterije. Leksikografski zavod Miroslav Krleža 2021. [online] <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=5395> (pristupljeno 8. svibnja 2023.).
33. ICTV (2022). Taxon Details Nepovirus avii. [online] https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202202108 (pristupljeno 3. srpnja 2023.).
34. ITIS. (2023). *Rhizobium radiobacter* (Beijerinck and van Delden, 1902) Young *et al.*, 2001. [online] https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=965487&print_version=PRT&source=to_print#null (pristupljeno 17. travnja 2023.).
35. Junior P. (2016). Introduction to bacteriology and bacterial structure/function learning objectives. [online] <https://docplayer.net/21726818-Introduction-to-bacteriology-and-bacterial-structure-function-learning-objectives.html> (pristupljeno 8. svibnja 2023.).
36. Kado C.I. (2002). Crown gall. The Plant Health Instructor. [online] <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/prokaryote/pdlessons/Pages/CrownGall.aspx> (pristupljeno 17. travnja 2023.).
37. Kałużna M., Fischer-Le Saux M., Pothier J.F., Jacques M.-A., Obradović A., Tavares F., Stefani E. (2021). *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* and pv. *corylina*: Brothers or distant relatives? Genetic clues, epidemiology, and insights for disease management. *Mol Plant Pathol.* 22: 1481–1499.
38. Lamichhane J.R. (2014). *Xanthomonas arboricola* Diseases of Stone Fruit, Almond, and Walnut Trees: Progress Toward Understanding and Management. *Plant Disease / Vol.* 98 No. 12.
39. Loreti S., De Simone D., Gallelli A. (2008). Detection and Identification of *Brenneria nigrifluens*, the Causal Agent of the Shallow Bark Canker of Walnut by PCR Amplification. *J. Phytopathology* 156, 464–469.
40. Martinez M.L., Labuckas D.O., Lamarque A.L. (2010). Walnut (*Juglans regia* L.): genetic resources, chemistry, by-products. *J Sci Food Agric* 90: 1959–1967.

41. Matthews R.E.F. (1992). Fundamentals of plant virology. Academic Press, Inc., San Diego. USA.
42. McClean A.E., Kluepfel D.A. (2009). Genetic loci involved in rubrifacine production in the walnut pathogen *Brenneria rubrifaciens*. *Phytopathology* 99:145-151.
43. Mcgranahan G., Leslie C.A. (2012). Walnut. *Fruit Breeding*, 827-846. [online] https://www.researchgate.net/publication/278693911_Walnut (pristupljeno 19. travnja 2023.).
44. Medved I. (2021). Zanimljivosti o orahu. *Agroportal.hr*, [online] <https://www.agroportal.hr/zanimljivosti/29025> (pristupljeno 30. travnja 2023.).
45. Mir H., Bandhu Patel V. (2018). Genetic Engineering of Horticultural Crops. Chapter 5 - Genetic Engineering of Temperate Fruit Crops. Academic Press. 89-119.
46. Mircetich S. M., Rowhani A. (1984). The relationship of *Cherry leafroll virus* and blackline disease of English walnut trees. *Phytopathology* 74:423-428.
47. *Plantdiseases.org*. [online] https://www.plantdiseases.org/sites/default/files/plant_disease/narratives/34.pdf (pristupljeno 11. travnja 2023.).
48. *Plantea.com* [online] <https://www.plantea.com.hr/orah/> (pristupljeno 30. travnja 2023.).
49. Popović T., Ivanović Ž., Živković S., Trkulja N., Ignjatov M. (2013). First Report of *Brenneria nigrifluens* as the Causal Agent of Shallow-Bark Canker on Walnut Trees (*Juglans regia*) in Serbia. *Plant Disease* 97:11, 1504-1504.
50. Pscheidt, J.W., Ocamb, C. M. (2023a). Pacific Northwest Plant Disease Management Handbook. Cherry (*Prunus* spp.)-Virus-induced Cherry Decline. Oregon State University. [online] <https://pnwhandbooks.org/plantdisease/host-disease/cherry-prunus-spp-virus-induced-cherry-decline> (pristupljeno 2. travnja 2023.).
51. Pscheidt, J.W., Ocamb, C.M. (2023b). Walnut (*Juglans* spp.)-Crown Gall. Pacific Northwest Plant Disease Management Handbook. © Oregon State University. [online] <https://pnwhandbooks.org/node/3665/print> (pristupljeno 17. travnja 2023.).
52. Razinataj M., Aeini M., Khademlou A., Sadeghi K. (2020). Isolation and characterization of *Brenneria nigrifluens* causing bacterial shallow bark canker of walnut trees in Golestan Province, Iran. *J. Genet. Resour.* 6(2): 148-156.
53. Ražov J., Šimon S., Križanac I., Vončina D. (2021). Sanitary selection of sour cherry cv. Marasca (*Prunus cerasus* cv. Marasca) in Croatian largest plantation “Vlačine”. *Journal of Central European Agriculture*, 2021, 22(4), p.777-786.
54. Rebenstorf K., Candresse T., Dulucq MJ., Büttner C., Obermeier C. (2006). Host species-dependent population structure of a pollen-borne plant virus, *Cherry leaf roll virus*. *J. Virol.* 80(5):2453-62.
55. Rodoni B., Mackie J., Constable F. (2018) Subcommittee on Plant Health Diagnostics. National Diagnostic Protocol for *Cherry leaf roll virus* (cherry and walnut strains)–NDP10 V2. [online] <https://www.plantbiosecuritydiagnostics.net.au/app/uploads/2018/11/NDP-10-Cherry-leaf-roll-virus-cherry-and-walnut-strains-V2.pdf> (pristupljeno 2. travnja 2023.).

56. Roshangar R., Harighi B. (2009). Investigation of the phenotypic and genetic properties of *Brenneria nigrifluens* strains, the causal agent of walnut bark canker in Kurdistan province, Iran. For. Path. 39: 335–342.
57. Sacramento Valley Orchards (2016). Treating Crown Gall. [online] <https://www.sacvalleyorchards.com/walnuts/diseases/treating-crown-gall/> (pristupljeno 17. travnja 2023.).
58. Schoch C.L. i sur. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187.
59. Simmons N.A. (1980). A brief history of bacteriology. In: An Introduction to Microbiology for Nurses. Butterworth-Heinemann, Elsevier Ltd. 1-5.
60. Službeni list Europske unije (2019). Članak 5. Popis reguliranih nekarantenskih štetnih organizama Unije i određenog bilja za sadnju s kategorijama i pragovima [online] <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=OJ:L:2019:319:FULL&from=GA> (pristupljeno 4. travnja 2023.).
61. Solar A. (2018). Novosti u proizvodnji oraha. Zbornik sažetaka 13. znanstveno-stručnog savjetovanja hrvatskih voćara s međunarodnim sudjelovanjem. HVZ, 1.-3.3.2018., Daruvar, Hrvatska. 27.
62. Stefani E., Giovanardi D. (2015). Bacterial blight of walnut: a severely re-emerging disease. Department of Life Sciences. [online] https://www.eppo.int/media/uploaded_images/MEETINGS/Meetings_2015/diag_bact/14_Stefani.pdf (pristupljeno 4. travnja 2023.).
63. Štefanac Z. (1969) Nalaz virusa uvijenosti lista trešnje (*Cherry leaf roll virus*) u Jugoslaviji. Acta Botanica Croatica XXVIII, 373-378.
64. Taha N.A., Al-wadaan M.A. (2011). Utility and importance of walnut, *Juglans regia* Linn: A review. African Journal of Microbiology Research 5(32): 5796-5805.
65. Tekiner Aydın N., Kotan R. (2022). Pathogenicity of Different *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) Isolates and Their Identification with Conventional Methods. KSU J. Agric. Nat. 25 (Suppl 1):149-157.
66. UC IPM (2017). Agriculture: Walnut Pest Management Guidelines, Crown Gall, *Agrobacterium tumefaciens*. [online] <https://ipm.ucanr.edu/agriculture/walnut/crown-gall/> (pristupljeno 17. travnja 2023.).
67. Vukadinović V. (2020). Biljni virusi. [online] https://tlo-i-biljka.eu/Tekstovi/Biljni_virusi.pdf (pristupljeno 4. svibnja 2023.).
68. Walkey D.G.A. (1991). Applied Plant Virology. Springer Science & Business Media, Berlin.
69. Wilson C.R. (2014). Applied Plant Virology. CABI, [online] https://books.google.hr/books?hl=hr&lr=&id=IVm2BAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=plant+virology&ots=jQ5wJqKB53&sig=J3O2LU_M7ZwBfFCRTTrYilfDQHol&redir_esc=y#v=onepage&q=plant%20virology&f=false (pristupljeno 4. svibnja 2023.).
70. Woo, E.N.Y., Pearson, M.N. (2014). Biological and molecular variation of *Cherry leaf roll virus* isolates from *Malus domestica*, *Ribes rubrum*, *Rubus idaeus*, *Rumex obtusifolius* and *Vaccinium Darrowii*. Plant Pathol. 63: 838–845.

71. Yousefikopaei F., Taghavi S.M., Banihashemi Z. (2007). Occurrence of Shallow Bark Canker of Walnut (*Juglans regia*) in Southern Provinces of Iran. Pakistan journal of biological sciences 10(9):1507-12.
72. Zarei S., Taghavi S.M., Rahimi T., Mafakheri H., Potnis N., Koebnik R., Fischer-Le Saux M., Pothier J.F., Palacio Bielsa A., Cubero J., Portier P., Jacques M.A., Osdaghi E. (2022). Taxonomic Refinement of *Xanthomonas arboricola*. Phytopathology. 112(8):1630-1639.

Životopis

Ana Kordovan rođena je 1.9.1998. godine u Požegi. Godine 2013. upisuje Opću gimnaziju Požega, a zatim 2017. godine upisuje preddiplomski studij Zaštita bilja na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Godine 2020. dobiva titulu *univ. bacc. ing.* nakon obrane završnoga rada na temu „Praćenje fenoloških faza jednogodišnjih uskolisnih korova u proljetno ljetnom razdoblju“ pod vodstvom mentorice prof. dr. sc. Klare Barić. Iste godine upisuje diplomski studij Fitomedicina na Agronomskom fakultetu Zagreb. Govori engleski jezik te posjeduje certifikat za položenu B2 razinu jezika. Korištenje engleskoga jezika usavršila je u Americi u kojoj je provela 4 mjeseca u sklopu *Work and Travel* programa. Također koristi njemački jezik A1 razine. Tijekom fakultetskog obrazovanja, u sklopu studentske prakse i studentskoga posla, radila je kao ispomoć u Hrvatskoj agenciji za poljoprivredu i hranu te tamo stekla korisna iskustva vezana za struku, a time i znanja u odnosu s ljudima, suočavanju s raznim situacijama te preuzimanju odgovornosti za iste. Slobodno vrijeme provodi u prirodi te raznim aktivnostima koje ona pruža.