

Verticillium dahliae, Xylella fastidiosa i gljive iz porodice Botryosphaeriaceae patogeni drva masline

Makaš, Loredana

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:204:174525>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

***Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* i gljive iz
porodice *Botryosphaeriaceae* patogeni drva
masline**

DIPLOMSKI RAD

Loredana Makaš

Zagreb, rujan, 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Fitomedicina

***Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* i gljive iz
porodice *Botryosphaeriaceae* patogeni drva
masline**

DIPLOMSKI RAD

Loredana Makaš

Mentor:
izv. prof. dr. sc. Joško Kaliterna

Zagreb, rujan, 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Loredana Makaš**, JMBAG **1219052249**, rođen/a **31.07.1995.** u **Šibeniku**,
izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

***Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* i gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae*
patogeni drva masline**

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 studenta/ice **Loredana Makaš**, JMBAG **1219052249**, naslova

***Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* i gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae*
patogeni drva masline**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. **izv.prof.dr.sc. Joško Kaliterna** mentor

2. **izv.prof.dr.sc. Goran Fruk** član

3. **Prof.dr.sc. Edyta Đermić** član

Zahvala

Ovime zahvaljujem svom mentoru izv.prof. dr. sc. Jošku Kaliterni na strpljenju, pomoći i vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada. Hvala svim kolegama i prijateljima (najveće hvala prijatelju Marinu bez kojeg ova word verzija ne bi bila tako potpuna) bez kojih studij ne bi prošao tako zabavno. Najveće hvala mojoj obitelji na razumijevanju i podršci tokom studiranja.

Sadržaj

1. Uvod	1
2. <i>Verticillium dahliae</i> uzročnik verticilioznog venuća masline	3
2.1. Uvod o patogenu i klasifikacija	3
2.2. Životni ciklus i epidemiologija <i>V. dahliae</i>	3
2.3. Morfologija <i>Verticillium dahliae</i>	5
2.4. Simptomatologija <i>verticilioznog venuća</i>	7
2.5. Suvremene strategije za suzbijanje <i>Verticillium dahliae</i> na maslini	9
3. <i>Xylella Fastidiosa</i> uzročnik bolesti brzog sušenja masline	10
3.1. Uvod o patogenu i klasifikacija	10
3.2. Životni ciklus i epidemiologija bakterije <i>Xylella fastidiosa</i>	11
3.3. Simptomatologija - <i>Xylella fastidiosa</i>	14
3.4. Morfologija bakterije <i>Xylella fastidiosa</i>	15
3.5. Suvremene strategije za suzbijanje bakterije <i>Xylella fastidiosa</i>	16
4. Gljive iz porodice <i>Botryosphaeriaceae</i> kao patogeni drva masline	17
4.1. Uvod o porodici <i>Botryosphaeriaceae</i>	17
4.2. Životni ciklus i epidemiologija gljiva iz porodice <i>Botryosphaeriaceae</i>	18
4.3. Morfologija porodice <i>Botryosphaeriaceae</i>	20
4.3.1. Morfologija teleomorfa vrsta iz porodice <i>Botryosphaeriaceae</i>	20
4.4. <i>Diplodia seriata</i> kao uzročnik sušenja grana masline	21
4.5. Simptomatologija i epidemiologija vrste <i>Diplodia seriata</i> na maslini	21
4.6. Morfologija vrste <i>Diplodia seriata</i>	23
4.7. <i>Neofusicoccum parvum</i> kao uzročnik gljivičnog raka masline	24
4.8. Morfologija <i>Neofusicoccum parvum</i>	24
4.9. Simptomatologija <i>Neofusicoccum parvum</i>	26
4.10. <i>Neofusicoccum mediterraneum</i> kao uzročnik odumiranja grana masline	27

4.11. Simptomatologija <i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	28
4.12. Morfologija <i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	29
4.13. <i>Neofusicoccum ribis</i> kao uzročnik raka masline	31
4.14. Morfologija <i>Neofusicoccum ribis</i>	31
4.15. Simptomatologija <i>Neofusicoccum ribis</i>	32
4.16. Suvremene strategije za suzbijanje vrsta gljiva iz porodice <i>Botryosphaeriaceae</i>	33
5. Zaključak	35
6. Popis literature	36
7. Životopis	39

Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Loredana Makaš**, naslova

***Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* i gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae* patogeni drva masline**

Vrste *Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* te gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae* su patogeni organizmi koji spadaju u patogene drva masline. Uzrokuju začepljenje provodnog staničja drva pa mogu dovesti do bolesti sušenja izbojaka i stabla masline te predstavljaju ozbiljan fitosanitarni rizik. Stoga je bitno razumjeti ove značajne patogene i njihovu interakciju s maslinom kao domaćinom, u kontekstu suvremenog maslinarstva, u agroekosustavima izloženima klimatskim promjenama, a s ciljem uspješne i održive zaštite masline od bolesti drva.

Ključne riječi: patogeni, drvo, maslina, suzbijanje

Summary

Of the master's thesis - student **Loredana Makaš**, entitled

***Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* and fungi from family *Botryosphaeriaceae* as pathogens of olive wood**

The species *Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* and fungi from the family *Botryosphaeriaceae* are pathogenic organisms categorized under pathogens of olive wood. They cause clogging of conductive wood cells, so they can lead to the disease of drying shoots and represent a phytosanitary risk. Therefore, it is essential to understand these significant pathogens and their interaction with the olive as a host, in the context of modern olive growing, in agroecosystems exposed to climate change, and with the aim of successful and sustainable protection of the olive from wood diseases.

Keywords: pathogenic organisms, olive, wood, disease management

1. Uvod

Maslina (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *europaea*) je najpoznatije stablo u mediteranskom bazenu, a kao značajna uljarica, voćna te ukrasna vrsta ima velik gospodarski, društveni i ekološki značaj. Uzgaja se između 30° i 45° geografske širine u klimatskim regijama mediteranskog tipa (Montes-Osuna i sur., 2020). Višestruka upotreba kultiviranih i divljih (*O. europaea* L. subsp. *europaea* var. *sylvestris* Brot.) maslina kao izvor hrane, drva i stočne hrane objašnjavaju širenje maslinika širenjem ljudske civilizacije. Otprilike 10,5 milijuna ha trenutno je posvećeno uzgoju maslina diljem svijeta, a Mediteranski bazen čini 98% ove površine (Montes-Osuna i sur., 2020). Španjolska je vodeća zemlja u proizvodnji maslinovog ulja i stolnih maslina, Tunis je na drugom mjestu, a slijede Italija, Turska i Grčka. Ujedno, španjolska regija Andaluzija, na najjužnijem dijelu Pirinejskog poluotoka, koncentrira najveće područje uzgoja masline (Montes-Osuna i sur., 2020).



Slika 1.1. Maslinik izrazite gustoće lociran u provinciji Córdoba u Španjolskoj.
Izvor: Verticillium Wilt of Olive and Its Control: What Did We Learn during the Last Decade?
(Montes-Osuna i sur., 2020). <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/6/735> - pristup 08.08. 2023.

Specifičnosti sredozemne klime, blage kišne zime te vruća i suha ljeta kod ove kulture predstavljaju ključni čimbenik u uzgoju. Tijekom posljednja dva desetljeća, promjene uvedene u moderne sustave uzgoja maslina revolucionirale su ovu kulturu, uglavnom s ciljem povećanja prinosa i proizvodnje te poboljšanja prakse upravljanja i mehanizacije. Na primjer, razvoj maslinika velike gustoće (Slika 1.1.) i korištenje sustava za navodnjavanje kap po kap mijenjaju tradicionalni krajolik koji je građen tisućljećima u mediteranskim zemljama. Ove promjene, zajedno s velikom gustoćom vegetacije koja je obično prisutna u maslinicima visoke gustoće, mogu predstavljati probleme povezane s povećanjem učestalosti i ozbiljnosti specifičnih fitopatogenih gljiva i bakterija koje se prenose putem tla, ali još uvijek nisu dovoljno izučene (Montes-Osuna i sur., 2020).

Bolesti koje se danas u svijetu opisuju kao najvažnije bolesti masline, u Hrvatskoj su ili slabo poznate ili zbog svoje rjeđe pojave, do sada, nisu uzrokovale

veće štete. Primjeri za to su verticilijsko venuće čiji je uzročnik gljiva *Verticillium dahliae*, zatim gljivični rak uzrokovan vrstama iz porodice *Botryosphaeriaceae* te bakterija *Xylella fastidiosa* (Montes-Osuna i sur., 2020).

Verticillium dahliae Kleb., smatra se jednom od najrazornijih uzročnika bolesti masline i glavnim ograničavajućim čimbenikom za proizvodnju maslinovog ulja. Osim ekonomskih gubitaka zbog smrtnosti stabala i smanjenja prinosa plodova, nedavno je dokazan negativan učinak na komercijalnu vrijednost djevičanskog maslinovog ulja zbog loših organoleptičkih svojstava plodova stabala zaraženih s *V. dahliae*. *V. dahliae*, kao uzročnik verticilijskog venuća pronađen je u Kaliforniji, Španjolskoj, Portugalu, Italiji i Hrvatskoj. Bolest, koju uzrokuje navedena gljiva, postala je tijekom posljednja dva desetljeća glavna prijetnja uzgoju u područjima u kojima se već tradicionalno, dugi niz godina, uzgaja maslina (Montes-Osuna i sur., 2020).

Štetni organizam, fitopatogena bakterija *X. fastidiosa* unesen je u europski agroekosustav, gdje predstavlja invazivnu vrstu. U Hrvatskoj nije detektirana. Nakon unosa, bakterija se kukcem vektorom prenosi u okolne maslinike, što dovodi do epifitocije. Bakterija *X. fastidiosa* u biljci je prisutna isključivo u provodnom tkivu ksilema, a može se prenositi zaraženim sadnim materijalom ili kukcima vektorima (Bjeliš i sur., 2014).

Vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* se uvijek dovode u vezu s dva tipa simptoma odnosno bolestima na maslinama. Simptomi koje uzrokuju gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae* su truleži plodova s bolestima koje se manifestiraju kao sušenje grana djelomično ili potpuno sušenje stabala maslina (Kaliterna i sur., 2012). Zbog simptoma sušenja, bolest je slična verticilijskom venuću ili sušenju maslina uzrokovanom gljivama iz roda *Verticillium* pa se u praksi simptomi tih bolesti često poistovjećuju (Godena, 2019).

Zajednička osobina im je da uzrokuju traheomikoze tj. traheobakterioze (*X. fastidiosa*), a glavni simptomi su sušenje izboja i stabla, a ukoliko se simptomi preklapaju to otežava dijagnozu po simptomima (Zlatković, 2016).

U područjima gdje se ovi patogeni javljaju na maslini, smatraju se ozbiljnom prijetnjom njenom uzgoju, odnosno predstavljaju ozbiljan fitosanitarni rizik u zemljama poput Hrvatske gdje je njihova pojava još ograničena. Stoga je bitno razumjeti ove značajne patogene i njihovu interakciju s maslinom kao domaćinom, u kontekstu suvremenog maslinarstva, u agroekosustavima izloženima klimatskim promjenama, a s ciljem uspješne i održive zaštite masline od bolesti drva (Barić i sur., 2018).

Cilj ovog preglednog rada je prikazati najvažnije znanstvene spoznaje na temelju pregleda suvremene znanstvene literature. Patogeni drva masline *Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* te gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae* bit će prikazane opisom životnog ciklusa, morfologije glavnih bioloških struktura, simptomatologije i epidemiologije na maslini, uz prikaz suvremenih strategija za njihovo suzbijanje.

2. *Verticillium dahliae* uzročnik verticilioznog venuća masline

2.1. Uvod o patogenu i klasifikacija

Klasifikacija: *Fungi*, *Ascomycota*, *Pezizomycotina*, *Sordariomycetes*, *Hypocreomycetidae*, *Glomerellales*, *Plectosphaerellaceae*, *Verticillium*.

Verticillium dahliae Kleb. je askomicetna, fitopatogena gljiva koja parazitira kao hemibiotrof na velikom broju drvenastih i zeljastih biljnih vrsta. Bolest koju uzrokuje navedena gljiva postala je, tijekom posljednja dva desetljeća, glavna prijetnja uzgoju u područjima u kojima se već tradicionalno, dugi niz godina, uzgaja maslina. Prvotno je otkrivena u Italiji 1946. godine, a u Španjolskoj je utvrđena 1980. godine. U Hrvatskoj je na maslini potvrđena tek 2016. godine (Kaliterna i sur., 2016).

Štete koje uzrokuje *V. dahliae* na maslini ogledaju se u smanjenju uroda kod starijih stabala, dok kod mlađih stabala može doći i do potpunog venuća. Obično su bolešću jače pogođeni mladi maslinici (5-10 godina starosti), a kao jedan od glavnih razloga za to smatra se prethodni uzgoj drugih kultura pogotovo onih osjetljivih na *V. dahliae*. To je zato što mnogi od tih usjeva (krumpir, rajčica, lucerna, ili čak sama maslina) uzrokuju povećanje populacije ovog patogena u tlu. Isto tako, patogen može povećati infektivni potencijal u tlu zahvaljujući sposobnosti kolonizacije velikog broja zeljastih i drvenastih kultura kao i divljih vrsta biljaka, budući je polifag. Često pogađa jagodu, papriku, rajčicu, krumpir, krastavce, tikvice, patlidžan, bamiju, suncokret i razne voćne vrste (Godena, 2015). *V. dahliae* uzrokuje začepljenje provodnih snopova kod stabala masline, a smatra se najvažnijim i najštetnijim uzročnikom bolesti maslina u svijetu. Patotipovi *V. dahliae* kod masline se klasificiraju u patotipove koji uzrokuju defolijaciju (patotip D - defolijacijski) i one koji ne uzrokuju defolijaciju (patotip ND- nedefolijacijski), prema njihovoj sposobnosti da uzrokuju potpunu defolijaciju zelenih listova (Godena i sur., 2019).

2.2. Životni ciklus i epidemiologija *V. dahliae*

Životni ciklus vrste *V. dahliae* može se podijeliti u 3 faze, a to su: dormantna faza ili faza mirovanja, parazitska faza te saprotrofička faza. Dormantna i saprotrofička faza predstavljaju preživljavanje dok nema domaćina, samo se razlikuju u strategiji. U fazi mirovanja (dormantna faza) gljiva preživi u micelarnim strukturama koje se nazivaju mikrosklerociji (Slika 2.2.1.) Mikrosklerociji služe kao primarni izvor inokluma, okruglastog su ili duguljastog oblika, nastaju u tkivu domaćina te u tlu dospijevaju nakon odumiranja zaraženih organa prethodne biljke domaćina. U tlu mikrosklerociji mogu ostati vijabilni do 15 godina za razliku od hifa i konidija koje su u tlu vijabilne puno kraće. Mikrosklerociji mogu zadržati varijabilnost u nepovoljnim uvjetima kao što su tla siromašna hranjivim tvarima (Zovko, 2022), a također se mogu distribuirati kišom, vodom za navodnjavanje, zaraženim sadnim materijalom, poljoprivrednim alatima i strojevima, životinjama i vjetrom. Mikrosklerociji su utvrđeni i

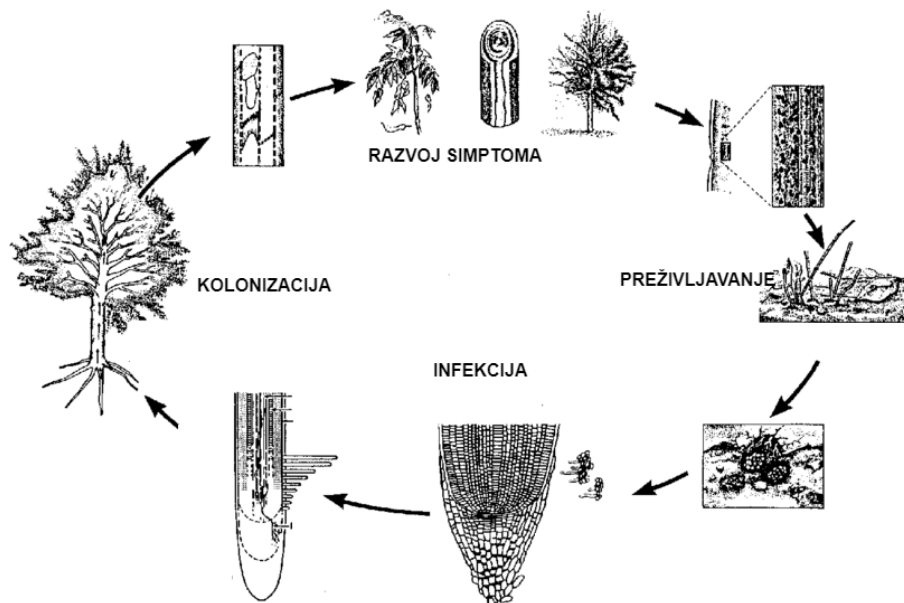
unutar cvjetne stapke masline. Zaraženi cvatovi nakon pada na tlu mogu tako biti dodatni izvor inokuluma u procesu rasprostranjenja ove gljive (Godena, 2015).

Do infekcije u okviru parazitske faze gljive tipično dolazi prodorom infektivne hife u korijen masline za čim slijedi kolonizacija korijena te fruktifikacija u korijenu u vidu formiranja konidiofora s konidijama. Konidije se potom šire iz korijena prema krošnji ksilemom te koloniziraju tkiva u krošnji (grančice, list, cvat). Da bi uspješno napao domaćina, patogen prvo mora prevladati fizičku obrambenu barijeru sastavljenu od lignina, glavne komponente stanične stijenke biljke, i potisnuti aktivnost sekundarnih metabolita i antimikrobnih spojeva koje oslobađa domaćin kao dio obrambenog odgovora usmjerenog protiv napada patogena. Stoga je proizvodnja enzima koji razgrađuju stanične stijenke jedan od čimbenika patogenosti koji pridonose verticilijskom venuću. Jednom kada je patogen u stanju nadvladati mehanički obrambeni sloj korijena, on napada ksilemske provodne elemente, oštećuje transport vode i uzrokuje tipičan sindrom venuća. Kolonizacija se na kratke udaljenosti obavlja micelijem, u korijenu, a kasnije i drugdje u biljci. No patogen može doputovati u sve dijelove domaćina, u kratkom periodu, neovisno o veličini i starosti stabla, jer dokazano je da konidijama može prijeći udaljenost u visinu od jednog metra u roku od 8-15 sekundi, a 6 metara može prijeći u 10 minuta. Stoga smatra se da konidije u patogenezu verticilijskog venuća imaju zapravo glavnu ulogu ne u infekciji, nego u kolonizaciji, jer su male i mogu se kao takve brzo kretati kroz ksilem, što micelij ili sami mikrosklerociji ne mogu. Razvoju konidija, točnije njihovom širenju kroz ksilem pogoduju kemijski i fizikalni uvjeti tipični za ksilem, a to su manjak kisika i negativan pritisak (Hiemstra i sur. 1998).

Najpovoljnija temperatura zraka za razvoj *V.dahliae* je od 22 do 25°C. Međutim, ako su tijekom ljetnih dana temperature iznad 25°C tijekom duljeg vremenskog perioda, širenje patogena i razvoj simptoma se zaustavlja. Optimalna temperatura tla za infekciju ND patotipa *V. dahliae* je u rasponu od 16 do 20 °C. Za razliku od ND patotipa, D patotip ima nešto viši raspon, od 16 do 24 °C što se tiče sorte masline *Picual*, odnosno 20 do 24 °C kod sorte *Arbequina*. Niži temperaturni optimum za razvoj ND patotipa ove vrste može objasniti zašto se taj patotip nalazi na geografski ograničenim i hladnijim područjima južne Španjolske, dok patotip D nalazimo u toplijim područjima Španjolske (Godena i sur., 2019).

Prema Godena i sur. (2019), sadržaj klorofila je najbolji pokazatelj tj. indikator za detekciju *V. dahliae* u ranim fazama razvoja verticilioznog venuća masline. Isti može razlikovati asimptomatične biljke od biljaka koje pokazuju jako niski stupanj simptoma zaraze (Godena i sur., 2019).

Saprofitička faza u životnom ciklusu *V.dahliae* počinje starenjem zaražene biljke. U ovoj fazi, gljiva ispušta mikrosklerocije u tlo zajedno s razgrađenim biljnim ostacima. *V. dahliae* može dugo preživjeti u tlu i ostacima usjeva u obliku micelija te micelarnih strukturaklamidospora i mikrosklerocija do nove infekcije u parazitskoj fazi. Osim na maslini, gljiva može kao saprofit preživjeti i na drugim usjevima i korovima. Preživljavanje mikrosklerocija u tlu ovisi o uvjetima tla i povijesti sustava uzgoja na njemu (Kibalou i sur., 2021).



Slika 2.2.1. Životni ciklusa vrste *Verticillium dahliae* unutar drvenastog domaćina.

Izvor: Life cycle of *Verticillium dahliae* in tree hosts (Hiemstra i sur. 1998).

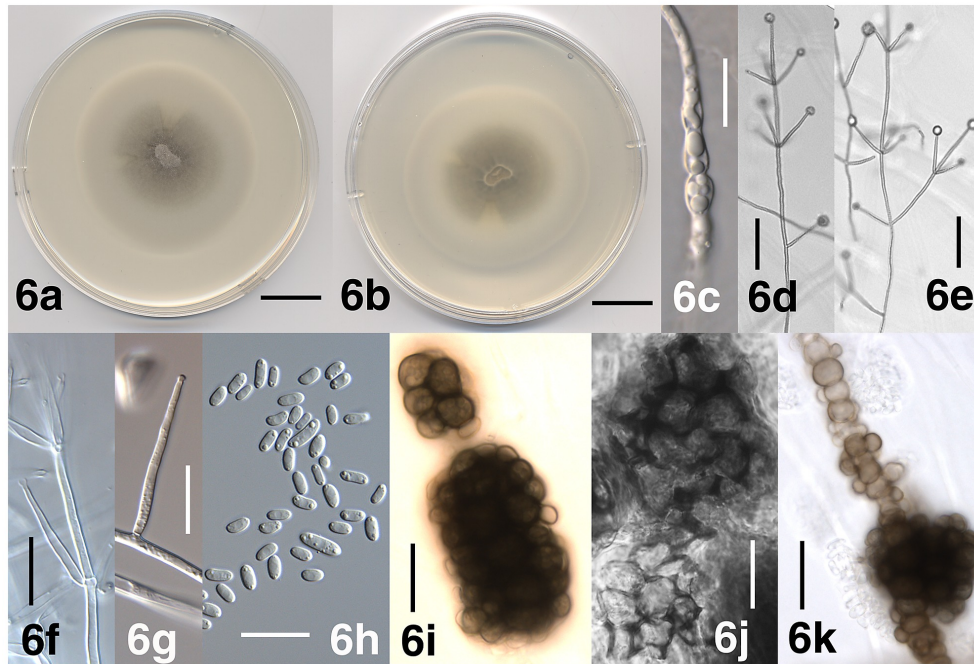
https://www.researchgate.net/figure/Life-cycle-of-Verticillium-dahliae-in-tree-hosts-courtesy-of-JA-Hiemstra-and-AJ_fig1_40128665 - pristup 9.05.2023.

2.3. Morfologija *Verticillium dahliae*

Kolonije gljive *V. dahliae* uzgajane na umjetnom hranjivom mediju PDA (eng. Potato dextrose agar) nakon 2 tjedna dosežu veličinu od 4–6 cm u promjeru. Micelij je u početku nježno pamučast, bjelkast. Kasnije se počinju stvarati mikrosklerociji, a kultura zbog njih poprima crnu boju. Zračni miceliji je obilan, pahuljast ili je pritisnut na agar i izgleda kao da je natopljen vodom. Zračne hife su glatkih stijenki, široke su 1,5 do 2–4 μm , ponekad sadrže napuhane stanice širine do 9 μm (Slika 2.3.1.c). Konidiofori su uspravni ili nagnuti, bezbojni te pršljenasto razgranati (Slika 2.3.1.d). Mogu biti i nerazgranati (Slika 2.3.1. e) te formirani razdvojeno u kolonijama. Duljine su 80–800 μm i 3–4 μm široki, sužavaju se prema vrhu i poprečno su septirani. Fijalide, koje se na konidioforima formiraju u verticiliatnom rasporedu, mogu biti različite veličine, najčešće 16–35 x 1–2,5 μm (Inderbitzin i sur., 2011).

Fijalide su elipsoidnog oblika dimenzija 2,5–8 x 1,4–3,2 μm (Slika 2.3.1. f), raspoređenih u (1–) 2–3 (–10) vijugavih ogranaka duž konidiofora (Slika 2.3.1. d, e), koji se pojavljuju ispod poprečnog septuma (Slika 2.3.1. f). Vijugavi ogranci razmaknuti su 50–100 μm , bliže vrhu, sastoje se od (1–2) (4 –6) fijalida (Slika 2.3.1. d, e). Apikalni ogranci se sastoje od jedne vršne i jedne do nekoliko bočnih fijalida (Slika 2.3.1. d). Ponekad se pojedinačne fijalide formiraju bočno od vegetativnih hifa (Slika 2.3.1. g). Fijalide se sužavaju od 2–3 μm na bazi do 1–2 μm na vrhu. Konidije

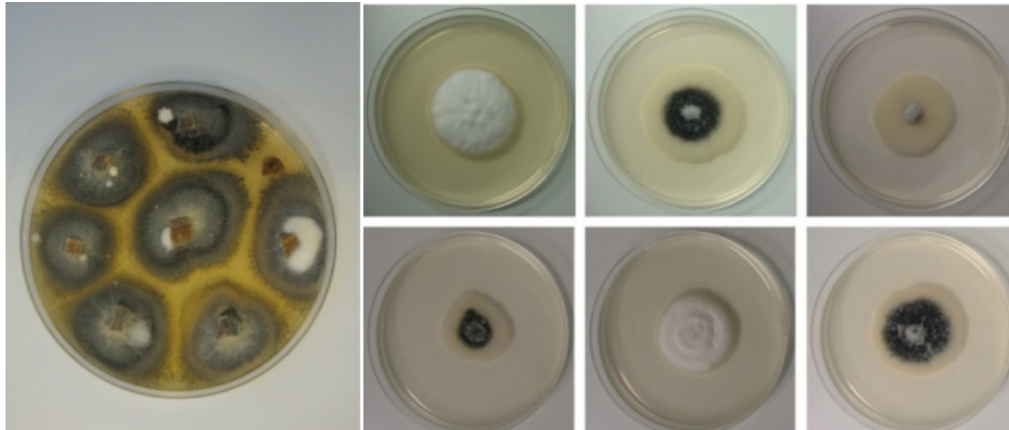
su glatkih stijenki, bez pregrada, a također mogu biti cilindrične sa zaobljenim vrhovima do ovalne (Slika 2.3.1. h). Mikrosklerociji koji su uronjeni u agar bili su pravilno ili nepravilno raspoređeni po kolonijama i sastavljeni od zaobljenih smeđe pigmentiranih stanica promjera do 13 μm . Pojedinačni mikrosklerociji bili su zaobljenog do izduženog ili nepravilnog oblika, promjera 25-100 μm , a nakupine mikrosklerocija do 200 μm promjer. (Slika 2.3.1. i,j,k). Ponekad su prisutne kratke, smeđe pigmentirane hife pričvršćene na mikrosklerocije (Slika 2.3.1. k) (Inderbitzin i sur., 2011).



Slika 2.3.1. Morfologija *V. dahliae* (izolat PD322). 6a. Kolonija nakon 14 dana na PDA supstratu, pogled sprijeda. 6b. Kolonija nakon 14 dana na PDA, obrnuti pogled. 6c. Napuhane stanice prisutne u miceliju nakon 28 dana na PDA. 6d. Konidiofor nakon 15 dana na WA-p. 6e. Razgranati konidiofor nakon 12 dana na WA-p. 6f. Parovi fialide nakon 25 dana na WA-p. 6g. Samostalna fialida nakon 14 dana na PDA. 6h. Konidije nakon 9 dana na PDA. 6i. Mikrosklerocije nakon 12 dana na WA-p. 6j. Mikrosklerocije holotipskog materijala *V. dahliae* iz stabljike *Dahlia* sp. 6k. Kratka smeđe pigmentirana hifa sastavljena od toruloznih stanica pričvršćenih na mikrosklerocij nakon 49 dana na PDA. Mjerilo: 6a, 6b = 2 cm; 6c, 6f–6k = 20 μm ; 6d, 6e = 50 μm . Metoda snimanja: 6a, 6b = DS; 6c, 6f–6h = DIC; 6d, 6e, 6i, 6k = BF; 6j = PC.

Izvor: Morphological features of *Verticillium dahliae* strain PD322 (Inderbitzin i sur., 2011).

https://plos.figshare.com/articles/figure/Morphological_features_of_Verticillium_dahliae_strain_PD322_ex_epitype_unless_otherwise_noted_/376605 - pristup 30.4. 2023.



Slika 2.3.2. *Verticillium dahliae* na umjetnoj hranjivoj podlozi (lijevo) i izolati *Verticillium dahliae* (izolati Ver/Sg4, Ver/Sg7, Ver/SG8, Ver/SG9, Ver/SG21 i Ver/SG26) na KDA nakon 7 dana inkubacije (desno).

Izvor: Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina (Godena i sur., 2019).

http://www.iptpo.hr/images/pdf/Uzrocnici%20djelomicnog%20ili%20potpunog%20susenja%20stabala%20maslina%20u%20Istri_prirucnik%20VIP_2018.pdf - pristup 30.4. 2023.

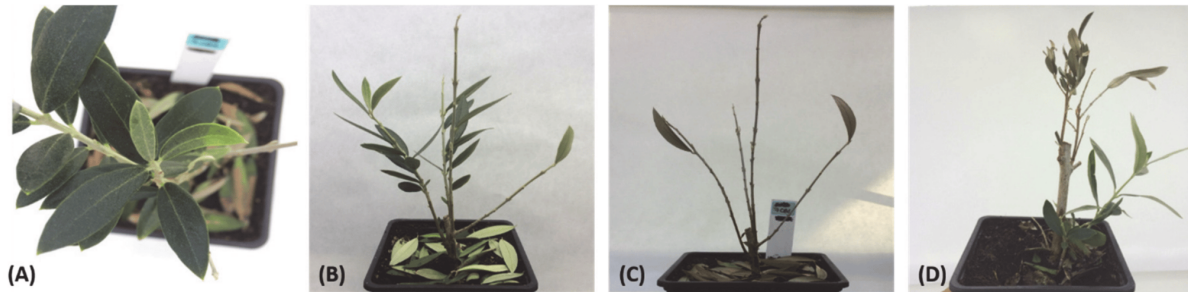
2.4. Simptomatologija verticilioznog venuća

Razlikuju se dva sindroma ove bolesti koji se manifestiraju različitim simptomima, a to su akutni oblik, tzv. „apopleksija ili brzo venuće“ i kronični oblik tzv. „polagano venuće“. „Apopleksija“ je karakterizirana venućem glavnih i sporednih grana masline, koje se javlja u mediteranskim klimatskim uvjetima uglavnom u kasnu zimu (do početka proljeća). Listovi prvo postaju klorotični, a zatim svijetlo smeđi, progresivno se uvrću prema unutra te ostaju na zahvaćenim granama. Konačni rezultat je brzo i drastično sušenje izbojaka i grana. Kad se ovaj sindrom javlja kod mladih biljaka, vrlo često odumire čitavo stablo. Sindrom „polaganog venuća“ karakterizira obilna defolijacija, folijarna kloroza te mumifikacija i odumiranje cvatova, koje počinje u proljeće te simptomi polako napreduju do početka ljeta. Kod ovog gljivičnog oboljenja, pogođene grane (ponekad i deblo) često mijenjaju boju u ljubičastu. Simptomi verticilijskog venuća mogu ovisiti o patotipu gljive pa je tako patotip D vrlo virulentan i uzrokuje izražene simptome, uključujući venuće, klorozu, defolijaciju, patuljavost i odumiranje čitavog stabla (Slika 2.4.1.). Patotip ND uzrokuje gotovo iste simptome kod masline kao i patotip D, ali u blažem ili umjerenijem stupnju (Godena i sur., 2018).

Simptomi verticilioznog venuća mogu se djelomično preklapati s drugim bolestima drva masline poput sušenja grana i izboja masline uzrokovanih gljivama iz porodice *Botryosphaeriaceae* (*Diplodia seriata*, *Neofusicoccum mediterraneum*, *Botryosphaeria dothidea*), gljivama *Phoma incompta*, *Fomitiporia mediterranea*, *Nectria radicola*, *Eutypa lata*, *Armillaria melea*, i dr. U Hrvatskoj su posljednjih godina kao uzročnici sušenja masline utvrđeni *P. incompta* i *D. seriata* (Ivić i sur., 2016).

Simptomi verticilioznog venuća mogu se djelomično preklapati sa simptomima drugih bolesti drva masline poput raka masline uzrokovanih gljivama iz

porodice *Botryosphaeriaceae* (*Diplodia seriata*, *Neofusicoccum mediterraneum*, *Botryosphaeria dothidea*), gljivama *Phoma incompta*, *Fomitiporia mediterranea*, *Nectria radicola*, *Eutypa lata*, *Armillaria mellea*, i dr. (Godena i sur. 2019.) (Slika 2.4.1. i 2.4.2.). Za točnu dijagnozu je stoga potrebno provesti analizu za točno utvrđivanje uzroka.



Slika 2.4.1. Simptomi defolijacije uočeni nakon umjetne inokulacije masline *Verticillium dahliae* u biljke masline sorte *Picual*. a) Klorotični i iskrivljeni list; b) djelomično ozbiljno defolijacija (koja zahvaća neke stabljike) zelenog lišća; c) mrtva biljka s potpunom defolijacijom; d) biljke masline mogu doživjeti takozvani fenomen prirodnog oporavka.

Izvor: Verticillium Wilt of Olive and Its Control: What Did We Learn during the Last Decade? (Montes-Osuna i sur., 2020). <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/6/735#B16-plants-09-00735> - pristup 25.05.2023.



Slika 2.4.2. *Verticillium dahliae* kao uzročnik začepljenja provodnih snopova na maslini.

Izvor: Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina, Zatamnjenje provodnih snopova na presjeku grane masline uslijed zaraze (Godena i sur.,2019).

http://www.iptpo.hr/images/pdf/Uzrocnici%20djelomicnog%20ili%20potpunog%20susenja%20stabala%20maslina%20u%20Istri_prirucnik%20VIP_2018.pdf - pristup 30.4. 2023.



Slika 2.4.3. Sušenje zametnutih plodova i rodni grančica (lijevo), smežurani plodovi na rodni grančicama uslijed zaraze s *Verticillium dahliae* (sredina) i žućenje lišća u krošnji masline, nerijetko prvi simptom verticilijskog venuća, (desno).

Izvor: Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina (Godena i sur., 2019).

http://www.iptpo.hr/images/pdf/Uzrocnici%20djelomicnog%20ili%20potpunog%20susenja%20stabala%20maslina%20u%20Istri_prirucnik%20VIP_2018.pdf - pristup 30.4. 2023.

2.5. Suvremene strategije za suzbijanje *Verticillium dahliae* na maslini

Najvažnija mjera zaštite masline, a ujedno i najekonomičnija i ekološki najpovoljnija kod ove vrste patogena je sadnja otpornih sorti masline. Otporne sorte su *Frantoio* i *Coratina*, a *Leccino*, *Ascolana Tenera* i *Oblica* su osjetljive. *Leccino* je u nekim slučajevima spomenut i kao ekstremno osjetljiva sorta (Godena, 2019).

U integriranoj zaštiti masline bitno je koristiti otporne kultivare. Međutim, potrebno je i razviti otporne kultivare koji su ujedno prilagođeni novim uvjetima uzgoja maslina, koji između ostalih svojstava zahtijevaju nisku bujnost. Neki kultivari i divlji oblici maslina procijenjeni su kao dobra baza za dobivanje novih otpornih kultivara maslina, ali još uvijek postoji golema genetska raznolikost koju treba istražiti unutar vrsta (Valverde i sur., 2023).

Pretpostavlja se da prekomjerna gnojidba dušikom, osobito kombinirana s prekomjernim navodnjavanjem ili zalijevanjem u visokoj učestalosti, mogu povećati učestalost i jačinu infekcije. Obrada tla također je važan mehanizam širenja fitopatogene gljive *V. dahliae* unutar i među kultiviranim parcelama. Kako bi se izbjeglo širenje ovog patogena, korove bi trebalo suzbijati herbicidima. Simptomatične izbojke i grane zaraženih stabala treba odstraniti rezidbom i uništiti (preporučuje se spaljivanje), kako bi se izbjeglo daljnje širenje unutar nasada. Također, unatoč trošku, opalo zeleno lišće treba ukloniti, budući je važan izvor inokuluma i ključni faktor u širenju patogena unutar i između susjednih nasada masline. Od ostalih uobičajenih agrotehničkih mjera zaštite treba spomenuti i solarizaciju tla, no njena je mana visoka cijena (Godena, 2019).

Novo metode zaštite od *V.dahliae* u svijetu usmjeravaju se na smanjenje inokula u tlu. Obećavajući rezultati postignuti su uzgojem 11 kultura iz porodice krstašica (*Brassicaceae*) poput uljane rotkve, smeđe ili crne gorušice te primjenom mikrobioloških gnojiva ili fungicida prije sadnje. Važna mjera sprječavanja širenja inokula i zaraze je izbjegavanje povrćarskih međuusjeva u maslinicima ili povrćarskih usjeva u neposrednoj blizini maslinika, što je katkad slučaj na manjim površinama u Istri. Tla kisele reakcije (< pH 5,5) inhibiraju rast *V. dahliae* te stvaranje i opstanak mikrosklerocija. Ovaj patogen se obično razvija u tlu neutralne do alkalne reakcije tla (pH 6-9) (Godena, 2019).

Destilirano eterično ulje (hidrolat) iz lišća *Juniperus thurifera* L. moglo je inhibirati rast micelija različitih fitopatogenih gljiva, uključujući *V. dahliae*. Slično, varijabilna inhibicija rasta *in vitro* micelija *S. sclerotiorum*, *F. oxysporum* i *V. dahliae* opažena je s eteričnim uljima ekstrahiranim iz biljnih vrsta *Vaccinium myrtillus* L., *Laurus nobilis* L. i *Eucalyptus camaldulensis*. Istraživanja su usporedila antifungalni učinak eteričnih ulja te biljnih ekstrakata iz biljki *Mentha piperita* L., *Thymus vulgaris* L. i *Lavandula angustifolia* Mill., pokazujući da je uporaba ovih eteričnih ulja daju bolje rezultate za njihovu sposobnost inhibicije rasta micelija (Montes-Osuna i sur., 2020). Istraživanja su pokazala da je za razvoj novih učinkovitih formula protiv biljnih patogena potrebno detaljno poznavanje kemijskog sastava eteričnih ulja. No samo je jedno istraživanje provedeno za procjenu učinkovitosti biljnih ekstrakata i eteričnih ulja protiv *V. dahliae* u biljkama masline. Rezultati pokazuju da eterično ulje *Thymus* sp. ima značajnu inhibiciju rasta micelija, kao i značajno smanjenje verticilioznog venuća (Montes-Osuna i sur., 2020).

Morske alge imaju visok sadržaj polisaharida koji sudjeluju u ranim signalnim procesima aktivacijom sekundarnih metaboličkih putova. Korištenje morskih algi u biološkoj kontroli verticilioznog venuća rijetko je istraživano. Istraživan je učinak primjene potencijalnih elicitora kao što su alginat i laminarin (smeđe alge), karagenan (crvene alge) i ulvan (zelene alge) na sadržaj fenilalanin amonijak-liaze (PAL) i lignina. Porast aktivnosti PAL-a uočen je nakon primjene ulvana ili laminarina u grančice masline sorte *Picholine Marocaine*. Osim toga, PAL je u korelaciji s lignifikacijom stanične stijenke i nakupljanjem fenolnih spojeva. U tom smislu, sadržaj lignina se značajno povećao u grančicama tretiranim alginatom, karagenanom ili ulvanom. No, grančice tretirane alginatom, laminarinom i ulvanom imaju 50% smanjeno vaskularno posmeđenje (Montes-Osuna i sur., 2020).

3. *Xylella fastidiosa* - uzročnik bolesti brzog sušenja masline

3.1. Uvod o patogenu i klasifikacija

Klasifikacija: red: *Xanthomonadales*, por. *Xanthomonadaceae*, rod: *Xylella*.

Xylella fastidiosa je fitopatogena bakterija koja ima vrlo širok krug domaćina. U svijetu postoji više primjera u kojima su različiti sojevi ove bakterije doslovno poharali velike poljoprivredne površine. Najstariji poznati primjer je pojava bolesti

vinove loze isprva poznate po nazivu Kalifornijska bolest vinove loze (Californian wine disease) u Kaliforniji krajem 19. stoljeća, kasnije nazvane Pierceova bolest. Na europskom se kontinentu prvi i jedini put spominje pojava Pierceove bolesti na vinovoj lozi na Kosovu prije gotovo 20 godina. Kako do 2013. nije bilo drugih nalaza u Europi, pretpostavlja se da se štetni organizam tada nije udomaćio. Dramatična pojava bolesti brzog sušenja maslina i velike štete čak i na stoljetnim maslinama na području poluotoka Salento u Italiji tijekom 2013. godine izazvale su veliku zabrinutost, pogotovo kada je potvrđeno da je uzročnik upravo *X. fastidiosa*, a ne kompleks različitih abiotskih i biotskih čimbenika kako se prvotno pretpostavljalo. U Italiji se za tu bolest upotrebljava opisni naziv prema simptomima bolesti kompleks brzog sušenja masline (Complesso del disseccamento rapido dell'olivo), a soj bakterije *X. fastidiosa*, uzročnik te bolesti, označava se, prema talijanskom nazivu, akronimom CoDiRO (Bjeliš i sur., 2014).

Značajno je istaknuti da je laboratorijskim istraživanjima potvrđeno da CoDiRO soj bakterije ne može zaraziti agrume i vinovu lozu. Štetni organizam *X. fastidiosa* unesen je u europski agroekosustav, gdje predstavlja invazivnu vrstu. Bakterija *X. fastidiosa* u biljci je prisutna isključivo u ksilemu, a može se širiti zaraženim sadnim materijalom ili kukcima vektorima. Među nekoliko prikupljenih vrsta potencijalnih vektora, pjenuša (*Philaenus spumarius* L.) (*Aphrophoridae*, *Hemiptera*) je zasad jedini eksperimentalno potvrđeni vektor *X. fastidiosa* soja CoDiRO. Najveći broj istraživanja u posljednje dvije godine bio je usmjeren ponajprije na razjašnjavanje etiologije, pronalazak i optimizaciju preciznih metoda detekcije. Sva navedena područja istraživanja ključna su za propisivanje svrsishodnih, 7 učinkovitih i stručno utemeljenih fitosanitarnih mjera, kojima bi širenje bakterije u Europi trebalo biti spriječeno. Pojava i udomaćivanje bakterije *X. fastidiosa* na poluotoku Salento u Italiji predstavljaju fitosanitarni rizik najvišeg stupnja i za poljoprivredu Hrvatske, poglavito u primorskoj regiji gdje se uzgaja maslina. Tijekom 2014. godine po prvi put je proveden program posebnog nadzora u sklopu kojeg nije utvrđena nazočnost ovog štetnog organizma u Hrvatskoj (Bjeliš i sur., 2014).

Fitopatogena bakterija *Xylella fastidiosa* ima vrlo širok krug domaćina te uzrokuje veći broj ekonomski značajnih bolesti više poljoprivrednih kultura. Jedan od domaćina je maslina, kod koje na osjetljivim kultivarima bolest redovito završava potpunim odumiranjem stabla. Najosjetljiviji kultivari masline na području poluotoka Salento su *Ogliarola Salentina* (sinonim *Ogliarola di Lecce*) i *Cellina di Nardò*. Nešto blaži simptomi zabilježeni su na kultivarima *Nociara*, *Carolea* i *Nocellara*. Naspram tih kultivara, sorta *Leccino* pokazala se kao najmanje osjetljiva. U istom nasadu zaražena stabla kultivara *Ogliarola Salentina* i *Cellina di Nardò* doživjela su brz kolaps, dok je na zaraženim stablima kultivara *Leccino* zabilježen samo manji broj suhih izboja unutar krošnje (Bjeliš i sur., 2014).

3.2. Životni ciklus i epidemiologija bakterije *Xylella fastidiosa*

Optimalne temperature za razvoj bakterije kreću se od 26 do 28 °C. Ograničavajući čimbenik za geografsku rasprostranjenost bakterije su niske zimske

temperature. Unutar vrste opisane su podvrste koje se razlikuju na molekularnoj razini i po krugu biljaka domaćina: *X. fastidiosa* ssp. *fastidiosa* (sin spp. pierce); *X. fastidiosa* ssp. *multiplex*, *X. fastidiosa* ssp. *sandy*, *X. fastidiosa* ssp. *pauca*. *X. fastidiosa* razvija se isključivo u ksilemu biljke. Simptomi koje uzrokuje posljedica su blokade ksilema u kojem se umnožava. Ksilem čine traheje i traheide kojima se voda iz korijena transportira u druge dijelove biljke. Bakterija se umnožava u ksilemu, čime može začeptiti traheje i onemogućiti transport vode. Nakon zaraze, *X. fastidiosa* se unutar biljke širi u oba smjera, no zaraza domaćina gotovo nikada nije sistemična i bakterija nije ravnomjerno raspoređena unutar biljke. Osim samih bakterijskih stanica, traheje i traheide često se nakon zaraze bakterijom začepe same, kao posljedica obrambene reakcije biljke. Naime biljka nastoji ograničiti širenje bilo kojeg parazita u svom ksilemskom tkivu na način da uzrokuje začepljenja traheja i traheida stvaranjem tzv. tiloza, koje zaustavljaju širenje patogena, ali i tok vode u tkivu (Bjeliš i sur., 2014). Bakterija *X. fastidiosa* prenosi se sa zaraženih biljaka domaćina na zdrave perzistentnim načinom kukcima-vektorima, koji se hrane sadržajem ksilema. Prijenos se odvija u tri faze, a započinje (1) usvajanjem ili akvizicijom iz zaražene biljke sisanjem, odnosno ishranom, (2) vezanjem i zadržavanjem bakterije u prednjem dijelu jednjaka kukca koji je smješten u glavi te (3) inokulacijom u novu biljku domaćina tijekom ishrane na zdravim biljkama. Vrste iz podreda *Cicadomorpha* koje pripadaju porodicama *Cicadidae*, *Aphrophoridae*, *Cercopidae* i *Cicadellidae* smatraju se potencijalnim vektorima bakterije *X. fastidiosa*. Poznato je da navedene vrste nemaju mogućnost transovarijskog prijenosa bakterije na sljedeću generaciju (od zaraženog odraslog vektora, preko jaja, na njegovo potomstvo) ili od preimaginalnih stadija razvojem do odraslog kukca. Za uspješan prijenos odrasli se vektor mora hraniti na zaraženoj biljci i usvojiti samo nekoliko stanica bakterije, a jedinke odraslih kukaca ostaju zaražene do kraja života. Bakterija se umnožava u prednjem dijelu jednjaka zaraženog kukca i odmah nakon faze usvajanja moguća je zaraza novog domaćina. Prve pretpostavke o vektorima bakterije *X. fastidiosa* u Europi odnosile su se na vrste *Cicadella viridis* L. (*Cicadellidae*) i *Philaenus spumarius* L. (*Aphrophoridae*) (Bjeliš i sur., 2014).



Slika 3.2.1. *Philaenus spumarius* na maslini.

Izvor: Collection of data and information on biology and control of vectors of *Xylella fastidiosa* (Di Siero i sur., 2019). https://www.researchgate.net/figure/fig8_333112619 - pristup 30.4. 2023.

Faunistička istraživanja na području poluotoka Salento u Italiji potvrdila su prisustvo četiri potencijalna vektora bakterije *X. fastidiosa* soja CoDiRO, no među njima je samo *P. spumarius* u pokusima prijenosa potvrđen kao vektor. Uz navedeno, na području poluotoka Salento u ukupnoj populaciji podreda *Cicadomorpha*, *P. spumarius* je najbrojnija vrsta i zauzima više od 95% udjela među svim vrstama. Osim navedene vrste, na području Salenta utvrđeni su i potencijalni vektori, vrsta *Neophilaenus campestris* F. (*Aphrophoridae*) i *Euscelis lineolatus* B. (*Cicadellidae*), u kojima je laboratorijskim analizama utvrđeno prisustvo patogena (Bjeliš i sur., 2014).

Prema bazi podataka „Fauna Europaea“, dvije navedene vrste insekata vektora nisu prisutne u Hrvatskoj. Istovremeno vrsta *C. viridis*, koja je rasprostranjena u čitavoj Europi, do sada nije utvrđena u maslinicima poluotoka Salento. Suprotno tome, vrsta *C. viridis* prisutna je u Hrvatskoj u ekosustavu masline te je svakako potrebno provesti istraživanja podreda *Cicadomorpha* kako bi se mogla procijeniti uloga tog potencijalnog vektora u Hrvatskoj. Istraživanja u Italiji potvrdila su da je maslina glavni izvor zaraze za sekundarno širenje bakterije, dok je uloga oleandera kao izvora zaraze minorna jer ga vektor ne preferira. Pjenuša (*P. spumarius*) prezimljava u obliku jaja na različitim mjestima. Ovisno o području, već krajem ožujka pa sve do lipnja moguće je uočiti pjenaste nakupine na listovima ili stabljikama različitih vrsta korova ili kultiviranog bilja. U pjenastim se nakupinama razvijaju nimfe, kojih može biti i više od jedne, a nakon završenog razvoja, krajem proljeća, odrasli se s korova sele na maslinu i druge biljne vrste, najčešće mirtu (*Myrtus communis* L.), tršlju (*Pistacia lentiscus* L.), ružičasti zimzelen (*Vinca (Catharanthus) rosea* L.), oleander (*Nerium oleander* L.), vinovu lozu (*Vitis vinifera* L.) i druge. Od kraja proljeća i tijekom ljeta *P. spumarius* ishranom na zaraženim maslinama i mogućim drugim biljkama domaćinima prenosi bolest na zdrave biljke. U tom je razdoblju na svakoj maslini prisutno na desetke ili stotine odraslih jedinki s visokom stopom zaraženih odraslih kukaca, zbog čega dolazi do velikog broja infekcija i brzog širenja (Bjeliš i sur., 2014).

Krajem srpnja odrasli se oblici cvrčaka ponovno sele na korovne vrste ili grmlje. Kopulacija je zabilježena tijekom cijelog ljeta, a ovipozicija se odvija tijekom kasne jeseni i zime. Za sada nije poznato koliko vremena mora proći od zaraze stabla putem vektora do pojave prvih simptoma. Odnos bakterije i masline u najvećoj je mjeri nepoznat, kao i brojni aspekti vezani uz epidemiologiju bolesti, ulogu drugih biljaka domaćina, prostorno-vremensko širenje epifitocije, ulogu drugih potencijalnih vektora ili osjetljivost različitih sorata masline na zarazu bakterijom. Iako je etiologija „brzog sušenja masline“ koju uzrokuje soj CoDiRO bakterije *X. fastidiosa* opisana i potvrđena u 2014. godini, uz ovu se bolest još uvijek vežu brojne nepoznanice, koje bi buduća istraživanja trebala razriješiti (Bjeliš i sur., 2014).

3.3. Simptomatologija - *Xylella fastidiosa*

Biljke domaćini bakterije *X. fastidiosa* mogu biti zaražene bez da pokazuju vidljive simptome. Na maslini simptomi počinju s promjenom boje i otpadanjem lišća, venućem i sušenjem vršnih mladica i izboja smještenih u gornjem dijelu krošnje, sušenjem i propadanjem mladica i grana te pojavom nekroza (Bjeliš i sur., 2014).



Slika 3.3.1. Simptomi promjene boje i sušenja lišća.

Izvor: Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina (Godena i sur., 2019).

http://www.iptpo.hr/images/pdf/Uzrocnici%20djelomicnog%20ili%20potpunog%20susenja%20stabala%20maslina%20u%20Istri_prirucnik%20VIP_2018.pdf - pristup 30.4. 2023.



Slika 3.3.2. Venuće i sušenje vršnih mladica i izboja smještenih u gornjem dijelu krošnje.

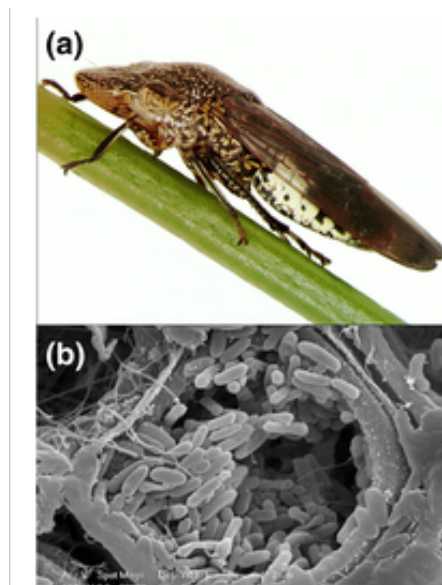
Izvor: Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina (Godena i sur., 2019).

http://www.iptpo.hr/images/pdf/Uzrocnici%20djelomicnog%20ili%20potpunog%20susenja%20stabala%20maslina%20u%20Istri_prirucnik%20VIP_2018.pdf - pristup 30.4. 2023.

Brzo sušenje masline jedna je od bolesti koje se ne mogu lako raspoznati prema simptomima. Uzročnik bolesti, *X. fastidiosa*, bakterija je koja se razvija isključivo u ksilemu biljke. S obzirom na to da bakterija nije sistemsko prisutna u cijeloj biljci, potrebno je uzimati uzorke koji su što bliže dijelovima krošnje na kojima su vidljivi simptomi. Vrlo širok krug mogućih domaćina bakterije ne pokazuje nikakve simptome, iako su biljke zaražene. U tom je slučaju potrebno uzeti dijelove grančica s listovima s više mjesta na biljci. Iz uzorka biljnog materijala za laboratorijske analize koristi se dio lista s peteljkom i glavnom lisnom žilom (Bjeliš i sur., 2014).

3.4. Morfologija bakterije *Xylella fastidiosa*

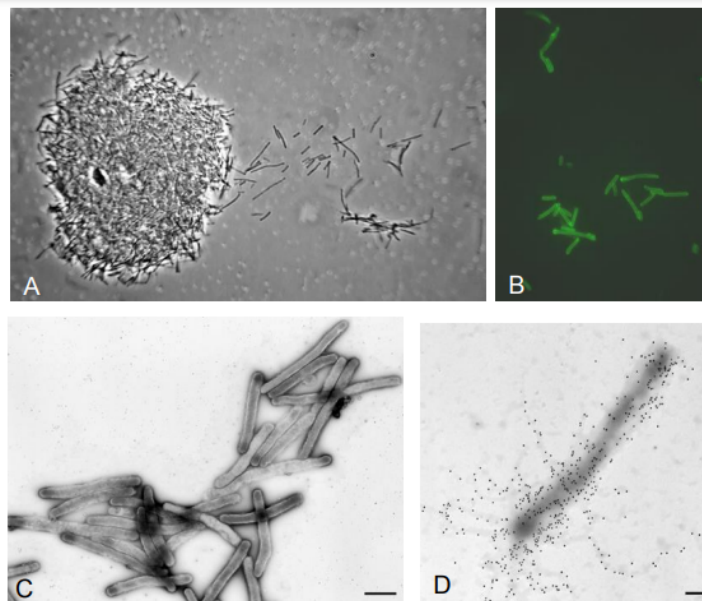
Bakterija *X. fastidiosa* je gram-negativna, štapičasta, bez bičeva, dimenzija $0,3 \times 1-4 \mu\text{m}$ (Slika 3.4.1.) i obligatni je aerob (Bjeliš i sur., 2014).



Slika 3.4.1. Gram negativna štapičasta bakterija *Xylella fastidiosa* i njezin prijenosnik *Philaenus spumarius* (livadna pjenuša).

Izvor: Sharpshooters: a review of what moves *Xylella fastidiosa* (Krugner i sur., 2019).
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/aen.12397> - pristup 30.4. 2023.

Kolonije su sporog rasta i male (manje od 1 mm nakon 25 dana rasta), nepigmentirane, opalescentne, debele i namreškane stanične stijenke, prosječne širine od $0,35 \mu\text{m}$, i maksimalne duljine od oko $5 \mu\text{m}$, pozitivne na reakciju imunofluorescencije (Slika 3.4.1.) (Cariddi i sur., 2014).



Slika 3.4.2. a) Prikaz kolonije, b) test imunoflorescencije (obojan u zeleno), c) Elektronska mikrografija bakterijskih stanica, d) Stanična stijenka i fimbrije bakterijske stanice nakon označavanja imunološkim zlatom.

Izvor: Isolation of a *Xylella fastidiosa* strain infecting olive and oleander in Apulia, Italy (Cariddi i sur., 2014).

http://cartografia.sit.puglia.it/doc/JPPSCSN_Cariddi.pdf - pristup 21.08.2023.

3.5. Suvremene strategije za suzbijanje bakterije *Xylella fastidiosa*

U područjima gdje se javlja *X. fastidiosa* mjere zaštite ovise o nizu čimbenika. Iako postoji znanstveno evidentirani nalaz bakterije *X. fastidiosa* na Europskom kontinentu, ostaje nejasno koji su čimbenici utjecali na to da danas nema nikakvih informacija o daljnjem širenju tog štetnog organizma nakon početnog nalaza. Epidemiologija bolesti uzrokovane tom bakterijom, štetnost i učestalost izrazito ovise o području, vrsti biljke domaćina, vektorima, načinu uzgoja, klimi, podvrstama i sojevima bakterije. Trenutačno su temeljne mjere zaštite od bolesti koje uzrokuje *X. fastidiosa* proizvodnja nezaraženog sadnog materijala, suzbijanje vektora, uništavanje zaraženih biljaka domaćina te selekcija i uzgoj otpornih ili tolerantnih sorata. U područjima svijeta gdje je štetni organizam prisutan, certifikacijske sheme za proizvodnju certificiranog sadnog materijala redovito obuhvaćaju obaveznu kontrolu bakterije *X. fastidiosa* (Bjeliš i sur., 2014).

Nakon pojave u Italiji, obavezna kontrola ovog patogena je uvedena i u proizvodnji masline prema nacionalnim certifikacijskim shemama. Propisane fitosanitarne mjere na području Salenta uključuju razgraničenje južnog dijela poluotoka administrativnim proglašavanjem „demarkacijske linije”, koja se proteže od Jadranskog mora do Tirenskog zaljeva u širini od 40 km (Bjeliš i sur., 2014). Demarkacijska linija je pojas širine jednog kilometra koji se proteže cijelom širinom poluotoka, a razgraničava područje u kojem su biljke zaražene s bakterijom *X.*

fastidiosa. U području koje obuhvaćaju demarkacijska i sigurnosna zona provodi se intenzivan monitoring, suzbijanje vektora, uništavanje svih biljaka domaćina na javnim površinama i suzbijanje korovnih biljaka.

U zaraženom području, uz demarkacijsku liniju, uvedena je i eradikacijska linija širine jednog kilometra u kojoj se provode sve mjere eradikacije. Svrha te linije je dodatno osiguravanje od širenja zaraze u nezaraženo područje. Na području koje obuhvaća eradikacijska zona provodi se analiza svih prisutnih biljaka domaćina, mehaničko uništavanje, vađenje s korijenom i spaljivanje ili mljevenje svih biljnih ostataka, suzbijanje svih potencijalnih kukaca vektora kemijskim suzbijanjem i uništavanje korova (Bjeliš i sur., 2014).

Administrativne mjere za sprječavanje širenja štetnih organizama definirane su s nekoliko propisa na razini EU-a i Hrvatske, kako slijedi: Republika Hrvatska Zakon o biljnom zdravlju (NN 75/05, 55/11), Pravilnik o mjerama za sprječavanje unošenja i širenja organizama štetnih za bilje, biljne proizvode i druge nadzirane predmete i mjerama suzbijanja tih organizama NN 74/06, 84/10 i 120/11) (Prilog 1., Popis I., Dio A, Odjeljak I.), EU Provedbena odluka Komisije od 23. srpnja 2014. (2014/479/EU) o mjerama za sprječavanje unošenja u Uniju organizma *Xylella fastidiosa* i njegova širenja unutar Unije (priopćenje pod brojem dokumenta C(2014) 5082) (Official Journal of the European Union L 219/56) 25 EPPO Lista A1 (Bjeliš i sur., 2014).

Posebno je značajno provoditi sve aktivnosti propisane trenutno važećom Provedbenom odlukom, koja daje najdetaljnije upute i tumačenja vezano uz obveze zemalja članica (Bjeliš i sur., 2014).

4. Gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae* kao patogeni drva masline

4.1. Uvod o porodici *Botryosphaeriaceae*

Iz porodice *Botryosphaeriaceae* do sada je u svijetu opisano 10 vrsta gljiva koje dolaze kao patogeni masline, a koje spadaju u rod *Botryosphaeria* ili neki od njemu pripadajućih anamorfa kao što su rodovi *Diplodia*, *Neofusicoccum*, *Fusicoccum*, *Macrophoma* i dr. Ova porodica sadrži 26 rodova gljiva s tim da ima više od 1500 vrsta te je to čini jednom od najbrojnijih porodica u carstvu gljiva. Vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* su jako raširene diljem svijeta i to u različitim klimatskim i geografskim područjima. Sam način života ovih vrsta gljiva pokazuje veliku raznolikost pa tako mogu biti ne-patogeni endofiti na drvenastim biljnim vrstama, ali i patogeni na raznim biljkama domaćinima s tim da najviše prevladavaju na drvenastim vrstama u Sjevernoj Americi (Kaliterna i sur., 2012).

U posljednjih desetak godina gljivama iz porodice *Botryosphaeriaceae* sve se više bave fitopatolozi. Spominju se u kontekstu različitih kroničnih bolesti drvenastih biljnih vrsta. U svijetu se najviše znanstveno istražuju zato što uzrokuju bolesti drva vinove loze. Dolaze i na velikom broju voćnih kultura, hortikulturnog bilja i na raznim šumskim vrstama. Vrlo su često endofiti, žive u biljkama domaćinima, a ne uzrokuju

bolesti i ne nanose im štetu. Iako to još nije razjašnjeno, pretpostavlja se da gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae* trebaju neku vrstu okidača, stres (poplave, visoke temperature, suša, smrzavanje, uzgoj na nepovoljnim tlima) da bi se aktivirale kao patogeni. Zbog takve prirode, skupina istraživača iz SAD-a nazvala ih je uspavani div (sleeping giant). Vjeruje se da su klimatske promjene u zadnjih petnaestak godina doprinijele njihovoj sve većoj važnosti (Novak i sur., 2018).

Karakteristike koji se koriste za razlikovanje rodova gljiva u porodici *Botryosphaeriaceae* su se u velikoj mjeri oslanjale na morfološke osobine askospora, no najbitnije su značajke koje se mogu iščitati iz konidija poput pigmentacije, debljine stijenke i septacija, ali i druge karakteristike, poput prisutnosti ili odsutnosti parafize u konidijama, mogu biti korisne (Phillips i sur., 2013).

Vrste iz ove porodice gljiva imaju velik broj sinonima što stvara prilično veliku konfuziju u prepoznavanju istih. Razvojem molekularnih metoda identifikacije intenzivno se radi na taksonomskoj filogenetskoj reviziji vrsta i rodova iz ove porodice pa se broj validnih vrsta značajno smanjuje jer su iste vrste bile opisivane pod različitim nazivima (Kaliterna i sur., 2012).

Međutim uvijek se dovode u vezu s dva tipa simptoma odnosno bolestima na maslinama i to s bolestima koje se javljaju kao truleži plodova s bolestima koje se manifestiraju kao sušenje grana djelomično ili potpuno sušenje stabala maslina (Kaliterna i sur., 2012).

Pojava ovih gljiva naročito je povećana nakon oštećenja maslina niskim temperatura tijekom zime, zatim nakon rezidbe, kao i bilo kojeg uzroka stresa kod biljaka. Zbog simptoma sušenja, bolest je slična verticilijskom venuću pa se u praksi simptomi tih bolesti često poistovjećuju (Godena, 2019).

U Hrvatskoj i svijetu su do sada opisane četiri vrste fitopatogenih gljiva iz porodice *Botryosphaeriaceae*, a to su: *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum mediterraneum* i *Neofusicoccum ribis*.

4.2. Životni ciklus i epidemiologija gljiva iz porodice *Botryosphaeriaceae*

Botryosphaeriaceae mogu inficirati stablo kroz prirodne otvore (npr. stome na lišću i izbojcima, lenticule na plodovima ili stablu, cvatove, peteljke voćaka) ili kroz rane. Rane mogu nastati kao rezultat ljudskih aktivnosti (npr. orezivanje, ručno branje voća, kalemljenje), oštećenja od vjetra, mraza ili tuče ili se mogu javiti kada pupoljci, peteljke i voće sazrijevaju. Nakon što vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* prođu u tkivo domaćina, ove gljive egzistiraju kao endofiti unutar asimptomatične biljke. Iako neke vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* mogu biti primarni patogeni, simptomi bolesti tipično se javljaju nakon što su stabla izložena stresu. Na primjer, vodni stres. Suša ometa i mehanizam obrane biljke od patogena npr. onemogućavajući formiranje periderma rane, inhibiciju proizvodnje obrambenih mehanizama dovodeći do nedostatka turgora i redukcije vodnog potencijala ksilema koji štiti stablo od pojave bolesti (Zlatković, 2016). Vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* mogu

prezimjeti kao endofiti ili saprofiti na različitim supstratima i to na ostacima od rezanja grana, izbojcima, pupoljcima, listnim peteljka, mumificiranom voću, cvjetovima, cvatovima. Vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* obično fruktificiraju i stvaraju plodnosna tijela na mrtvom biljnom tkivu. Konidije se proizvode u većem broju u odnosu na askospore i smatraju se primarnim izvorima inokuluma. One se tipično izbacuju iz piknida u vidu želatinozne smjese oblika crvuljka (cirus) u periodima velike relativne vlažnosti zraka. Širenje konidija povezano je s kišom, pretjeranim zalijevanjem, kišom praćenom vjetrom, inficiranim alatom za orezivanje i insektima. Generalno, smatra se da je voda neophodna za širenje konidija na kraće udaljenosti na jednom stablu ili u okviru plantaže. Smatra se da je vjetar najvažniji faktor u širenju askospora na velike udaljenosti te širenju bolesti. Ipak, seksualni oblici, odnosno teleomorfi vrsta iz porodice *Botryosphaeriaceae* rijetko se mogu naći u prirodi i askospore se generalno proizvode u mnogo manjem broju nego konidije. Oslobođanje spora, klijanje i njihova sposobnost da inficiraju biljku domaćina zavise o temperaturi. Slično rasijavanju spora, proces infekcije zavisi o temperaturi i vlazi zraka. Generalno, topli, vlažni uvjeti povoljni su za proces infekcije i razvoj bolesti koje uzrokuju gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae*. *Botryosphaeriaceae* mogu kolonizirati i inficirati veliki broj domaćina uključujući i golosjemenjače i kritosjemenjače. Ove gljive se mogu naći u različitim sredinama širom svijeta. Prema filogenetskim analizama može se zaključiti da su vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* najprije evoluirale na golosjemenjačama i tek su nakon toga kolonizirale kritosjemenjače. Većina pripadnika ove porodice, npr. *B. dothidea* i *N. parvum* imaju širok areal rasprostranjenja i krug domaćina (Zlatković, 2016). Infekcija tkiva domaćina od strane vrsta iz porodice *Botryosphaeriaceae* generalno zahtijeva prisustvo slobodne vode. Proces infekcije počinje klijanjem konidija, a inicijalne hife se mogu pojaviti sa jedne ili obe strane konidija. Nakon što su inicijalne hife prodrle u tkivo domaćina, vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* mogu rasti intercelularno, a proces infekcije ovih gljiva odstupa od njihove striktno klasifikacije kao endofita klase III. Nakon što vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* prodru u tkivo domaćina kroz stome, one proizvode apresorijumu-slične mase hifa u otvoru stome i micelij koja je porijeklom iz ove mase raste u mezofil lista biljke domaćina. Kao posljedica toga, dolazi do formiranja piknida i oni zatim izbijaju na površinu lista (Zlatković, 2016).

Odgovor biljke domaćina na infekciju vrsta *Botryosphaeriaceae* ogleda se u formiranju brojnih barijera. Na primjer, stanice parenhima formiraju novi periderm koga čini tri do pet slojeva odrvenjelih parenhimskih stanica. Uloga periderma je da spriječi prodor vrsta iz porodice *Botryosphaeriaceae* u dublje slojeve biljnog tkiva. Ipak, zbog enzimske aktivnosti vrsta iz porodice *Botryosphaeriaceae* koja im omogućava da razgrade stanice epidermisa, hife često prodiru u primarni floem i vaskularni kambij. Kao posljedica toga, ova tkiva postaju nekrotična i urušavaju se stvarajući šupljine, a i parenhimske stanice se urušavaju i proizvode velike šupljine ispunjene micelijem. Korteks kore se također urušava i postaje ispunjen vodenom supstancom, periderm se širi a ubrzo zatim i puca, stvarajući rak ranu (Zlatković, 2016).

4.3. Morfologija porodice *Botryosphaeriaceae*

Plodna tijela mogu biti unilokularna, piknidijska ili multilokularna. Ona su stromatična, piknidijska šupljina se formira u toj stromi. Kada su prisutni, konidiofori su hijalini, tanke stanične stijenke, većinom cilindrični, ponekad razgranati i septirani. Prva konidija formira se holoblastično. Slijedeće konidije formiraju se unutrašnjom proliferacijom konidiogenih stanica koja rezultira pojavom periklinalnih zadebljanja na vrhu konidiogene stanice, ili perkurentnom proliferacijom koja daje anelide. Konidiogene stanice su hijaline, tankih i glatkih staničnih stijenki, izduženo cilindrične, kratko lageniforme ili ampuliformne. Konidije mogu biti tankih stijenki, uske i *Fusicoccum*-tipa ili debelih stijenki, ili smeđe boje. *Fusicoccum*-tipa konidije mogu biti fusiformne, ovoidne ili eliptične, aseptirane i mogu postati smeđe sa starenjem. Mogu postati i septirane i obojene ili samo centralna stanica može postati obojena. *Diplodia*-tip konidija mogu biti aseptirane, jedno-septirane ili multi septirane, većinom ovoidne, sa spojne strane glatke, s unutrašnje strane hrapave, a kod vrsta iz roda *Lasiodyplodia* uzdužno brazdaste. Kod vrsta iz roda *Diplodia*, konidije obično ostaju hijaline ili mogu postati smeđe i septirane, ali tek nakon što budu izbačene iz plodnog tijela. Međutim, kod vrsta iz roda *Dothiorella* konidije mogu postati pigmentirane često dok se još uvijek nalaze na konidiogenim stanicama. Konidije tzv. „*Dichomera* sinaseksualnim izgledom“ su pigmentirane, muriformne, a vrste iz roda *Neoscytalidium* imaju suhe, praškaste konidije. Parafize su hijalinske i ponekad proširene na vrhu. Spermatiospore su hijaline, većinom cilindrične sa zaobljenim krajevima (Zlatković, 2016).

4.3.1. Morfologija teleomorfa vrsta iz porodice *Botryosphaeriaceae*

Periteciji vrsta iz porodice *Botryosphaeriaceae* mogu se javiti u formi unilokularnih ili multilokularnih struktura. Unilokularne forme mogu se javiti pojedinačno ili kao agregati (“botryos klasteri”) više peritecija koji se često nalaze djelomično uronjeni u bazalnu stromu. Sadržaj ovih peritecija je, što je vidljivo u presjeku, obično bijele boje. U peritecijima se formiraju askusi unutar lokula koje su uronjene u stromu. Tkivo strome je tipa tzv. „*textura angularis*“, a čine je smeđe stanice debelih staničnih stijenki koje formiraju zidove strome od pet do 30 stanica ili više. Lokule su obložene, hijalnim stanicama tanke stanične stijenke. Centar lokula je tzv. *Pleospora*-tipa, a između askusa se nalaze pseudo parafize. Askusi su bitunikantni s tankom ektotunikom i debelom endotunikom. Oni su širi pri bazi, a sužavaju se prema vrhu. Nekada su cilindrični, a često s kratkom drškom. Askospore se nasilno izbacuju pri čemu ektotunika uzdužno puca, a endotunika se izdužuje izbacujući spore. Askospore mogu biti hijaline, aseptirane, glatke, ali mogu postati pigmentirane, 1–2 septirane i hrapave sa starenjem. Mogu imati i apiculus na jednom ili oba kraja. Stanične stijenke su im tanke, ali kod vrsta s tzv. *Diplodia*-aseksualnim izgledom mogu biti i umjerene debljine. Njihov oblik može biti fuziforman ili ovoidan.

Pseudoparafize su nalik hifama, hijaline, tanke stanične stijenke, septirane i razgranate (Zlatković, 2016).

4.4. *Diplodia seriata* kao uzročnik sušenja grana masline

Klasifikacija: *Fungi*, *Ascomycota*, *Pezizomycotina*, *Dothideomycetes*, *Botryosphaeriales*, *Botryosphaeriaceae*, *Diplodia* (Slika 4.5.)

Diplodia seriata je kozmopolitska vrsta gljive koja se javlja na drvenim biljnim vrstama, a prisutna je na većini kontinenta. *Diplodia seriata* je ranije bila klasificirana kao *Botryosphaeria obtusa*. Uzrokuje trulež plodova, pjegavost lišća i rak. Izvješća o virulenciji ovog patogena razlikuju se ovisno o usjevima, sortama i domaćinima koji su uključeni i često se smatra patogenom povezanim sa stresom koji koristi prednosti slabih ili biljaka koje su pod stresom. Zajedno s ostalim članovima iz porodice *Botryosphaeriaceae*, *D. seriata* može živjeti endofitički unutar biljaka a latentne infekcije voća mogu rezultirati truležima (Reeder, 2020).

Diplodia seriata često se povezuje s truljenjem drva vinove loze u Europi, SAD-u, Australiji i Južnoj Africi (Matei i sur., 2016), a utvrđena je također kao uzročnik sušenja mladih stabala masline. U Hrvatskoj je identificirana na sortama *Pendolino* i *Leccino* na području Istre 2012. godine, a zahvatila je oko 15 % stabala. Vrsta se i u svijetu također navodi kao uzročnik sušenja grana i stabala maslina, ali također i kao uzročnik truleži plodova (Godena, 2019).

4.5. Simptomatologija i epidemiologija vrste *Diplodia seriata* na maslini

Infekcija vrstom *D. seriata* najčešće je moguća kroz rane, međutim, nije jasno jesu li te rane jednostavne ulazne točke ili pružaju kemijske signale koji poboljšavaju procese klijanja spore. No također je dokazano da na domaćinima poput jabuke, breskve i pistacija da patogen može u biljku prodrijeti kroz prirodne otvore kao što su strome i lenticle ili čak izravno prodiru u tkivo domaćina. Također konidije i askospore su zarazne, iako se askospore rijetko nalaze u prirodnom okruženju. Oslobađanje konidija pokreće količina oborina ili vlage od 70% ili više (Reeder, 2020).

Kod zaraze vrstom *D. seriata* utvrđeni su simptomi poput crvene ili smeđe nekroze tkiva, sušenja cvatova, grana, crnih i crvenih listova te pucanje kore (rak rane) (Slika 4.5.1.). Kod zaraze vrstom *Diplodia seriata* uočene su udubljene nekroze (ulegnuća) (Slika 4.5.1. i 4.5.2.), sušenje cvatova, crvene ili smeđe nekroze tkiva i žućenje listova. Kod ostalih vrsta gljiva nije uočena pojava ulegnuća ili promjene boje tkiva (Godena, 2019).



Slika 4.5.1. Nekrotična posmeđenja staničja uzrokovana gljivom *D. seriata* (snimio: D. Ivić)

Izvor: Bolesti maslina uzrokovane fitopatogenim gljivama iz porodice *Botryosphaeriaceae*
<https://hrcak.srce.hr/file/249248f> - pristup 30.4. 2023.



Slika 4.5.2. Posljedice umjetnih zaraza na četverogodišnjim maslinama/nekroze uzrokovane izolatom *Diplodia seriata*

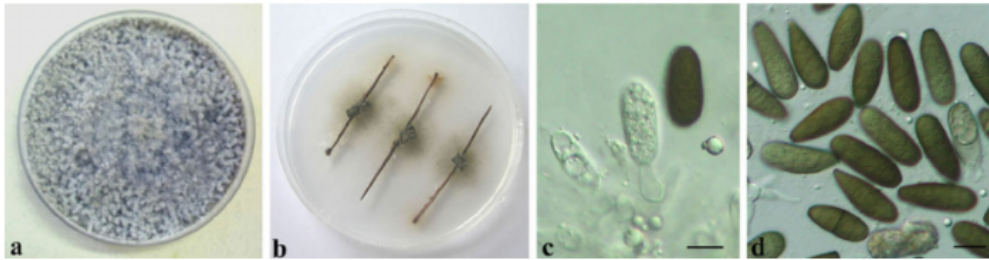
Izvor: Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina (Godena i sur., 2019).
http://www.iptpo.hr/images/pdf/Uzrocnici%20djelomicnog%20ili%20potpunog%20susenja%20stabala%20maslina%20u%20Istri_prirucnik%20VIP_2018.pdf - pristup 30.4. 2023.

4.6. Morfologija vrste *Diplodia seriata*

Piknidi sadrže konidije koje su u početku pokazivale bezbojnima, sazrijevanjem su postale svijetlo do tamno smeđe, jajolike s odsječenom ili zaobljenom bazom i tupim vrhom, bez septi, s umjereno debelom staničnom stijenkom koja je izvana glatka, ali hrapava na unutarnjoj površini. Konidije su dimenzija 22,8 do 23,5 × 9,6 do 10,5 μm (Kaliterna i sur., 2012).

Konidiomati su tamno smeđi do crni. Vanjski slojevi sastavljeni od tamno smeđe teksture, unutarnji slojevi su tankih stijenki. Konidiogene stanice veličine su 3-5,5 × 7-10 (-15) μm cilindrične, stvaraju jedan kondij na vrhu. Kondije su velike i u

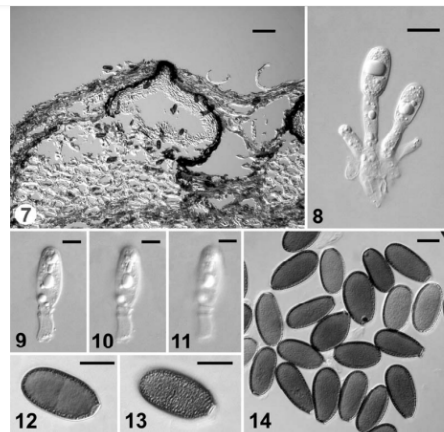
početku bezbojne, kasnije tamno smeđe boje, aseptirane, zaobljene na vrhovima ili odsječene na osnovi; dimenzija 25 - 26.8 × 10.5 - 12.03 μm (Chattaoui i sur., 2012).



Slika 4.6.1. Morfološke karakteristike izolata *Diplodia seriata* iz lovora trešnje: a) rast kolonija na PDA mediju; b) stvaranje piknida na mediju s 2% vodenog agara.

Izvor: Molecular characterization of *Diplodia seriata* (Moretti i sur., 2014).

https://www.researchgate.net/figure/Symptoms-on-inoculated-plants-a-canker-and-internal-browning-of-cherry-laurel_fig3_263748514 - pristup 21.05.2023.



Slika 4.6.2. Morfološki prikaz vrste *Diplodia seriata* (7) vertikalni prevez kroz piknid, (8) konidiogene stanice sa razvijajućim konidijima kod kojih je moguće uočiti zadebljanje na desnoj strani periklinalnog zida stanice, (9-11) konidiogene stanice su fotografirane iz 3 vrste fokusa da bi se pokazale anelacije koje su nastale kao rezultat iz perkurentne proliferacije, (12-13) konidije fotografirane iz dva različita fokusa kako bi se pokazala vanjska glatka površina te gruba unutarnja površina, (14) prikaz konidija.

Izvor: *Diplodia seriata*, the anamorph of “*Botryosphaeria*” obtusa (Phillips i sur., 2007).

<https://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/25-9.pdf> - pristup 23.05.2023.

4.7. *Neofusicoccum parvum* kao uzročnik gljivičnog raka masline

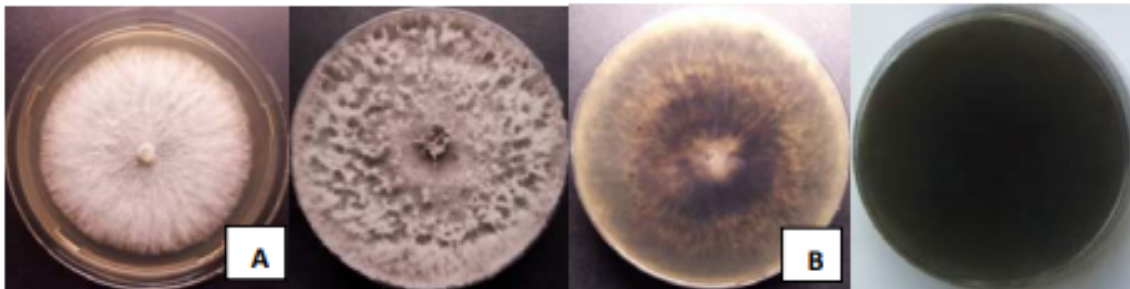
Klasifikacija: *Fungi*, *Ascomycota*, *Pezizomycotina*, *Dothideomycetes*, *Botryosphaerales*, *Botryosphaeriaceae*, *Neofusicoccum* (Godena, 2019).

Neofusicoccum parvum pripada u porodicu *Botryosphaeriaceae*, iz koje su u svijetu poznate još 22 vrste, različite patogenosti (Kaliterna i sur., 2015). Gljiva *N. parvum* je potvrđena kao uzročnik bolesti drva na maslini u Italiji, a osim na maslini prisutna je još na vinovoj lozi, te na velikom broju drvenastih domaćina. Ukupno je

utvrđen samo jedan izolat ove vrste na maslini u Istri i to samo na jednom lokalitetu u vodnjansko-pulskom maslinarskom uzgojnom području (Godena, 2019).

4.8. Morfologija *Neofusicoccum parvum*

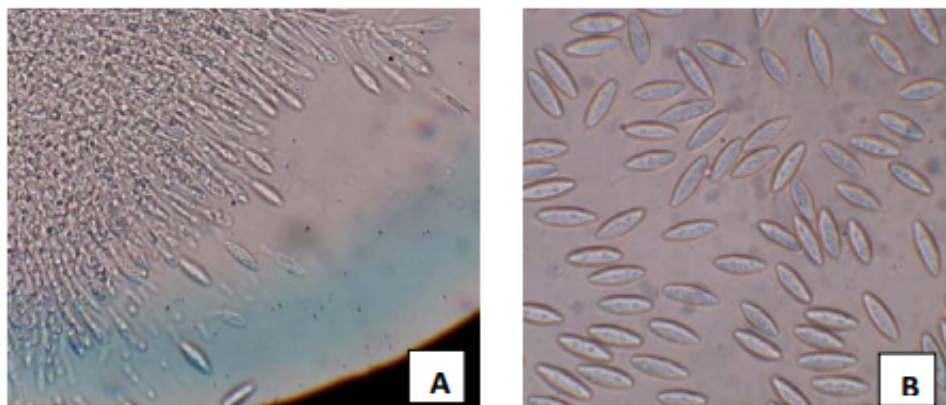
Izolati vrste *N. parvum* na hranjivoj podlozi PDA (Slika 4.8.1.) imaju gusti, vrlo razvijen zračni micelij. Kolonije su na početku rasta bijele boje, no već treći dan počinju poprimati maslinasto-sivu boju koja starenjem prelazi u tamniju smeđu boju sa sivo-smeđim zonama (Slika 4.8.1.) (Kaliterna i sur., 2015).



Slika 4.8.1. Izgled kolonija *N. parvum* na PDA - a) lice kolonije nakon 2 i 7 dana; b) naličje kolonije nakon 7 i 30 dana.

Izvor: *Neofusicoccum parvum* kao uzročnik botriosferijskoga sušenja vinove loze - nove etiološke spoznaje o staroj bolesti (Kaliterna i sur., 2015). <https://hrcak.srce.hr/file/249880> - pristup 21.05.2023.

Konidije su hijaline, neseptirane, vretenaste do elipsoidalne, tankih i glatkih stijenki te blago zaobljenih vrhova i baza. Proširene su u središnjem dijelu ili u gornjoj trećini (Slika 4.8.2.) (Kaliterna i sur., 2015).



Slika 4.8.2. Konidiogeni sloj s konidijama a) i konidije b) vrste *N. parvum*

Izvor: *Neofusicoccum parvum* kao uzročnik botriosferijskoga sušenja vinove loze - nove etiološke spoznaje o staroj bolesti (Kaliterna i sur., 2015). <https://hrcak.srce.hr/file/249880> - pristup 21.05.2023.

Dimenzije konidija koje se navode u referentnoj literaturi, prikazane su na Slici 4.8.3.

Veličina konidija (D × Š) (µm);	Omjer D/Š	Referenca
(13,5-) 15 - 22,5 (-28,5) × 4 - 7,5 (12-) 15 - 20 (-24) × (4-) 4,5 - 6 (-7,5)	2,4 - 4,5 (1,8-) 2,5 - 4 (-5)	Phillips i sur., 2002
(11,1-) 14,5 - 15,1 (-17,7) × (4,9-) 5,5 - 5,6 (-6,1) (12,6-) 17-18,1 (-21,1) × (4,5-) 5,4 - 5,6 (-6,5) (12-) 16,9 - 17,8 (-20,7) × (4,4-) 5,2 - 5,5 (-6,5) (12,4-) 15,2 - 16 (-18,2) × (5,2-) 5,7 - 6 (-6,7) (10,4-) 12,2 - 13,3 (-24) × (5-) 5,9 - 6,3 (-8) (10,9-) 14,3 - 15,2 (-18,2) × (5,2-) 6,4 - 6,7 (-7,8) (13,5-) 14,9 - 15,5 (-17,6) × (6,2-) 7,3 - 7,8 (-8,8) (13-) 14,9 - 16 (-17,6) × (6-) 6,7 - 7,3 (-8,8) (12-) 13,6 - 15,2 (-18) × (6-) 6,2 - 7,1 (-8)	2,6 - 2,7 3,1 - 3,3 3,2 - 3,3 2,6 - 2,8 2 - 2,2 2,2 - 2,3 1,9 - 2,1 2,1 - 2,4 2,1 - 2,3	Kaliterma, 2013
(10-) 14,5 - 17 × (5-) 7 - 9 (11-) 14 - 17 × (5-) 7,5 - 9 (11-) 13 - 19 × (5-) 7 - 9 (11-) 14 - 23 × (6-) 7 - 9 (11-) 14 - 18 × (5,7) 7 - 9	-	Urbez-Torres i sur., 2006
(10-) 13,6 - 14,3 (-16,3) × (6,3-) 8,3 - 8,8 (-10)	-	Qiu i sur., 2011
16,2 ± 2,1 × 7,8 ± 1,5 17,2 ± 1,4 × 6,8 ± 0,8 16,4 ± 1,8 × 7,6 ± 0,8 16,3 ± 2 × 7,1 ± 0,7	2,1 ± 0,14 2,55 ± 0,1 2,15 ± 0,03 2,28 ± 0,08	Pitt i sur., 2010
13,2 - 20,9 × 3,9 - 7,3	2,87 - 3,24	Amponsah, 2010

Slika 4.8.3. Dimenzije konidija za vrstu *N. parvum* prema podacima u referentnoj literaturi.

Izvor: *Neofusicoccum parvum* kao uzročnik botriosferijskoga sušenja vinove loze - nove etiološke spoznaje o staroj bolesti (Kaliterma i sur., 2015). <https://hrcak.srce.hr/file/249880> - pristup 21.05.2023.

4.9. Simptomatologija *Neofusicoccum parvum*

Od simptoma na maslini gljiva *Neofusicoccum parvum* uzrokuje lezije te djelomično ili potpuno sušenje stabla masline, ovisno o napretku bolesti (Slika 4.9.1). Također umjetnom zarazom došlo je do stvaranja nekroza na granama masline (Slika 4.9.2).



Slika 4.9.1. Rak na višegodišnjoj grani masline uzrokovan s *N. parvum*.
Izvor: Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina (Godena i sur., 2019).

http://www.iptpo.hr/images/pdf/Uzrocnici%20djelomicnog%20ili%20potpunog%20susenja%20stabala%20maslina%20u%20Istri_prirucnik%20VIP_2018.pdf - pristup 30.4.2023.



Slika 4.9.2. Posljedice umjetnih zaraza na četverogodišnjim maslinama/ nekroze uzrokovane izolatom *Neofusicoccum parvum*.

Izvor: Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina (Godena i sur., 2019).

http://www.iptpo.hr/images/pdf/Uzrocnici%20djelomicnog%20ili%20potpunog%20susenja%20stabala%20maslina%20u%20Istri_prirucnik%20VIP_2018.pdf - pristup 30.4.2023.

4.10. *Neofusicoccum mediterraneum* kao uzročnik odumiranja grana masline

Klasifikacija: *Fungi*, *Ascomycota*, *Pezizomycotina*, *Dothideomycetes*, *Botryosphaerales*, *Botryosphaeriaceae*, *Neofusicoccum* (Brunetti i sur., 2022).

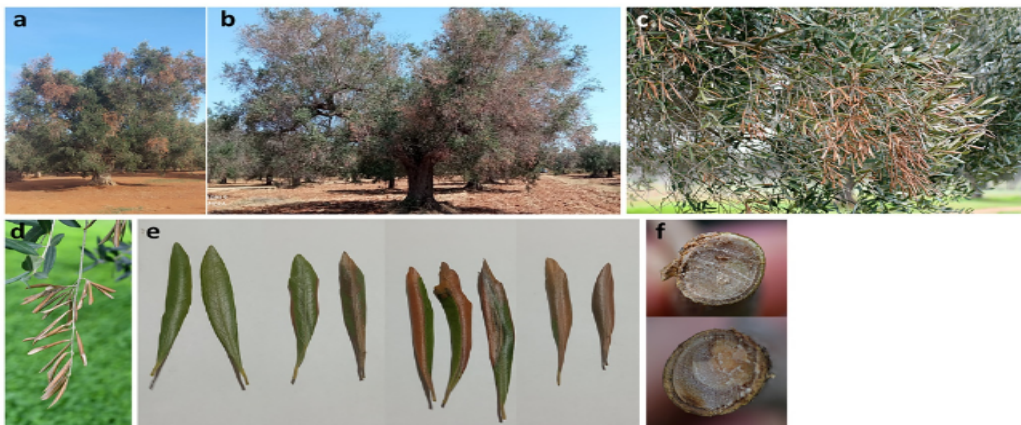
Gljiva *Neofusicoccum mediterraneum* vrlo je agresivna i predstavlja veliku opasnost u Španjolskoj i Kaliforniji (SAD), gdje uzrokuje "odumiranje grana i grančica" masline koje je karakterizirano promjenom boje drva. Osim u Kaliforniji i Španjolskoj *N. mediterraneum* primjećena je i u Apuliji (južna Italija). Osim što uzrokuje odumiranje grana i grančica gljiva također stvara rak rane te izaziva i palež krošnje (Brunetti i sur., 2022).

4.11. Simptomatologija *Neofusicoccum mediterraneum*

N. mediterraneum uzrokuje drugačije simptome bolesti od onih koje uzrokuje bakterija *Xylella fastidiosa*, a razlika u simptomima je ta da *N. mediterraneum* uzrokuje crvenilo na lišću i diskoloraciju drveta (Slika 4.11.1.). Navedeni simptomi uočeni su u ljeto 2019-e godine u maslinicima koji se nalaze u općini Mesagne i San Pietro Vernotico (pokrajina Brindisi) i Lizzano (pokrajina Taranto). No posebno su bile

zahvaćene masline koje rastu na području općine Mesagne, njih 50% je pokazivalo simptome zaraze karakteristične za ovog patogena (Brunetti i sur., 2022).

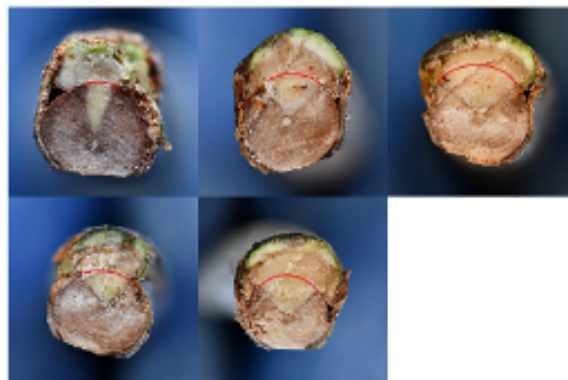
Zaražena stabla pokazuju simptome venuća, a krošnje izgledaju kao da su spaljene. U samim počecima zaraze javljaju se crveno-brončane nekrotične mrlje (Slika 4.11.1. e) razasute po plojci lista ili su sami listovi bili okruženi klorotičnom aureolom. Nekrotične lezije bi se proširile i spojile, zahvaćajući tako cijelu plojku lista. U drugim slučajevima, javlja se generalizirana kloroza lišća koja prethodi kovrčanju lišća i samom venuću. U podnožju uvelih dijelova grana poprečni presjek vaskularnog tkiva 1 do 3 cm u promjeru izgleda bezbojno, što ukazuje na disfunkciju provođenja vode, što utječe na curenje vode iz lisnih plojki. Što se tiče simptoma na kori, pojavljuju se udubljena i crvenkasta područja (Brunetti i sur., 2022).



Slika 4.11.1 Simptomi zaraze gljivom *Neofusicoccum mediterraneum*: a) i b) cjelokupni izgled zaraženog stabla, slika c) i d) pokazuju venuće i okretanje suhog lišća i grančica prema tlu, slika e) pokazuje progresiju simptoma od samog početka pa sve do zadnjeg stupnja zaraze, a slika f) pokazuje diskoloraciju drveta u prerezu.

Izvor: *Neofusicoccum mediterraneum* Is Involved in a Twig and Branch Dieback of Olive Trees Observed in Salento (Apulia, Italija) (Brunetti i sur., 2022).

https://www.researchgate.net/publication/357527313_Neofusicoccum_mediterraneum_Is_Involved_in_a_Twig_and_Branch_Dieback_of_Olive_Trees_Observed_in_Salento_Apulia_Italy - pristup 30.4. 2023.



Slika 4.11.2. Prikaz razvoja nekroze u ksilemu zbog inokulacije *N. mediteraraneum* u tkivo drveta.

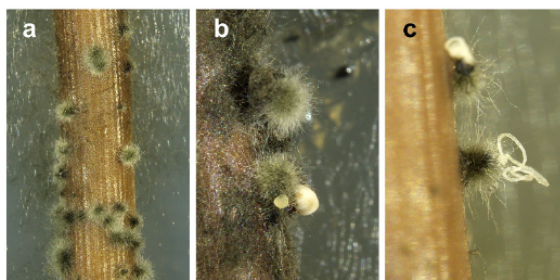
Izvor: *Neofusicoccum mediterraneum* Is Involved in a Twig and Branch Dieback of Olive Trees Observed in Salento (Apulia, Italy) (Brunetti i sur., 2022).

https://www.researchgate.net/publication/357527313_Neofusicoccum_mediterraneum_Is_Involved_in_a_Twig_and_Branch_Dieback_of_Olive_Trees_Observed_in_Salento_Apulia_Italy - pristup 1.5.2023.

4.12. Morfologija *Neofusicoccum mediterraneum*

Kolonije *Neofusicoccum mediterraneum*, uzgajane u kulturi na hranjivoj podlozi (u prva 3 dana rasta su bile bijele i pahuljaste, a tijekom daljnjeg razvoja promijenile su boju u tamno sivu do crnu; kolonije stare dva tjedna formiraju plosnati micelij koji je sadrži kružni pahuljasti centar (Slika 4.12.1.) (Brunetti i sur., 2022). Nakon 5 dana uzgoja kulture na agaru, izolat vrste *N. mediterraneum* proizvodi kuglaste konidiome prepune dlačica (Slika 4.12.2.). Nakon 7-8 dana kultivacije konidiomi izlučuju mukozne mase kondija (Brunetti i sur., 2022). *Neofusicoccum mediterraneum* je morfološki slična vrsti *N. parvum* ali ju možemo razlikovati po veličini konidija. Konidije vrste *N. mediterraneum* su većih dimenzija ($19\text{--}27 \times 5.5\text{--}6.5 \mu\text{m}$) (Crous i sur., 2007).

Konidiomat koji je veličine $450 \mu\text{m}$ promjera izlučuje konidije u bijeloj mukoidnoj masi čiji se zid sastoji od 3–5 slojeva smeđe teksture. Konidiofori koji oblažu unutarnji sloj konidioma su hijalinski, glatki, 0–1 septirani, $15\text{--}40 \times 3\text{--}5 \mu\text{m}$. Konidiogene stanice su integrirane, fjalidne, subcilindrične te rijetko ampuloformne. Konidije su hijaline, glatke, tankih stijenki te fusoidno-elipsoidne, najšire u sredini ili u gornjoj trećini, baza donekle spljoštena s malim rubnim naborom, $(19\text{--})22\text{--}26(\text{--}27) \times (5,5\text{--})6(\text{--}6,5) \mu\text{m}$ *in vitro* (pros. $24 \times 6 \mu\text{m}$; L:W = 4:1), sa zrnatom citoplazmom (Crous i sur., 2007).

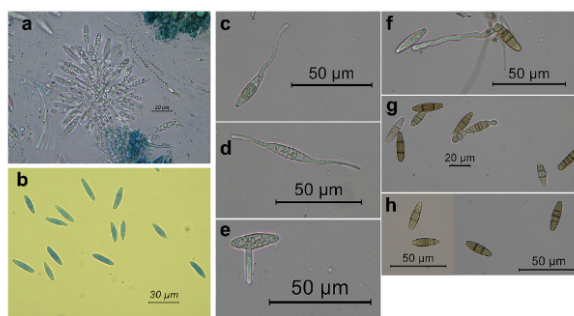


Slika 4.12.1. Prikaz konidiomata prepunog dlačica iz Italije (Apulia) uzgojenog na PNA supstratu a nezreli konidiomi b-c zreli konidiomat.

Izvor: *Neofusicoccum mediterraneum* Is Involved in a Twig and Branch Dieback of Olive Trees Observed in Salento (Apulia, Italy) (Brunetti i sur., 2022).

https://www.researchgate.net/publication/357527313_Neofusicoccum_mediterraneum_Is_Involved_in_a_Twig_and_Branch_Dieback_of_Olive_Trees_Observed_in_Salento_Apulia_Italy - pristup

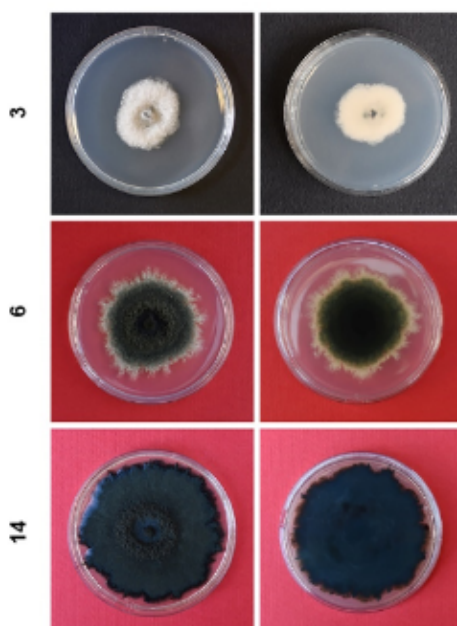
1.5.2023.



Slika 4.12.2. Prikaz kondiogenih stanica i kondija *Neofusicoccum mediterraneum* uzgajanih na borovim iglicama sakupljenih u Italiji (Apulia); a) konidiogene stanice, b) konidije, c-f) stadiji klijanja konidija, f-h) prikaz različitog broja septa na konidijama.

Izvor: *Neofusicoccum mediterraneum* Is Involved in a Twig and Branch Dieback of Olive Trees Observed in Salento (Apulia, Italy) (Brunetti i sur., 2022).

https://www.researchgate.net/publication/357527313_Neofusicoccum_mediterraneum_Is_Involved_in_a_Twig_and_Branch_Dieback_of_Olive_Trees_Observed_in_Salento_Apulia_Italy - pristup 1.5.2023.



Slika 4.12.3. Morfološka evolucija vrste *Neofusicoccum mediterraneum* koja je izolirana iz maslinika u Italiji (Apulia) i uzgajana na akseničnoj kulturi PDA supstrata. Brojevi označavaju starost kulture po broju dana.

Izvor:

Neofusicoccum mediterraneum Is Involved in a Twig and Branch Dieback of Olive Trees Observed in Salento (Apulia, Italy) (Brunetti i sur., 2022).

https://www.researchgate.net/publication/357527313_Neofusicoccum_mediterraneum_Is_Involved_in_a_Twig_and_Branch_Dieback_of_Olive_Trees_Observed_in_Salento_Apulia_Italy - pristup 1.5.2023.

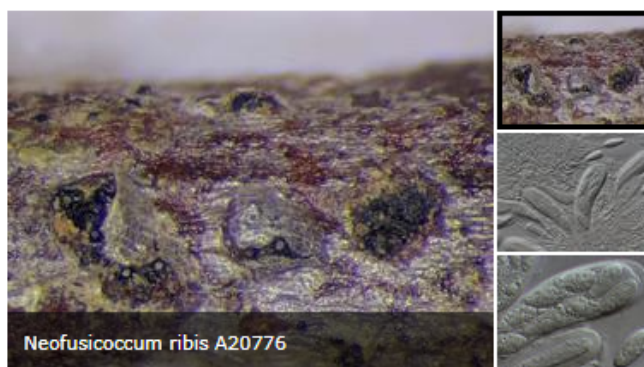
4.13. *Neofusicoccum ribis* kao uzročnik raka masline

Klasifikacija: *Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Dothideomycetes, Botryosphaerales, Botryosphaeriaceae, Neofusicoccum* (Brunetti i sur., 2022).

Neofusicoccum ribis (Slippers, Crous & M.J. Wingf.), ranije poznat kao *Botryosphaeria ribis* (Grossenb. & Duggar), je agresivni biljni patogen koji uzrokuje rak stabljike na raznim vrstama drvenastih biljaka (Jurick i sur., 2013). 2001.godine, teška bolest koja je dovela do odumiranja grana zabilježena je u maslinicima u Andaluziji, na jugu Španjolske, gdje je jedina pogođena sorta bila *Gordal de Sevilla* (Jurick i sur., 2013).

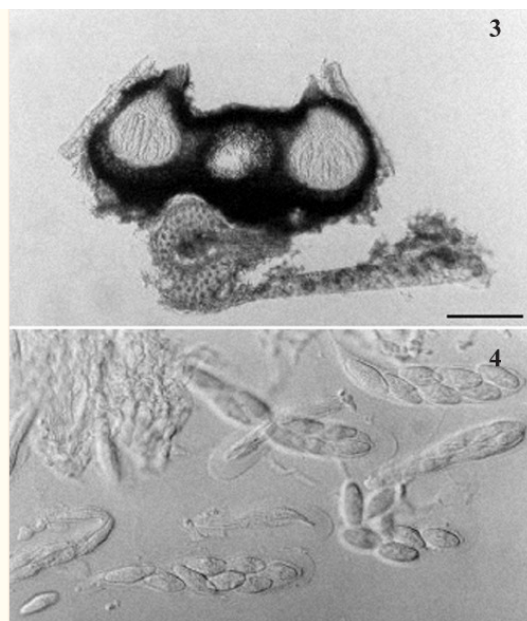
4.14. Morfologija *Neofusicoccum ribis*

Unutarnji micelij je promjera 4,5-10,0 μm , razgranat, septiran te tamnosmeđ. Stromate izbijaju adaksijalno, organizirane su u koncentrične redove na nekrotičnim tkivima promjera 0,4-0,8 mm, te sastavljene od tamnosmeđeg pseudoparenhima (Slika 4.14.1.). Pseudoteciji su uronjeni, subsferični do piriformni, 180,0-285,0 \times 150,0-290,0 μm , stjenke debljine 35,0-58,0 μm sastavljene od smeđe angularne teksture (Slika 4.14.2.). Pseudoparafize su 1,5- 2,0 μm promjera, 1 do 3 septae, hijaline. Askospore su elipsoidne, ovoidne do fusiformne, 19,5-24,5 \times 9,5-12,0 μm , aseptatne i hijaline, zatim glatke sa granuliranom citoplazmom (Mesquita de Macedo i sur., 2008).



Slika 4.14.1. Morfološki prikaz vrste.

Izvor: <https://fungi.myspecies.info/all-fungi/neofusicoccum-ribis> - pristup 18.05.2023.

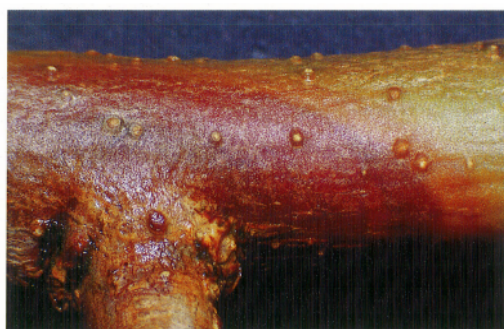


Slika 4.14.2. Svjetlosna mikrografija vrste *Neofusicoccum ribis*.
(3) Pseudotecije (140 pm); (4) askusi i askospore (20 pm).

Izvor: First record of *Botryosphaeria ribis* associated with leaf spots on *Magnolia* aff. *candollei* in Brazil (Mecado i sur., 2008). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3768402/> - pristup 22.05.2023.

4.15. Simptomatologija *Neofusicoccum ribis*

Zaražena stabla pokazuju mnogo osušenih i odumrlih grana, dok je uvelo lišće pričvršćeno. Ti su simptomi bili slični onima koje je uzrokovao potkornjak *Resseliella oleisuga*. Uočene su crvenkasto-smeđe lezije kore koje su zahvatile grane. Ispod vanjskog korteksa kore, zahvaćeno tkivo je tamno smeđe boje, za razliku od žućkasto zelene zdrave unutarnje kore (Slika 4.15.1.) (Romero i sur., 2007).



Slika 4.15.1. Prikaz crvenkasto-smeđih lezija na grančici masline.

Izvor: *Botryosphaeria ribis* (Sanchez i sur., 2006).

<https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PD-89-0208A-> pristup 18.5.2023.

4.16. Suvremene strategije za suzbijanje vrsta gljiva iz porodice *Botryosphaeriaceae*

Suzbijanje fitopatogenih gljiva iz porodice *Botryosphaeriaceae* je prilično teško i zahtjeva puno pažnje (Novak i sur., 2018). Pravilna njega nasada, redovita rezidba, sanitarna rezidba i uklanjanje ostataka od rezidbe, ključni su za održavanje zdravstvenoga stanja nasada. Osobito je važno što prije ukloniti zaraženi biljni materijal iz nasada da se smanji infekcijski potencijal. Izbor pogodnog položaja za uzgoj masline smanjuje mogućnost zaraze gljivičnim rakom. Potrebno je redovito pratiti sve promjene na stablu da bi se što ranije detektirao i identificirao rak. Ako nekroze nisu zahvatile važni dio debla, može se mehanički ukloniti zaraženo tkivo. Nekrotizirana mjesta potrebno je izrezati sve do zdravog dijela. Očišćena mjesta mogu se premazati fungicidom i zatvoriti voćarskim voskom. Preporučuje se takav postupak obavljati ljeti da bi rana zacijelila prije ulaska biljke u fazu zimskog mirovanja. Svakako je preporučljivo izbjegavati bilo kakva oštećenja grana ili debla. Višegodišnji rak na deblima i granama vrlo je teško suzbijati fungicidima i na taj način uglavnom se ne postiže učinak (Novak i sur., 2018).

Postupci koji minimiziraju ili sprječavaju infekciju vrsta iz porodice *Botryosphaeriaceae* najvažniji su način suzbijanja ovih gljiva. Oni uključuju minimalno izlaganje biljke stresu kroz npr. podudarnost staništa i vrste, odgovarajuću gustoću sadnje, dezinfekciju alata za orezivanje, uklanjanje susjednih biljaka koje su potencijalni izvor inokuluma, tretiranje zemljišta radi uklanjanja inokuluma u vidu inficiranih biljnih ostataka i zaštita rezidbenih i drugih rana fungicidnim premazima. Fungicidi su se pokazali kao neefikasno sredstvo u kontroli vrsta iz porodice *Botryosphaeriaceae*. Istraživanja su pokazala da su različiti fungicidi efikasni *in vitro*, ali su neefikasni *in vivo* zbog prisustva gljivičnih hifa u ksilemu. Njihova primjena je također i nepraktična jer se brojne vrste iz porodice *Botryosphaeriaceae* i genotipovi mogu naći kako koegzistiraju unutar istog stabla. Ipak, preventivni fungicidi mogu se koristiti za zaštitu mladih biljaka u rasadnicima (Zlatković, 2016).

Koristiti možemo i biološke fungicide na bazi antagonističkih gljiva iz roda *Trichoderma*. Prema nekim istraživanjima iz svijeta, djelomična zaštita postiže se primjenom fungicida na bazi triazola (tebukonazol-cipro-konazol i dr.) benzimidazole (karbendazim) (Kaliterna i sur., 2012).

5. Zaključak

Rasprostranjenost i široka primjena masline sa sobom donose i povećanu mogućnost pojave zaraze gljivičnim 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. Na temelju pregleda suvremene znanstvene literature, patogeni drva masline *Verticillium dahliae*, *Xylella fastidiosa* te gljive iz porodice *Botryosphaeriaceae* možemo zaključiti da tijekom posljednja dva desetljeća bolesti drva masline su postale glavna prijetnja u svim područjima u kojima se već tradicionalno uzgaja maslina, dok su različiti epidemiološki čimbenici pridonijeli trenutnoj važnosti i širenju bolesti. Neki od faktora širenja uzročnika bolesti posljedica su neadekvatne agronomске prakse i/ili prakse u rasadničarstvu, neki mogu biti povezani s promjenama u uzgoju maslina (natapanje i gnojidba), dok drugi ovise o različitim i promjenjivim čimbenicima okoliša. Ne postoji učinkovita kurativna kemijska zaštita za zaražena stabla, ili za dezinfekciju tla u nasadima. Osim toga, niti jedna od raspoloživih mjera zaštite nije se pokazala uspješnim ukoliko se primjenjivala pojedinačno. Trebalo bi naglasiti da su najučinkovitije mjere održive zaštite one koje se provode prije sadnje. S obzirom na gospodarsku važnost masline kao poljoprivredne kulture u Hrvatskoj, bitno je istaknuti da su uzročnici bolesti maslina do sada vrlo malo istraživani. Također zaključiti se može kako sve bolesti drva masline uzrokuju velike štete, ali se pravovremenom i pravilnom dijagnostikom, te raspoloživom zaštitom nasada, uzročnici bolesti mogu držati pod kontrolom.

6. Popis literature

1. Barić K., Bažok R., Ostojić I., Igrc Barčić J., Ostojić Z., Jurković D., Seljak G., Lazarevska S., Ivić D. (2018). FRAGMENTA PHYTOMEDICA* sljednik Fragmenta phytomedica et herbologica. HRVATSKO DRUŠTVO BILJNE ZAŠTITE ZAGREB. Vol. 32. No 1, 2018, str. 1-60. https://hdbz.hr/wp-content/uploads/2019/12/fragmenta-1_2018.pdf
2. Brunetti A., Matere A., Lumia V., Pasciuta V., Fusco V., Sansone D., Marangi P., Cristella N., Faggioli F., Scortichini M., Pilotti M. (2022). *Neofusicoccum mediterraneum* Is Involved in a Twig and Branch Dieback of Olive Trees Observed in Salento (Apulia, Italy). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8780778/> - pristup 08.09.2023.
3. Cariddi C., Saponari M., Boscia D., De Stradis A., Loconsole G., Nigro F., Porcelli F., Potere O., Martelli G.P. (2015). ISOLATION OF A *XYLELLA FASTIDIOSA* STRAIN INFECTING OLIVE AND OLEANDER IN APULIA, ITALY. *Journal of Plant Pathology* (2014), 96 (3), 1-5. http://cartografia.sit.puglia.it/doc/JPPSCSN_Cariddi.pdf - pristup 23.08.2023.
4. Chattaoui M., Rhouma A., Msallem M., Pérez M., Moral J., Trapero A. (2012). First Report of *Botryosphaeria obtusa* as Causal Agent of Olive Tree Branch Dieback in Tunisia <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-01-12-0026-PDN> - pristup 23.08.2023.
5. Godena S. (2015). Verticilioza - opasna bolest maslina. *Gospodarski list* (2015), 40-41. <http://www.iptpo.hr/images/pdf/Verticilioza%201.dio%20b%20i%20a.pdf> - pristup 23.08.2023.
6. Godena S. (2019). Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina. http://www.iptpo.hr/images/pdf/Uzrocnici%20djelomicnog%20ili%20potpunog%20sus enja%20stabala%20maslina%20u%20Istri_prirucnik%20VIP_2018.pdf - pristup 23.08.2023.
7. Godena S., Ivić D., Dminić Rojnić I., Hlevnjak Pastrovicchio B. (2018). Fitopatogene gljive uzročnici sušenja masline (*Olea europaea* L.) na području Istre. <https://hrcak.srce.hr/file/292355> - pristup 23.08.2023.
8. Grković I. (2005). Maslinarstvo i turizam. <https://hrcak.srce.hr/file/3206> - pristup 23.08.2023.
9. Hiemstra J.A., Harris D.C. (1998). A COMPENDIUM OF VERTICILLIUM WILTS IN TREE SPECIES. <https://core.ac.uk/download/pdf/29317233.pdf> - pristup 23.08.2023.
10. Inderbitzin P., Bostock R.M., Davis R.M., Usami T., Platt H.W., Subbarao K.V. (2011). Phylogenetics and Taxonomy of the Fungal Vascular Wilt Pathogen *Verticillium*, with the Descriptions of Five New Species. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0028341> - pristup 23.08.2023.

11. Ivić D. (2014). AGROTEHNIČKE, MEHANIČKE I FIZIKALNE MJERE U ZAŠTITI BILJA OD BOLESTI. Glasilo biljne zaštite 5/2014. <https://hrcak.srce.hr/file/249836> - pristup 23.08.2023.
12. Jurick W.M., Vico I., Gaskins V.L., Janisiewicz W.J., Peter K.A. (2013). First Report of *Neofusicoccum ribis* Causing Postharvest Decay of Apple Fruit from Cold Storage in Pennsylvania. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-01-13-0054-PDN> - pristup 23.08.2023.
13. Kaliterna J., Miličević T. (2015). *Neofusicoccum parvum* kao uzročnik botriosferijskoga sušenja vinove loze - nove etiološke spoznaje o starijoj bolesti. Glasilo biljne zaštite 3/2015 <https://hrcak.srce.hr/file/249880> - pristup 23.08.2023.
14. Kaliterna, J., Miličević, T. (2012.). Bolesti maslina uzrokovane fitopatogenim gljivama iz porodice Botryosphaeriaceae. Glasilo biljne zaštite 4: 361-365. <https://hrcak.srce.hr/file/249248> - pristup 23.08.2023.
15. Kibolau K.P., Ruixian L., Qun G., Juwu G., Junwen L., Quanwei L., Pengtao L., Youlu Y., Wankui G. (2021). Current advances in pathogen-plant interaction between *Verticillium dahliae* and cotton provide new insight in the disease management. Članak broj 25. *Journal of Cotton Research* volume 4. <https://jcottonres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42397-021-00100-9> - 08.09.2023.
16. Langer G. J., Blumenstein K. (2021). Forest Microbiology. <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/verticillium> - pristup 08.09.2023.
17. Matei P.M., Sánchez-Báscones M., Bravo-Sánchez C.T., Ramos P.M., Martín-Villullas M.T., Cruz García-González M.C., Hernández-Navarro S., Navas-Gracia L.M., Martín-Gil J.M. (2016). Hygienization and control of *Diplodia seriata* fungus in vine pruning waste composting and its seasonal variability in open and closed systems. *Waste Management*. Volume 58, 126-134. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X16304275> - pristup 08.09.2023.
18. Mesquita de Macedo D., Barreto R.W. (2008). First record of *Botryosphaeria ribis* associated with leaf spots on *Magnolia aff. candollei* in Brazil. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3768402/> - pristup 23.08.2023.
19. Montes-Osuna N., Mercado-Blanco J. (2020). *Verticillium* Wilt of Olive and Its Control: What Did We Learn during the Last Decade? <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/6/735> - pristup 23.08.2023.
20. Moral J., Lovera M., Benitez M.J., Arquero O., Trapero A. (2007). First report of *Botryosphaeria obtusa* causing fruit rot of quince (*Cydonia oblonga*) in Spain. *Plant Pathology* (2007) 56, 351 <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-3059.2007.01516.x> - pristup 08.09.2023.
21. Moral J., Muñoz-Díez C., González N., Trapero A., Michailides T.J. (2010). Characterization and Pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* Species Collected from

- Olive and Other Hosts in Spain and California. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO-12-09-0343> - pristup 23.08.2023.
22. Novak A., Ivić D., Sever Z, Fazinić T., Šimunac K. (2018). Gljivični rak oraha u Hrvatskoj. Glasilo biljne zaštite 3/2018 <https://hrcak.srce.hr/file/344014> - pristup 23.08.2023.
23. Phillips A.J.L., Alves A., Abdollahzadeh J., Slippers B., Wingfield M.J., Groenewald J.Z., Crous P.W. (2013). The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. <https://www.ingentaconnect.com/content/wfbi/sim/2013/00000076/00000001/art00007;jsessionid=3e0g2m9t3p8fj.x-ic-live-02> - pristup 23.08.2023.
24. Phillips A.J.L., Crous P.W. (2007). *Neofusicoccum mediterraneum*. Fungal Planet: 19. ISBN-13: 978-90-70351-63-2. <https://aesave.chil.me/download-doc/166747> - pristup 23.08.2023.
25. Phillips A.J.L., Crous P.W., Alves A. (2007). *Diplodia seriata*, the anamorph of "*Botryosphaeria*" *obtusa*. <https://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/25-9.pdf> - pristup 23.08.2023.
26. Reeder R. (2020). *Diplodia seriata* (grapevine trunk disease). <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.9630> - pristup 19.09.2023.
27. Romero M.A., Sánchez M.E., Trapero A. (2007). First Report of *Botryosphaeria ribis* as a Branch Dieback Pathogen of Olive Trees in Spain. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PD-89-0208A> - pristup 23.08.2023.
28. Valverde P., Barranco D., López-Escudero F.J., Muñoz Díez C., Trapero C. (2023). Efficiency of breeding olives for resistance to Verticillium wilt. Front. Sec. Crop and Product Physiology Volume 14. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2023.1149570/full> - pristup 23.08.2023.
29. Zlatković M.P. (2016). BOTRYOSPHAERIACEAE KOMPLEKS NA RAZLIČITIM DRVENASTIM VRSTAMA U SRBIJI. Doktorska disertacija. Sveučilište u Beogradu Šumarski fakultet. <https://fedorabg.bg.ac.rs/fedora/get/o:13563/bdef:Content/download> - pristup 23.08.2023.
30. Zovko M. (2022). Pojava gljivičnih bolesti i štetnika na jagodama istog sortimenta u dvama ekološki različitim uzgojnim područjima. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet. <https://dr.nsk.hr/islandora/object/agr:2466/datastream/PDF/download> - pristup 23.08.2023.

7. Životopis

Loredana Makaš rođena je 31.07.1995. godine u Šibeniku. Osnovnu školu Jurja Dalmatinca pohađala je u Šibeniku 2002. do 2010. godine. Srednju medicinsku školu završila je u Šibeniku od 2010. do 2014. godine i njezinim završetkom stekla kvalifikacije za smjer fizioterapeutska tehničarka. 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 „Bolesti sukulenata“ pod vodstvom mentora izv. prof. dr.sc. Joška Kaliterne. Aktivno se služi engleskim jezikom na C1 razini kojeg je dodatno usavršavala na stručnoj praksi iz područja entomologije u Španjolskoj te talijanskim jezikom na A1 razini. Slobodno vrijeme provodi u prirodi te raznim aktivnostima koje ona pruža, a osim redovnog školovanja bavila se plesom i plivanjem. Dobro poznaje osnove rada na računalu poput služenja MS Office-om i internetom. Glavni hobiji su joj trenutno dvoransko penjanje, fotografija te sviranje instrumenata gitara i ukulele.