



Ministarstvo spoljne trgovine i ekonomskih odnosa BiH
Uprava Bosne i Hercegovine za zaštitu zdravlja bilja



IPA 2012 Twinning projekt Evropske unije

SMJERNICE ZA PREGLED I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA RADI POSEBNOG NADZORA ŠTETNIH ORGANIZAMA

Sarajevo, 2016.



Projekt finansira Evropska unija

SMJERNICE ZA PREGLED I UZIMANJE UZORAKA
ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA RADI POSEBNOG NADZORA
ŠTETNIH ORGANIZAMA

Autori:

EU

Alessandro Bianchi
Janina Butrymowicz
Beniamino Cavagna
Mariangela Ciampitti
Matteo Maspero
Agnieszka Sahajdak
Jacek Zandarski

BiH

Refik Ahmetović
Slobodan Cvijanović
Ajla Dautbašić
Predrag Lazić
Dragan Mataruga
Dijana Ramljak
Vide Šutalo

Izdavači:

Uprava Bosne i Hercegovine za zaštitu zdravlja bilja
IPA 2012 Twinning projekt Evropske unije EUFITO-BiH

Tehnički urednik i DTP:

Muhamed Ramić

Štampa:

GRAFIČAR PROMET, Sarajevo

Za štampariju:

Smajo Vilić

Tiraž:

100 primjeraka



“Ova publikacija urađena je uz pomoć Evropske unije. Sadržaj ove publikacije isključiva je odgovornost Ministarstva poljoprivrede, hrane i šumarstva Italije i Uprave BiH za zaštitu zdravlja bilja i nadležnih organa koji su učestvovali u izradi Smjernica i ni u kom slučaju ne predstavlja stanovišta Evropske unije.”

SADRŽAJ

PREDGOVOR	7
I. OPĆE SMJERNICE ZA PREPOZNAVANJE ŠTETNIH ORGANIZAMA I PRAVILA UZIMANJA UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	9
1. PRAKTIČNI ELEMENTI NADZORA	11
2. SIMPTOMI NAJČEŠĆIH BILJNIH BOLESTI	12
3. UZIMANJE UZORAKA BILJNOG MATERIJALA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	13
4. PAKOVANJE I DOSTAVA UZORKA U LABORATORIJU	15
II. AZIJSKA STRIZIBUBA „ZVJEZDANO NEBO“ - ANOPLOPHORA GLABRIPENNIS (MOTSCHULSKY) I KINESKA STRIZIBUBA - ANOPLOPHORA CHINENSIS (FORSTER)	17
1. UVOD	19
2. BILJE DOMAĆINI	21
3. SIMPTOMI BOLESTI	22
4. NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA	23
5. VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	24
6. PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA	27
7. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	27
8. MJERE ZAŠTITE.....	27
III. BAKTERIOZNA PLAMENJAČA JABUČASTOG VOĆA - ERWINIA AMYLOVORA (BURRILL 1882) WINSLOW ET AL. 1920	31
1. UVOD	33
2. BILJE DOMAĆINI	33
3. SIMPTOMI BOLESTI	34
4. NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA	38
5. VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	40
6. PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA	42
7. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	42
8. MJERE ZAŠTITE	43

IV.	BOROVA NEMATODA - <i>BURSAPHELENCHUS XYLOPHILUS</i> (STEINER ET I BUHRER) NICKLE ET AL.	47
1.	UVOD	49
2.	BILJE DOMAĆINI	49
3.	SIMPTOMI BOLESTI	50
4.	NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA	51
5.	VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	53
6.	PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA	57
7.	LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	57
8.	MJERE ZAŠTITE	57
V.	SMOLASTI RAK BORA - <i>GIBBERELLA CIRCINATA</i> (NIRENBERG I O'DONNELL)	63
1.	UVOD	65
2.	BILJE DOMAĆINI	66
3.	SIMPTOMI BOLESTI	66
4.	NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA	70
5.	VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	71
6.	PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA	73
7.	LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	74
8.	MJERE ZAŠTITE	74
	Prilog 1: Potpuna lista domačina <i>G. circinata</i>	79
	Prilog 2: Prosječna težina 1.000 sjemenki za glavne podvrste roda <i>Pinus</i> i <i>Pseudotsuga</i>	79
V.	VIRUS ŠARKE ŠLJIVE - PLUM POX VIRUS (PPV)	81
1.	UVOD	83
2.	BILJE DOMAĆINI	84
3.	SIMPTOMI BOLESTI	85
4.	NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA	87
5.	VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	88
6.	PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA	90
7.	LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	91
8.	MJERE ZAŠTITE	91
VI.	<i>XYLELLA FASTIDIOSA</i> (WELLS ET AL.)	93
1.	UVOD	95
2.	BILJE DOMAĆINI	96

3.	SIMPTOMI BOLESTI	96
4.	NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA	100
5.	VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	101
6.	PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA	103
7.	MJERE ZAŠTITE	104
	Prilog 1: Spisak biljaka domaćina	106
	Prilog 2: Spisak biljaka domaćina za specifične sojeve	109

VII.	ZLATNA ŽUTICA VINOVE LOZE - FLAVESCENCE DORÉE - CANDIDATUS PHYTOPLASMA VITIS I STOLBUR BOIS NOIR - CANDIDATUS PHYTOPLASMA SOLANI	111
1.	UVOD	113
2.	BILJE DOMAĆINI	113
3.	SIMPTOMI BOLESTI	113
4.	NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA	118
5.	VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA	119
6.	PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA	122
7.	MJERE ZAŠTITE	123

PREDGOVOR

Twinning projekt “Dalje jačanje kapaciteta fitosanitarnog sektora u oblasti fitofarmaceutskih sredstava, zdravlja bilja, sjemena i sadnog materijala, uključujući fitosanitarne laboratorije i fitosanitarne inspekcije“ (EUFITO BiH) provodi se s ciljem poboljšanja aktivnosti institucija koje su uključene u fitosanitarni sektor u BiH. Da bi se postigao ovaj cilj, nekoliko materijala je pripremljeno uz doprinos evropskih i bh. stručnjaka. U ovom radu želimo odati priznanje njihovom trudu i posvećenosti. Ova knjiga rezultat je takvih aktivnosti.

Garancija odsustva karantenskih štetnih organizama u poljoprivrednim proizvodima, koju potvrđuje fitosanitarni certifikat koji izdaju fitosanitarni inspektori treba se zasnivati na znanju o situaciji na unutrašnjem području. Takvo znanje može se steći jedino stalnim monitoringom i praćenjem. Geografska situacija BiH i struktura njene poljoprivredne proizvodnje može dovesti do dramatičnih situacija, kao što se nedavno desilo u Italiji zbog širenja *Xylella fastidiosa*, što može snažno utjecati na ruralno stanovništvo i ekonomiju zemlje. Stoga bi i profesionalci koji se bave poljoprivredom, s obzirom na to da su u svakodnevnom kontaktu s usjevima trebali doprinijeti monitoringu štetnih organizama na terenu i podržati nadzor institucija, zbog potencijalne štete koju ovi organizmi mogu imati na proizvodnju i mogućnosti izvoza.

Implementacija i korektna primjena procedura standardnih fitosanitarnih kontrola je stoga osnovni korak koji je potreban da se ostvari redovni stalan nadzor na terenu kada je riječ o prisustvu štetnih organizama i patogena, pogotovo karantenske vrste.

Ovi razlozi su nas stoga nagnali da pripremimo smjernice s tehničkim uputstvima o tome kako izvesti monitoring, vizualnu inspekciju i uzorkovanje za glavne karantenske organizme koji se moraju nadgledati u EU, a koji također mogu znatno oštetiti poljoprivredni i šumarski sektor u BiH.

Smjernice su organizirane u format koji bi trebao olakšati njihovu upotrebu, pružajući i generalni pregled biologije i distribucije organizama, koje su često korisne da se procijeni rizik neke pojave. Osim informacija o simptomima koji su korisni da bi se prepoznali štetni organizmi, smjernice opisuju i načine na koje se oni mogu razlikovati od sličnih simptoma, koji nisu vezani za karantenske vrste. S obzirom na to da pouzdanost bilo kakvih laboratorijskih analiza zavisi od metode uzorkovanja, za svaku vrstu su detaljno opisane metode i uputstva o uzorkovanju.

Nadamo se da će ove smjernice biti korisne i za to da se potakne saradnja između šumarskih i poljoprivrednih inspektora. S obzirom na to da u posljednjim decenijama većina karantenskih vrsta koje pogađaju poljoprivredne usjeve vode porijeklo od šumskih vrsta, bliska saradnja je ključna da bi se osigurala učinkovita kontrola i da bi se spriječilo širenje novih štetnih organizama.

Dr. Eligio Malusá

stalni savjetnik na twinning projektu

OPĆE SMJERNICE ZA
PREPOZNAVANJE ŠTETNIH
ORGANIZAMA I PRAVILA
UZIMANJA UZORAKA ZA
LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

1. PRAKTIČNI ELEMENTI NADZORA

Proces nadzora sastoji se od:

- skupljanja podataka u vezi s pojavljivanjem relevantnih štetnih organizama na teritoriji BiH;
- registracije podataka o pronađenim štetnim organizmima.

Aktivnosti u vezi sa skupljanjem podataka o pojavljivanju (ili nepojavljivanju) relevantnih štetnih organizama uključuju:

a) vođenje fizičkih inspekcija/ pregleda bilja i biljnih proizvoda – treba ih provesti u najznačajnijim periodima za vjerovatnoću pojavljivanja simptoma određene infekcije/ infestacije. Za to bi se trebao koristiti bilo koji relevantni materijal (npr. opisi određenih štetnih organizama, uključujući one već službeno objavljene) i relevantna legislativa u BiH kad je riječ o zakonskim pravima za ulazak, vizuelni pregled i uzimanje uzorka. Minimalan broj pregleda usjeva/ roba predloženi su u ovom dokumentu (vidi dio 5). Imajte na umu da su informacije koje su dobivene u aktivnostima u vezi s procedurama za certifikaciju izvoza u slučaju kad se oni tiču biljnih proizvoda koji su porijeklom iz BiH također dio nadzora. Međutim, štetni organizmi pronađeni u toku uvoznih inspekcija ili u tranzitu ne trebaju se uključiti u te baze podataka. Generalno se pretpostavlja da sve inspeksijske aktivnosti izvode terenski ili šumarski inspektori ili druge osobe koje su uključene u praktične vizuelne preglede usjeva i mjesta proizvodnje;

b) provjeru informacija kod javnosti (poljoprivrednika, operatera, naučnika, drugih službenih servisa poput službenog nadzora sjemena i sadnog materijala itd.) koje bi ukazivale na to da može postojati bilo kakva mogućnost pojave štetnih organizama (kao što je već rečeno u dijelu 3); takva provjera trebala bi u osnovi uključiti fizički pregled nekog terena, usjeva ili pošiljke za koju se smatra da je zaražena;

c) uzimanje uzorka i njegovo slanje u službene laboratorije – u zavisnosti od situacije uzorak može biti primjerak štetnog organizma (sam ili s biljnim materijalom domaćinom), dijelovi biljke koja pokazuje simptome, bilo kojeg biljnog materijala itd. – uzorak treba odnijeti, upakovati i dostaviti na način koji je odredila laboratorija ili koji je opisan u relevantnom službenom zakonodavstvu;

d) laboratorijske analize materijala koji je uzet za uzorak (prema dijagnostičkim procedurama ovih laboratorija); za potpuno nova otkrića predlaže se da laboratorija traži provjeru od neke druge referentne i "iskusnije" laboratorije (npr. u inozemstvu).

Kada je riječ o registraciji podataka u vezi s pronađenim štetnim organizmima, predlaže se da terenski inspektori registruju aktivnosti u vezi s vizuelnim pregledima i uzimanjem uzoraka. Ovo bi se trebalo obaviti u prisustvu vlasnika određenog bilja. Usto, bilo kakav pronalazak regulisanog štetnog organizma trebao bi rezultirati pripremom izvještaja terenskog inspektora (prema uobičajenoj proceduri), koji se odmah treba poslati u nadležni organ (ministarstvo poljoprivrede i/ili upravu za zaštitu bilja) i koji treba sadržati sljedeće detalje:

- naučno ime otkrivenog štetnog organizma;
- vrstu biljke/biljaka domaćina na kojoj je pronađen štetni organizam;
- vrstu materijala (npr. vanjski usjev, usjev iz zaštićenog prostora, biljni proizvodi iz skladišta itd);
- veličinu proizvodnje (npr. veličinu polja ili robe/ pošiljke);

- tačnu lokaciju pronalaska štetnog organizma (ime sela, općine, kantona itd);
- detalje o vlasniku bilja i biljnih proizvoda;
- procijenjenu stopu zaraze/ infestacije (npr. cijeli usjev zaražen ili infestiran, samo manji dio zaražen ili infestiran, broj uzoraka po biljci itd);
- datum uzimanja uzorka;
- datum prijema rezultata iz laboratorije;
- bilo koje dodatne informacije koje se smatraju korisnim.

Takva obavještenja koja su primljena od terenskih inspektora trebala bi se registrovati u nadležnim organima, pohraniti i analizirati, da bi se pripremili relevantni izvještaji i da bi se ocijenila opća fitosanitarna situacija u zemlji.

2. SIMPTOMI NAJČEŠĆIH BILJNIH BOLESTI

Biljna bolest je bilo koji poremećaj koji remeti normalan rast, razvoj, funkciju, ekonomsku vrijednost ili estetski kvalitet biljke. Dvije su generalne grupe uzročnika biljnih bolesti: biotički (patogeni) i abiotički. Abiotički faktori su faktori nežive prirode kao što su: temperatura, vlaga, ishrana, toksičnost, uzgojne prakse itd. Biotički faktori su faktori žive prirode, odnosno svi utjecaji koji dolaze od drugog živog organizma, tj. svi štetni organizmi koji pripadaju gljivama, bakterijama, virusima, viroidima, nematodama, insektima ili drugim organizmima.

U praksi simptomi infekcije ili znakovi zaraze javljaju se u različitim fazama razvoja. Osim toga, kao što je već rečeno, nisu svi simptomi patogenog porijekla. Postoje mnogi abiotički faktori koji uzrokuju slične probleme ili kombinaciju tih problema.

Simptomi najčešćih biljnih bolesti spadaju u nekoliko širokih kategorija i mogu biti sljedeći:

- **bolest bilja:** simptomi uključuju iznenadno uvenuće i uginuće listova i grana, ili u slučaju cvjetova, njihovo uvenuće i blijedenje/ depigmentaciju. Kada postoje upadljive mrlje ili nepravilna mrtva područja na listovima i grančicama koji uzrokuju uvijanje i prerano opadanje lišća (defolijaciju), moglo bi biti riječ o bolesti bilja. Štete koje uzrokuju bolesti bilja mogu biti manje, kao u slučaju nekih antraknoza ili ozbiljnije, kao u slučaju pepelnice hmelja;

- **rak:** simptomi se obično javljaju na drvenastoj stabljici i mogu biti udubljenja, pukotine ili ispupčenja mrtvog ili abnormalnog tkiva. Iz rane ponekad upadljivo curi biljni sok, ili u slučaju zimzelenih biljaka, biljni sok curi na donje grane;

- **deformacije:** bilo koje nepravilnosti u obliku i izgledu biljke, kao što su opće smanjenje veličine, izrasline, uvijanje, kržljavost, proliferacija, uvijanje listova, skupljanje itd;

- **simptomi hranjenja:** štete koje nanose člankonošci, kao što su: promjena boje, hloroza, hodnici, mine na listovima, defolijacija/nestanak lišća, ogoljavanje, otvori, izlazne rupe, štete na korijenju itd;

- **gale:** oteknuća abnormalnih tkiva (hipertrofija tkiva) od manjih do prilično velikih dimenzija. Određeni insekti također mogu uzrokovati gale. Potrebno je otvoriti galu i unutar nje tražiti znakove prisustva insekata – ako se ništa ne pronađe, galu je vjerovatno uzrokovala neka bolest;

- **plikovi na listovima** su žuta ispupčenja na licu lista sa sivim udubljenjem na naličju lista;

- **uvijanje listova:** pojavljuje se blijedilo ili crvenilo novih listova s deformacijom lisnih žila. Listovi se nabiru i uvijaju tokom rasta. Određeni insekti izazivaju slične simptome, ali ako su insekti uzrok tih smetnji, oni se mogu vidjeti (ili se mogu uočiti drugi znakovi njihovog prisustva) tokom detaljnijeg inspeksijskog pregleda;

- **mrnje na listovima:** pojavljuju se okrugle mrlje na listovima. Postoji generalni opis primijenjen za niz bolesti listova ukrasnog bilja i drveća koje raste u sjeni. Gljive uzrokuju većinu mrlja na listovima, ali neke mrlje uzrokuju bakterije ili virusi;

- **plijesan:** radi se obično o jednoj od dvije vrste. Plijesan je obično bijele do ljubičaste boje, biljke prati poremećen rast, promjene su primjetne najčešće na naličju lista i duž stabljike. Vremenom se boja mijenja u tamnije nijanse do potpuno crne boje. Druga vrsta je pepelnica koja je bijele do sivkaste boje, praškaste strukture i obično je na gornjim površinama listova;

- **trulež:** uzrokuje propadanje korijena, stabla, drveta, cvijeta i plodova. Trulež može biti meke i gnjecave konzistencije ili tvrda i suha, i može imati svijetlu ili tamnu boju;

- **hrđa:** obično uzrokuje simptome koji uključuju praškastu površinu najčešće smeđe boje. Primjećujemo je u početku na naličju lista i stablu, gdje su primjetni karakteristični prištići, koji vremenom mijenjaju boju;

- **bolesti uvenuća:** izazivaju trajno uvenuće, često praćeno uginućem dijelova biljke ili cijele biljke.

3. UZIMANJE UZORAKA BILJNOG MATERIJALA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Vizuelni pregled usjeva, lota ili plantaže gajenog bilja započinje generalnom procjenom cjelokupnog usjeva ili njegovog reprezentativnog dijela. U mnogim situacijama dovoljan je vizuelni pregled za postizanje opšteg mišljenja o fitosanitarnom stanju bilja i ako se ne uoče simptomi ili znakovi zaraze, nema potrebe za uzimanjem uzoraka za laboratorijsku analizu. Međutim, u slučaju sumnje, ili ako je ispitivanje na prisustvo latentne zaraze potrebno, uzima se odgovarajući reprezentativni uzorak. Način uzorkovanja i veličina uzorka ovisi o vrsti biljke domaćina, o prisustvu štetnog organizma zbog kojeg materijal treba biti ispitan i o svrsi ispitivanja (tj. zbog prisustva određenog štetnog organizma, ili kako bi se otkrio uzročnik zaraze).

3.1. Uzimanje uzoraka zbog prisustva određenih štetnih organizama

Način uzimanja uzoraka s ciljem vršenja laboratorijskog ispitivanja na prisustvo određenog štetnog organizma zavisi od cilja testiranja. Moguće su dvije situacije: testiranje kada su simptomi vidljivi i kada su moguće latentne zaraze.

3.1.1. Testiranje kada su simptomi vidljivi

Simptomi zaraze su vidljivi i inspektor zaključuje da određeni štetni organizam može biti uzročnik te zaraze. U tom slučaju dovoljno je uzeti nekoliko oboljelih biljaka (u različitim

fazama razvoja bolesti) ili njihov dio, kako bi se omogućila primjerena laboratorijska ispitivanja (npr. oboljeli izdanci ili plodovi u slučaju testiranja na *Erwiniju amylovoru*; listovi sa simptomima u slučaju testiranja na *Plum pox virus*; korijenje biljaka s cistolikim nematodama; uzorci insekata itd.). Međutim, po mogućnosti, preporučuje se uzimanje kompletnih biljaka zajedno s njihovim korijenjem i tlom. Ova vrsta uzorkovanja bi omogućila duže održavanje materijala u svježem stanju, te eventualnu sadnju i daljnji rast biljke u slučaju potrebe za dužim testiranjem. Također se preporučuje porazgovarati s vlasnikom bilja, jer se ponekad bitne informacije mogu dobiti na ovakav način (kao što su informacije o sličnim problemima u blizini; ishrana ili primjena pesticida; zagađenje zraka; nepovoljni klimatski uvjeti itd.).

3.1.2. Testiranje kada su moguće latentne zaraze

Zaražene biljke nisu pronađene, međutim, postoji potreba za obavljanjem laboratorijskih ispitivanja na prisustvo specifičnih štetnih organizama kako bi se provjerila njihova moguća prisutnost u latentnom obliku. Ovo se odnosi na ispitivanje krtola krompira na prisustvo *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* ili *Ralstonia solonacearum*; ispitivanje materijala za razmnožavanje nekih vrsta voća za *Plum pox virus*; provjera materijala za razmnožavanje bilja iz rodova *Rubus* i *Fragaria* na prisustvo nekih virusa; ispitivanje tla za ciste nematoda krompira itd). U takvim situacijama metoda uzorkovanja i veličina uzorka ovisi o vrsti bilja kao i vrsti štetnog organizma. U ovom slučaju, primjenjuju se posebne procedure vezane za štetne organizme. One uzimaju u obzir specifičan odnos između štetnog organizma i biljke domaćina. Ovisno o takvom odnosu, aktivnosti kontrole mogu uključiti naprimjer ispitivanje određene veličine uzorka (npr. 200 uzetih krtola iz svakih 25 tona serije krompira); testiranje fiksog udjela gajenih biljaka (npr. 5%); detaljni pregled određenog broja biljaka na prisustvo štetnih organizama; upotreba feromona ili ljepljivih zamki; itd. Postoji veliki broj specifičnih inspekcijskih pregleda štetnih organizama kao i već razvijeni protokoli uzorkovanja. Međutim, najviše se preporučuju oni koje je razvila i zvanično objavila Evropska i mediteranska organizacija za zaštitu bilja (EPPO) (www.eppo.int). Organizacija za zaštitu bilja Sjeverne Amerike (NAPPO) objavila je dosta takvih protokola i oni se također preporučuju zbog sličnih klimatskih uslova (www.nappo.org).

3.2. Uzimanje uzoraka s ciljem utvrđivanja uzročnika bolesti

Kada se uoče oboljele biljke i kada je teško zaključiti šta bi mogao biti glavni uzrok bolesti, uzimaju se uzorci radi utvrđivanja uzročnika te bolesti. U ovom slučaju, prvo treba procijeniti da li je mogući uzrok bolesti biotički ili abiotički faktor. Ako inspektor posumnja da problem može biti prouzrokovan biotičkim faktorom, bilo bi dobro dodatno suziti mogući broj uzročnika bolesti (npr. kako bi se odredilo da li bi to mogao biti virusni, bakterijski ili mikološki problem ili neki drugi patogen). Generalno, u takvim situacijama preporučuje se uzimanje kompletne biljke u različitim fazama razvoja bolesti, zajedno s tlom u kom se biljka nalazi. Međutim, za testiranje na bakterije ili gljive (kako bi se omogućila izolacija bakterija ili gljiva) ponekad je dovoljno uzeti uzorak koji se sastoji od određenog dijela biljke, kao što su listovi za ispitivanje na viruse, izdanci, grane ili drugi dijelovi koji sadrže tkiva na granici između zdravog i oboljelog.

Ako se sumnja na nematode, važno je uzeti uzorak tla s pogranične zone između oboljelih biljaka i onih sa "zdravijim" izgledom (na mjestima gdje je najveća koncentracija

nematoda koje se kreću). Ako se uoče insekti, uzorak treba uzeti tokom različitih faza razvoja insekta, ali se također preporučuje dodatno uzimanje uzorka sa zaraženim dijelovima biljke. Ako inspektor nije u stanju na početku procijeniti o kojem je mogućem uzročniku riječ, preporučuje se uzimanje velikog broja oboljelih biljaka (u različitim fazama razvoja bolesti) kao i dodati dovoljno biljaka sa zdravim izgledom, radi poređenja.

Uzorkovanje potpuno raspadnutog ili trulog materijala treba izbjegavati, jer taj materijal obično ima sekundarnu infekciju bakterijama ili gljivama, što čini nemoguće pronalaženje izvornog problema bolesti.

Također je vrlo bitno u ovakvim situacijama priložiti uzorku protokol uzorkovanja koji bi sadržavao kompletan opis problema na koji se naišlo, uključujući informacije kao što su: detaljan opis simptoma, lokacija oboljelih biljaka u usjevu, vrijeme pojave prvih simptoma, mjesto proizvodnje (na otvorenom ili u zatvorenom prostoru), primijenjeni pesticidi i đubriva, situacija u susjednoj zoni, situacija prethodnih godina itd.

4. PAKOVANJE I DOSTAVA UZORKA U LABORATORIJU

U materijalu se navodi nekoliko osnovnih smjernica za pakovanje uzorka kako bi se osiguralo da, po prijemu, uzorak bude prikladan za testiranje.

Kompletne biljke: staviti korijen s okolnom zemljom na njemu u plastičnu vrećicu i zatvoriti vrećicu oko stabljike biljke. Staviti cijelu biljku u drugu plastičnu vrećicu, blago napuhati i zatvoriti.

Listovi i izdanci: za dijagnosticiranje virusa staviti listove i izdanke u plastičnu vrećicu, blago napuhati i zatvoriti.

Ostale/ nepoznate dijagnoze: zamotati uzorak s blago vlažnim upijajućim papirom, staviti u plastičnu vrećicu, blago napuhati i zatvoriti.

Artikli kao što su voće, povrće, gomolji (osim krompira), lukovice itd.: zamotati u suhi upijajući papir, a ako je materijal lomljiv ili podložen truleži, potrebno ih je zamotati pojedinačno. Staviti u plastičnu vrećicu, blago napuhati i zatvoriti.

Štetni organizmi/ beskičmenjaci: uzorke beskičmenih štetnih organizama (insekata, pauka, grinja itd.) treba staviti u zatvorenu plastičnu posudu ili plastičnu epruvetu.

Gomolji krompira: dijagnoza beskičmenjaka: zamotati u suhi upijajući papir. Staviti u plastičnu vrećicu, blago napuhati i zatvoriti.

Druge/ nepoznate dijagnoze: zamotati u suhi upijajući papir. Ne stavljati u plastičnu vrećicu.

Uzorcji tla: za analizu nematoda staviti potrebnu količinu tla u čvrstu plastičnu vrećicu i zatvoriti.

Svi uzorcji bi se trebali staviti u čvrstu kartonsku kutiju i spakovati u papir za zaštitu pri transportu. Svježi materijal treba dostaviti u laboratoriju što prije, iako je u većini slučajeva kratko čuvanje u hladnjacima moguće (ali ne i zamrzavanje). Treba izbjegavati slanje uzorka neposredno pred vikend ili tokom dužih državnih praznika. Ako se pošiljka dostavlja poštom ili putem usluga dostavljanja, treba biti označena kao "žive biljke" i poslana brzom poštom.

POSEBAN NADZOR

Azijska strizibuba „zvjezdano nebo“

Anoplophora glabripennis

(Motschulsky)

i

Kineska strizibuba

***Anoplophora chinensis* (Forster)**

1. UVOD

1.1. Taksonomija *Anoplophora* spp.

Kineska strizibuba (*A. chinensis*, koja se na engleskom naziva Asian longhorn beetle, ALB) i “zvjezdano nebo” (*A. glabripennis*, koja se na engleskom naziva Citrus longhorn beetle, CLB) su članovi nedavno revidiranog roda *Anoplophora* Hope (*Coleoptera*, *Cerambycidae*, *Lamiinae*, *Lamiini*), koji je sačinjen od 36 vrsta insekata koji buše stabla i koji su rasprostranjeni u Aziji.

1.2. Morfologija i životni ciklus *Anoplophora* spp.

Ontogeneza kineske strizibube i *zvjezdanog neba* je slična kada je riječ o njihovim morfološkim karakteristikama. Odrasli insekti obje vrste su sjajne, crne boje sa 10–20 upečatljivih bjeličastih tačaka nepravilnog oblika na pokriocu. Dužina tijela se obično kreće između 17 i 40 mm. Najočitija morfološka karakteristika koja razlikuje imago kineske strizibube od imaga *zvjezdanog neba* je prisustvo 20 do 40 kvržica, odnosno nakupine zrnaste strukture na bazalnom dijelu oba pokrioca, dok je dio pokrioca *zvjezdanog neba* gladak.

Pipci se sastoje od 11 članaka, s linijama čiji je bazalni dio svakog članka blijedoplave ili bijele boje, dok je gornji dio crne boje. Dužina pipaka kod mužjaka *zvjezdanog neba* je dva puta veća u odnosu na dužinu njegovog tijela, a kod ženki manje od 1,5 puta. Kod mužjaka kineske strizibube pipci su također mnogo duži nego tijelo, a kod ženki ili jednaki ili malo duži od tijela.

Jaja obje vrste su duguljasta, duga 5–7 mm. U periodu polaganja jaja, boja jaja je u početku bjeličasta, ali tokom inkubacije mogu biti boje slonovače, bež, sive ili smeđe boje. Kod kineske strizibube i *zvjezdanog neba* polaganje jaja počinje progrizanjem kore drveta, koju insekt progriza zahvaljujući jakom usnom aparatu za grickanje. Kod kineske strizibube rez ima oblik luka (oko 1 cm širine). Ženka postavi legalicu u sredinu proreza kako bi odložila jaje u sredinu luka. Jaje polaže pod vrlo tanak sloj tkiva kore blizu površine (srednji dio pukotine se otvara pod pritiskom legalice, formirajući prorez koji ima oblik slova T). Kod *zvjezdanog neba* ženka izgrize okrugli dio (promjera 1–1,3 cm) na površini kore i nastavi izgrizati dublje, formirajući rupu oblika lijevka u kambionalnom sloju. U većini slučajeva *zvjezdano nebo* formira rezove za polaganje jaja, koja polaže ispod kore, između floema i ksilema.

Kineska strizibuba uglavnom polaže jaja u podnožju stabla. Također polaže jaja na stablu na nekoliko centimetara iznad tla i na korijenju koje se nalazi iznad površine tla. *Zvjezdano nebo* obično polaže jaja na krošnji, na granama prečnika 7 cm ili više, ili na gornjem dijelu stabla, a ponekad i na potpunom stablu (kada je riječ o velikom broju insekata) ili na malim stablima koja imaju grane veoma malog prečnika.

U sjevernoj Italiji krajem juna i početkom jula (za vrijeme visokih temperatura) razvoj embriona kineske strizibube traje 10–15 dana, a 15–21 dan kod *zvjezdanog neba*.

Larve *Anoplophora* spp. su izdužene, cilindrične, mesnate, sjajne i krem boje. Na glavi je primjetan usni aparat tamnosmeđe boje i dvije mandibule (gornje vilice) crne boje. Prvi grudni segment (pronotum) je najveći i formiran je od smeđih tvrdih ploča na dorzalnoj strani.



Jaje, larva i lutke *Anoplophora*

U sjevernoj Italiji, krajem juna/ početkom jula, larve prvog i drugog razvojnog stadija kineske strizibube ili *zvjezdanog neba* se hrane u kambijalnom dijelu u vremenskom periodu oko 15 dana, a zatim se pomjere u predjelu stabla gdje se nalazi floem i vanjski sloj ksilema.

Kod potpuno odrasle larve kineske strizibube, odnosno zadnjeg razvojnog stadija larve nastaje razvoj lutke. Larva se okrene na kraju hodnika, vrati se u suprotnom pravcu, povećavajući promjer hodnika (ili formira novi dio hodnika na nivou koji se nalazi oko prizemnog dijela stabla). Potpuno odrasla larva vidno poveća hodnik s ciljem formiranja komore za prelazak u stadij lutke u vanjskim slojevima mekog drveta i počne bušiti izlazni tunel na unutrašnjem dijelu kore kako bi omogućila izlazak budućeg odraslog insekta. Larva konačno pokrije unutrašnji zid komore za kukuljenje s debelim slojem piljevine. Nakon toga dolazi do kukuljenja. Isti se obrazac ponavlja kod odraslih larvi i lutki *zvjezdanog neba*, ali se kukuljenje odvija na grani ili u stablu domaćina (nikada u korijenu).

Lutke kineske strizibube i *zvjezdanog neba* su bjeličaste boje. Noge i krila lutaka su odvojene od tijela, a abdomen je pokretan. Stadij lutke traje 2–3 sedmice, zavisno od temperature.

Odrasli insekti kineske strizibube ili *zvjezdanog neba* izgrizu savršeno okruglu rupu kroz vanjski sloj kore i polako se izvuku iz hodnika. Izlazna rupa je prečnika oko 10–15 mm, i tačno odgovara promjeru odraslog insekta koji je izašao iz rupe.

Neposredno nakon izlaska na bazalnom dijelu stabla odrasli insekti kineske strizibube ispužu prema gore preko kore stabla na nove izdanke koji rastu na deblu.



A. chinensis



A. glabripennis

Odrasli insekti *Anoplophora*

Životni ciklus: Obje vrste se razvijaju za jednu ili dvije godine (od stadija jaja do odraslog stadija) u zavisnosti od lokalnih klimatskih uslova, perioda polaganja jaja i broja larvi prvog razvojnog stadija odraslog insekta. U sjevernoj Italiji odrasli insekti *Anoplophore* se razvijaju za dvije godine.

2. BILJE DOMAĆINI

Za kinesku strizibubu su: *Acer* spp., *Aesculus hippocastanum*, *Alnus* spp., *Betula* spp., *Carpinus* spp., *Citrus* spp., *Cornus* spp., *Corylus* spp., *Cotoneaster* spp., *Crataegus* spp., *Fagus* spp., *Lagerstroemia* spp., *Malus* spp., *Platanus* spp., *Populus* spp., *Prunus laurocerasus*, *Pyrus* spp., *Rosa* spp., *Salix* spp. i *Ulmus* spp.

Za zvjezdano nebo su: *Acer* spp., *Aesculus* spp., *Albizia* spp., *Alnus* spp., *Betula* spp., *Buddleja* spp., *Carpinus* spp., *Celtis* spp., *Cercidiphyllum* spp., *Corylus* spp., *Elaeagnus* spp., *Fagus* spp., *Fraxinus* spp., *Hibiscus* spp., *Koelreuteria* spp., *Malus* spp., *Melia* spp., *Morus* spp., *Platanus* spp., *Populus* spp., *Prunus* spp., *Pyrus* spp., *Quercus rubra*, *Robinia* spp., *Salix* spp., *Sophora* spp., *Sorbus* spp., *Tilia* spp., *Ulmus* spp.

3. SIMPTOMI BOLESTI

Ako se na biljci domaćinu pronađu odrasli insekti, ili uoče bilo koja fizička oštećenja, koja insekti prouzrokuju u bilo kojoj fazi ontogeneze, znak je prisustva štetnog organizma. Simptomi se mogu uočiti vrlo brzo nakon početne infestacije, ili mogu biti identifikovani mnogo kasnije, čak i nekoliko godina nakon prvog unošenja. Simptomi su reakcije biljke domaćina na napade insekta.

Može se pomisliti da su neke uočene simptome prouzrokovali lokalni štetni organizmi. Često se štetni organizam primijeti tek nakon dostizanja prilično visokog stepena napada. Pored odraslih štetnih organizama s vanjske strane biljke domaćina glavni znakovi prisustva *zvjezdanog neba* i kineske strizibube na koje se mora obratiti pažnja su: štete nastale od hranjenja odraslog insekta, prorezi za polaganje jaja, gomile piljevine i otpadaka, izlazne rupe odraslih insekata. Unutrašnji znaci su: hodnici larve unutar mekog drveta (i srži), kao i larve.

Kineska strizibuba: s ciljem polaganja jaja, ženke izgrizu i naprave prorez u obliku slova T (unutar kore debla blizu nivoa tla ili na korijenju izvan tla). Nakon izlijeganja larva izgrize unutrašnje dijelove stabla i uništi srž i vaskularni sistem biljke domaćina, a nakon toga uđe u srž stabla i izgrize i napravi tunele unutar cijelog stabla. Značajne količine piljevine se izbace kroz rupe na kori. Gomile piljevine koje se skupe u podnožju napadnutog stabla obično su upadljive i dobar su pokazatelj napada. Odrasli insekti jedu mlado lišće, grane i koru stabla.

Simptomi i štete od napada *zvjezdanog neba* su: rezovi za polaganje jaja koja imaju oblik lijevka, izlazne rupe na granama i duž stabla, sok koji curi iz rupa za polaganje jaja, prisustvo osa i muha koje privlači sok, piljevina na granama i na tlu u podnožju zaraženih stabala, šuplja kora i tuneli larvi duž debla i grana, znaci hranjenja odraslih insekata na grančicama i na peteljkaama i uginuće grana od vrha prema deblu.



Simptomi napada kineske strizibube



Simptomi napada *zvjezdanog neba*

4. NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA

Odrasli lako lete, kao i druge strizibube iz porodice *Cerambycidae*. U međunarodnoj trgovini *Anoplophora* spp. se najčešće prenosi u stadiju jaja, larvi ili lutki u šumskom i hortikulturnom sadnom materijalu i drugom sadnom materijalu, putem bonsaija (*zvjezdano nebo*) i putem drvenog materijala za pakiranje (kineska strizibuba). Odrasli insekti i larve su uneseni u EU tokom ljeta putem bonsaija iz Kine i Japana i pronađeni su u negrijanim staklenicama (čak i van staklenika) uzrokujući štete na stablima i grmlju.

5. VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

5.1. Svrha pregleda

Pregled se odnosi na službene mjere putem kojih bi se ustanovilo da li su ova dva organizma prisutna na teritoriji BiH. Na osnovu Pravilnika o fitosanitarnim mjerama za sprječavanje unošenja, širenja i suzbijanja štetnog organizma kineska strizibuba - *Anoplophora chinensis* (Foster) ("Službeni glasnik BiH", broj 68/14) postoji obaveza da se provede nadzor s ciljem otkrivanja kineske strizibube.

Nadzor kineske strizibube vrši se slijedeći ISMP standard br. 6 (1997), tj. provođenjem pregleda na jednom području s ciljem otkrivanja eventualnog prisustva štetnog organizma. U ovom slučaju, pregled je službena procedura provedena u određenom vremenskom periodu s ciljem određivanja karakteristika organizma, ili s ciljem utvrđivanja prisustva štetnog organizma na određenom području.

5.2. Ciljevi pregleda

Cilj pregleda je provjeriti prisustvo kineske strizibube u:

- rasadnicima,
- vrtovima,
- javnim i privatnim parkovima,
- šumama.

5.3. Planiranje pregleda

5.3.1. Definicija vizuelnog pregleda

Službeni vizuelni pregled bilja, biljnih proizvoda ili drugih regulisanih objekata s ciljem određivanja prisustva štetnih organizama ili s ciljem određivanja usklađenosti s fitosanitarnim propisima (FAO, 1990; revidirani FAO 1995 ISPM 5: Rječnik fitosanitarnih termina. FAO 2010.)

5.3.2. Definicija lota

Broj jedinica jedne vrste robe koje su prepoznatljive po svom homogenom sastavu, porijeklu itd., i koje su dio pošiljke.

S ciljem pripreme izvještaja s podacima koji se šalju EU, lotom se smatra:

a. mjesto pregleda u vrtnim centrima: posmatranje osjetljivog bilja na dan pregleda, označavanje lokacije pregleda GPS-koordinatama (1 vrtni centar, 1 inspeksijsko mjesto);

b. hektari s domaćim vrstama: površina osjetljivog bilja u hektarima u javnim i privatnim parkovima;

c. pregledani hektari: broj pregledanih hektara pod tačkom b. U ovom slučaju mora biti pregledano sve osjetljivo bilje koje se nalazi na tim hektarima;

d. mjesto pregleda u javnim parkovima: posmatranje osjetljivog bilja ili grupe osjetljivog bilja iste vrste koje se nalaze na određenoj fizičkoj lokaciji na dan pregleda i koje se identifikuju s preciznim geografskim koordinatama ili GPS-om, a čiji je razmak manje od 20 m (u slučaju da je posmatračko mjesto red, vizuelno posmatranje je 20 dužnih metara). Vrt s osjetljivim biljkama koje su udaljene jedna od druge manje od 20 m je jedno mjesto pregleda; putanja formirana od drvoreda koja je manja od 20 m smatra se jedno mjesto inspekcije; putanja formirana od drvoreda od 50 m je jedno mjesto pregleda;

e. mjesto pregleda šuma: svaka tačka identifikovana GPS-koordinatama i s koje se pregleda cjelokupno osjetljivo bilje unutar 10 m;

f. hektari biljaka domaćina u šumama: za svaki hektar mora postojati pregled najmanje četiri lokacije navedene u tački „e“.

5.4. Prioriteti nadzora

Prioriteti nadzora su:

- rasadnici
- rasadnici koje uvoze iz područja gdje je poznato prisustvo kineske strizibube
- rasadnici u kojim je u proteklih pet godina zasađeno osjetljivo bilje iz područja u kojima je poznato prisustvo kineske strizibube
- vrtni centri, javni i privatni vrtovi koji se nalaze u neposrednoj blizini mjesta gdje se prodaju bonsai ili gdje se njima rukuje
- šume

5.5. Rodovi biljaka koje treba pregledati

Pregledi se vrše na svim vrstama bilja koje se smatraju biljke domaćini kineske strizibube i *zvjezdanog neba*.

5.6. Vršenje pregleda

- Vršiti dva pregleda godišnje "u odgovarajućim razmacima", okvirno jedan tokom perioda leta insekata (maj/ septembar), a drugi u periodu mirovanja;

- Provjeriti moguće prisustvo simptoma kao što su:

- Izlazne rupe: koje imaju promjer od 1,5–2 cm, savršeno su okrugle i nalaze se na cijelom donjem dijelu stabla i na korijenju koje se nalazi na površini tla. Ponekad ih je teško pronaći pošto su prekrivene tankim slojem tla (stoga je potrebno obratiti posebnu pažnju ovom aspektu).

- Oguljena kora nastala hranjenjem odraslih insekata mladim grančicama;

- Piljevina: vidljive hrpe piljevine u podnožju biljke prouzrokovane trofičkom aktivnošću larvi;

- Trajnom bojom obilježiti biljke na kojima su pronađeni čak i samo eventualni simptomi;

- Ako je potrebno, izvršiti destruktivna ispitivanja;
- Osigurati biomolekularno ispitivanje i praćenje piljevine i larvi.

5.7. Određivanje broja biljaka koje se trebaju pregledati u slučaju kontrole u rasadnicima i vrtovima

Broj biljaka koje se trebaju pregledati može biti različit u zavisnosti od toga da li se radi o rasadnicima za sadnju sadnog materijala s vrlo gustom sadnjom i visokom gustoćom bilja domaćina po kvadratnom metru (ili po hektaru), ili se radi o rasadnicima za uzgoj relativno manjih/ nižih ili većih/ viših biljaka.

Prikladno je vizuelno pregledati nekoliko biljaka u bilo kojem rasadniku ili parceli putem nasumičnog praćenja (slijedeći indikacije označene u Tabeli br. 1).

Tabela 1. Određivanje broja biljaka domaćina koje treba vizuelno pregledati.*

Broj biljaka domaćina ili osjetljivih biljaka u rasadniku	95% granica pouzdanosti
br. < 500	sve biljke
501 < br. <1,000	850
1001 < br. <5000	1060
5001 < br. <10,000	1090
br. > 10.001	1120

* Minimalan broj biljaka domaćina i biljaka koje treba pregledati u rasadniku kako bi se omogućio pronalazak štetnog organizma, uz granicu pouzdanosti od 95%, kada je štetni organizam prisutan kod 0,5% biljaka i kada 75% biljaka ispoljavaju simptome napada.

5.8. Pregled javnih i privatnih vrtova

Pregled se mora vršiti uzimajući u obzir izvore najvećeg rizika. Po mogućnosti, ravnomjerno rasporediti kontrolu po cijeloj regiji.

Rasadnici		Druga mjesta (vrti centri itd.)		Javne zelene površine i vrtovi				Šume			
Broj rasadnika	Broj pronalazaka/infestacija	Broj pregledanih mjesta	Broj pronalazaka/infestacija	Broj hektara vrsta domaćina	Broj pregledanih hektara	Broj pregledanih mjesta	Broj pronalazaka/infestacija	Broj hektara vrsta domaćina	Broj pregledanih hektara	Broj pregledanih mjesta	Broj pronalazaka/infestacija

5.9. Informacije o aktivnostima i obrada podataka

Za svaku aktivnost monitoringa treba se pripremiti pisani/ elektronski zapisnik i može biti dokumentovan pripremom posebnih izvještaja, koji sadrže sljedeće osnovne informacije:

- ime i kontakt osobe koja vrši detekciju ili osobe koja vrši monitoring;
- datum i precizna identifikacija mjesta gdje se vrši monitoring (GPS-koordinate);
- vrstu mjesta na kojoj se vrši monitoring (rasadnik, vrt, privatne ili javne zelene površine, šume).

U izvještaju navesti broj hrpa piljevine, broj rupa, broj odraslih insekata kao i vrstu i broj biljaka sa i bez simptoma.

6. PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA

Uzeti uzorci se pakuju u uske plastične vrećice i na odgovarajući način se označavaju kako bi se mogli utvrditi njihov identitet i sljedivost. Dodijeliti uzorku kod, navesti gdje i kada je uzorak uzet, navesti latinski naziv uzorkovane botaničke vrste, navesti adresu laboratorije gdje se uzorak isporučuje i datum slanja uzorka.

7. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Dobro razvijen pristup za molekularnu analizu je upotreba DNK uzetog iz larve i fekalnog materijala. Uzorci piljevine se sastoje od biljnog materijala pomiješanog s fekalijama insekata i potencijalno imaju tragove DNK-a tih insekata. Uzimanje primjeraka *Anoplophora* spp. sa i iz infestiranih biljaka može biti težak zadatak s relevantnim poteškoćama, tako da je neinvazivan dijagnostički pristup koristan kada se sumnja da je *Anoplophora* prisutna (i koju je potrebno potvrditi). PCR-amplifikacija koristeći DNK ekstrahiran iz fekalija unutar uzorka piljevine može potvrditi prisutnost kineske strizibube i u slučajevima kada je štetni organizam napustio zaraženo stablo.

8. MJERE ZAŠTITE

8.1. Rano otkrivanje

U cilju vrlo brzog otkrivanja i širenja odraslih insekata kineske strizibube i *zvjezdanog neba* kao i novih zaraženih mjesta, posebne procedure monitoringa moraju biti implementirane u tampon-zoni, koja je u suštini opseg oko infestirane površine (i proteže se na 2 km izvan trenutno poznate granice infestiranog područja). Unutar tampon-zone

neinfestiranog područja u blizini granice sa infestiranim područjima sistem monitoringa mora se zasnivati na vizuelnom pregledu velikog broja biljaka indikatora, jer mnoge privlače odrasle insekte kineske strizibube i *zvjezdanog neba*.

8.2. Informisanje javnosti

U cilju povećanja svijesti javnosti, informativna kampanja putem različitih medija mora se provesti kako bi se informisala javnost o ovom štetnom organizmu. Neophodno je pokrenuti odgovarajuće reakcije ljudi u slučaju pronalaska egzotičnih insekata ili znakova prisutnosti *Anoplophora* na biljku. Lokalne zajednice i opštine koje su suočene sa ovim problemom, ili su potencijalna područja na kojim se može pojaviti ovaj štetni organizam, moraju učestvovati i informisati javnost o njemu. Trebali bi se poduzeti sljedeći koraci: podijeliti letke i postere o *Anoplophori*, organizovati sastanke sa stručnjacima, službenim osobama iz ove oblasti, tehničkim službama i građanima, objaviti članke u novinama i časopisima, emitovati radio i TV-emisije, objaviti stručne članke u naučnim časopisima.

8.3. Mjere za sprečavanje širenja štetnog organizma

Regulisano područje treba da se uspostavi odmah po prvom otkrivanju pojave štetnog organizma. Ono bi trebalo obuhvatati:

- zaraženo područje, a to je tačno definisano područje površine 100 m radijusa oko bilo koje zaražene biljke domaćina,
- tampon-zonu (područje monitoringa) širine ne manje od 2 km uz zaraženo područje koje će biti pod intenzivnim monitoringom.

Mjere koje se trebaju primijeniti na kretanje svih vrsta roba domaćina (s ciljem sprečavanja prenošenja *Anoplophore* iz regulisanih područja na druga područja) moraju biti stroge najmanje onoliko koliko su i mjere pri uvozu. Ove mjere provode se s ciljem sprečavanja izlaska insekata iz napadnutih stabala, čime se onemogućava mogućnost prenosa na druga stabla, gdje bi se mogla stvoriti nova žarišta. Ove mjere se primjenjuju u regulisanom području na vrste za koje se zna da su podložne *Anoplophori*.

8.4. Mjere zaštite s ciljem otklanjanja pronađenih štetnih organizama

Nakon identifikacije zaraženih stabala putem vizuelnog pregleda slijedi uklanjanje stabala (uključujući sjeckanje tj. 'čipsiranje' i/ili spaljivanje), koje je trenutno jedini dokazani način kontrole. Moraju se iskorijeniti čak i stabla sa samo jednom vidljivom izlaznom rupom.

Proces iskorjenjivanja je sljedeći:

1. rezanje gornjih dijelova zaraženih stabala,
2. čuvanje ovih dijelova u ograđenom području na teritoriji opštine,
3. usitnjavanje cijelokupnog biljnog materijala i spaljivanje za proizvodnju industrijskog goriva;
4. vađenje glavnih zaraženih panjeva i korijenja pomoću posebnih uređaja.

8.5. Hemijske mjere zaštite

Sistemični insekticidi mogu se koristiti na neinfestirane biljke domaćine u okviru karantenskog područja pod pretpostavkom da će se zaštititi od napada kineske strizibube, ili u pokušaju da se već napadnuto drveće tretira. Zemljišni insekticidi, ili insekticidi koji se direktno ubrizguju u stabla (imaju nisku toksičnost za sisare, kao i minimalni uticaj na neciljane organizme) poželjniji su u programima suzbijanja ovog štetnog organizma.

POSEBAN NADZOR

**Bakteriozna plamenjača
jabučastog voća
Erwinia amylovora
(Burrill 1882) Winslow et al. 1920**

1. UVOD

Erwinia amylovora je bakterija koja izaziva bakterioznu plamenjaču. Ova bolest uzrokuje značajne štete na biljnim vrstama iz potporodice *Maloideae*, a posebno jabukama, kruškama, dunjama i drugom bilju i grmljem iz familije *Rosaceae*. Detaljan popis ugroženih biljaka, uključujući i one podložne zarazi nakon umjetne inokulacije obuhvata preko 180 vrsta iz 39 rodova *Rosaceae* (više pojedinosti u Odjeljku 2).

E. amylovora je prva bakterija opisana kao uzročnik oboljenja biljke. Smatralo se da ovo oboljenje potječe iz Sjeverne Amerike, a da je kasnije otkriveno na Novom Zelandu 1920. godine. U Evropu je unesena pedesetih godina 20. vijeka. Bakteriozna plamenjača je zabilježena 1957. godine u Engleskoj, te je od tada otkrivena i u drugim državama Evrope, odnosno u većini krajeva u kojima se uzgajaju osjetljivi domaćini, osim u Portugalu. *E. amylovora* je trenutno prisutna u 43 zemlje, ali nije zabilježena u Južnoj Americi i u većini afričkih i azijskih zemalja (s izuzetkom većine zemalja koje okružuju Sredozemno more). U Australiji je zabilježena samo jednom. Epidemije, iako sporadične, često imaju razoran utjecaj na biljku domaćina u zavisnosti od pojave povoljnih klimatskih uslova, količine početnog inokuluma ovog patogena i osjetljivosti vrsta domaćina. Na svakom mjestu na kojem je prisutna bakteriozna plamenjača patogen može pričiniti značajne štete ili imati sekundarno značenje zavisno od vremenskih uslova u pojedinim godinama i vrstama koje rastu u navedenom području. Općenito se smatra da bakteriozna plamenjača, izuzimajući određene godine i kultivisane sorte voća, neće nanijeti veliku štetu u Sjevernoj Evropi (Velika Britanija, Švedska, Norveška i Danska). Za razliku od Sjeverne Evrope, ovaj patogen u Južnoj i Srednjoj Evropi predstavlja ozbiljnu prijetnju za osjetljive kultivisane sorte kruške i za određen broj nedavno kreiranih sorti jabuke i određenih vrsta ukrasnog bilja. Bakteriozna plamenjača se može smatrati bolešću koja obično ima manji direktan utjecaj na izvjestan broj kultivisanih sorti jabuke, kao što je zlatni delišes i ukrasno bilje u većini krajeva. Međutim, rizik od pojave neuobičajenih klimatskih uslova koji aktiviraju bolest je stalno prisutan. Ovo, naprimjer, najbolje oslikavaju neočekivane infekcije jabuke u Velikoj Britaniji 1980. i 1982. godine, krušaka i jabuka u Akvitaniji i Anjou i Parizu u Francuskoj 1978. i 1984. godine i jabuke i kruške u Švicarskoj 1995. godine. Osim toga, bakteriozna plamenjača je u većini zemalja karantinski štetni organizam i stoga njegovo unošenje, koje čak ima veoma ograničenu važnost na terenu, može imati značajan ekonomski utjecaju zemlji u koju je prvi put unesen zbog mogućih ograničenja u međunarodnom prometu biljem.

2. BILJE DOMAĆINI

Glavni domaćini su iz potporodice *Maloideae* familije *Rosaceae*. Većina prirodnih domaćina su iz potporodice *Maloideae* (bivše *Pomoideae*), a nekoliko pripada potporodicama *Rosoideae* i *Amygdaloideae*. Najvažniji domaćini, kako s ekonomskog, tako i s epidemiološkog stanovišta, su iz roda *Amelanchier* (kozija jabučica), *Chaenomeles* (ukrasna dunja), *Cotoneaster* (dunjarica), *Crataegus* (glog/ bijeli glog), *Cydonia* (dunja), *Eriobotrya* (japanska mušmula), *Malus* (jabuka), *Mespilus* (mušmula), *Photinia*, *Pyracantha* (vatreni trn), *Pyrus* (kruška) i *Sorbus* (planinski jasen). Smatra se da su sve vrste iz potporodice *Maloideae* domaćini, ali *Sorbus intermedia* (švedska oskoruša) ne pokazuje simptome.

Sojevi bakterije *E. amylovore* izolirani na jednom domaćinu patogeni su na većini drugih domaćina. To je bio slučaj i sa sojevima izolovanih iz prirodnih infekcija na *Prunus salicina* (kineska, japanska šljiva) u Sjedinjenim Američkim Državama i na *Prunus domestica* i *Rosa rugosa* (japanska, krompirova ruža) u južnoj Njemačkoj. Sojevi na *Rubus* su specifični u pogledu domaćina; oni su patogeni na kupini, ali ne i na jabuci i krušci. Također, nekoliko sojeva *Maloideae* ispoljava različitu virulenciju na jabuci. Na primjer, soj Ea273 nije bio patogen kod istog opsega kultivisanih sorti jabuka i podloga kao što je to bio uobičajeni soj E4001A.

U okviru svake grupe osjetljivih biljaka domaćina mogu se pronaći vrste ili kultivisane sorte s visokim nivoom otpornosti. Takve biljke mogu pokazivati nikakve ili ograničene simptome u prirodnim uslovima ili čak nakon umjetne inokulacije.

Divlja kruška (*P. amygdaliformis*, *P. syriaca*) u južnoj Evropi i sredozemnom području, *Crataegus* (*C. oxyacantha*, *C. monogyna*) u sjevernoj i srednjoj Evropi i ukrasne biljke (*Pyracantha*, *Cotoneaster*, *Sorbus*) u cijeloj Evropi su važni izvori inokuluma za zasade jabuke i kruške.

3. SIMPTOMI BOLESTI

3.1. Tipični simptomi

Simptomi bakteriozne plamenjače mogu biti prisutni na svim nadzemnim dijelovima domaćina. Primarna infekcija se obično pojavi u proljeće preko rana na mladim izdancima i cvjetovima. Simptomi variraju od domaćina do domaćina, ali obično uključuju:

- uvenuće i uginuće cvjetnih skupina i to su obično prvi simptomi;
- nakon toga slijedi uvenuće i uginuće mladih izdanaka. Listovi mogu pokazivati nekrotične mrlje, koje se šire od ruba lista ili lisnih drški i centralnog nerva na listu. Uginuli listovi i cvjetovi se suše, poprimaju tamnosmeđu boju i obično ostaju pričvršćeni za biljku;
- mogu se formirati udubljene rak-rane i ako su uslovi povoljni, rak se vrlo brzo može proširiti duž grane (oko 5 cm dnevno). Tkivo ispod kore koja je prekrivena rak-ranama je često crvenkastosmeđe boje;



Simptomi bakteriozne plamenjače ispoljeni na mladima jabuke

- inficirano voće, odnosno plodovi poprimaju smeđu ili crnu boju; smežuravaju se, ali ostaju pričvršćeni za biljku;

- u većini slučajeva vrh izdanka se savija kako bi poprimio karakteristični oblik „pastirskog štapa“, koji je povezan s infekcijom patogena.

Rak se može proširiti na deblo i obuhvatiti ga u vidu prstena (tzv. prstenovanje) i na taj način biljka se suši i izumire. S vanjske strane rak-rane obično izgledaju utonulo i okružene su nepravilnim pukotinama na kori. Kada se skine kora, mogu se otkriti crvenkastosmeđe mrlje osnovnog tkiva, koje često prati dobro primjetna vodeća ivica zamrlijanog područja.



Simptomi na listovima



Vrh izdanka se savija i ima oblik drške kišobrana ili „pastirskog štapa“



Oboljeli listovi se suše i ostaju na grani

Inficirani izdanci od vrha poprimaju tamnosmeđu do crnu boju. Izdanci se često savijaju pri vrhu kako bi formirali takozvani oblik pastirskog štapa. Izdanci napadnuti iz svoje baze pokazuju nekrozu baznih listova i stabljike. Listove i plodove voća patogen napada preko lisnih drški i stapki. Također se mogu inficirati preko rana, što za posljedicu ima pojava mrlja, koju prati propadanje listova i plodova. Za vrijeme toplog, vlažnog vremena, inficirani listovi, a posebno plodovi često ispuštaju mliječnu, ljepljivu tečnost ili iscjedak (sluz), koji sadrži bakterije.



***Erwinia amylovora* – promjena boje listova**

Bakterije sa inficiranih cvjetova i izdanaka mogu progresivno napasti veće grane, deblo, pa čak i podlogu. Inficirana kora drveta na granama, skeletnim granama, deblu i podlozi postaje tamnija od normalne. Kada se oguli vanjska kora, unutrašnja tkiva su natopljena vodom, često s crvenkastim prugama u fazi kada su tek napadnuta. Vremenom tkiva

poprimaju tamnosmeđu do crnu boju. Kada dođe do usporavanja napredovanja bolesti, lezije se udubljuju, a ponekad i ispucaju na rubovima, formirajući rak.

Početak ljeta kod stabala s paležom podloge može doći do curenja tečnosti iz krošnje ili ispod spoja kalema. Kada se skine vanjska kora, vide se tkiva natopljena vodom, koja su crvenkasta i nekrotična. Kod voćaka sa zaraženim podlogama često se pojavljuje žućkasto do crveno lišće oko mjesec dana prije redovne jesenje promjene boje. Podloge kao što su M-26 i M-9 često pokazuju ove simptome, ali bez dokaza infekcije spoja kalema. Do infekcije M-7 i nekoliko drugih podloga dolazi nakon infekcije izdanka, koja nastaje i širi se iz korijena. Inficirani izdanci nastali iz korijena pokazuju tipične simptome bakteriozne plamenjače. Mnoga stabla inficirana bakterioznom plamenjačom podloge uginu u prvoj godini nakon infekcije. Ostatak biljaka s inficiranom podlogom često uginu u roku od dvije do tri godine.

Kod svakog biljnog tkiva koje napadne ova bakterija može se pojaviti iscjedak na njegovoj površini. Takav eksudat predstavlja konkretan simptom bakteriozne plamenjače. U zavisnosti od vremenskih uslova i doba dana iscjedak može, a i ne mora biti prisutan. Najčešće se primjećuje rano ujutro, kada je vodni potencijal domaćina pozitivan. Može se pojaviti na različite načine, u obliku kapljica, končića ili sloja na površini biljke.

Općenito govoreći, bakteriozna plamenjača miruje tokom zime. Bakterije prezime u živim tkivima na rubovima rak-rana. Bolest se ponovo aktivira u proljeće, kada je temperatura iznad 18°C. Kiša, jake rose i velika vlažnost pogoduju razmnožavanju bakterije. Inficirana tkiva luče bijeli bakterijski iscjedak



Izgled mladog zasada jabuke nakon jakog napada bakteriozne plamenjače



Pojava bakterijskog eksudata



Bakterijski eksudat na plodu jabuke



Bakterijski eksudat na plodu kruške

u toplim vlažnim uslovima i ovaj iscjedak je izvor novih infekcija. Patogen na druge biljke šire insekti, ptice, vjetar i kiša.

Mnoge sorte jabuke i kruške, a posebno one od čijih se plodova pravi sok, su veoma osjetljive jer cvjetaju kasno u vrijeme kada je prisutan relativno veliki broj bakterija. Sorte koje rano cvjetaju, a kod kojih ima malo ili nimalo sekundarnog cvijeta, infekciju mogu izbjeći dugi niz godina. Simptomi variraju od domaćina do domaćina. Na krušci se prvi simptomi obično vide od jula pa nadalje, mada se oni mogu pojaviti u maju ili junu ako je inficiran proljetni cvijet. Simptomi na jabuci su općenito slični, ali se patogen širi sporije duž grana. Glog ispoljava slične simptome kao kruška, ali stepen internog mijenjanja boje može varirati od sorte do sorte.



Nezreli plodovi se smežuraju i pojavljuje se bakterijski eksudat

3.2. Mogućnost zamjene *E. amylovore* s drugim štetnim organizmima i abiotским faktorima

Postoji mnogo drugih štetnih organizama i ostalih agenasa koji na biljkama mogu izazvati simptome koji podsjećaju na simptome tipične za bakterioznu plamenjaču. U tekstu koji slijedi opisane su najčešće takve situacije. Općenito, simptomi bakteriozne plamenjače se ponekad mogu zamijeniti sa simptomima uzrokovanim drugim bakterijama ili gljivicama, insektima ili mrazom.

3.2.1. Slični simptomi na cvjetovima

Infekcije cvijeta kruške, koje uzrokuje *Pseudomonas syringae* *pv.* *syringae*, su u početku slične onima koje uzrokuje bakteriozna plamenjača. Infekcijama uzrokovanim *Pseudomonas syringae* *pv.* *syringae* često pogoduje mraz. Svi cvjetovi i cvasti i svi kratki izboji-mladari u donjem dijelu vočke, a ponekad i na cijeloj vočki ispoljavaju simptome. Za razliku od ove bakterije, bakteriozna plamenjača u početku inficira jedan ili dva cvijeta u cvasti, a inficirani mladari su raštrkani ili okupljeni u blizini rak-rana. Infekcije izazvane *Pseudomonas syringae* *pv.* *syringae* rijetko se proširuju s inficiranih mladara na grane i primjetni su plikovi na kori mladara, dok se kod bakteriozne plamenjače infekcija širi obično duž grana i primjetne su udubljene rak-rane. Pocrnjeli nerazvijeni plodovi kruške, koji se često viđaju nakon pojave *P. syringae* *pv.* *syringae* (ili u slučajevima djelovanja mraza) obično brzo opadaju. Kada se presijeku u unutrašnjosti nerazvijenih plodova sadržaj je suh, dok su voćni nerazvijeni plodovi koje je napala *E. amylovora* u unutrašnjosti vlažni s prisutnim iscjetkom u kojem se razmnožavaju bakterije. *Monilia laxa* uzrokuje propadanje cvijeta i mladara, ali se bolest rijetko širi duž grane.

Insekti koji mogu uzrokovati pojavu nekrotičnih cvjetova i/ili crnjenje nerazvijenih plodova su: jabukin cvjetojed (*Anthonomus pomorum*), kruškin cvjetar (*Anthonomus piri*) i mušica šiškarića kruškinih plodova (*Contarina pyrivora*).

3.2.2. Slični simptomi na mladim izdancima (mladarima)

Mladi, sočni vrhovi izdanaka mogu pokazivati nekrozu uzrokovanu *P. syringae* pv. *syringae*, ali prisustvo lezija i nakon što se završi rast u tekućoj godini je rijetko. Ako se razvije rak, on je površinski i ne luči iscjedak. Određeni broj patogenih gljiva uzrokuje rak na zrelim izdancima. Kružne rak-rane mogu uzrokovati venuće i odumiranje izdanaka, pa i simptom „pastirskog štapa“, čiju pojavu obično povezujemo s bakterioznom plamenjačom. Ove gljive su: *Nectria galligena*, *N. cinnabarina*, *Diaporthe pernicioso* [*D. eres*], *Phyalophora obtusa* i *Potebnia mycesdiscolor* [*P. pyri*]. Podrobnije ispitivanje baze izdanaka omogućuje jasno razlikovanje od infekcije izdanaka bakterioznom plamenjačom, jer su gljivične lezije uredno ograničene i ne luče iscjedak. Neki insekti uzrokuju rane na mladim izdancima i na taj način mogu izazvati venjenje i odumiranje vrhova izdanaka, što se može zamijeniti sa simptomima koje uzrokuje *Erwinia amylovora*. Primjeri obuhvataju napade granotoča (*Zeuzera pyrina*), kruškine ose srčkarice (*Janus compressus*) i surlaša pupoljka (*Rynchites caeruleus*). Potrebno je pregledati voćke i druge biljne vrste, potencijalne domačine i utvrditi prisustvo ovih insekata na njima uz obaveznu provjeru da li ima bakterijskog iscjetka.

3.2.3. Slični simptomi na voćnoj podlozi

Potpuno, a ponekad iznenadno odumiranje stabla i voćke prouzrokovano bakterioznom paleži podloge može se zamijeniti s infekcijom koju uzrokuje nekoliko vrsta *Phytophthora* spp. Potrebno je pregledati biljke i utvrditi da li postoje svijetlocrvene lezije na rubu rak-rane ispod kore podloge, koje su inficirane bakterioznom plamenjačom (i/ili iscjedak na površini). Lezije nastale i uzrokovane *Phytophthora* spp. su obično crne, s jasnim razgraničenjem između zdravog i oboljelog tkiva.

4. NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA

Bakteriozna plamenjača može se proširiti na sljedeće načine:

- **prenošenjem** inficiranih biljaka domaćina koje mogu, a i ne moraju ispoljavati simptome. Na ovaj način se patogen može prenijeti na velike udaljenosti;
- **uz atmosferske visoke pljuskovite padavine** – bakterije se pojavljuju iz inficiranog materijala u obliku ljepljive sluzi i kapljica koje očvrstnu pri sušenju, ali koje se lako rastvaraju u vodi, te se pljuskom mogu prenijeti s inficiranog domaćina na susjedni sadni materijal domaćina;
- **vjetrom** – fine niti iscjetka mogu izlučivati posebno mlada tkiva, a postaju lomljive pri sušenju i prenose se vjetrom;
- **insekti** mogu patogeni organizam širiti s rak-rana koje su prezimile na rane cvjetove i između cvjetova.

Životni ciklus bakterije *E. amylovora* može se opisati na sljedeći način:

Infekcija preko cvijeta – ulazak bakterija preko prirodnih otvora u cvjetnoj čašici može se dogoditi nakon umnožavanja patogena na površini žiga tučka.

Infekcija do koje dolazi kasnije tokom sezone – ulazak bakterija preko ranica

nastalih zbog jakih vjetrova, grada i insekata može se dogoditi na mladim listovima i na vrhovima izdanaka koji rastu.

Interna invazija – ulazak *E. amylovore* u zdrave izdanke, grane i podloge može se dogoditi unutar stabla i voćke u cjelini sistematičnim kretanjem bakterija sa zaraženih mladara i izdanaka.

Formiranje raka – razvoj područja između inficiranih i neinficiranih drvenih tkiva gdje *E. amylovora* preživi sezonu mirovanja.

Za razliku od nekih bakterija, odnosno biljnih patogenih organizama, *E. amylovora* nije epifitska bakterija, te nema sposobnost umnožavanja na površini zdravih biljaka. Jedino mjesto u kojem se bakterije umnožavaju na površini biljke je na površinama žiga tučka u cvijetu. Insekti koji vrše oprašivanje, kao i drugi insekti koji posjećuju cvijet su važni za širenje bakterije kako s inficiranih tako i s neinficiranih na zdrave cvjetove. Ostali insekti imaju ulogu u širenju ovog štetnog organizma tako što posjećuju kapljice iscjetka, koje izlučuju rak-rane, a zatim posjećuju zdrave cvjetove. Slobodna voda i visoka vlažnost, zajedno s temperaturom, određuju nivo razmnožavanja bakterije u cvjetnoj čašici, te pojavljivanje i jačinu infekcije cvijeta.

Klimatski uslovi tokom proljeća i ljeta igraju ključnu ulogu u pogledu pojavljivanja i razvoja bakteriozne plamenjače. Prisustvo bakterija na žigovima tučka zdravih cvjetova (epifitične populacije) povezano je s dnevnom temperaturom. Temperatura između 18 i 30°C s kišom tokom cvjetanja pogoduje infekciji cvijeta. Česte oluje s kišama koje nosi vjetar (s dovoljno visokim temperaturama) tokom vegetacijskog perioda i rasta biljaka koji uzrokuju izduživanje izdanaka i voćki u cjelini pogoduju njihovoj infekciji, te rapidnom razvoju bolesti.

Bakterije mogu prenijeti vjetar i kiša koju nosi vjetar u i između drveća kao iscjedak, nit (polisaharidna vlakna koja mogu biti prisutna na površini inficirane biljke) i aerosoli. Sekundarni cvjetovi, koji mogu biti prisutni na nekim domaćinima krajem proljeća i ljeti se često zaraze jer su vremenski uslovi vjerovatno pogodniji u vrijeme kada su oni otvoreni. Značajne infekcije se također dešavaju ljeti na izdancima, listovima i plodovima, nakon nevremena praćenog gradom ili bilo kakve vremenske nepogode koja uzrokuje ranjavanje površine bilja, a povezana je s kišom.

Bakteriozna plamenjača na voćnoj podlozi se može razviti internim širenjem bakterije iz inficiranog kalema. Podloge M9 i M26 su visoko podložne internim napadima patogena.

Do širenja patogena može doći prenošenjem inficiranog biljnog materijala. Latentne infekcije mogu biti prisutne bez bilo kakvih vidljivih simptoma, a bolest se razvija kada se materijal posadi na terenu. Ovakvim načinom širenja bi se bakteriozna plamenjača mogla unijeti u nove regije i zemlje.

Do 1915. godine bakteriozna plamenjača se proširila širom Sjedinjenih Američkih Država. To se dogodilo 135 godina nakon što je prvi put primijećena u dolini Hudson u New Yorku. Širenja van Sjeverne Amerike bila su slučajna i rijetka. Takvo širenje na velike udaljenosti se najvjerovatnije dogodilo prijenosom inficiranog biljnog materijala i barem u jednom slučaju (Engleska pedesetih godina 20. vijeka) prijenosom sanduka koji su bili kontaminirani voćem visokog stepena inficiranosti. Lokalno širenje bolesti je pomoću eksudata (bakterijskih ćelija patogena usađenih u egzo-polisaharide), koje luče inficirana stabla voćki, a koje lako prenose ptice, insekti, vjetar i kiša. Ovo je efikasan način za širenje patogenih organizama. Značajne epidemije ove biljne bolesti (epifitocije) na području Zapadne Evrope i zemalja oko Sredozemnog mora vode porijeklo od dva prva slučaja zaraze, koja su se desila prije nešto manje od 50 godina.

5. VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

U cilju otkrivanja ove bolesti, potrebno je vršiti preglede tokom vegetacijskog perioda, kada su simptomi vidljivi. Vrijeme pregleda zavisi od vrste domaćina koji se pregleda i od geografske lokacije. Preglede je bolje vršiti u periodu od završetka cvjetanja pa do kraja ljeta, kada su simptomi ouočljiviji. Tokom zime na bilju koje miruje otkrivanje bolesti je dosta teško jer rak-rane nisu uvijek vidljive. Latentna infekcija zabilježena je kod drvenastih tkiva i smatra se značajnom u razvoju bolesti. Budući da se simptomi bakteriozne plamenjače mogu zamijeniti onima koje uzrokuju druge bolesti i da postoji mogućnost latentne infekcije, otkrivanje bolesti bi se trebalo potvrditi izolacijom patogena i potrebnim laboratorijskim ispitivanjima.

Vodom natopljeni cvjetovi, mladari ili izdanci kod kojih se luči iscjedak, nakon čega ubrzo dolazi do nekroze, su prvi simptomi bakteriozne plamenjače. Ove simptome u voćnjaku ili rasadniku mogu otkriti iskusne i stručne osobe, ali ih oni neiskusni mogu i previdjeti.

Najpogodniji period za pregled je 3–5 sedmica nakon perioda cvjetanja. Na biljkama domaćinima bi trebalo potražiti ima li nekrotičnih listova i grana, uvenulih cvjetova, savijenih vrhova izdanaka i iscjetka. Veća je vjerovatnoća da je iscjedak prisutan ujutro, kada je vlažnost zraka visoka, a vodni potencijal domaćina pozitivan. U poslijepodnevnim satima i u slučajevima kada je zrak suh, iscjedak može biti sjajan i staklast.

Rak-rane se mogu pojaviti na granama i deblu na spoju između inficiranih i zdravih tkiva kore. Pregledi bi se trebali obavljati svakih 5–7 dana tokom cijelog ljeta ili dok se ne prestanu bilježiti nove infekcije.

Pokazatelj bakteriozne plamenjače u jesen su mumificirani plodovi voća i listovi koji vise sa suhih grana. Tokom zime ostaci pomažu u lociranju rak-rana, jer se tamnija kora povezana sa starom infekcijom može stopiti s dormantnom zdravom korom, a posebno na starijim stablima i voćkama.

Prilikom prikupljanja uzoraka i tokom procesa ekstrakcije trebale bi se preduzeti mjere predostrožnosti kao što je korištenje rukavica za jednokratnu upotrebu, dezinfekcija alata, kako bi se izbjegle unakrsne kontaminacije. Više pojedinosti o različitim vrstama proizvodnje bilja, pregledima i uzimanju uzoraka date su u tekstu koji slijedi.

5.1. Matične biljke

Vizuelni pregled osjetljivih matičnih biljaka (odnosno biljaka koje služe kao izvor podloge, pupoljaka i izdanaka) vršit će se nekoliko puta godišnje, počevši u kasno proljeće. Optimalno, trebalo bi vršiti jedan pregled svakog mjeseca tokom vegetacijskog perioda. Tokom pregleda svaka biljka-voćka će se pažljivo vizuelno pregledati. Ako se primijete simptomi bakteriozne plamenjače, dovoljno je uzeti nekoliko dijelova biljke koja pokazuje simptome (cvjetove, izdanke ili grančice, listove, nerazvijeni plodovi voća ili potkorna tkiva koja su promijenila boju), a posebno one dijelove s nekrozom i eksudatima. U slučaju da nema nikakvih simptoma, preporučuje se da se tokom barem jednog vizuelnog pregleda uzmu uzorci i izvrši laboratorijska analiza. Iz cijelog zasada bi trebalo uzeti jedan uzorak, koji se sastoji od 100 mladih izdanaka, otprilike 10 cm dužine, iz dostupnih domaćina

podložnijih *E. amylovori*. Obavezno koristiti dezinfikovane makaze ili makaze za rezidbu. Ako zasad/ plantaža ima preko 100 stabala, trebalo bi uzeti jedan mladi izdanak sa svih 100 nasumično odabranih stabala. Ako taj broj ne prelazi 100, s jedne biljke bi trebalo uzeti više od jednog izdanka tako da ukupan broj uzetih izdanaka iznosi 100.

5.2. Voćne podloge

Trebalo bi izvršiti barem jedan pregled mjesečno tokom vegetacijskog perioda, počevši u kasno proljeće. Sve biljke bi se trebale pregledati. U slučaju da postoji bilo kakva sumnja, uzeće se uzorci sa sumnjivih biljaka. Po mogućnosti se uzima cijeli nadzemni dio. U slučaju da nisu primijećeni simptomi, uz vizuelni pregled izvršit će se najmanje jedno uzimanje uzoraka s asimptomatičnih biljaka, te uraditi njihova laboratorijska analiza. U tu svrhu uzima se zbirni uzorak koji se sastoji od 100 izdanaka, otprilike 10 cm dužine, uzetih s nasumično odabranih biljaka.

5.3. Rasadnici

Vizuelni pregledi rasadnika u kojima se gaji sadni materijal osjetljivih biljaka vrši se nekoliko puta godišnje, počevši u kasno proljeće. Optimalno, trebalo bi da se vrši barem jedan pregled svakog mjeseca tokom vegetacijskog perioda. Tokom pregleda cjelokupni rasadnici će se pažljivo vizuelno pregledati. Ukoliko se primijete simptomi bakterijske plamenjače, dovoljno je uzeti nekoliko dijelova biljke koja pokazuje simptome, a posebno one dijelove kod kojih je prisutna nekroza i eksudati. U slučaju da nema nikakvih simptoma, preporučuje se da se tokom barem jednog vizuelnog pregleda uzmu uzorci i izvrši laboratorijsko ispitivanje. Iz cijelog rasadnika treba uzeti jedan uzorak koji se sastoji od 100 mladih izdanaka, otprilike 10 cm dužine, od dostupnih domaćina podložnijih *E. amylovori*. Paziti da se koriste dezinfikovane makaze ili makaze za rezidbu.

5.4. Komercijalni voćnjaci

Pregledi komercijalnih voćnjaka mogu se vršiti tokom cijelog vegetacijskog perioda, počevši u kasno proljeće. Preporučuje se barem jedan pregled. Pregledat će se oko 10% stabala/ biljki. Uzet će se uzorci sa stabala na kojim su primjetni simptomi bolesti. Voćnjaci koji su smješteni u krugu od 500 metara od mjesta na kojem se odvija proizvodnja osjetljivih vrsta materijala za razmnožavanje će se ispitati u potpunosti (100%). Nije potrebno uzimati uzorke ako nisu primijećeni simptomi.

5.5. Bašte i mali voćnjaci

Pregled bašti ili malih voćnjaka kod domaćinstava može se vršiti tokom cijelog vegetacijskog perioda, počevši u kasno proljeće (juni). Provjera svih takvih zasada, smještenih u krugu od 500 m od mjesta gdje se odvija proizvodnja materijala za razmnožavanje osjetljivih vrsta je obavezna. Uzorci će se uzeti sa stabala na kojim su prisutni simptomi bolesti. Nije potrebno uzimati uzorke ako nisu primijećeni simptomi.

5.6. Divlje biljke i prirodna staništa

Pregledi će se proširiti i na osjetljive divlje biljke koje pripadaju rodu i vrstama podložnim *E. amylovori*, a koje rastu na lokacijama kao što su živice i prirodna staništa, a posebno na one smještene u neposrednoj blizini ili blizu mjesta gdje su prisutne matične biljke, podloge ili rasadnici (zona od 500 metara oko takvih mjesta je najkritičnija). Pravila pregleda i uzimanja uzoraka u ovom slučaju su ista kao u slučaju bašti i malih voćnjaka.

6. PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA

Uzeti uzorci se pakuju u čvrstu plastičnu vrećicu i propisno označavaju kako bi se utvrdio njihov identitet i mogućnost pronalaženja. Prilikom prikupljanja uzoraka, za vrijeme postupanja, kao i tokom procesa ekstrakcije trebale bi se preduzeti mjere predostrožnosti kako bi se izbjegla unakrsna kontaminacija. Uzorke bi trebalo obraditi što je prije moguće nakon prikupljanja, a prije analize bi ih trebalo uskladištiti na temperaturu od 4–8 °C. Nakon obrade uzorci se mogu čuvati na hladnom mjestu do dvije sedmice u slučaju da se zahtijeva dalje ispitivanje. Ako se isporučuju poštom, izbjegava se otprema takvih materijala krajem sedmice (četvrtkom ili petkom) jer poštanski transport takvog uzorka preko vikenda za posljedicu može imati njegovo kvarenje ili sušenje.

7. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

U današnje vrijeme postoji mnogo laboratorijskih tehnika i metoda koje se mogu koristiti za otkrivanje i identifikaciju bakterija. Dijagnostički protokoli za *E. amylovora* mogu se razlikovati od laboratorije do laboratorije u pogledu metoda, ekspertize i objekata koji su na raspolaganju. U Evropi je izvršena standardizacija metoda otkrivanja i dijagnoze i sačinjeno je laboratorijsko uputstvo kako bi se pomoglo u identifikaciji biljnih patogenih bakterija, među kojima je i *E. amylovora*. Bakterije se lako izdvajaju iz svježih lezija standardnim medijima kao što je Luria-Bertani (LB) agar, King medij B (KB) i nutrijent agar + 5% saharoze (NAS). Cikloheksamid (50-100 µg/ml) se često dodaje ovim medijima kako bi se smanjila gljivična kontaminacija. Poluselektivni mediji se koriste za izdvajanje iz uzoraka u kojima se osim *E. amylovore* potencijalno smjestila i značajna populacija drugih bakterija. Ti mediji su: CG medijum, CCT medijum, MS medijum i MM2Cu medijum. Neki od tih medija su selektivni za *E. amylovora*; kod drugih *E. amylovora* formira kolonije koje imaju karakterističnu boju ili tip. Nakon što se dobije čista kultura, moguće je utvrditi o kojoj populaciji *E. amylovore* je riječ kombinovanjem sljedećih tehnika: biohemijski testovi, pEA29-PCR ispitivanja, ostale molekularne metode, ispitivanja DNK-hibridizacije, neke od tehnika zasnovane na DNK, a koje se koriste za genomske otiske (rep-PCR, PCR ribotipiranje, PFGE, serološki testovi, testovi patogenosti, analize masnim kiselinama i druge).

U laboratoriji se simptomatični uzorci mogu obraditi individualno ili u malim grupama. Prilikom rada s uzorcima i tokom procesa ekstrakcije trebale bi se preduzeti mjere predostrožnosti kako bi se izbjegla unakrsna kontaminacija. Nakon prikupljanja uzorci bi se trebali obraditi što je prije moguće, a do tada konzervirati na temperature od 4–8 °C. Nakon obrade uzorci se mogu pohraniti na hladnom radi daljih provjera, ali ne duže od nekoliko sedmica.

8. MJERE ZAŠTITE

Općenito govoreći nema efikasnih direktnih, hemijskih mjera dostupnih za suzbijanje bakteriozne plamenjače. Svi rasadnici koji prodaju biljke domačine će se prvo registrovati i dobiti odobrenje za izdavanje potvrda/ certifikata/ deklaracija za prodane biljke domačine. Ako se infekcija pronađe u rasadniku ili njegovoj neposrednoj blizini, sve inficirane biljke moraju se odstraniti. Osim toga, prostorije registrovane za izdavanje potvrda/ certifikata/ deklaracija za bilje koje odlazi u zaštićena područja Evropske unije moraju ispunjavati dodatne zahtjeve, uključujući slobodne tampon-zone. Ako se potvrdi infekcija u ili blizu registrovanih prostorija, organi vlasti odgovorni za zdravlje bilja imaju zakonska ovlaštenja da njihovo širenje spriječe uklanjanjem ugroženih biljaka.

Sve inficirane biljke moraju se uništiti pod nadzorom službi za zdravlje bilja. U pojedinim slučajevima je potrebno uništiti i druge susjedne biljke kako bi se kontrolisalo i spriječilo širenje bolesti. Potom se utvrđuje izvor inficiranog materijala, tako da se mogu uništiti druge inficirane biljke.

Glavne opcije za upravljanje bakterioznom plamenjačom navedene su u tekstu koji slijedi i one uključuju kako preventivne tako i mjere iskorjenjivanja.

8.1. Fitosanitarni propisi i fitosanitarne mjere

Bakteriozna plamenjača je karantinska bolest u većini zemalja, pa su stoga pošiljke bilja ili dijelova bilja koje mogu biti domaćini bakteriozne plamenjače strogo regulisane uredbom. Ta uredba nalaže da se šalju samo zdrave biljke proizvedene u zdravim okruženjima. Na nivou Evropske unije rodovi obuhvaćeni Uredbom o karantinu, koja se odnosi na bakterioznu plamenjaču su: *Chaenomeles*, *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Cydonia*, *Eriobotrya*, *Malus*, *Mespilus*, *Pyracantha*, *Pyrus*, *Sorbus* (osim *S. intermedia*) i *Stranvaesia*.

U zemljama u kojima još uvijek nije otkrivena bakteriozna plamenjača, ali koje su izložene stalnoj prijetnji usljed obližnjih žarišta može se organizovati mreža za preventivni monitoring.

U EU se periodično objavljuje spisak (mapa) takozvanih „zaštićenih područja“, u kojima se smatra da bakteriozna plamenjača ne postoji. U tim zaštićenim područjima uvoz biljaka domaćina koje mogu imati bakterioznu plamenjaču iz kontaminirane zemlje je zabranjen (osim iz „zaštićenih područja“). U nezaštićenim područjima u kojima postoji vjerovatnoća da je bakteriozna plamenjača endemska nalaze se određena zaštićena područja (minimalne površine 50 km²), u kojima posebni pregledi i zvanična kontrola garantuju da na biljkama uzgojenim u rasadnicima nema bakteriozne plamenjače. S ovih

područja je dozvoljeno premještati biljke. Predložen je toplotni tretman biljnog materijala za razmnožavanje.

U nekim zemljama proizvodnja i komercijalizacija najosjetljivijih sorti se može zabraniti ili smanjiti, a posebno u odnosu na određene kultivisane sorte *Cotoneaster*, *Pyrus*, *Malus* i *Crataegus*.

8.2. Agrotehničke mjere

Kao što je i slučaj s većinom bakterijskih oboljenja, kulturalne mjere su veoma važne za suzbijanje bakteriozne plamenjače. Ove prakse će težiti smanjenju učestalosti infekcija smanjenjem potencijalnog ulaza bakterija u biljku. U Holandiji se preporučuje suzbijanje cvjetanja striktnim šišanjem *Crataegus* živice. U Francuskoj je predložena mjera onemogućavanje sekundarnog cvjetanja u voćnjacima kruške.

Komplementarna strategija za smanjenje jačine infekcije je praćenje praksi koje se odnose na rast, a koje za cilj imaju smanjenje snage stabla i trajanja rasta izdanka (vidi odjeljak „hemijska mjere zaštite“/ proheksadion kalcij). S tim u vezi, ograničavanje dotoka vode i azota biljkama je najčešći savjet, uz redovnu rezidbu voćki.

Suzbijanje insekata se više ne smatra ključnim faktorom u ograničavanju kretanja bakterije s biljke na biljku. Ipak, trebala bi se povesti pažnja u vezi s transportom košnica kako bi se izbjeglo kretanje s inficiranog na zdrav voćnjak. Isto tako, trebala bi se izbjeći opšta irigacija u voćnjaku u kojem je evidentirana pojava uzročnika bakteriozne plamenjače.

Agrotehničke mjere i metode obuhvataju sanaciju voćki koja se vrši pravilnom rezidbom biljaka i dijelova biljaka na kojim su prisutni simptomi i to odmah nakon što se otkriju u voćnjaku ili na plantaži. Dezinfekcija alata, makaza za rezidbu hlorom ili alkoholom je vjerovatno korisna u vegetacijskom periodu, ali ne i zimi, kada je drveće u stanju mirovanja.

Rano otkrivanje simptoma je važno za uspjeh programa sanacije. Pregledi u voćnjacima i rasadnicima preporučuju se u proljeće, prije cvjetanja (aktivne rak-rane), nakon cvjetanja (infekcija novih cvjetova), u ljeto nakon nevremena praćenog gradom i pri kraju perioda izduživanja izdanka (infekcije izdanaka i rak-rane). Ove preglede mora pratiti uklanjanje (sječa) svih vidljivih zaraženih biljaka ili dijelova biljki. U većini slučajeva sistemi za upozoravanje će ukazati na najpogodnije periode kada su takvi pregledi korisni.

Rizik od katastrofalnih gubitaka stabala, nastalih zbog paleža podloge u veoma gustim voćnjacima jabuke može se izbjeći samo selekcijom stabala koja se razmnožavaju na otpornim podlogama za nove voćnjake. Nekoliko obećavajućih veoma otpornih podloga je pušteno ili će uskoro biti pušteno iz programa uzgajanja podloge. Neke od njih su patuljaste podloge pogodne za sisteme voćnjaka velike gustine. Izbjegavanje podloga M-9 i M-26 u korist otpornih podloga je najbolja zaštita od bakteriozne plamenjače na podlozi. Ovaj patogen nije predstavljao problem na stablima koja su proizvedena na Budagovsky (B.) 9 i na nekim japanskim podlogama.

Osjetljive kultivisane sorte (i podloge) bi se trebale izbjegavati prilikom zasnivanja novih voćnjaka i sadnje ukrasnog bilja u područjima u kojima postoje značajni problemi s bakterioznom plamenjačom. Nažalost, ovaj savjet se rijetko primjenjuje u praksi. Naprimjer, mnoge od komercijalno najuspješnijih kultivisanih sorti jabuke uvedenih posljednjih godina (Braeburn, Fuji, Gala, Ginger Gold, Jonagold i Pink Lady) su značajno osjetljivije na bakterioznu plamenjaču nego mnoge starije sorte. Sadnjom ovih sorti, posebno kada su

proizvedene na veoma osjetljivim podlogama, imalo je za posljedicu ogromne finansijske gubitke zbog bakteriozne plamenjače, koje su pretrpjeli individualni uzgajivači jabuke i kompletna industrija jabuke.

8.3. Hemijske mjere

Ukupan broj hemijskih sredstava koji se koriste za suzbijanje bakteriozne plamenjače je veoma ograničen. Ova sredstva se svrstavaju u četiri kategorije: spojevi koji sadrže bakar, antibiotici, regulatori rasta i mamci.

Bordoška mješavina i fiksni bakar bili su prvi spojevi korišćeni za suzbijanje ove bolesti. Broj i vrijeme aplikacije zavisi od osjetljivosti svake kultivisane sorte na povrede od bakra i ekonomski značaj povreda. Proljetni tretmani na zelenom vrhu mogu smanjiti opstanak *E. amylovore* oko rubova rak-rana, a značaj ovakvih postupaka treba utvrditi. Još češće se bakar nanosi tokom cvjetanja kako bi se spriječila infekcija cvijeta i ljeti kako bi se spriječila infekcija izdanka.

U svijetu se koriste antibiotici (prvenstveno streptomycin, oksitetraciklin, oksolinska kiselina i gentamicin) za sprečavanje infekcije cvijeta i izdanka i u poređenju s bakrom oni su efikasniji, a nisu toliko fitotoksični. Streptomycin se od pedesetih godina 20. vijeka koristi u Sjevernoj Americi, kao i u nekoliko drugih zemalja kao što su Novi Zeland i Izrael. Restriktivniji vladini propisi ograničili su, a ponekad i zabranili njegovo korišćenje i u drugim zemljama. Bez obzira na selekciju sojeva otpornih na streptomycin u nekoliko zemalja upotreba streptomicina se nastavlja jer su alternativne metode manje efikasne. U Izraelu se koristi oksolinska kiselina, sintetički kinolonski antibiotik kao alternativa streptomicinu. Međutim, sojevi *E. amylovore* otporni na ovaj antibiotik se redovno izoluju iz Izraela. Standardni plan upotrebe za streptomycin je dva do tri prskanja tokom cvjetanja i jedno do dva prskanja nakon cvjetanja za pet prskanja godišnje. Kod nas je upotreba antibiotika zabranjena.

Sistemi za upozoravanje, koji pružaju informacije o rizičnim periodima u skladu s klimom, inokulumom i fazama biljke, koriste se u nekoliko zemalja kako bi se utvrdila potreba za hemijskim mjerama zaštite. Vrijeme tretiranja, zasnovano na sistemu za upozoravanje, često smanjuje broj prskanja, ali ne smanjuje efikasnost. Takvi sistemi uspostavljeni su u Sjedinjenim Američkim Državama, Evropi i Izraelu. Neki su dostupni na komercijalnom tržištu. Sistemi upozoravanja su obično napravljeni za jedno klimatsko područje. Ove sisteme u drugom klimatskom području treba koristiti veoma pažljivo uzimajući u obzir uticaj različitih klimatskih parametara na epidemiologiju uzročnika bakteriozne plamenjače.

Regulator rasta biljke proheksadion kalcij (Apogee, Regalis) usporava biosintezu giberelina i longitudinalni rast izdanka. Kada se vegetativni rast uspori ovim regulatorom, onda je biljka manje osjetljiva na bakterioznu plamenjaču, međutim sama hemikalija nije toksična za *E. amylovoru*. Prilikom praktičnog proučavanja širenja bakteriozne plamenjače ljeti, utvrđeno je da se širenje patogena smanjilo nakon što je proheksadion-Ca upotrijebljen pri kraju perioda cvjetanja. Nedavno su dva regulatora rasta proheksadion-Ca i trinexapacetyl omogućila smanjenje pojave bakteriozne plamenjače na cvjetovima jabuke i kruške. Proheksadion kalcij registrovan je za rast i kontrolu bakteriozne plamenjače u Sjedinjenim Američkim Državama i nekoliko drugih zemalja. Acibenzolar-S-methyl (ASM; zaštićeni naziv Actigard, Bion) može stimulisati mehanizme prirodne odbrane stabla i obezbijediti odgovarajući nivo suzbijanja bakteriozne plamenjače. Najviši nivo zaštite dobiven je kada je

prskanje ASM-om započelo u fazi razvoja roze pupoljka. Tretman se ponavljao u sedmičnim intervalima, pa se nivo zaštite povećavao kako se povećavao broj tretiranja. ASM je pokazao da stimuliše izlučivanje proteina povezanih s patogenezom (PR) kod jabuke pokazujući da je otpornost izazvana metodom sistemičnog sticanja otpornosti (SAR).

8.4. Biološke mjere

Obavljeni su mnogi eksperimenti s antagonističkim bakterijama kako bi se suzbila bakteriozna plamenjača. Urađeni su opširni praktični pokusi uglavnom sa sojevima *Pseudomonas agglomerans* i *Pseudomonas fluorescens*. Cilj brojnih studija kao što je ova bio je ocijeniti faktore koji utječu na uspostavljanje i širenje bakterijskih antagonista. U ostalim studijama je naglašena integracija bakterijskih antagonista s antibioticima. Bez obzira na ohrabrujuće rezultate, nije bilo lako postići dosljednost u suzbijanju patogena. Ovo, kao i poteškoće u registrovanju bioloških zaštitnih sredstava su vjerovatno dva najvažnija razloga zbog kojih se biološka zaštita i suzbijanje bakteriozne plamenjače trenutno ne primjenjuje u širokom obimu.

8.5. Otpornost biljke domaćina

Provedeno je nekoliko studija o osjetljivosti vrsta, sadnog materijala kultivisanih sorti i podloga na bakterioznu plamenjaču kako bi se identifikovale otporne sorte ili izvori otpornosti na ovog patogena. Ove izvore otpornosti koriste programi za razmnožavanje sadnog materijala jabuke, kruške i ukrasnog bilja u nekoliko zemalja. Pored korišćenja tradicionalnih metoda razmnožavanja za proizvodnju novih otpornih sorti, izvodljivost korišćenja metoda genetskog inženjeringa za poboljšanje otpornosti postojećih sorti ocjenjuje se i vrednuje kroz nekoliko programa za razmnožavanje.

POSEBAN NADZOR

Borova nematoda
Bursaphelenchus xylophilus
(Steiner i Buhner) Nickle et al.

1. UVOD

Borova nematoda (*Bursaphelenchus xylophilus*) je nematoda koja živi na bilju četinara. Vodi porijeklo iz Sjeverne Amerike. Prenesena je iz Amerike u Japan početkom dvadesetog vijeka preko zaraženih debala, odakle se proširila u druge azijske zemlje. Pored zemalja EU, borova nematoda se pojavila i u Kanadi, Americi, Meksiku, Japanu, Tajvanu, Kini i Sjevernoj Koreji. Prva pojava borove nematode u Evropi prijavljena je 1999., kada je u Portugalu saopšteno da je zaražena borova šuma na lokalitetu južno od Lisabona. Nakon toga se čitav kontinentalni dio Portugala smatra zaraženim borovom nematodom. Nematoda je također prisutna i na otoku Madera. Godine 2008. *B. xylophilus* je pronađena po prvi put u Španiji, u dijelu koji graniči s Portugalom. Od 2000. godine zemlje članice EU su pokrenule aktivnosti kontrole šuma na prisustvo ovog štetnog organizma, a potom i mjere njegovog iskorjenjivanja. Sadašnje zakonodavstvo EU – Komisija za implementiranje odluke 2012/535/EU s naknadnim izmjenama (2015/226/EC) zahtijeva od članica država da poduzmu dodatne mjere protiv širenja *Bursaphelenchus xylophilus* kako bi zaštitili svoje teritorije.

2. BILJE DOMAĆINI

Borova nematoda preferira vrste iz roda *Pinus*, ali se može naći i kod vrsta kao što su: smreka (*Picea* spp.), jela (*Abies* spp.), ariš (*Larix* spp.), kedar (*Cedrus* spp.), duglazija (*Pseudotsuga* spp.) i kukuta (*Tsuga* spp.). Ove vrste se smatraju biljkama domaćinima borove nematode.

Postoje razlike među vrstama bora na osjetljivost na nematodu. Vrste borova koji su posebno osjetljivi na borovu nematodu su: *Pinus thunbergii*, *P. densiflora*, *P. nigra*, *P. pinaster*, *P. sylvestris*, *P. luchuensis*, *P. radiata*, *P. lambertiana* i *P. echinata*.

Odluka Komisije 2012/535/EC uključuje kao osjetljive sljedeće vrste: *Abies*, *Cedrus*, *Larix*, *Picea*, *Pinus*, *Pseudotsuga* i *Tsuga*. Crnogorična šuma s izuzetkom rezanih drva i trupaca od *Taxus* L. i *Thuja* L. i sve kore četinara regulisane su ovom odlukom.



Drvo bora napadnuto borovom nematodom

3. SIMPTOMI BOLESTI

3.1. Tipični simptomi

Borova nematoda obično uzrokuje odumiranje cijelog zaraženog stabla u periodu od nekoliko sedmica ili mjeseci. Nematoda ubija stablo i biljku hraneći se ćelijama koje okružuju smolaste kanale. To rezultira ometanjem funkcije provodnih sudova biljke i kretanje vode u njima. Stablo ne može dovoditi vodu u gornje dijelove i zbog toga vene i umire. Četinari mogu uginuti u periodu između 30 do 90 dana nakon prvih vidljivih simptoma (ovaj period je duži za otpornije vrste).



Simptomi na stablima bora uzrokovani napadom borove nematode



Osnovni simptom napada borove nematode je uvenuće borovih iglica

Simptomi uzrokovani prisustvom borove nematode su:

- proizvodnja i izlučivanje smole četinara smanjuje se i potpuno prekida. To je prvi unutrašnji simptom koji se može detektovati;
- sušenje iglica je prouzrokovano smanjenom transpiracijom. Transpiracija se završava 20–30 dana od prodora nematode u biljku. U toku ove faze simptomi nisu vidljivi. Iglice žute i nakon određenog perioda boja iglica postaje smeđa i tamna. Tipične crvenkaste iglice se smatraju najkarakterističnijim simptomom prisustva nematode. Ove crvenkaste i smeđe iglice ne padaju s grana, nego ostaju na drvetu do sljedeće sezone;
- zaraženo stablo odumire 30–40 dana nakon pojave prvih simptoma. Borovi koji izgledaju zdravo na početku ljeta završavaju odumirući na kraju sezone (oktobar) i imaju crvenkastosmeđe iglice. Odumiranje drveta, odnosno biljke napreduje od vrha ka dole, što pravi razliku između simptoma uzrokovanim prisustvom ovog štetnog organizma i bolesti iglica;
- nematoda može također uništiti pojedine grane na drvetu. Nekada grana odumre, ali se napredovanje ovog procesa neće vidjeti do sljedeće sezone.

3.2. Mogućnost zamjene *Bursaphelenchus xylophilus* drugim štetnim organizmima i abiotičkim faktorima

Simptomi zaraženosti borovom nematodom su nespecifični i mogu biti prouzrokovani fizičkim faktorima ili drugim štetnim organizmima. Trenutno nema metode kojom bi se mogli vizuelno razlikovati stabla, odnosno biljke koje odumiru zbog prisustva i utjecaja borove nematode i onih koji odumiru zbog drugih razloga. U slučaju bilo kakve sumnje, moraju se uzeti uzorci za laboratorijsko testiranje da bi se potvrdila ili isključila mogućnost prisustva borove nematode.

Postoji 55 opisanih vrsta nematoda iz roda *Bursaphelenchus*. Oko 75% njih povezano je s četinarskim vrstama. Osim *B. xylophilus* i *B. mucronatus*, a za ostale vrste iz roda *Bursaphelenchus* malo se zna o njihovoj patogenosti.

4. NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA

Borova nematoda može da se širi na novo područje (širenje na veće udaljenosti) putem zaraženog bilja i netretiranim proizvodima od drveta koji su proizvedeni od drveta koje je zaraženo borovim nematodom i to:

- bilje za sadnju (osim sjemena) bilja domaćina (uključujući bonsai biljke),
- odsječene grane (uključujući božićno drvo) bilja domaćina,
- drvo bilja domaćina (uključujući bilo koji proizvod od drveta napravljen od sirovog netretiranog drveta četinara),
- komadići drveta i drveni otpad bilja domaćina,
- drvena ambalaža napravljena od četinara (implementacija ISPM broj 15 smanjuje ovaj rizik),
- izolirana kora bilja domaćina.

Zaraženo drvo je najvjerojatniji način prenošenja *B. xylophilus* u međunarodnom transportu. Ulazak nematode s drvima koja se uvoze ne predstavlja samo po sebi prijetnju za šume. Za nematodu je neophodno da dođe u kontakt s vektorom domaćinom. Ovo se jedino može dogoditi ako nematoda prvo napadne drvo koje sadrži larve potencijalnog vektora. U principu, *B. xylophilus* će se prije pojaviti ako se uveze zajedno s vektorom. Takav vektor, odnosno insekt može preživjeti samo ako drvo ima više vlage od one koja je potrebna nematodi. Što je veći komad drveta, insekti su u mogućnosti preživjeti duži period i zbog toga okrugla drva/ oblovina i rezana građa imaju veći rizik od piljevina. Piljevina može imati visok sadržaj vlage, koji dozvoljava opstanak nematode, ali obrada u njihovoj pripremi smanjuje mogućnost opstanka vektora.

Teoretski, borova strizibuba (*Monochamus* spp.) može povremeno dospjeti u nova područja, na proizvode koji nisu šumski i potencijalno prenijeti borovu nematodu na osjetljive biljke domaćina.

Nema dokumentovanih dokaza o prijenosu *B. xylophilus* preko sjemena i šiškarki četinara.

Na kraćim udaljenostima (u zaraženim područjima ili njenoj blizini) raspon širenja *B. xylophilus* će zavisiti od ponašanja borove strizibube (*Monochamus* spp.) u potrazi za mjestom za polaganje jaja i hrane. Borova strizibuba može letjeti oko 100 m, mada može ponekad stići i do 3 km ili više. Mogućnost letenja i njene aktivnosti zavise od temperature i blizine atraktivnih stabala domaćina.

Većina *Monochamus* vrsta sposobna je prenijeti borovu nematodu. Insekti djeluju kao vektori borove nematode u toku polaganja jaja na drveću koje raste i trupcima ili kada jedu mlade izdanke.



Larva *Monochamus* spp.



Lutka *Monochamus* spp.

Odrasle strizibube za polaganje jaja privlače nedavno uginulo drveće ili drveće koje odumire. Polaganje jaja tvrdokrilaca se događa samo u biljkama koje nemaju izlučivanje smole (ulje smole koju proizvodi zdravo drvo okruži jaja i larve i onda ih ubije). Drveće s korom je neophodno za polaganje jaja. Nematoda se prenosi u kanalima respiratornog sistema insekata. Kada se insekti hrane granama zdravog drveta, nematoda se pojavljuje i ulazi u drvo kroz rane koju je napravio insekt. Nematoda prodire u drveće, gdje se reprodukuje i na kraju ubija drvo (borova nematoda prouzrokuje sušenje i uginuće svih vrsta borova).



Imago *Monochamus* spp.

Insekti *Monochamus* spp. mogu prenijeti *B. xylophilus* na dva različita načina:

- **primarnim širenjem:** larva borove nematode prodire u zdravo drvo kroz rane koju prave *Monochamus* vrste da bi se hranile mladim granama. Uvenuće bora koje rezultira odumiranjem drveta, događa se samo u slučaju primarnog širenja, kada su povoljni uslovi u okruženju (visoke temperature i malo padavina);
- **sekundarnim širenjem:** ovaj način širenja i prenošenja omogućava zadržavanje populacije borove nematode. Događa se kada borova strizibube (*Monochamus* spp.) položi jaja na mrtve grane, na nedavno osušeno drvo ili trupac od tek posječenog drveta. Nematoda se hrani gljivama – plavo obojavanje drveta (*Ceratocystis* spp.), koje koloniziraju drvo nakon čega ga slabe ili uzrokuju njegovo uginuće. Nematodu

privlače lutke *Monochamus* spp., u koje ulaze prije izlaska odraslog insekta iz lutkine čahure. Pojavljivanje odraslih strizibuba iz roda *Monochamus* koje se počinju hraniti mladim izdancima ili polagati jaja omogućava širenje nematode u nova, zdrava stabla.

5. VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Cilj opšte kontrole je potvrda da zemlja nema borovu nematodu (odsustvo štetnog organizma) i rano otkrivanje borove nematode. Rano otkrivanje je neophodno zbog mogućeg iskorjenjivanja nematode.

Najprikladnije je obaviti vizuelnu kontrolu i uzimanje uzoraka na početku vegetacije četinarara. Uzimanje uzoraka za otkrivanje borove nematode može se obavljati tokom cijele godine. Međutim, broj nematoda u drvetu u toku zime je mali i prije analize potrebno je obaviti produženu inkubaciju uzetih uzoraka u laboratorijama.

Kriteriji za kontrolu su bazirani na biološkim karakteristikama i vektora i borove nematode. Ako nema ranijih evidencija o *B. xylophilus* u jednom području, kontrola i uzimanje uzoraka trebaju se fokusirati na drveće blizu mjesta gdje postoji vjerovatnoća od napada *Monochamus* spp. i mogućeg prisustva borove nematode. **U svim situacijama fokus treba biti na uzimanju uzoraka s drveća lošeg zdravstvenog stanja, pogotovo onih koji odumiru ili biljaka domaćina koje su nedavno uvenule i na kojim su prisutni insekti iz roda *Monochamus*.**

Sljedeći simptomi su tipični pokazatelji za uzimanje uzoraka na drvetu: promjena boje (žutilo) i uvenuće iglica, simptomi napada borovih strizibuba (npr. tipična larva s pljosnatom glavom *Monochamus* spp.) ispod kore ili prisustvo ovalnih larvenih hodnika ili okrugli izlazni otvori, koje stvaraju odrasli insekti prilikom izlaska i nedostatak curenja smole iz rana. Najlakši način je da se pronađe uginulo drvo koje je kolonizirano od *Monochamus* spp. i da se nađu ostaci rezanog drveta (vrhovi, velike grane, debla drveta lošijeg kvaliteta) u posjećenju šumi.



Larveni hodnici uzrokovani napadom borove strizibube



Stablo s primjetnim simptomima koje uzrokuju gljive plavetnila

U slučaju mekog drveća i rezane građe uzimanje uzoraka treba se fokusirati na drveće koje je inficirano gljivama plavetnila (plavo obojavanje drveta) i ima znakove moguće infestacije od *Monochamus spp.* (larve čiji je prečnik veći od 3 mm i prisustvo okruglih izlaznih rupa, koje stvaraju odrasli insekti borove strizibube).

5.1. Šumske sastojine i druge lokacije četinara domaćina

Pregled i kontroliranje borove nematode u šumama će u praksi tražiti blisku saradnju između fitosanitarne službe i šumske uprave.

Kontrola se treba fokusirati na:

- domaćine u četinarskim šumama i ostale lokacije domaćina četinara (manje šume, pojedinačna stabla, parkovi itd.) locirane u radijusu od 5 km od graničnih prijelaza, puteva, željeznica, gdje se transportuju uvezena građa i drvena ambalaža;
- skladišta u kojima je roba pakovana u ambalažu od drveta četinara, koji su uvezeni iz rizičnih zemalja gdje je borova nematoda prisutna (većinom iz Kine),
- mjesta obrade i skladištenja četinara (npr. pilane),
- mjesta za proizvodnju, odlaganje ili prodaju drvene ambalaže.

Sva navedena mjesta trebaju se obavezno uključiti u program nadzora, ako se zna ili se sumnja da rade s drvetom koje je uvezeno iz zemalja gdje je borova nematoda prisutna.

Kod šumskih sastojina gdje je prije 1-2 godine bila sječa stabala, posebno na mjestima gdje su zabilježene infestacije borovim strizibubama, treba obratiti pažnju na sve grane koje su pale, na panjeve ili pojedinačna neiskorištena stabla ostavljena u cilju održavanja biološke raznolikosti.

Lokaliteti gdje su primijećena stabla lošeg zdravstvenog stanja (npr. žutilo), znakovi sušenja i odumiranja (prisustvo patogena, suša, zagađenje, pojava jakog vjetra, požari, itd.).

Na svim ovim lokalitetima prilikom uzimanja uzoraka treba obratiti pažnju na sumnjiva stabla (npr. napadnuta insektima iz roda *Monochamus*, stablima lošeg zdravstvenog stanja, osušena ili umiruća stabla itd.).

Nadzor šumskih sastojina može biti potpomognut korištenjem klopki da bi se odredilo područje gdje su borove strizibube aktivne i da se uhvate odrasli insekti koji se mogu uzeti kao uzorak za prisustvo *B. xylophilus*. Klopke s mirisnim mamcima za *M. galloprovincialis* mogu se naći u prodaji. Insekti iz roda *Monochamus* mogu se također uzeti za ispitivanje direktno s nedavno posjećenih panjeva četinara, koji ih privlače i predstavljaju idealna mjesta za parenje i polaganje jaja. Međutim, ispitivanje i uzimanje uzoraka insekata *Monochamus spp.* u praksi se obično ne primjenjuje.

5.2. Rasadnici četinara koji su domaćini štetnog organizma

U skladu s propisima EU, službena kontrola koja se odnosi na prisustvo insekata iz roda *Monochamus* i infestacije borovom nematodom treba se obaviti na biljkama domaćinima za sadnju. U području koja ranije nisu označena kao područja s prisustvom *B. xylophilus* ispravan vizuelni pregled rasadnika gdje se uzgajaju osjetljive biljke trebao bi se izvoditi

jednom godišnje i da se tada kontrolišu i drugi organizmi. Kontrola se može raditi tokom čitave sezone rasta sadnog materijala. U toku kontrole sve biljke domaćini koje se nalaze u rasadnicima će biti detaljno pregledane. U toku pregleda treba obratiti posebnu pažnju na veće biljke, koje imaju veću šansu da budu zaražene (zbog toga što ih preferiraju insekti *Monochamus* spp.). Inspektor mora pregledati sve redove bilja domaćina kako bi imao mogućnost da svaku biljku dobro vidi i detaljno pregleda. U slučaju pojave bilo kakvih sumnjivih simptoma pri detaljnom vizuelnom pregledu tih biljaka trebali bi se uzeti uzorci za laboratorijsko testiranje. **Vizuelna kontrola je dovoljna za formiranje opšteg mišljenja o fitosanitarnom stanju biljaka u rasadniku. Ako nema sumnjivih simptoma ili znakova prisustva *Monochamus* spp., nije potrebno uzimati uzorke za laboratorijske analize.**

5.3. Uvezeno drvo četinarara i drvena ambalaža

Sva roba napravljena od drveta četinarara koja dolazi iz rizičnih zemalja, gdje je poznato prisustvo borove nematode, obavezno se mora vizuelno pregledati i kontrolisati. U slučaju drvene ambalaže koja prati robu (ne samo bilje i biljni proizvodi) bilo bi prilično teško pregledati svu tu robu. U tom slučaju fokus treba biti na kontroli drvene ambalaže koja dolazi iz rizičnih zemalja (zemlje gdje je prisutna borova nematoda, posebno iz Kine). **U toku vizuelne kontrole četinarara i drvene ambalaže posebnu pažnju treba obratiti na drvo koje je inficirano gljivama plavetnila i ima moguće simptome infestacije *Monochamus* spp. (udubljenja od larvi s prečnikom većim od 3 mm i okruglim rupama nastalim izlaskom odraslih insekata).**

Drvena ambalaža i drvo koje se koristi za pakovanje i prijevoz robe trebaju se ispitati na prisustvo oznake koja je u skladu s ISPM 15. Uzimanje uzoraka za testiranje mora biti obavezno za sve meko drvo četinarara koje je inficirano gljivama plavetnila i sa znakovima moguće infestacije insektima (posebno *Monochamus* spp.). Za svu drvenu ambalažu bilo bi poželjno uzeti uzorak ako pokazuje sumnjive simptome (kao što je gore navedeno), uprkos prisustvu ili odsustvu oznake ISPM 15. U svakom slučaju, moraju se uzeti uzorci takve drvene ambalaže ako je popratna roba uvezena iz zemalja gdje je borova nematoda prisutna.

Za drvo i drvenu ambalažu bez simptoma, porijeklom iz zemalja gdje je poznato prisustvo borove nematode, uzorci se mogu uzeti u toku procesa kontrole.

5.4. Uzimanje uzoraka za laboratorijsko ispitivanje

5.4.1. Na mjestima s nedavno uginulim drvećem ili isječenim stablima (na zemlji ili koja stoje) i drvećem sa sumnjivim simptomima lošeg zdravstvenog stanja

Uzima se uzorak, i to na svakom takvom mjestu s najmanje jednog drveta, ali bi bilo najbolje s pet. Ovaj broj zavisi od broja bolesnog ili uginulog drveća koje je prisutno na određenom mjestu.

Dakle, materijal za laboratorijske analize će biti sakupljan sa:

- svog drveća, ako ima do 5 stabala na toj lokaciji;
- najmanje 20% drveća, ali ne manje od 5 stabala, ako ih je više od 5, ali manje od 100 na toj lokaciji;

- najmanje 10% drveća, ali ne manje od 20 stabala, ako ih je preko 100 na toj lokaciji.

5.4.2. Na mjestima gdje nema drveća sa znakovima prisustva i napada borove nematode

Materijal za laboratorijske analize će se uzeti s pet nasumično izabranih stabala.

5.4.3. Uzimanje uzoraka za laboratorijsku analizu

Uzorci će se uzeti i s nekoliko mjesta duž debla na visini od 1,5 metara po mogućnosti s mjesta koja uključuju aktivnosti *Monochamus* spp. (npr. izgrizotine, rupe, galerije). Uzimanje uzoraka s gornjeg dijela drveta (od krošnje i od tačke koja pokazuje sredinu drveta) preporučljivo je po međunarodnim standardima, ali u praksi se obično to radi na stablima koja su tek odsječena.

U zavisnosti od mjesta gdje se uzimaju uzorci (debla, grane) sakupljeni materijal će biti:

- drveni klinovi do 12 centimetara dubine, sa tri mjesta iz stabla;
- najbolja metoda da se procijeni prisustvo nematoda je da se režu drveni diskovi s tri mjesta duž stabla, skinuti koru, procijeniti prisustvo gljiva plavetnila (plave ili sive mrlje) ili hodnike koje su napravili insekti (veće rupe), ukloniti dio s mrljom/ insektom zaraženog dijela drvenog diska, isjeći na sitne dijelove koristeći metodu pri kojoj neće doći do zagrijavanja, uzeti najmanje po 20 g po disku (najmanje 60 g sa svakog drveta). U slučaju kada nema indikacija o prisutnosti štetnog organizma, materijal za laboratorijske analize će se sakupiti s tri slučajno odabrana mjesta s tri strane stabla;
- piljevina (strugotina) iz debla – bušiti do 4 cm dubine (koristiti ručnu bušilicu ili bušilicu na bateriju sa svrdlom promjera najmanje 17 mm) s tri različita mjesta koja se nalaze na stablu, uzeti najmanje 20 g piljevine od svakog bušenja (najmanje 60 g iz svakog drveta);
- piljevina iz grana i manjih dijelova drveta (koristiti ručnu bušilicu ili bušilicu na bateriju s promjerom od 10 mm i treba uzeti najmanje 60 g od svakog drveta);
- drvena prašina – sakupljena s grana ili stabala nakon sječenja pilom i to najmanje 20 g od svakog drveta.

Uzorak za ekstrakciju sakupljen sa svake strane/ mjesta naznačenih u ovom materijalu mora biti najmanje težak oko 150 g. Poželjno je uzeti teže uzorke s terena od propisanih (sakupljeni materijal ne može biti vagan na terenu) i koristiti manje poduzorke za procesuiranje u laboratoriji.

5.4.4. Uzorak za laboratorijsku analizu kod okrugle (oblovine) ili rezane građe, drvene ambalaže, piljevine i otpadnog drveta

Treba se prikupiti na sljedeći način:

- rezana građa u obliku trupaca, greda, drvena abalaža itd. – od 5 artikala, najmanje s 2 mjesta od svakog artikla; težina uzorka treba biti najmanje 150 g;
- piljevina uzeta s različitih mjesta u zavisnosti od vlažnosti, uzorak treba biti težak 300–500 g.

Prednost se daje drvetu koje ima simptome kao što su plavičasta boja, rupe ili larvene galerije-hodnici i otvori od nagrizanja. Pored materijala sa simptomima, može se uzeti i nekoliko uzoraka koji će se dodatno kontrolisati i ispitati.

Uzorci se mogu uzeti različitim alatima. Pomoću njih se uzima dio drveta ili strugotina. Prvenstveno se koristi električna bušilica ili ručna bušilica ili bušilica na baterije sa svrdlom (borerom) od najmanje 17 mm promjera. Brzina bi trebala biti slaba da se strugotine (opiljak) ne bi ugrijale.

Poželjno je uzeti veći broj uzoraka i koristiti manje poduzorke za procesuiranje u laboratoriji.

6. PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA

Uzeti uzorci se pakuju u plastične kese i na odgovarajući način označavaju (identifikacija mjesta, uključujući GPS-koordinate gdje je to važno), tako da su njihovi identiteti i sljedivost utvrđeni. Mjere opreza trebaju biti regulisane da bi se izbjegla unakrsna kontaminacija među uzorcima, pogotovo s različitih geografskih lokacija, (sterilizacija alata za uzimanje uzoraka sa >70% alkoholom ili sredstvom za dezinfekciju). Uzorci se trebaju čuvati na tamnom mjestu. Ako nije moguća isporuka uzorka odmah nakon njegovog uzorkovanja, uzorci mogu biti skladišteni na sobnoj temperaturi u prostoriji gdje nema velikih promjena temperature (poželjna temperatura 25-30 °C).

7. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Laboratorijsko testiranje treba se izvršiti na osnovu dijagnostičkog protokola EPPO - PM 7/4 (3) *Bursaphelenchus xylophilus*.

Procedure za otkrivanje i identifikaciju *Bursaphelenchus xylophilus* uključuje ekstrakciju iz drveta (inkubacija uzorka na temperaturi oko 25 °C tokom najmanje 14 dana) ili ekstrakcija vektora, praćenje na osnovu morfološke identifikacije i identifikacije na osnovu biološke molekularne metode.

Svaka laboratorijska analiza da bi se potvrdio pozitivan rezultat (nalaz) u skladu s gore navedenom metodologijom traje do 20 dana.

8. MJERE ZAŠTITE

U Evropskoj Uniji *Bursaphelenchus xylophilus* je naveden kao karantinski štetni organizam u Aneksu I, Dio A, Odjeljak II u Direktivi Vijeća 2000/29/EC o zaštitnim mjerama protiv unošenja štetnih organizama na bilju i biljnim proizvodima i protiv njihovog širenja unutar Unije. Borova nematoda je klasifikovana kao štetni organizam koji se javlja u EU i

važan je za čitavu EU, čija će pojava i širenje biti zabranjena na području svih članica. Direktive također propisuju uslove za uvoz četinarskog drveta i drvene ambalaže koji se uvoze iz zemalja izvan EU. Mjere kontrole, odnosno zaštite koje su usvojene od zemalja članica u slučaju pronalaska *B. xylophilus* su navedene u Odluci komisije o provedbi 2012/535/EU od 26. septembra 2012. i u izmjeni Odluke 2015/226/EC.

Zvanične mjere u cilju iskorjenjivanja *Bursaphelenchus xylophilus* se također preporučuju po EPPO standardu nacionalnog regulatornog kontrolnog sistema PM 9/1 (2) *Bursaphelenchus xylophilus* i njenih vektora – procedure za zvaničnu kontrolu.

8.1. Fitosanitarne mjere

Mjere koje se usvajaju u slučaju potvrde prisustva borove nematode na bilo kojem mjestu u okviru teritorije zemlje, na temelju propisa EU navedene su ispod.

Označavanje područja, takozvana “demarkirana područja” – označena područja koja će se sastojati od zone u kojoj je nađena borova nematoda (zaražena zona/ zaraženo područje) i područja oko zaražene zone (tampon-zona/ zaštitni pojas). Zaštitni pojas mora biti po mogućnosti širine od 20 km (može se smanjiti u posebnim slučajevima, ali ne manji od 6 km, ako se ne ugrožava iskorjenjivanje).

Limitirana kontrola vrši se u tampon-zoni/ zaštitnom pojasu da bi se odredilo širenje zaraze. U zavisnosti od rezultata limitirane kontrole, označena zona za primjenu mjera iskorjenjivanja treba biti shodno tome proširena. U slučaju novih pronalaza vezanih za zaražena stabla, limitirana kontrola treba biti proširena dalje za najmanje 6 km u prečniku gdje su pronađena zaražena stabla.

Uspostavljanje jasno obilježene zone – u slučaju sumnje da su sve biljke zaražene borovom nematomom na području prečnika od 500 metara, svako zaraženo drvo treba biti posječeno, uklonjeno i odloženo. Sječa i uništavanje ovih biljaka obavit će se s vanjske strane idući prema centru. Provode se sve potrebne mjere opreza da bi se izbjeglo širenje borove nematode i njenih vektora u toku sječe. Nakon što se posijeku sve uvenule biljke, sve biljke u lošem zdravstvenom stanju i jedan broj zdravih biljaka izabranih od NPPO koji je podložan riziku od širenja borove nematode bit će uzeti kao uzorci i testirat će se na *B. xylophilus*.

Jasno obilježena zona može se smanjiti do 100 m, ako je to opravdano npr. u slučaju neprihvatljivih društvenih ili ekoloških utjecaja. U takvim situacijama sve sumnjive biljke smještene između 100 m i 500 m od zaraženih stabala trebaju se izuzeti od sječe i testirati u toku godine i s njih uzeti uzorci. Takvi uzorci mogu se potvrditi sa 99% pouzdanosti i da je nivo prisustva borove nematode na osjetljivim biljkama ispod 0,1%. Također je potrebno od prve godine do završetka iskorjenjivanja štetnog organizma pregledati stabla svaka dva mjeseca u toku sezone leta vektora i uzeti uzorke s onih stabala gdje su primijećeni simptomi.

Jasno obilježena zona može se smanjiti na 100 m, ako je potvrđeno da vektor (*Monochamus* spp.) nije prisutan, što je zasnovano na rezultatima kontrole koje su obavljene u zadnje tri godine.

Obaranje i uništavanje stabala u demarkiranom području svih zaraženih i podložnih stabala koja su uginula ili u lošem zdravstvenom stanju ili koja se nalaze u područjima zahvaćenim požarom ili olujom. Sva ovakva stabla trebaju se posjeći ili uništiti na licu mjesta (paljenjem) ili ukloniti, a njihovo drvo i kora tretirati ili obraditi odmah, ako je bolest

identifikovana u toku sezone letenja vektora ili naknadno, ali prije sljedeće sezone letenja insekata vektora ako je bolest identifikovana van sezone letenja vektora. Sva posječena stabla (osim onih koja su prethodno testirana/ službeno pregledana i pronađeno je da su zaražena borovom nematodom) bit će testirana i uzet će se uzorak na prisustvo borove nematode (takav uzorak može potvrditi s pouzdanošću od 99% da je nivo prisustva borove nematode u tim podložnim biljkama manji od 0,1%).

Sva osjetljiva stabla koja su uginula ili su u lošem zdravstvenom stanju ili smještena u područjima koja su zahvaćena požarom ili olujom mogu biti testirana ili uzet uzorak (uzimanje uzoraka kao što je u prethodnom tekstu navedeno), a da se ne obaraju, ako je potvrđeno da vektori (*Monochamus* spp.) nisu prisutni, a što je zasnovano na rezultatima kontrole koje su obavljene u zadnje tri godine.

Pravilno tretiranje drveta sa stabala koja su identifikovana u označenom području u toku sezone leta vektora. Na panjevima od posječenih osjetljivih stabala treba se skinuti kora ili tretirati insekticidima za koje se zna da su efikasni u suzbijanju vektora ili prekriti mrežom protiv insekta koja je tretirana insekticidima odmah nakon obaranja. Takva stabla će biti pod zvaničnom supervizijom i odmah će biti odnesena u skladište ili u neko ovlašteno mjesto za obradu. Drvo s kojeg nije skinuta kora prije nego što je odsječeno bit će odmah u skladištu ili na nekom drugom ovlaštenom mjestu još jednom tretirano insekticidima za koje se zna da su efikasni u suzbijanju vektora ili prekriveno mrežom protiv insekta koja je tretirana insekticidima odmah nakon obaranja. Drveni otpad koji se stvara u toku sječe drveta može se ostaviti sa strane, ali će se usitniti u dijelove kraće i tanje od 3 cm.

Higijenski protokol treba se uspostaviti za sva transportna vozila koja prevoze šumske proizvode i mašine za obradu šumskih proizvoda, u cilju osiguranja da se borova nematoda ne može proširiti.

Godišnja kontrola u demarkiranim područjima za osjetljiva stabla i vektore (inspekcije, uzimanje uzoraka i testiranje) treba se uraditi najmanje svake 4. godine. Posebna pažnja treba se obratiti na stabla koja su uginula, u lošem zdravstvenom stanju ili zahvaćena požarom ili olujom u zaraženim područjima. Službeni pregled, odnosno kontrola također uključuju sistematsko uzimanje uzoraka s osjetljivih biljaka koje izgledaju zdravo (što je preporučeno u odluci EU, prema kojoj će intenzitet kontrole na 3.000 m oko svakog zaraženog drveta biti najmanje 4 puta veći nego na 3.000 m od vanjske granice tampon-zone). U slučaju kada godišnje kontrole pokazuju da borova nematoda nije nađena u označenom području u zadnje 4 godine, može se odlučiti da se to područje više ne markira.

U rasadnicima gdje je pronađena borova nematoda potrebno je ukloniti i spaliti sve osjetljivo bilje koje je tamo uzgojeno od samog početka njegovog procesa rasta i preduzeti sve neophodne mjere opreza da bi se izbjeglo širenje borove nematode i njenih vektora u toku ovih aktivnosti.

8.2. Uslovi za premještanje drveta i kore iz označenog područja u druga područja i iz zaraženog u tampon-zonu

Dozvoljeno je premještanje ako je drvo toplinski tretirano u ovlaštenom objektu na minimalnoj temperaturi od 56°C u trajanju od 30 minuta.

Dozvoljeno je premještanje izvan sezone leta borove strizibube, osim u slučaju drveta koje nema nikakvu koru, ili sa zaštitnim prekrivačem (najlonom), koji osigurava da se

infestacija borovom nematodom ili vektorima ne može dogoditi. Drvo koje je u obliku drvene ambalaže treba se tretirati u ovlaštenom objektu i označeno u skladu s FAO internacionalnim standardom za fitosanitarne mjere, broj 15 (Smjernice za reguliranje drvnog materijala za pakiranje u međunarodnom prometu). Premještanje je potrebno obaviti u ovlaštenom objektu koji treba biti smješten što je moguće bliže demarkiranom području ili zaraženom području zbog momentalnog tretiranja, gdje nema odgovarajućeg objekta unutar područja ili zone. S panjeva treba skinuti koru i tretirati ih insekticidima za koje se zna da su efikasni u suzbijanju vektora ili pokriti mrežom protiv insekata koja je tretirana insekticidom odmah nakon obaranja stabala. Drvo s kojih nije skinuta kora nakon premještanja odmah će u skladištu ili u ovlaštenom objektu za tretiranje biti tretirano još jednim insekticidom za koji se zna da je efikasan u suzbijanju vektora ili pokriveno mrežom protiv insekata koja je tretirana insekticidom.

Dozvoljeno je premještanje izvan sezone leta vektora ili sa zaštitnim slojem koji ne dozvoljava da se dogodi infestacija drugih biljaka, drveta ili kore. Higijenski protokol treba se uspostaviti za sva transportna vozila koja prevoze šumske proizvode i mašine za obradu šumskih proizvoda, da bi se osiguralo da se borova nematoda ne može proširiti.

Sve aktivnosti vezane za premještanje drveta i kore moraju biti predmet redovne kontrole na licu mjesta od nadležnih osoba.

Drvo i koru usitniti na dijelove koji će biti kraći i tanji od 3 cm i mogu biti prebačeni izvan označene zone (demarkiranog područja) u ovlaštenom objektu koji je smješten na najkraćoj udaljenosti od te zone ili izvan zaraženog područja u tampon-zonu (zaštitni pojas). U slučaju kada se drvo i kora koriste kao gorivo potrebno je obezbijediti da se njihovo prenošenje vrši izvan sezone leta vektora ili sa zaštitnim slojem koji osigurava da se infestacija borovim nematodom ili vektorima na druge biljke, drveće ili koru ne može dogoditi. Transport je predmet redovne kontrole, koja se radi na licu mjesta od nadležnih lica.

8.3. Uslovi za prenošenje drveta i kore sa zaraženih područja

Drvo i kora moraju se podvrgnuti jednim od sljedećih tretmana:

- trebaju se uništiti spaljivanjem na obližnjoj lokaciji u označenom prostoru napravljenom za tu svrhu,
- trebaju se koristiti kao gorivo ili na drugi način uništiti u cilju suzbijanja borovih nematoda ili vektora,
- trebaju se podvrgnuti termičkoj obradi u ovlaštenom objektu gdje minimalna temperatura mora biti 56°C i u trajanju od najmanje 30 minuta, koji će omogućiti da se drvo i kora oslobodi od prisustva žive borove nematode i živih vektora.

Prenošenje drveta i kore pod službenim nadzorom obavlja se i vrši izvan sezone leta vektora ili sa zaštitnim slojem koji osigurava da se infestacija borovim nematodom ili vektorima na druge biljke, drveće ili koru ne može dogoditi. Prenošenje se obavlja u slučaju da su drvo i kora termički obrađeni u ovlaštenom objektu na minimalnoj temperaturi od 56°C u trajanju od najmanje 30 minuta, koji će omogućiti da se drvo i kora oslobode od prisustva žive borove nematode i vektora. Ovi uslovi se neće primjenjivati za drvenu ambalažu ili osjetljivo drvo dobiveno iz biljaka koje su pojedinačno testirane i rezultiraju da nemaju borovu nematodu.

8.4. Uslovi za prenošenje biljaka za sadnju iz označenog područja u druga područja i iz inficiranog područja u tampon-zonu i unutar inficiranog područja

Moguće je prenošenje biljaka za sadnju, ako su uzgojene u rasadniku gdje nije bilo simptoma uzrokovanih napadom borove nematode ili drugih vrsta simptoma od početka posljednjeg kompletnog uzgojnog ciklusa; ako je uzgajano bilje tokom života bilo pod kompletnom fizičkom zaštitom koja je osigurala da vektori ne mogu doći do njih; ako je bilje zvanično pregledano, testirano i bez prisustva borove nematode i vektora i ako je prevezeno izvan područja leta vektora ili u zatvorenim kontejnerima ili pakovanjima koja osiguravaju odsustvo mogućnosti zaraze borovom nematodom i vektorima.

POSEBAN NADZOR

Smolasti rak bora
Gibberella circinata
(Nirenberg i O'Donnell)

1. UVOD

Gibberella circinata Nirenberg i O'Donnell (anamorf: *Fusarium circinatum*) uzročnik je smolastog raka bora. Bolest gotovo isključivo napada podvrste roda *Pinus*, ali je također zapažena na običnoj američkoj duglaziji (*Pseudotsuga menziesii*). Ova bolest predstavlja ozbiljnu prijetnju šumama bora gdje god se pojavi (posebno na uzgojnim površinama vrste *Pinus radiata*) zbog velikog mortaliteta drveća, te smanjenja rasta i kvaliteta građe. Infekcija koja zahvaća više grana može uzrokovati sušenje krošnje i na koncu dovesti do sušenja drveta. Ova gljiva može nastaniti tlo te uzrokovati polijeganje sadnica. *G. circinata* također uzrokuje truljenje korijena. *G. circinata* može zaraziti sjeme bora iznutra (te ostati neaktivna do klijanja) ili se može zadržati kao površinski kontaminator. Inokulum iz sjemena može inficirati i uništiti klijance bora.

Fusarium circinatum, anamorfni stadij *G. circinate*, je patogen koji najčešće ulazi u domaćina kroz ozljede nastale mehaničkim putem ili kroz kanale koje buše insekti. Gljiva se prenosi s drveta na drvo arealnom disperzijom konidijskih spora ili insektima vektorima. Do širenja patogena većih razmjera od zaraženog do nezaraženog područja može doći prijenosom zaraženog sjemena i zaraženih sadnica.

Smolasti rak bora je prvi put zapažen 1946. na vrstama roda *Pinus* iz Sjeverne Karoline, (SAD), a patogen je identificiran kao vrsta *Fusarium*. Organizam je dobio veliki značaj kao invazivni parazit nakon njegovog otkrića u Kaliforniji (SAD) 1986. godine. Iako je bolest već u to vrijeme bila ustanovljena, zaraza se velikom brzinom razvila tokom sljedećih deset godina. Danas je ova gljiva službeno prisutna u SAD-u, Meksiku, Haitiju, Južnoj Africi, Japanu, Čileu, te je službeno potvrđena u Evropi od 2005. Širenje organizma je zabilježeno u EU (Španija, Italija, Francuska i Portugal). U procjenama rizika koje provodi Panel o zdravlju bilja EFSA-e (European Food Safety Authority - Evropski ured za sigurnost hrane) - procjena rizika za organizam *Gibberella circinata* na teritoriju EU i identifikacija te upravljanje rizikom, 2010, navodi se da u dijelovima Evropske unije postoji rizik od zaraze biljaka domaćina smolastim rakom bora. Ulazak i širenje unutar ostalih zemalja Evropske unije smatra se vrlo vjerovatnim. Na osnovu distribucije domaćina i klimatskih uslova, organizam ima veliki potencijal za odomaćenje. Nekoliko opisanih osjetljivih *Pinus* podvrsta rastu u velikom dijelu Evrope, a također su prisutni i insekti koju mogu djelovati kao potencijalni vektori.



Pinus radiata s višestrukim sušenjem vrhova grana, rezultatima zasebnih infekcija gljivicom *G. circinata* (CABI, Tom Gordon)

Trenutno nema jedinstvenog načina kontroliranja, odnosno suzbijanja smolastog raka bora. Shodno tome, integrirani pristup bolesti, kombinacija odgovarajućih rasadnika i šumskih praksi trebalo bi smanjiti utjecaj bolesti. *G. circinata* trenutno nije na listi Direktive Vijeća 2000/29/EC. Trenutno zakonodavstvo, uključujući privremene hitne mjere (odluka Komisije

2007/433/EC), cilja na ograničavanje ulaska organizma, ali je moguće da će imati samo ograničen utjecaj na njegovo širenje. Mogućnost patogena da se prenosi u obliku zaraženog sjemena, da preživi u tlu i uspostavi latentne infekcije sadnica uveliko olakšava potencijal da se širi i uspostavlja gdje god rastu borovi podložni zarazi.

2. BILJE DOMAĆINI

Potpuna lista domaćina *G. circinate* data je u Prilogu 1. U Evropi su prisutne sljedeće vrste domaćina:

Pinus banksiana (banksov bor), *Pinus brutia*, *Pinus contorta* (usukani bor), *Pinus densiflora* (japanski crveni bor), *Pinus halepensis* (alepski bor), *Pinus nigra* (crni bor), *Pinus pinaster* (primorski bor), *Pinus pinea* (pinija), *Pinus radiata* (kalifornijski bor), *Pinus roxburghii*, *Pinus strobus* (američki borovac), *Pinus sylvestris* (obični bor), *Pinus thunbergii* (japanski crni bor), *Pinus wallichiana* (himalajski borovac), *Pinus mugo* (planinski bor), *Pinus canariensis* (kanarski bor) i *Pseudotsuga menziesii* (obična američka duglazija).

Patogen je pronađen na bilju domaćinima i u evropskim zemljama, kao što je prikazano u Tabeli 1.

Tabela 1. Pregled bilja domaćina *G. circinate*

Vrsta	Uobičajeni naziv	Zemlja	Godina
<i>Pinus halepensis</i>	Alepski bor	Italija	2007.
<i>Pinus nigra</i>	Crni bor	Španija	2007.
<i>Pinus pinaster</i>	Primorski bor	Španija Portugal	2005. 2009.
<i>Pinus pinea</i>	Pinija	Španija Italija	2007.
<i>Pinus radiata</i>	Kalifornijski bor	Španija Portugal	2005. 2009.
<i>Pinus sylvestris</i>	Obični bor	Španija	2007.
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Obična američka duglazija	Francuska	2007.

3. SIMPTOMI BOLESTI

3.1. Najčešći simptomi

Simptomi se mogu primijetiti u bilo koje doba godine. Gljiva uzrokuje rak, koji okružuje grane, zračno korijenje, pa čak i deblo podvrsta roda *Pinus* spp., često praćen primjetnim i ponekad obilnim izlučevinama smole, kao reakcijom na gljivičnu infekciju. *G. circinata* se također može prenositi putem tla, te neprimjetno zaraziti sjeme. Gljiva može uzrokovati truljenje korijena i propadanje sadnica.

3.2. Zaražene sadnice

Zaraza ili kontaminacija sjemena kao i zaraza prenesena tlom može dovesti do sušenja klijanaca prije ili nakon njihovog nicanja ili može doći do kasnog sezonskog sušenja starijih drvenastih sadnica. Ova gljiva najčešće uzrokuje trulež vrata korijena (hipokotil) u razini ili blizu razine tla, iglice postaju crvene, smeđe ili gube boju i odumiru od osnove prema kraju, a klijanac na koncu ugine. Moguća je pojava infekcije nakon nicanja, preko kotiledona. U ovom se slučaju nekroza kreće bazipetalno – s još uvijek pričvršćene sjemene lupine kroz kotiledone prema stabljici. U svakom slučaju, simptomi se ne mogu jasno razlikovati od simptoma drugih uzročnika uginuća klijanaca.



Sušenje sadnica uzrokovano gljivom *Gibberella circinata* u rasadniku (E Landeras, Laboratorio de Sanidad Vegetal, Oviedo, ES)



Ravnomjerno požutjele iglice na vrsti *Pinus radiata*, rezultat infekcije koja je okružila deblo na granici s tлом (CABI, Tom Gordon)

3.3. Infekcija korijena

Infekcije korijena su najčešće zabilježene na sadnicama u rasadnicima ili rasadnicima božićnih drvaca, ali se također mogu pojaviti na izloženim dijelovima korijenja većeg drveća u parkovima. Na rasadnicima božićnih drvaca patogen može uveliko kolonizirati sistem korijenja. Simptomi koji se pojavljuju na korijenu su smeđa diskoloracija i propadanje kore, slični simptomima koje uzrokuju drugi patogeni truljenja korijena. Nadzemni simptomi obično nisu vidljivi sve dok patogen ne dođe do korijena i okruži deblo. Rezultat je ravnomjeran gubitak boje listova, isprva poprimajući zagasitozelenu, zatim žutu i na koncu smeđu boju (suhi list). Uklanjanjem kore debela u blizini tla može se pojaviti tkivo natopljeno smolom s diskoloracijom raspona od boje meda do tamnosmeđe.



Akumulirana smola na mjestu infekcije na vrsti *Pinus radiata* (CABI, Tom Gordon)



Nekroza mladog drveta *Pinus radiata*, rezultat infekcije korijena i lezije stabljike
(Donald Owen, Sektor za šumarstvo i zaštitu od požara, Kalifornija, Bugwood.org)



Rak izdanka izazvan gljivičnim organizmom *Gibberella circinata*
(Sektor za šumarstvo, SAD, www. apsnet.org)

3.4. Simptomi zračne infekcije

Zaražene mogu biti grane i debla borovog drveta bilo koje starosne dobi. Infekcija obično započinje sušenjem manjih grana. Iglice iznad mjesta infekcije venu (gube boju, zatim poprimaju crvenu i smeđu), a smola se nakuplja na površini grane. Sušenje vrhova više grana zbog ponovljenih infekcija može dovesti do značajnog sušenja krošnje. Infekcija može također zahvatiti i ženski češer, koji odbacuje sjeme prije nego dosegne zrelost. Rak se može pojaviti na izdancima stabla pa čak i na deblu, što je praćeno karakterističnim izlučivanjem smole. Ponekad smola može prekriti deblo i niže grane čak i nekoliko metara ispod razine infekcije. Rak debla je ravan ili blago udubljen i ponekad može djelovati na velikim površinama kortikalnog i supkortikalnog tkiva debla. Uklanjanjem kore ukazuju se subkortikalne lezije sa smeđim i smolom obloženim tkivom. Kada rak okruži deblo, može doći do sušenja drveta.



Uvenuće vrha grane, rezultat lezije na vrsti *Pinus radiata*
(CABI, Tom Gordon)



Goli vrh grane i sasušene iglice, rezultat lezije na *Pinus radiati*
(CABI, Tom Gordon)



Tekuća smola na vrsti *Pinus radiata*, rezultat infekcije debla
(CABI, Tom Gordon)



Tekuća smola na vrsti *Pinus virginiana*, rezultat infekcije debla drveta
(Edward L. Barnard, Sektor za poljoprivredu i služba za korisnike, Florida, Bugwood.org)



Supkortikalna nekroza izazvana gljivičnim organizmom *Gibberella circinata* ispod raka zapaženog na deblu
(E Landeras, Laboratorio de Sanidad Vegetal, Oviedo, ES)



Utjecaj smolastog raka na zapadni bijeli bor
(Izvor: Wikipedia)

3.5. Sličnosti s ostalim vrstama

Sušenje biljke prije i nakon nicanja koje uzrokuje *G. circinata* nije lako razlikovati od sušenja sadnica uzrokovanim ostalim patogenima kao što je primjerice *Pythium*. Uginuće starijih sadnica (od 1 do 3 godine starosti) uzrokovano vrstom *G. circinata* može se zamijeniti strleži korijena uzrokovanim vrstom *Phytophthora*.

Simptomi na korijenu (smeđa diskoloracija i propadanje kore) su slični simptomima koje izazivaju ostali patogeni truljenja korijena.

Sušenje vrhova grana je donekle karakteristično po relativno brzom opadanju iglica i nakupljanju smole na spoju živog i mrtvog tkiva (mjestu infekcije). Ogoljeni vrhovi, međutim, mogli bi se zamijeniti kao simptom mnogobrojnih drugih patogena koji inficiraju grane, kao što je vrsta *Sphaeropsis sapinea* i *Peridermium harknessii* (*Endocronartium harknessii*).

Simptomi kod starijeg drveća također se mogu zamijeniti onima koje uzrokuje vrsta *Sphaeropsis sapinea*, stoga se **dijagnoza mora uspostaviti na osnovu laboratorijskog testiranja**.

4. NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA

Identificirani su sljedeći putevi prenošenja zaraze: kontaminirano sjeme i ostali materijal za razmnožavanje, različite vrste drvnog materijala, ukrasno bilje, tlo i supstrati rasta, prirodni putevi širenja (vjetar, kiša nošena vjetrom, insekti i ostale životinje prijenosnici spora) te ljudske aktivnosti.

4.1. Prirodno širenje (abiotičko)

G. circinata proizvodi spore koje se mogu prenositi zrakom. Prijenos zrakom pokriva relativno male udaljenosti, no širenje većih razmjera je također moguće.

4.2. Prijenos putem vektora

Mnogi insekti su poznati kao vektori patogena smolastog raka bora, uključujući tvrdokrilce koji nastanjuju borove (*Coleoptera: Scolytidae*) reda *Pityophthorus*, *Ips* i *Conophthorus*, te *Ernobius* (*Coleoptera: Anobiidae*). Insekti koji se hrane korom obično se razmnožavaju u inficiranim granama tako da odrasli često prenose patogen te ostavljaju ozljedu pogodnu za infekciju. Postoji velika vjerovatnoća da mnogi drugi nekatalogizirani insekti prenose organizam *G. circinata*.

4.3. Šumske prakse

Patogen se prenosi sa zaraženog drveta te se nadalje širi uz pomoć insekata koji kasnije izlaze iz drveta. Zaraženi alati obrade drveta kao i inficirano tlo na alatima ili vozilima također predstavljaju rizik za prijenos patogena. Otpad borova (pale iglice) iz zaraženih područja (koji se može koristiti kao malč) obično prekrije iverje što eliminira insekte, ali patogen preživi ovaj proces. Otklanjanje kore sa balvana eliminira većinu insekata koji mogu biti vektori patogena sa ove vrste materijala.

4.4. Prenošnje trgovinom/ transportom

Patogen se može prenijeti na veće udaljenosti pošiljkama sjemena bora ili sadnicama bora. Zaraženo sjeme i sadnice ne moraju pokazivati nikakve simptome. U principu, *G. circinata* se može prenositi zaraženim drvnim materijalom, ali vjerovatnoća toga je najveća u slučaju iverice nastale od grančica i kore, u kojoj spore gljive mogu preživjeti. Okrugle drvene ploče i daske, pogotovo bez kore, imaju manju vjerovatnoću za prijenos patogena. Uzevši u obzir značajnu trgovinu drvenim materijalom napravljenim

od bora, te ograničenu rasprostranjenost gljive, nije vjerovatno da je trgovina značajan put prijenosa infekcije.

4.5. Aspekti prenošenja sjemenom

Patogen može zaraziti sjeme iznutra ili biti prisutan kao vanjski kontaminator. Mehanizmi kojima *G. circinata* inficira sjeme su nepoznati. Vanjska kontaminacija može se javiti kada spore nošene zrakom uđu u češer u periodu kada je otvoren. Kada se otvoreni češer nalazi na inficiranoj grani, hife se mogu širiti od lezije na grani, kroz stabljiku češera sve do sjemena. Unutrašnja infekcija je popraćena propadanjem sjemena i smanjenjem klijanja. Inokulum nošen sjemenom može zaraziti i uzrokovati uginuće sadnica bora.

4.6. Epidemiologija uzročnika smolastog raka bora

Fusarium circinatum, anamorf vrste *G. circinata*, ulazi u drvo domaćina kroz mehaničke ozljede ili kanale nastale hranjenjem insekata. Gljiva se može prenositi s drveta na drvo zračnom disperzijom konidiospora ili hranjenjem insekata vektora. Podesnost ozljede za infekciju može ovisiti o brzini isušivanja ozljede. Da bi se razvila infekcija, potrebna je vlaga, te su infekcije povezane s mjestima ili godišnjim dobima gdje je prisutna vlaga, a temperature su relativno visoke. Rasprostranjenost bolesti također sugerira da su niže temperature za nju ograničavajuće. Na umjerenim temperaturama patogen može preživjeti i preko godinu dana na zaraženom drvetu.

5. VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Svrha pregleda bit će detekcija organizma *G. circinata* te izrade karte širenja smolastog raka bora. Rana detekcija je neophodna za iskorjenjivanje ovog organizma. Pregledi se organiziraju prema karakteristikama regije ili rasadnika pod nadzorom te se izvode od strane obučenog osoblja s podrškom dijagnostičkog laboratorija. Vrste roda *Pinus* i *Pseudotsuga menziesii* pregledaju se na znakove uginuća ili sušenja u rasadnicima ili na znakove smolastog raka na plantažama i šumama (sušenje, izlučivanje smole itd.). **Simptomi se mogu tražiti u bilo koje doba godine. Međutim, najpoželjnije je provesti inspekciju i uzeti uzorke tokom vegetacije.**

Patogen može preživjeti u iverju, stoga ga je obično teško zamijetiti vizualnim pregledom. Patogen se također može prenijeti u zaraženom sjemenu i zemlji, te provjera njegove prisutnosti u ovim materijalima zahtijeva laboratorijsko testiranje (vidjeti sekciju 7 LABORATORIJSKO TESTIRANJE). Inficirane sadnice ne moraju pokazivati simptome zaraze. S obzirom na to da se simptomi smolastog raka mogu zamijeniti simptomima drugih bolesti te postoji mogućnost latentne infekcije, laboratorijsko testiranje je neophodno za prepoznavanje bolesti.

U većini slučajeva prije ulaska u nova područja štetni organizam se prvo javlja u rasadnicima. Stoga, ako se *G. circinata* ranije ne zapazi u području, treba se najprije usredotočiti na inspekcije i uzimanje uzoraka u rasadnicima bilja domaćina. Inspekcije se mogu provesti kroz cijeli vegetacijski period u kombinaciji s inspekcijom na prisustvo borovih nematoda (*Bursaphelenchus xylophilus*).

Kontroliranje organizma *G. circinata* u šumama će u praksi zahtijevati tijesnu saradnju fitosanitarnog sektora i sektora za šumarstvo.

5.1. Vizualne inspekcije

5.1.1. Rasadnici bilja domaćina

U skladu s regulativama EU, obavlja se službeni nadzor i utvrđivanje simptoma uzrokovanim *G. circinatom* na sadnicama bilja domaćina. U područjima u kojima smolasti rak bora nije zabilježen dovoljni su vizualni pregledi rasadnika u kojima se uzgajaju biljke osjetljive na zarazu jednom godišnje. U toku inspekcija sve biljke domaćini moraju se pomno vizualno pregledati na znakove polijeganja ili sušenja. Inspektor mora prijeći sve redove biljaka domaćina kako bi pregledao sve biljke. U slučaju da postoji sumnja na neki od simptoma, provodi se detaljniji vizualni pregled, eventualno uzimajući uzorke za laboratorijsko testiranje. Vizuelni pregled je zadovoljavajući kako bi se dobio generalni pogled na fitosanitarni status biljaka. Ako simptomi izostanu, ne postoji potreba uzimanja uzoraka za laboratorijsko testiranje.

5.1.2. Demarkirana prirodna područja rodova *Pinus* spp. i *Pseudotsuga menziesii*

Zaraženo sjeme igra značajnu ulogu u širenju gljive *G. Circinata* i veoma je važno sakupljati sjeme sa zdravog drveća. U tu svrhu vrše se vizualni pregledi za otkrivanje simptoma odvojenih demarkiranih dijelova šume gdje se skuplja materijal za razmnožavanje kao što su sjeme i češeri. Vizualni pregledi osjetljivih matičnih biljaka obavljaju se barem u godini prikupljanja sjemena. U toku inspekcija svako drvo će se detaljno pregledati. Na živim biljkama smolasti rak se može prepoznati na način opisan u sekciji 3 (Simptomi infekcije). Smolasti rak bora može biti primjetan i na sirovim balvanima. Otklanjanjem kore trebala bi biti vidljiva promjena boje drveta te obloženost smolom. Ako su simptomi infekcije zapaženi, dovoljno je uzeti nekoliko uzoraka biljke koja pokazuje simptome, prema smjernicama iz dijela "Uzimanje uzoraka za laboratorijsko testiranje". Uzorci sjemena i/ili češera također se mogu laboratorijski testirati (vidjeti "Uzimanje uzoraka za laboratorijsko testiranje").

5.2. Šumske sastojine i ostale lokacije bilja domaćina

Provjere se usmjeravaju na šume četinara kao bilja domaćina štetnog organizma, plantaže i ostale lokacije bilja domaćina (šumarci, pojedinačna stabla, parkovi itd.), posebice smještenih u blizini mjesta obrade i skladištenja drva (npr. pilane) i/ili lokacije gdje je zapaženo drveće lošijeg zdravstvenog stanja. Kod vrsta roda *Pinus* i *Pseudotsuga menziesii* treba tražiti simptome smolastog raka. Sljedeći simptomi su tipični indikatori za uzimanje uzoraka: sušenje stabla, izlučivanje smole, promjena boje (npr. u žutu) i uvenuće iglica, znak djelovanja insekata. Najlakši način pronalaženja osušenog drveća u šumi jeste tražiti ostatke

sječe (vrhove, velike grane, dijelove stabla lošeg kvaliteta) na čistinama. Na takvim lokacijama uzimaju se uzorci sa sumnjivog drveća.

5.3. Uzimanje uzoraka za laboratorijsko testiranje

Postoje dvije metode u upotrebi, ovisno o vrsti materijala uzorka (biljno tkivo ili sjemenke).

5.3.1. Biljno tkivo (bez sjemenki)

U slučaju raka debla ili grane, unutrašnja kora područje direktno oko vidljive lezije izrezuje se sterilnom oštricom sve dok se ne opazi granica raka. Dijelovi tkiva, uključujući floem i ksilem, odvajaju se kako bi se pokušalo doći do ruba lezije, gdje je gljiva najaktivnija. Dijelovi se omotavaju u papirne ubruse ili novinski papir, te spremaju u zapečaćene plastične vrećice. Nakon što su zapaženi gore navedeni simptomi vizualnom pregledom, skupljaju se dijelovi izdanaka, grančica ili zračnog korijenja. Uzorak uključuje rub lezije i nekoliko centimetara tkiva zdravog izgleda oko lezije. Dijelovi tkiva se umotaju ubrusima ili novinskim papirom i spremaju u zapečaćene plastične vrećice.

U rasadnicima se kao uzorak uzima cijela biljka koja pokazuje znakove sušenja. Nakon uzimanja uzoraka svi uzorci biljnog materijala šalju se u laboratorije što je prije moguće, ili ostaju u hladnjaku do slanja. Nakon što su zaprimljeni u laboratorije do analize se čuvaju u hladnjacima. Uzorak se analizira u roku od osam dana.

5.3.2. Sjeme

Ovisno o metodi identifikacije, broj sjemenki partije za analizu može varirati. Na različitim stadijima infekcije ukupan broj sjemenki u partiji za testiranje u svrhu prepoznavanja štetnog organizma određuje se statistički (korisne informacije date su u Tabeli 1 i 2 Međunarodnih standarda za fitosanitarne mjere /ISPM/ broj 31 *Metodologije za uzimanje uzoraka* /IPPC, 2008/). Stepent infekcije sjemena može biti jako nizak. Veličina uzorka preporučena od ISTA-e je 400 sjemenki za sjetvu (ISTA, 2009.). Međutim, veći uzorci (npr. 1000 sjemenki) se lako mogu obraditi metodom obogaćivanja prije DNK-analize. Kako simptomi na sjemenu nisu vidljivi, uzorci u partiji biraju se nasumično. S obzirom na to da brojanje sjemena u nekim slučajevima iziskuje prekomjeran trud, uzorci sjemena se mogu izvagati umjesto prebrojavanja. Prikuplja se 1.000 sjemenki, u skladu s tabelom Priloga 2, koja daje primjere prosječne težine 1.000 sjemenki za glavne podvrste rodova *Pinus* ili *Pseudotsuga* spp. Sjeme se kasnije analizira bez površinske dezinfekcije, s obzirom na to da *G. circinata* može biti prisutna u sjemenoj lupini kao i u sjemenoj unutrašnjosti.

6. PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA

Dijelovi tkiva ili sadnice umotavaju se papirnim ubrusima ili novinskim papirom, te spremaju u zapečaćene nepropusne plastične vrećice. Uzorci se prikladno označavaju (oznakom lokacije, uključujući GPS-koordinate ukoliko je moguće), tako da se osigura njihov

identitet i porijeklo. Pri uzimanju uzoraka, rukovanju i procesu ekstrakcije poduzimaju se mjere predostrožnosti kako bi se izbjegla međusobna kontaminacija (npr. sterilizacija alata za uzimanje uzoraka 70%-tnim alkoholom ili dezinfekcijskim sredstvom). Uzorci se pohranjuju izvan dometa sunca. Uzorci se obrađuju što je prije moguće nakon prikupljanja i pohranjuju na 4-8 °C prije analize. Na hladnom se mogu pohraniti i do dvije sedmice nakon obrade u slučaju potrebe za daljnjim testiranjem. U slučaju slanja poštom, izbjegava se slanje krajem sedmice (četvrtkom ili petkom), jer slanje uzorka vikendom može izazvati njegovo propadanje ili sušenje. Uzorak sjemena pohranjuje se u papirnu vreću.

7. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Laboratorijska ispitivanja odvijaju se na osnovu Protokola dijagnosticiranja – PM 7/91(3) EPPO (Evropske organizacije za zaštitu bilja). Procedure prepoznavanja vrste *G. circinata* uključuju morfološke i molekularne metode. Prepoznavanje se uspostavlja: izolacijom gljive iz tkiva biljke, uključujući sjeme, u semiselektivnoj hranjivoj podlozi (inkubacija u najkraćem trajanju od deset dana), praćenom morfološkim prepoznavanjem u slučaju nesigurnosti (testiranje se završava u roku od dvije sedmice) ili direktnom detekcijom gljive u biljci (biljnom tkivu, uključujući sjeme) molekularnim metodama ('konvencionalni' PCR, 'SyBr green real-time' PCR ili 'dual-labelled probe real-time' PCR); u ovom slučaju testiranje se obavlja u nekoliko dana.

8. MJERE ZAŠTITE

Rješavanje problema *G. circinate* moguće je kontroliranjem bolesti koliko je god moguće u dobro nadgledanim rasadnicima, koristeći sadni materijal koji je manje osjetljiv na bolest, te sprečavanjem prijenosa inokuluma iz zaraženih područja provođenjem sanitarnih mjera predostrožnosti. Hemijske i biološke metode zaštite nisu efikasne ni ekonomične, te trenutno ne igraju bitnu ulogu (osim mogućeg tretiranja sjemena fungicidima). Lokacije rasadnika i farmi božićnih drvaca moraju se pažljivo odabrati. Poželjno je koristiti čista, autohtona sjemena. Ozljede i prekomjerno gnojenje trebaju se izbjegavati. Generalno se moraju održavati higijenski uvjeti, te mjere predostrožnosti u slučaju premještanja.

8.1. Fitosanitarne mjere

Iako hemijsko tretiranje sjemena može biti efikasno u eliminiranju unutrašnjih infekcija, takve mjere se ne mogu primijeniti u sprečavanju prenošenja patogena. Mnogo razboritija politika bila bi potpuno izbjegavanje prijenosa sjemena bora iz zaraženih predjela u predjele gdje se bolest nije pojavljivala. Također, potrebno je izbjegavati prijenos ostalog borovog materijala (balvani, iverica, ostaci drveta itd.) u nezaražena područja. Ova bi ograničenja, ukoliko dođu na snagu, trebala značajno ograničiti mogućnost širenja patogena. Za

uzgajivače sjemena i rasadnike borova odgovarajuće rješenje bilo bi uvođenje certifikacijskog programa. Takav program može uključivati vizualne preglede i izolaciju nasumičnih uzoraka. Još značajnije, voditelji rasadnika bi se mogli uvrstiti u program kontinuiranog monitoringa mortaliteta sadnica, s reprezentativnim uzorcima koje bi slali odgovarajućem dijagnostičkom laboratoriju na analizu.

G. circinata je dodata 2002. na EPPO karantensku listu, te se ugroženim zemljama članicama EPPO-a preporučuje da je reguliraju kao karantenski štetni organizam.

U Evropskoj uniji *Gibberella circinata* trenutno nije na listi štetnih organizama Direktive Vijeća 2000/29/EC. Međutim, Komisija je usvojila 2007. Privremenu hitnu mjeru kako bi se spriječio ulazak i širenje *Gibberella circinata* unutar Zajednice (Odluka Komisije 2007/433/EC 18. juna 2007.). Uvedene mjere ove odluke odnose se na unos i širenje organizma, demarkiranje zaraženih područja unutar Zajednice i kontrolu područja, uvoza, proizvodnje i premještanja biljaka roda *Pinus* i *Pseudotsuga menziesii* uključujući sjeme unutar Zajednice, te nadzor utvrđivanja prisutnosti ili kontinuirane odsutnosti organizma unutar zemalja članica.

Privremene hitne mjere, isključivo za organizam *G. circinata* prema odluci Komisije 2007/433/EC od 18. juna 2007. opisane su ispod.

8.1.1. Posebni zahtjevi uvoza

Premještanje određenih biljaka iz zemalja trećeg svijeta dozvoljeno je ako je praćeno fitosanitarnim certifikatom u kojem se navodi da biljka potiče sa mjesta proizvodnje koje je registrirano i pod nadzorom organizacije za zaštitu bilja zemlje porijekla, i ako je bilje cijelog svog životnog ciklusa raslo u zemlji gdje određeni organizam nije zapažen, ili ako je bilje cijelog svog životnog vijeka raslo u nezaraženom području, što je utvrđeno organizacijom za zdravlje biljaka u zemlji porijekla u skladu s relevantnim međunarodnim standardima za fitosanitarne mjere. Naziv nezaraženog područja se mora navesti u rubrici 'mjesto porijekla', ili ako to bilje potječe s mjesta proizvodnje na kojem prilikom obavljanja službenih inspekcijskih pregleda, u razdoblju od dvije godine prije premještanja, nisu zapaženi znakovi zaraze štetnim organizmom, i ako je bilo testirano neposredno prije premještanja.

8.1.2. Uvjeti premještanja

Određeno bilje, bilo da je porijeklom iz zemlje ili je unešeno u zemlju, dozvoljeno je premještati na teritoriju zemlje samo ako ga prati biljni pasoš, ili ako je bilje u toku svog životnog ciklusa ili od trenutka ulaska na teritorij zemlje raslo na području proizvodnje zemlje članice gdje nije zapaženo prisustvo organizma, ili ako je bilje u toku svog životnog ciklusa ili od ulaska na teritorij zemlje raslo na nezaraženom području proizvodnje, uspostavljenog od odgovornog službenog tijela zemlje izvoznice, u skladu s relevantnim standardima fitosanitarnih mjera, ili ako bilje potječe s mjesta proizvodnje na kojem prilikom obavljanja službenih inspekcijskih pregleda u razdoblju od dvije godine prije premještanja nisu primijećeni znakovi zaraze štetnim organizmom, i ako je bilo testirano neposredno prije premještanja.

8.1.3. Uspostava demarkiranog područja

Odluka Komisije 2007/433/EC dalje zahtijeva uspostavu demarkiranih područja nakon ulaska patogena. Demarkirana područja sastoje se od:

a) zaraženog područja u kojem je potvrđena prisutnost štetnog organizma i koje uključuje određeno bilje koje pokazuje simptome zaraze uzrokovane štetnim organizmom i

b) sigurnosnog područja koje se nalazi najmanje 1 km izvan zaraženog područja. U slučajevima kada se nekoliko sigurnosnih zona preklapa ili su geografski blizu, odredit će se šire demarkirano područje između njih.

Službene mjere koje će se poduzeti u demarkiranom području moraju uključivati minimalno:

- odgovarajuće mjere s ciljem uklanjanja određenog organizma;
- intenzivni monitoring (praćenje) prisustva određenog organizma kroz odgovarajuće inspekcije.

8.2. Agrotehničke mjere i sanitarne metode

Rezanje zaraženih vrhova obično ne sprečava bolest jer će predsimptomatske infekcije ostati prisutne, a pojavljivat će se i nove infekcije. Međutim, ako je površno zaraženo drvo izolirano od ostalog drveća, odstranjivanje inficiranih vrhova može usporiti razvoj novog centra bolesti. Nadalje, ako rezanje zaraženih grana ne narušava estetsku vrijednost drveta te dopušta njegovo zadržavanje u parku, cijena rezidbe će se isplatiti samim odlaganjem uništavanja i zamjene bolesnog drveta. Sterilizacija opreme Lysolom ili kućanskim izbjeljivačem obavlja se prije i poslije rezidbe. Insekti vektori patogena mogu nastaniti zaražene i nezaražene odstranjene grane. Usitnjavanje ovog materijala može značajno smanjiti naseljavanje insekata. Ako se iverje prenosi u nezaraženo područje, mora se primijeniti toplotni tretman (naprimjer kroz kompostiranje ili izlaganje suncu) kako bi se eliminisao patogen. Ne preporučuje se premještati balvane ili drvo za ogrjev sa mjesta porijekla. Neko će drveće, usprkos brojnim infekcijama, ostati relativno zdravo zbog genetske otpornosti. Na drugo drveće će infekcija značajno utjecati, ali mnoga kasnije idu u remisiju, fenomen zabilježen na mnogo lokacija. Mnogo agresivniji pristup je uništavanje drveća, opravdan na lokacijama na kojim bolest inače nije prisutna. Na uzgajalištima sjemena i uzgojnim površinama sjeveroistočnog dijela SAD-a preporuke za kontrolu kultura čine pažljivo odabrane geografske lokacije i mjesta za sadnju odgovarajuća za pojedine vrste. Kad god je moguće, preporučuje se korištenje autohtonog sjemena koje se bolje prilagođava. U uzgajalištima sjemena izbjegavaju se ozljede tokom žetve. Prekomjernu gnojidbu treba također izbjegavati, jer gnojiva na bazi nitrogena u uzgajalištima sjemena pogoršavaju probleme nastale smolastim rakom bora. Održavanjem čistoće uzgajališta i područja proizvodnje sjemena smanjuje se potencijal za infekciju ili kontaminaciju sjemena.

U rasadnicima i farmama božićnih drvaca upotreba čistog sjemena je od velike važnosti. Odumrle sadnice ili stabla moraju se iskorijeniti i spaliti ili smjestiti u plastične vreće za otpad. Potrebno je odstraniti što veći dio korijenovog sistema. S obzirom na to da se gljiva prenosi tлом, poduzimaju se mjere kako se ne bi prenosila zemlja s mjesta uklanjanja korijena na ostale lokacije rasadnika. Također se treba izbjegavati korištenje opreme koja se nedavno pomjerena sa zaraženog mjesta. S obzirom na to da patogen može biti prisutan na području u kojem nije još identificiran, dobra mjera predostrožnosti bi bila pranje opreme pod visokim pritiskom kako bi se otklonili svi ostaci tla prije daljnje upotrebe.

8.3. Hemijska kontrola

Kao što je općenito slučaj s bolestima drveća, nema adekvatnih hemijskih tretmana suzbijanja smolastog raka bora. Fungicidi protiv patogena su dostupni, tako da, u principu, drveće se može zaštititi od infekcije. Međutim, održavanje visoke koncentracije aktivnog sastojka na svim podložnim površinama je problematično, čak i kada se troškovi ne uzmu u obzir. Stoga u šumama, parkovima i plantažama hemijska kontrola smolastog raka bora nije u praksi.

Hemijska zaštita je izvediva u intenzivnije vođenim sistemima kao što su rasadnici i rasadnici božićnih drvaca. U uvjetima rasadnika fungicidi se mogu koristiti kao prevencija infekcije sadnica. Pokazalo se da tretiranje sjemena fungicidima prije sijanja povećava klijavost i preživljavanje sadnica. Kod sjemena kontaminiranog izvana patogen se može uništiti potapanjem u 1%-tni natrijhipoklorit na dvije minute; 30%-tni hidrogenperoksid se također koristi u te svrhe. Kod sjemena koje je zaraženo iznutra sistematski fungicidi se koriste za povećanje klijanja i smanjenje polijeganja. Djelotvorni fungicidi uključuju tiabendazoldimetil sulfoksid te formuliranu smjesu tiabendazola s karboksinom i tiramom.

Na pokusnom polju u Sjevernoj Karolini, SAD, tretiranje jednogodišnjih biljaka vrste *P. taeda* tiabendazolom rezultiralo je smanjenim brojem infekcija terminalnih izdanaka. Razni biocidni tretmani mogu se primijeniti na tlo kako bi suzbili patogen. U rasadnicima božićnih drvaca lokacije uginulog i uklonjenog drveća moraju se tretirati kako bi se suzbio patogen iz tla. U tu svrhu su korišteni biocidi širokog spektra djelovanja kao što su metamsodij. Kada se na tretiranu lokaciju ponovno zasadi drveće, potreban je intenzivan nadzor zbog mogućeg pojavljivanja simptoma smolastog raka bora. Ako se bolest ponovno pojavi, procedura se ponavlja.

Upotreba insekticida kao što su klorpirifos za kontrolu štetnih insekata može indirektno smanjiti infekcije smolastog raka bora smanjujući broj vektora i agenasa ozljeđivanja. Generalno, hemijska kontrola vektora je ekonomski teško izvediva i rijetko učinkovita. Nadalje, u nekim se područjima insekti vektori izvorno dovode u vezu s borovim drvećem te doprinose procesu razlaganja.

8.4. Biološka kontrola

Ne postoji praktičan biološki program zaštite za smolasti rak bora. Iako su vrste bakterije *Arthobacter* sp. prepoznate kao antagonisti *G. circinatein* vitro, nije pronađeno da kontrolišu smolasti rak bora na terenu. Vrsta *Fusarium monili* (*Gibberella fujikuroi*) pronađena je kao konkurentni kolonizator ozljeda, što je čini dobrim kandidatom za zaštitu ozljeda od infekcije. No, ona je također slabi patogen sadnica.

8.5. Otpornost biljaka domaćina

Velika istraživanja američkih podvrsta roda *Pinus* pokazala su značajne razlike u osjetljivosti na bolest različitih vrsta. *P. radiata* je bila veoma osjetljiva, dok su podvrste *Oocarpebile* veoma otporne. U Kaliforniji unutar vrste *P. radiata* zapažene su varijacije u

osjetljivosti među zasađenim kao i prirodno regeneriranim stablima, te su slične varijacije nađene među vrstama s juga SAD-a: *P. elliotii*, *P. taeda* i *P. virginiana*. Među preporukama za smanjivanje pojave smolastog raka bora su upotreba lokalno proizvedenog sjemena, korištenje sjemena otpornih klonova u postojećim uzgajalištima i kontinuirano biranje otpornog materijala gdje god je izvedivo. Kada su u pitanju parkovi, biraju se druge vrste osim borova, ili vrste borova koje su manje podložne bolesti za sadnju u pogođenim područjima. Naprimjer, u Kaliforniji nekoliko egzotičnih vrsta bora koje su pogodne za mediteransku klimu su manje podložne bolesti od autohtonih vrsta.

PRILOG I:

Potpuna lista domaćina *G. circinata* data je u CAB International (2007) i uključuje: *Pinus elliottii*, *Pinus palustris*, *Pinus patula*, *Pinus radiata* (kalifornijski bor), *Pinus taeda*, *Pinus virginiana*, *Pinus arizonica*, *Pinus attenuata*, *Pinus ayacahuite*, *Pinus canariensis* (kanarski bor), *Pinus cembroides*, *Pinus clausa*, *Pinus contorta* (usukani bor), *Pinus coulteri*, *Pinus densiflora* (japanski crveni bor), *Pinus discolor*, *Pinus douglasiana*, *Pinus durangensis*, *Pinus echinata*, *Pinus estevezii*, *Pinus glabra*, *Pinus greggii*, *Pinus halepensis* (alepski bor), *Pinus hartwegii*, *Pinus leiophylla*, *Pinus luchuensis*, *Pinus maximinoi*, *Pinus michoacana*, *Pinus montezumae*, *Pinus muricata*, *Pinus oaxacana*, *Pinus occidentalis*, *Pinus oocarpa*, *Pinus pinaster* (primorski bor), *Pinus pinea* (pinijski bor), *Pinus ponderosa* (žuti bor), *Pinus pringlei*, *Pinus pseudostrobus*, *Pinus pungens*, *Pinus rigida* (smolavi bor), *Pinus sabiniana*, *Pinus serotina*, *Pinus strobus* (američki borovac), *Pinus sylvestris* (obični bor), *Pinus thunbergii* (japanski crni bor), *Pinus torreyana*, *Pseudotsuga menziesii* (obična američka duglazija).

PRILOG II:

Tablela: Prosječna težina 1.000 sjemenki za glavne podvrste roda *Pinus* i *Pseudotsuga*

(izvor: Sektor za šumarstvo u Francuskoj, 'Office National des Forêts'),
THS, težina hiljadu sjemenki

Vrste	Indikativna THS (g)	Vrste	Indikativna THS (g)
<i>Pinus aristata</i>	22	<i>Pinus mugo</i> subsp. <i>pumilio</i>	6
<i>Pinus armandi</i>	245	<i>Pinus nigra</i> subsp. <i>koekelare</i>	21
<i>Pinus banksiana</i>	4	<i>Pinus nigra</i> var. <i>austriaca</i>	20
<i>Pinus bungeana</i>	130	<i>Pinus nigra</i> var. <i>calabrica</i>	18
<i>Pinus brutia</i>	53	<i>Pinus nigra</i> var. <i>corsicana</i>	15
<i>Pinus canariensis</i>	120	<i>Pinus nigra</i> subsp. <i>salzmannii</i>	16
<i>Pinus cembra</i>	350	<i>Pinus palustris</i>	75
<i>Pinus contortavar. latifolia</i>	5	<i>Pinus parviflora</i>	125
<i>Pinus coulteri</i>	330	<i>Pinus pinaster</i>	55
<i>Pinus eldarica</i>	62	<i>Pinus pinea</i>	895
<i>Pinus densiflora</i>	18	<i>Pinus ponderosa</i>	42
<i>Pinus gerardiana</i>	295	<i>Pinus pumila</i>	105
<i>Pinus griffithii</i>	58	<i>Pinus radiata</i>	29
<i>Pinus halepensis</i>	18	<i>Pinus rigida</i>	7
<i>Pinus jeffreyi</i>	110	<i>Pinus strobus</i>	14
<i>Pinus koraiensis</i>	460	<i>Pinus sylvestris</i>	7
<i>Pinus lambertiana</i>	300	<i>Pinus tabulaeformis</i>	32
<i>Pinus leucodermis</i>	25	<i>Pinus taeda</i>	27
<i>Pinus montana uncinata</i>	9	<i>Pinus thunbergii</i>	14
<i>Pinus uncinata</i>	19	<i>Pinus wallichiana</i>	50
<i>Pinus mugo</i> subsp. <i>mugo</i>	7	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	13

POSEBAN NADZOR

**Virus šarke šljive
Plum pox virus (PPV)**

1. UVOD

Plum pox virus (PPV) je poznat kao virus šarke šljive ili kao šarka šljive i predstavlja ozbiljnu virozu mnogih divljih i gajenih vrsta iz roda *Prunus*, uključujući šljive, kajsije, breskve, trešnje, višnje, nektarine, bademe (više detalja o biljkama domaćinima je predstavljeno u sekciji 2 u nastavku). Prethodnih godina smatralo se da su na evropskom kontinentu trešnje imune, ali potvrđeno je da soj PPV napada trešnje kao i višnje.

Prinos napadnutih stabala može se smanjiti za 20–30%, a na osjetljivim sortama plod postane pjegav i nije za prodaju. Gubici su također uzrokovani preranim otpadanjem ploda, manjim sadržajem šećera, slabim ukusom i smanjenim rokom trajanja.

PPV se prvi put pojavio u Bugarskoj 1917. godine. Iz ove države proširio se na većinu dijelova evropskog kontinenta i pogodio je različite zemlje u različitoj mjeri. Danas je rasprostranjen u Albaniji, Bugarskoj, Češkoj, Njemačkoj, Grčkoj, Mađarskoj, Poljskoj, Rumuniji, Slovačkoj i dijelovima bivše Jugoslavije. Također je lokalno pronađen u dijelovima Austrije, Belgije, Kipra, Egipta, Francuske, Italije, Luksemburga, Moldavije, Portugala, Rusije, Španije, Švicarske, Sirije, Turske, Ukrajine i Velike Britanije. Izvan euromediteranskog područja nalazi se i u Sjevernoj Americi (SAD-u i Kanadi), Južnoj Americi (Argentini i Čileu), Africi (Južnoj Africi), a od nedavno i u Aziji (Kini).



Grana šljive zaražene Plum pox virusom

PPV pripada porodici *Potyviridae* (*Potyvirus*). Slične viroze iz porodice *Potyvirus* uključuju virus krompira Y (PVY) i mozaik virus bijele repe (TuMV). PPV ne može zaraziti ljude i životinje.

Naučna istraživanja pokazuju da su se razvili različiti sojevi virusa. Najčešći je D (*Dideron*) soj, koji je prvi put izoliran i otkriven na marelici u Francuskoj. Ovaj soj također može prirodno zaraziti breskve, nektarine i šljive i dosta je proširen u mnogim evropskim zemljama. Jedini je soj koji se može naći u Sjevernoj Americi.

M (*Marcus*) je soj koji je prvi put pronađen u Grčkoj na breskvama, a sada se može lako naći i u mnogim evropskim zemljama. Obično se nalazi na breskvama, ali je izoliran i na prirodno zaraženim šljivama i kajsijama. Kada se jednom pojavi u regiji, M-soj se može brzo proširiti, a vrlo teško iskorijeniti.

EA (*El Amar*) soj, koji je prvobitno pronađen i utvrđen na marelici u Egiptu, može također zaraziti šljive, nektarine i breskve. Dosad je samo pronađen u zemljama sjeverne Afrike.

C (*Cherry*) soj je samo izoliran na trešnjama i višnjama. Prisutan je u nekoliko evropskih zemalja.

PPV je štetni organizam regulisan u mnogim zemljama u svijetu, posebno na sjevernoj hemisferi. Patogen treba biti potpuno iskorijenjen ili, kao što je to slučaj u EU, samo kada je prisutan na specifičnim vrstama biljaka ili sadnom materijalu.

2. BILJE DOMAĆINI

2.1. Glavne bilje domaćini

Glavni drvenasti domaćini su divlje i gajene vrste iz roda *Prunus*, uključujući marelice (*Prunus armeniaca*), breskve (*Prunus persica*) i šljive (*Prunus domestica*, *Prunus salicina* i *Prunus cerasifera*). Badem (*Prunus dulcis*) može biti zaražen virusom Plum pox, ali pokazuje malo prirodnih simptoma ili ih uopće ne pokazuje. Izolati D i M serotipa su eksperimentalno preneseni na različite vrste trešanja, ali je infekcija ostala lokalizirana i nije se uočio prijenos virusa. Međutim, Pensilvanijski izolat PPV-a je prenesen na nekoliko ukrasnih cvjetnih višnji i trešnji (*Prunus avium*) putem lisnih ušiju i kalemljenjem, s pojavom simptoma i s narednim „back-transferom“ na breskve.

Prirodna infekcija *Prunus cerasus* (lovor-višnja) i *P. avium* (trešnja) PPV-C-om uočena je u četiri evropske zemlje. PPV-C je prenesen putem drugih vrsta koštuničavog voća kalemljenjem ili putem vektora.

Većina divljih ili ukrasnih vrsta *Prunusa* može se eksperimentalno zaraziti PPV D-om putem lisnih uši ili kalemljenjem.

2.2. Sekundarni domaćini

Prunus spinosa (trnina) se dugo smatrala prirodnim domaćinom virusa Plum pox. Rezultati dobiveni u bivšoj Jugoslaviji nisu potvrdili ovu pretpostavku. Međutim, dokazano je da je sistemski domaćin u Francuskoj i Češkoj. *P. avium*, *Prunus besseyi* (bessey trešnja), *P. cerasifera* (crvenolisna šljiva), *Prunus tomentosa* (maljava višnja), *Prunus glandulosa* (cvjetni badem), *Prunus japonica* (japanska žbun-trešnja), *Prunus serotina* (crna trešnja) i *Prunus x blireiana* (japanska breskva) smatraju se sekundarnim domaćinima.

Za proizvodnju voća (sorti i podloga) osjetljive *Prunus* spp. gaje se mnogo širom svijeta kao i u svim evropskim dijelovima EPPO-regije. Divlje drvenasto i jednogodišnje gajeno i korovsko bilje predstavljaju domaćine, koji su široko rasprostranjeni i potencijalni su rezervoari ovog patogena, iako direktan doprinos ovih domaćina u epidemiologiji Plum pox virusa nikada nije potpuno dokazan. Dokazano je da su brojne gajene biljke ili višegodišnji korovi eksperimentalni i prirodni domaćini PPV-a.

2.3. Zeljaste biljke kao domaćini

PPV je izoliran kod mnogih zeljastih biljaka uključujući biljke kao što su *Ranunculus repens* (puzavi žabnjak), *Medicago lupulina* (hmeljasta vija), *Trifolium pratense* (crvena djetelina), *Trifolium repens* (bijela djetelina) i *Silene vulgaris* (pucavac, pušina). Mnogi od ovih domaćina su česti korovi u mnogim regionima Evrope. Istražuje se značaj osjetljivih korova kao izvor PPV-a. Mnoge studije pokazuju da korov značajno ne doprinosi širenju bolesti. Ostale zeljaste biljke kao što su grašak (*Pisum sativum*) cv. *Colmo*, duhan (*Nicotiana tabacum*) i srodne vrste ***Nicotiana*** su također domaćini i često su se koristili kao biljke indikatori za otkrivanje virusne infekcije kod oboljelog koštuničavog voća.

3. SIMPTOMI BOLESTI

Simptomi PPV-a mogu značajno varirati ovisno o vrsti i sorti domaćina, kao i lokaciji i sezoni.

Simptomi se javljaju na listovima ili plodu. Najtipičniji simptomi PPV-a ispoljavaju se na listovima šljive u vidu mozaičnog šarenila i hlorotičnih prstenastih pjega. Na listovima breskve su posebno izraženi i brojni u proljeće: hlorotične mrlje, uvijanje ili prstenaste pjege, ili čak deformacija listova.

Na listovima šljive virus može uzrokovati blijedozelene ili svijetložute hlorotične mrlje, prištove, uvijanje, prstenje ili linije, koje je često teško vidjeti na jakom suncu. Simptomi na listovima su najlakše vidljivi na potpuno razvijenim listovima od kraja maja/ početka juna. Ovi simptomi su često nejednako raspoređeni i mogu se pojaviti na samo nekoliko grana ili listova. Simptomi PPV-a na plodu ovise o izvornoj boji ploda. Voće s tamnom pokožicom ispoljava crvenilo, nekrotično prstenje, koje može biti udubljeno, dok voće svijetle pokožice ispoljava neujednačeno sazrijevanje, mrlje i prstenje. Nekrotično tkivo može se proširiti kroz plod na košticu, na kojoj se može razviti crvenkasto nekrotični prsten.



Simptomi na listu šljive
uzrokovani PPV-om



Simptomi na plodovima šljive
uzrokovani PPV-om



Simptomi na listovima kajsije
uzrokovani PPV-om



Simptomi na plodovima kajsije
uzrokovani PPV-om



**Simptomi na listovima breskve
uzrokovani PPV-om**



Prstenovi na plodovima breskve

Vizuelni simptomi i prateće smanjenje sadržaja šećera čine zaraženo voće neadekvatnim za prodaju. Prisustvo drugih virusa, kao što su Plum line pattern može povećati jačinu simptoma PPV-a. Slični simptomi se nalaze na listovima i plodu većine ostalih podložnih vrsta *Prunus* sa sljedećim izuzecima. Simptomi na listovima breskve su prepoznatljivi; kada se prvi put otvaraju, oboljeli listovi su iskrivljeni, imaju valovit rub i blagu rotaciju, a žile pokazuju blijedozelene ili svijetložute mrlje ili linije. Ovi simptomi nestaju kako se listovi razvijaju. Plod breskve može imati blijede prstenje i linije od onih koji se nalaze na šljivama; uglavnom su podložniji šteti koja nastaje od bolesti. Badem ispoljava nekoliko simptoma na listovima.

Treba napomenuti da postoje neki drugi virusi i drugi uzročni agensi koji mogu prouzrokovati simptome slične PPV-u (jedan od njih se zove "pseudošarka", a to je bolest uzrokovana virusom Plum line pattern). Također, kao u slučaju svih bolesti, virus može biti prisutan u biljci u latentnom obliku, odnosno u takvoj koncentraciji da se ne manifestuju vidljivi simptomi. Ovo se posebno odnosi na situacije kada je u pitanju materijal za razmnožavanje. Stoga, vizuelni pregled treba podržati s uzorkovanjem i laboratorijskim ispitivanjem, kako bi se potvrdila prisutnost virusa (ukoliko se pojave simptomi), ili za otkrivanje latentne infekcije (koje se posebno preporučuje u slučaju sadnog materijala). Detalji takvih inspekcija i uzorkovanja su označeni u sekciji 5. u nastavku.



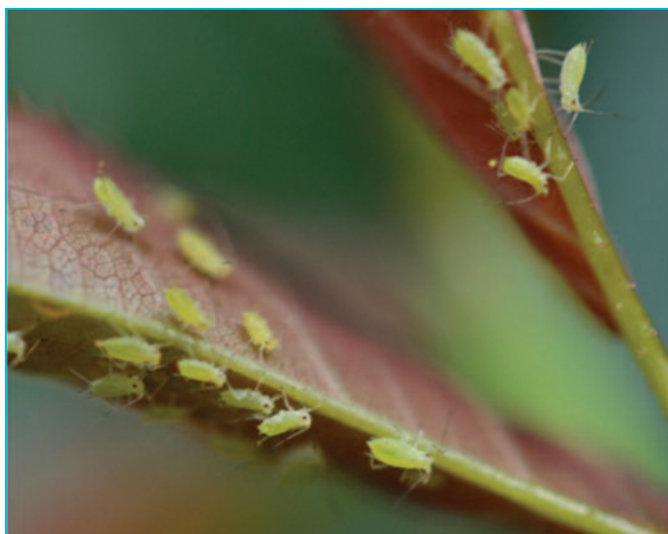
Infekcija ploda kajsije virusom šarke

4. NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA

Ne postoje poznati načini prirodnog širenja. Zaraza se može proširiti na dva glavna načina. Prvi i najvažniji: širi se putem zaraženih podloga, sadnica i sl., koje potencijalno omogućuju brzo kretanje bolesti. Drugi način: širi se putem lisnih uši s drugih zaraženih stabala ili divljih domaćina. Postoji nekoliko vrsta lisnih ušiju koje prenose PPV na nepersistentan način. Lisne uši mogu preuzeti virus sa zaraženih listova, cvijeća ili plodova u vrlo kratkom vremenskom roku (u sekundama, minutama), a mogu prenijeti virus na nove biljke u roku od nekoliko minuta. Kod insekata ne postoji latentni period. Zaražena stabla *Prunusa* su glavni izvor inokuluma. Virus se prenosi sa zaraženih stabala ili kalemljenjem ili čip-kalemljenjem, ili na nepersistentan način, putem vektora lisnih ušiju kao što su *Aphis spiraeicola* i *Myzus persicae*. Pokazalo se da ostale vrste lisnih ušiju rjeđe prenose zarazu nego dva glavna vektora, a to su: *Aphis craccivora*, *Aphis fabae*, *Brachycaudus cardui*, *Brachycaudus helychrysi*, *Brachycaudus persicae*, *Hyalopterus pruni*, *Myzus varians* i *Phorodon humuli*. Ostali vektori su: *Aphis gossypii*, *Aphis hederiae*, *Rhopalosiphum padi*, *Metopolophium dirhodum* i *Toxoptera citricida* (lisne uši smeđeg citrusa).

U određenoj sezoni broj zaraženih stabala voćnjaka je u direktnoj vezi s brojem krilatih formi lisnih ušiju. Ove uši hrane se zaraženim listovima, a zatim lete na druga stabla, na kojima se također hrane.

U toku ljeta lisne uši mogu prijeći na razne zeljaste vrste/ korove prisutne u voćnjacima i vratiti se na voće kako bi položile zimska jaja. Dokazno je da je *Phorodon humuli* nakon perioda kada se ne hrani sposoban širiti PPV na velike udaljenosti, 2–3 sata nakon infekcije. Kapacitet za prijenos putem vektora značajno varira između različitih sojeva virusa. Nakon inokulacije inkubacijski period može trajati nekoliko mjeseci i sistemično širenje unutar drvenastog domaćina može trajati nekoliko godina. Prema tome, virus može biti rasprostranjen na stablu u različitoj mjeri. Bolest se nasumično javlja u voćnjacima. Nakon 2–3 godine (moguće i ranije) u voćnjacima breskve infekcija se počne širiti s prvih zaraženih stabala. Prijenos kalemljenjem može značajno doprinijeti širenju u zaraženim područjima ako se ne koristi certificirani bezvirusni sadni materijal. Virus se širi s jednog područja ili jedne zemlje na drugo područje ili zemlju najčešće putem necertificiranog sadnog materijala.



Lisne uši, vektori PPV-a

5. VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Potrebni su redovni pregledi i istraživanja za utvrđivanje prisustva i širenja bolesti u određenom području, a u cilju da bi se to područje proglasilo nezaraženim. Kao što je već spomenuto, vršenje vizuelnog pregleda simptoma na stablima nije uvijek pouzdana metoda za otkrivanje svih infekcija. Često zaražena stabla ne ispoljavaju simptome do tri godine nakon infekcije. Istraživanja s ciljem otkrivanja su stoga namijenjena otkrivanju najmanje jednog zaraženog stabla u plantaži s najmanjim brojem uzorkovanja. Generalno, detekcije ne daju informacije o rasprostranjenosti ili broju zaraženih stabala u voćnjaku. Međutim, generalno, bilo koji pronalazak u sadnom materijalu odmah zahtijeva poduzimanje odgovarajućih fitosanitarnih mjera.

Odgovarajući izbor uzorka je od ključne važnosti za laboratorijske analize. Ako su tipični simptomi prisutni, mogu se uzeti cvjetovi, listovi ili plodovi sa simptomima. Kod biljaka bez simptoma standardni uzorak od 5 mladara ili 10 potpuno razvijenih listova prikupljenih na krošnji svakog pojedinog stabla iz sredine svake grane (na početku ljeta uzeti uzorak prije visokih temperatura). Treba izbjegavati uzimanje uzoraka od jula do početka septembra u područjima s mediteranskom klimom, jer se koncentracija virusa često smanji kada visoke temperature traju duži period. Uzorke listova treba po mogućnosti uzeti na početku sezone rasta, kada su temperature umjerene. Biljni materijal treba po mogućnosti uzeti iz unutrašnje strukture stabla, jer nedavna istraživanja pokazuju da se virus može češće otkriti u uzorcima listova uzetih iz unutrašnjosti krošnje stabla. Zbog nejednake raspodjele virusa u zaraženim stablima uzorci listova bi se trebali uzeti u različitim kvadrantima stabala koja su iz prethodne godine rasta. Ispitivanja se često provode na uzorcima listova. Također se koriste uzorci tkiva, uključujući korijenje i koru. Na proljeće uzorci mogu biti cvjetovi, mladi izdanci ili manji plodovi. U toku jeseni se za analizumogu uzeti zreli listovi ili plodovi.

Međutim, ovaj opći pristup vizuelnog pregleda i uzorkovanja varira ovisno o vrsti usjeva i sadnog materijala. Specifični detalji za različite vrste biljne proizvodnje predstavljeni su u nastavku ovog materijala.

5.1. Matične biljke

Vizuelni pregledi osjetljivih matičnih biljaka (tj. biljaka koje se koriste kao izvor podloga, pupoljaka i izdanaka) obavlja se dva puta godišnje: prvi pregled se vrši na proljeće (od sredine maja do kraja juna), dok se drugi vrši na kraju ljeta (od sredine augusta do sredine septembra). Tokom inspekcije svako stablo treba vizuelno detaljno pregledati.

Preporučuje se dopuniti prvi vizuelni pregled uzimanjem uzoraka i laboratorijskom analizom, (bez obzira na to da li su simptomi uočeni ili ne). Ako se uoče simptomi PPV-a, dovoljno je uzeti sa stabla nekoliko listova (7–8) koji ispoljavaju simptome. Ako nema sumnje, treba uzeti ukupno 20–25 listova iz svakog dijela stabla. Potrebno je prvo ispitati listove izdanaka koji ispoljavaju znakove prisustva i napada lisnih ušiju. Svaki uzorak bi trebao biti zapakovan odvojeno i označen na odgovarajući način.

Tokom druge inspekcije nije potrebno uzorkovanje ako nema znakova infekcije.

5.2. Podloge

Trebala bi se izvršiti jedna inspekcija u periodu vegetacije. U slučaju da je podloga namijenjena za kalemljenje okuliranjem (kalemljenje “chip budding”) potrebno je izvršiti pregled prije čip-okulacije. U slučaju da je podloga namijenjena za kalemljenje, izvršiti pregled krajem ljeta, kada su biljke još u punoj vegetaciji. Sve se biljke trebaju pregledati. Nije potrebno uzimanje uzoraka ako nema simptoma bolesti ili znakova prisustva i hranjenja uši. Ako postoje bilo kakve sumnje, uzorci se uzimaju samo iz biljaka za koje postoji sumnja (3–4 lista biljke).

5.3. Rasadnici

PPV se može unijeti u rasadnik preko osjetljivih biljaka, putem lisnih ušiju ili preko zaraženog sadnog materijala. Podloge se najčešće dobijaju na generativan način i ako tokom njihovog rasta nije došlo do zaraze putem lisnih ušiju, ne bi trebao postojati rizik zaraze PPV-om. Jača infekcija PPV-om se vjerojatno javlja ako se kalemljenje okuliranjem (metoda čip okulacije) ili kalemljenje vrši pupoljcima ili izdancima netestiranih stabala. U slučaju kada se infekcija pojavila na pupoljcima i izdancima lako je prepoznati prisustvo ovog štetnog organizma, jer se pojavljuje na biljkama i to jednoj iza druge u redu. Kalemljenje metodom čip-okulacije koje se obično vrši u julu ili augustu je češći način proizvodnje sadnica. Sadnice se trebaju pregledati godinu dana nakon čip-kalemljenja.

5.3.1. Prva inspekcija

Prva inspekcija se treba vršiti u periodu između proljeća i ljeta, od početka juna, počevši od breskve, jer bi kasni simptomi na breskvama mogli nestati. Sve sadnice se trebaju ispitati. Uzorci bi se trebali uzeti s biljaka koje ispoljavaju simptome (uzeti 3–4 lista biljke). Sadnice koje ispoljavaju znakove prisustva i hranjenja lisnih ušiju također se trebaju ispitati. Ako se ne uoče sumnje, uzorkovanje nije potrebno.

5.3.2. Druga inspekcija

Druga inspekcija se treba vršiti u periodu između augusta i septembra. Pravila za postupanje u slučaju bilo kakve sumnje su ista kao i tokom prve inspekcije. Međutim, ako se simptomi ne uoče, uzimaju se uzorci radi otkrivanja moguće latentne infekcije. U tu svrhu kombinovan uzorak koji se sastoji od listova, od prosječno 10% biljaka se nasumično uzima (jedan list jedne biljke) prvo od biljaka koje ispoljavaju znakove hranjenja lisnih ušiju, a također i od susjednih biljaka.

5.3.3. Inspekcije u narednim godinama

Ako proizvodnja sadnica u rasadniku traje više od godinu dana, u narednim godinama se obavljaju dvije inspekcije: između proljeća i ljeta i na kraju ljeta. U slučaju sumnje, treba uzeti uzorke i obaviti laboratorijska ispitivanja (simptomi bolesti ili znakovi hranjenja od lisnih ušiju).

5.4. Komercijalni voćnjaci

Inspekcija komercijalnih voćnjaka može se vršiti tokom cijele vegetacije, već od početka juna. Međutim, kao što je već navedeno, treba izbjegavati period vegetacije s visokim temperaturama. Preporučuju se dvije inspekcije, posebno u slučaju mladih voćnjaka (prva inspekcija tokom kasnog proljeća, druga u toku sazrijevanja ploda). Treba pregledati oko 10% stabala. Uzorci se trebaju uzeti sa stabala koja ispoljavaju simptome bolesti (7–8 listova sa stabla). Međutim, ako mnogo stabala ispoljava simptome, uzorci se mogu uzeti samo s nekoliko takvih stabala, nasumično odabranih s različitih dijelova voćnjaka. Ako se simptomi uoče samo na plodu, a ne na listovima (veoma rijetka situacija), uzorci bi trebali biti sačinjeni od oboljelog ploda kao i od nekoliko listova. Nepotrebno je uzimanje uzoraka ako se simptomi ne uoče.

5.5. Privatni vrtovi i mali voćnjaci

Inspekcije privatnih vrtova ili malih voćnjaka u blizini domaćinstava mogu se vršiti tokom cijelog perioda vegetacije, već od početka juna. Međutim, treba izbjegavati period rasta s visokim temperaturama. Obično bi jedna inspekcija trebala biti dovoljna, osim ako se plantaže nalaze u neposrednoj blizini mjesta proizvodnje sadnog materijala. Treba pregledati svako stablo. Uzorke treba uzeti sa stabala koja ispoljavaju simptome bolesti (7–8 listova sa stabla). Međutim, ako postoji mnogo stabala koja ispoljavaju simptome, uzorci se mogu uzeti samo s nekoliko takvih stabala, nasumično odabranih iz različitih dijelova plantaže. Ako se simptomi uoče samo na plodu, a ne na listovima (vrlo rijetka situacija), uzorci trebaju biti sačinjeni od oboljelog ploda kao i od nekoliko listova. Nepotrebno je uzimanje uzoraka ako se simptomi ne uoče.

5.6. Bilje iz prirodnog staništa

Treba proširiti inspekciju na osjetljivo bilje iz prirodnog staništa koje pripada rodu *Prunus* (tj. domaćinima PPV-a), a koje rastu na mjestima kao što su živice i prirodna staništa (treba proširiti inspekciju posebno na biljke koje se nalaze u neposrednoj blizini ili blizu mjesta gdje se nalaze matične biljke, podloge ili rasadnici). Pravila inspekcije i uzimanja uzoraka u ovom slučaju su ista kao i kod privatnih vrtova i malih voćnjaka.

6. PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA

Uzorci se pakuju u usku plastičnu vrećicu i označavaju se na adekvatan način kako bi se osigurao njihov identitet i omogućilo njihovo praćenje. Uzorci se moraju dostaviti u laboratoriju u što kraćem roku. Međutim, ako je potrebno, također se mogu čuvati na temperaturi od 4°C i to ne više od sedam dana prije obrade. Ako se uzorci dostavljaju poštom, treba izbjegavati slanje pri kraju sedmice (četvrtkom ili petkom), jer može doći do propadanja ili isušivanja uzoraka tokom vikenda. Uzorci se ne smiju zamrzavati – PPV ne može preživjeti ako se zaledi uzorak.

7. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Danas postoji niz laboratorijskih tehnika i metoda koje se mogu koristiti za otkrivanje i identifikaciju virusa. One su:

- ispitivanje na osjetljive biljke indikatore (breskva – *Prunus persica* ili mongolska trešnja – *Prunus tomentosa*) čip-kalemljenjem. Simptomi nastaju u roku od 6–8 sedmica;
- mehanička inokulacija *Chenopodium foetidum* ili grašak (*Pisum* spp.), gdje simptomi nastaju u roku od 6–8 dana;
- ELISA-test (serološki testovi), koja se prvi put primijenila u virologiji biljaka za detekciju PPV-a. Koristi se često za potvrđivanje prisutnosti virusa u korijenu, kori, cvijetu, listu, plodu ili sjemenu;
- metode zasnovane na elektronskom mikroskopiranju, imuno-elektronskom mikroskopiranju i tehnikama koloidnih bojanja zlatom. Monoklonalna antitijela se mogu koristiti vrlo efikasno i razlikuju se između različitih sojeva (M i D vrste);
- ispitivanja i molekularne metode hibridizacije nukleinskih kiselina komplementarnom virusu RNA; korištenje neradioaktivnih DIG-obilježivača PPV-a;
- enzimatska amplifikacija DNK-sekvence (putem PCR-metoda lančane reakcije polimeraze) i Immunocapture PCR – visoko osjetljivog testa za PPV. Alternative IC-PCR uključuju Print capture PCR, koji omogućuje detekcije virusa bez sitnjenja uzorka;
- direktan real-time PCR (drtPCR) može se koristiti za otkrivanje *Plum pox virusa* u uzorcima i ima značajnu i široku upotrebu.

8. MJERE ZAŠTITE

Ne postoje efikasne mjere zaštite u suzbijanju PPV-a, i ne postoji učinkovita kontrola i tretman ove bolesti u voćnjacima. Međutim, postoje značajne razlike u osjetljivosti između sorti koje se uzgajaju u zemljama gdje je infekcija široko rasprostranjena. Biološka kontrola kalemljenjem stabala s jako agresivnim sojevima nije bila tako uspješna na polju kao u kontroliranim uvjetima.

Ostale metode kontrole služe za proizvodnju zdravih biljaka za sadnju u okviru sistema certificiranja, kao što su suzbijanje lisnih ušiju, kao vektora redovnim tretmanom insekticidima, uklanjanje oboljelih stabala u voćnjacima. Ovakve metode se koriste za suzbijanje virusa Plum pox u mnogim zemljama.

Za voćnjake EPPO preporučuje šemu certificiranja koja uzima u obzir PPV. Otpornost na ovaj virus je ispitana i ovaj pristup pokazuje određene pozitivne rezultate i to u tradicionalnom uzgoju ili selekcijom putem transgenih metoda. Nove sorte šljive, kajsije, breskve, nektarine otporne na PPV su gajene ili izabrane s različitim tipovima ili mehanizmima otpornosti na ovaj virus. Studije otpornosti na PPV na kajsijama pokazale su da je otpornost pod jednostavnom genetičkom kontrolom koja uključuje jedan genski lokus.

Mnoge zemlje koriste karantenu kao metodu za sprečavanje unošenja ili širenja egzotičnih štetnih organizama (kao što je PPV) u regije ili zemlje gdje nisu prisutni štetni organizmi. Karantinska područja se postavljaju oko zaraženih voćnjaka ili kompletnih regija u zavisnosti od toga koliko je štetni organizam rasprostranjen (a rasprostranjenost se procjenjuje putem detekcijskih istraživanja). Osjetljivi sadni materijal se ne smije kretati van definiranih karantinskih regija, područja ili zona.

EPPO preporučuje da sav uvezni materijal koji je domaćin (osim sjemena) treba da potiče iz polja koja podliježu inspekciji u toku proizvodnje sadnog materijala. Ako je virus prisutan u zemlji koja izvozi sadni materijal, ova inspekcija se treba također odnositi na neposrednu blizinu polja, a materijal bi se trebao dobiti iz testiranih matičnih biljaka.

Ako sprečavanje unošenja bolesti u regiju bez štetnih organizama ne uspije, fokus strategije kontrole je uklanjanje patogena uklanjajući sva zaražena stabla. Kada se PPV pojavi u regiji na *Prunus* vrstama, vrlo ga je teško iskorijeniti. Suzbijanje uključuje redovan nadzor voćnjaka i rasadnika kao i uklanjanje, bez odgode, zaraženih stabala prije nego što se virus proširi.

POSEBAN NADZOR

Xylella fastidiosa
(Wells et al. 1987)



1. UVOD

Xylella fastidiosa je fitopatogena gram-negativna bakterija. Prenose je insekti-vektori, koji se hrane sadržajem ksilema. Ovaj patogen ima širok krug domaćina i uzrokuje niz značajnih bolesti kao što su: Pierceova bolest vinove loze, *Citrus variegated chlorosis*, *Oleander Leaf Scorch*, *Coffee Leaf Scorch*, *Plum Leaf Scorch*, *Phony peach disease*, *Almond leaf scorch*, *Alfalfa dwarf*). Simptomi bolesti nastaju zato što bakterija *X. fastidiosa* uzrokuje blokadu ksilema i na taj način onemogućava prijenos vode i mineralnih tvari iz korijena u druge dijelove biljke. Simptomi ovog štetnog organizma nisu isti za sve osjetljivo bilje domaćine. Pojavljuju se simptomi kao što su rubna palež listova, rubna nekroza, uvenuće listova i sušenje listova, odumiranje grana, kržljivost i eventualno uginuće biljke zbog jakih infekcija.

X. fastidiosa uzrokuje Pierceovu bolest vinove loze (*Vitis vinifera*), i smatra se glavnom preprekom u komercijalnoj proizvodnji vinove loze za gotovo sav jugoistočni dio SAD-a, gdje je patogen endem u prirodnoj vegetaciji. U ovom području obiluju vektori *X. fastidiosa*, a blage zime omogućuju opstanak bakterija. Posebno je značajano da temperature u proljeće i ljeto doprinose brzom razvoju bakterija. Pierceova bolest prouzrokuje ozbiljne lokalne štete naročito u Kaliforniji, zapadnom Teksasu, SAD-u i Meksiku.

Pierceova bolest, osim u SAD-u uzrokuje velike štete i u tropskoj Americi. Zbog klimatskih uslova ne javlja se u svim proizvodnim područjima vinove loze. Međutim, bolest se može dramatično proširiti unošenjem novih vektora, kao što je to slučaj u Kaliforniji sa cikadom (*Homalodisca coagulata*).

Kad je riječ o bolesti breskve, bakterija ne uzrokuje propadanje i uginuće stabala, ali značajno reducira broj i veličinu plodova. Analizom biofizičkih efekata na stablima breskve otkrilo se da je bolest uzrokovala značajne štete u jugoistočnom dijelu SAD-a 40-ih godina. Tada je oko 50% stabala u petogodišnjim voćnjacima bilo često napadnuto, a bolest je starije voćnjake u potpunosti zahvatila. Međutim, efikasne metode zaštite kontrole koje su danas dostupne (insekticidi, uništavanje zaraženih stabala, uklanjanje spontano rastućeg bilja domaćina koje se nalaze oko voćnjaka) omogućuju bolju kontrolu, osim u područjima gdje je prisustvo patogena vrlo visoko.

X. fastidiosa je izazvala značajne gubitke u Brazilu i Argentini zbog *Citrus variegated chlorosis*, a tokom 90-ih godina, zbog *Oleander Leaf Scorch* u Kaliforniji izazvala je smrtonosnu bolest oleandra.

U Brazilu je zabilježeno kojom brzinom se mogu širiti novi sojevi ove bakterije, koja uzrokuje *Citrus variegated chlorosis*.

Coffee Leaf Scorch je uzrokovao ogromne gubitke, posebno u nekim novijim usjevima kafe. Ima potencijal da postane novi značajan problem u regijama s velikim brojem insekata, koji se hrane sadržajem ksilema, a koji su mogući vektori.

U Brazilu i Paragvaju *Plum Leaf Scorch* uzrokuje uginuće cijelih voćnjaka u roku od nekoliko godina nakon prve pojave bolesti.

X. fastidiosa je bakterija koja je uključena u popis karantinskih štetnih organizama Evropske unije (Prilog IAI Direktive Vijeća 2000/29/EU) i predmet je Odluke o izvršenju 2015/789/EU, koja je modificirana Odlukom EU 2016/764.

U svijetu su službeno priznate četiri podvrste bakterije, a koje su u stanju da zaraze veliki broj biljaka domaćina (više od 150 biljnih vrsta, uključujući voćne, šumske i slobodno rastuće vrste).

Genetske studije provedene u Italiji u saradnji s vodećim svjetskim stručnjacima za *X. fastidiosa*, potvrdile su da je soj zaraženog materijala uzetog u Lecceu, kompleks brzog sušenja masline (*Complesso del disseccamento rapido dell'olivo – Co.Di.RO*, koji je poznat po engleskom nazivu kao *Olive quick decline complex*). Smatra se atipičnom podvrstom (*ssp. pauca*), čije je porijeklo vjerovatno identifikovano u Centralnoj Americi, preciznije u Kostariki. U tom pogledu, nedavno je Evropska komisija zabranila uvoz ukrasnog bilja kafe iz ove zemlje, za koji se kontrolom prilikom uvoza u EU ispostavilo da je zaražen ovom bakterijom.

2. BILJE DOMAĆINI

X. fastidiosa je otkrivena na brojnim biljkama koje se smatraju domaćini i koje su navedene u prilogu 1. Provedbene odluke 2015/789/EU (Aneks I).

Soj Co.Di.R.O. otkriven u Italiji je do sada pronađen na sljedećim vrstama: *Acacia saligna*, *Catharanthus*, *Myrtus*, *Nerium oleander*, *Olea europaea*, *Polygala myrtifolia*, *Prunus avium*, *Prunus dulcis*, *Rhamnus alaternus*, *Rosmarinus officinalis*, *Spartium junceum*, *Vinca*, *Westringia fruticosa*. Ovom spisku su nedavno dodati i *Asparagus acutifolius*, *Cistus creticus*, *Euphorbia Terracina*, *Grevillea juniperina* i *Westringia glabra*.

Za rod *Quercus*, koji je prvobitno proglašen kao mogući domaćin soja Co.Di.R.O., kasnije se uspostavilo da nije zaražen ovim sojem bakterije.

3. SIMPTOMI BOLESTI

3.1. Tipični simptomi

Tipični simptomi *X. fastidiosa* su: manje-više prošireno sušenje dijelova vrhova lista, koje može pogoditi prije svega nekoliko grana krošnje, a zatim cijele grane ili, u teškim slučajevima, cijelu biljku.

U zavisnosti od soja bakterija i domaćina, mogu se uočiti drugi simptomi zaraze kao što su smanjen rast grana i izdanaka, crnilo unutrašnjeg dijela grana i debla, kao i promjene boje na listovima.

3.1.1. Simptomi na vinovoj lozi

Karakterističan simptom primarne zaraze na vinovoj lozi je pojava lisne paleži. Rani znakovi infekcije su iznenadno odumiranje dijelova lisne površine. Oboljelo tkivo tamni i nekrotizira, dok susjedno tkivo postaje žuto ili crveno. Sušenje se proširi na cijeli list, koji opada, dok peteljka ostaje pričvršćena za lastar. Zaraženi lastari često neravnomjerno sazriju i odrvenjavaju, s pojavom smeđih i zelenih mrlja na tkivu. U narednim godinama zaražene biljke se razvijaju kasno i proizvedu zakržljale klorotične lastare. Hronično zaražene biljke mogu imati male, iskrivljene listove s klorozom između nerava, kao i lastare sa skraćenim internodijama. Izuzetno osjetljive sorte rijetko prežive više od 2–3 godine, bez obzira na

znakove oporavka na početku druge vegetacije. Mlađe biljke vinove loze uginu brže nego starije. Otpornije sorte mogu preživjeti hronične zaraze više od pet godina.



Simptomi *Xylella fastidiosa* na vinovoj lozi
(izvor: http://www.pdgwss.net/Board_Info/FAQs.htm)

3.1.2. Simptomi na citrusima

Stabla mogu ispoljavati simptome šarolike kloroze počevši od mladih biljaka u rasadnicima, pa sve do onih koje su stare više od deset godina. Mlađa stabla (1–3 godine) bivaju sistemski napadnuta *X. fastidiosom* i to mnogo brže nego starija stabla. Stabla stara više od 8–10 godina obično nisu u potpunosti zaražena, već ispoljavaju simptome na krajevima grana. Na zaraženim stablima simptomi se manifestiruju u vidu kloroze listova, koja liči na nedostatak cinka (kloroza između nerava lista). Kloroza se javlja na mladim listovima tokom njihovog progresivnog rasta i razvoja i može se pojaviti i na starijim listovima. Novozaražena stabla ispoljavaju simptome na pojedinim područjima, dok stabla koja su zaražena duže vrijeme ispoljavaju šarolike kloroze širom krošnje. Sazrijevanjem lista, na njegovoj donjoj strani pojavljuju se male, svjetlosmeđe, blago podignute gumenaste ranice, koje postaju tamnosmeđe ili čak nekrotične. Locirane su neposredno nasuprot žutih klorotičnih područja na gornjoj strani lista.



Simptomi *Xylella fastidiosa* na citrusima
(Izvor: <http://www.forestryimages.org>)

3.1.3. Simptomi na maslini

Simptomi bolesti *Olive quick decline complex* su: rasprostranjeno sušenje krošnje (koje se može prvo javiti na granama ili nasumično na krošnji i koje se u kratkom vremenskom periodu proširi na cijelu biljku), prošireno tamnilo drvenastog tkiva na različitim razinama i sušenje listova u gornjem i/ili marginalnom dijelu (palež).



Simptomi *Xylelle fastidiose* na maslinama
(Foto: Službe za zaštitu zdravlja bilja pokrajine Apulije)

3.1.4. Simptomi na oleandaru

Oleandri su mnogo manje osjetljivi na *X. fastidiosu* od maslina. Može se uočiti da su oleandri koji se nalaze u neposrednoj blizini maslina zaraženi sojem *Olive quick decline complex* i ispoljavaju žutilo i sušenje listova (naročito duž ruba lista, dok centralni dio lista ostaje zelen).

3.1.5. Simptomi na kafi

Na biljkama kafe koje se uzgajaju kao ukrasno bilje primijećena je palež na listovima. Ovi simptomi su primjetni na vrhovima listova i po cijelom listu



Simptomi *Xylella fastidiosa* na oleandru
(Foto: Službe za zaštitu zdravlja bilja pokrajine Apulije)



Simptomi *Xylella fastidiosa* na kafi
(Foto: Službe za zaštitu zdravlja bilja pokrajine Lombardije)

3.1.6. Simptomi na breskvama

Mladi izdanci zakrčljaju i imaju zelenije, gušće listove (zbog kraćih internodija) u odnosu na zdrava stabla. Bočne grane rastu horizontalno ili opadaju, tako da stablo izgleda homogeno, kompaktno i okruglo. Listovi i cvjetovi javljaju se rano. Listovi ostanu na stablu duže nego na zdravim stablima. Zaražena stabla daju sve manje plodova, a nakon 3–5 godina postaju ekonomski bezvrijedna.



Simptomi *Xylella fastidiosa* na bademu
(Slika Službe za zaštitu zdravlja bilja pokrajine Apulije)



Simptomi *Xylella fastidiosa* na trešnji
(Slika Službe za zaštitu zdravlja bilja pokrajine Apulije)

3.2. Mogućnost zamjene *X. fastidiosa* s drugim štetnim organizmima

Budući da su simptomatske manifestacije *X. fastidiosa* nespecifične, mogu se zamijeniti onim uzrokovanim drugim bolestima provodnih sudova (kao što su naprimjer one uzrokovane *Verticillium* spp.).

4. NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA

X. fastidiosa se na manje udaljenosti širi insektima-vektorima, koji pripadaju redu *Hemiptera*, podreda *Cicadomorpha* (porodice *Cicadellidae* i *Aphrophoridae*). Vektori se mogu prenijeti između različitih država na plodovima i živim biljkama vinove loze, breskve, citrusa ili drugih biljaka domaćina. *X. fastidiosa* se na veće udaljenosti može prenijeti i sadnim materijalom biljaka domaćina.

4.1. Vektori

U Kalifornijskim vinogradima *Homalodisca vitripennis* (*H. coagulata*), *Carneocephala fulgida*, *Draeculacephala minerva* i *Graphocephala atropunctata* smatraju se najvažnijim vektorima Pierceove bolesti. U brazilskim voćnjacima citrusa *Acrogonia terminalis*, *Dilobopterus costalimai*, *Oncometopia fascialis* smatraju se najvažnijim vektorima *Citrus variegated cholorisis*. Smatra se da su gotovo svi insekti koji sisaju i hrane se sadržajem ksilema, potencijalni vektori ove bakterije.



Vektor *Xylelle astidiose*, odrasli (A) i mladi (B) stadij

Sa sokom drvenastih sudova insekti usvajaju i bakterije koje opstaju i razmnožavaju se u u glavi insekta, odnosno u prednjem dijelu jednjaka insekta kako bi se ponovo prenijele na nove biljke tokom narednog sisanja. Nakon što usvoje bakteriju hraneći se zaraženim biljkama, ovi insekti se mogu kretati i hraniti na različitim biljnim vrstama (divljim i uzgajanim biljkama), prenoseći bakterije. Svako prenošenje ne dovodi do zaraze *X. fastidiosom*. Samo u slučaju da je biljka primalac osjetljiva, bakterija će biti u mogućnosti da se razmnoži i proširi, formirajući kolonije koja mogu ostati latentne u inficiranim biljkama, odnosno izazvati simptomatsku bolest.

U Italiji je dokazano da se soj Co.Di.RO prenosi livadska pjenuša (*Philaenus spumarius*). Također su *Neophilaenus campestris* i *Euscelis lineolatus* sposobne da usvoje bakteriju iz zaražene biljke, ali za ove dvije vrste nije dokazana sposobnost prenošenja bakterije. Samo prisustvo *X. fastidiosa* u probavnom sistemu insekta nije dovoljno da bi se insekt smatrao vektorom. Jedino bi konkretna ispitivanja mogla pokazati da je specifični insekt vektor. Još su u toku dalja potrebna istraživanja kako bi se dokazalo postojanje drugih vektora *X. fastidiose*.

5. VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

S ciljem otkrivanja bolesti, neophodno je obavljati inspekcije tokom sezone rasta, kada su simptomi vidljivi. Period nadzora ovisi o vrsti domaćina koji se prati, kao i o geografskoj lokaciji.

5.1. Smjernice za vizuelne inspekcije

Vizuelne inspekcije imaju za cilj prepoznavanje simptoma.

Moraju se vršiti:

- u proizvodnim rasadnicima bilja domaćina (npr. rasadnicima matičnih biljaka vinove loze, maslina, *Prunus* i *Quercus*);
- u vrtovima koji uvoze iz trećih zemalja, pridavajući posebnu pažnju ukrasnom bilju kafe porijeklom iz Kostarike i Hondurasa;
- u maslinicima, pridajući posebnu pažnju mladim biljkama koje potječu iz sadnog materijala iz trećih zemalja;
- vinogradima, pridajući posebnu pažnju mladim biljkama koje potječu iz sadnog materijala iz trećih zemalja;
- u voćnjacima *Prunus* spp. pridavajući posebnu pažnju mladim biljkama koje potječu iz sadnog materijala iz trećih zemalja.

Kada je riječ o vinogradima, moguće je u isto vrijeme vršiti nadzor *X. fastidiose* i žutila vinove loze, kao i nadzor *Prunusa* na PPV.

Biljke moraju biti pregledane pojedinačno. Prikupljanje podataka o nadzoru voćnjaka mora omogućiti izvještavanje o broju biljaka (i/ili broju parcela), kao i o broju pregledanih hektara.

Biljke trebaju imati referencu za lokaciju ili biti označene putem GPS-a ili katastra.

Mora se uzeti uzorak svake biljke kod koje su se uočili simptomi, a uzorci se moraju dostaviti u laboratoriju za analizu. U nekim slučajevima, kao npr. za materijal porijeklom iz trećih zemalja na kojem je moguće prisustvo *X. fastidiose*, preporučuje se nasumično uzimanje uzoraka materijala bez simptoma, pridavajući posebnu pažnju vrstama s najvećim rizikom kao što su kafa, maslina i vinova loza.

5.2. Smjernice za uzimanje uzoraka sa simptomima

Obzirom na epidemiologiju *X. fastidiose* moguće je uraditi i dvije kontrole bakterije u toku sezone rasta. Posebno je korisno obavljati pregled u proljeće/ ljeeto i jesen.

- Ako su simptomi vidljivi samo na nekim listovima kompletne biljke, uzeti uzorak s najmanje deset listova.

- U slučaju manjeg broja simptoma (vrlo male biljke ili biljke koje sporo rastu) dobro je kontaktirati laboratoriju i dogovoriti se o načinu uzimanja uzorka.
- Ako su simptomi uočljivi na gotovo cijeloj biljci, ili na nekim granama biljke, sakupiti grane na kojima se nalaze i zeleni (ili djelomično zeleni) i osušeni listovi – ovaj korak je ključan za eventualno otkrivanje prisutnosti organizma.
- Moguće je uzeti uzorak koji se sastoji od maksimalno tri biljke, ali s istim simptomima. Te biljke treba da se nalaze jedna do druge i trebaju biti iste sorte.
- Biljke iz kojih su uzeti uzorci trebaju biti obilježene službenom trakom i/ili sprejem za brzu i preciznu identifikaciju. Korisno je također uzeti geografske koordinate putem GPS-a kako bi se omogućio lakši povratak na istu lokaciju i obrađivanje podataka u slučaju pozitivnog rezultata.
- Uzorak se treba uzeti pomoću dobro dezinficiranog alata (dezinficiranje plamenom ili potapanjem u rastvore kvaternernih amonijačnih soli).
- Svaki uzorak koji je uzeo fitosanitarni inspektor ili drugo ovlašteno lice mora biti primljen u laboratoriju sa zapisnikom o inspekciji i uzimanju uzoraka.
- Čuvati uzorak u ručnom frižideru kako bi ostao svjež (ali izbjegavati zamrzavanje).
- Poslati uzorak u laboratoriju u roku od 24 sata nakon uzimanja uzorka, putem kurira ili brzom poštom, koristeći posude sa stiroporom i led kako bi se spriječilo propadanje uzorka.
- U slučaju da uzorak ne može biti isporučen unutar narednog dana od dana uzimanja uzorka, sačuvati vrećicu u frižideru. Ovaj način čuvanja materijala ne samo da omogućuje čuvanje materijala za analizu nego je i koristan u slučaju da se u uzorku nalaze i insekti (koji bi se u laboratoriji tokom otvaranja mogli rasuti).

5.3. Smjernice za prikupljanje uzoraka bez simptoma

Ako nema simptoma bolesti, dobro je uzeti uzorak kao preventivnu mjeru. U slučaju da se mora uzeti uzorak jedne biljke, uzorak se može sastojati od:

- nasumičnih listova iz cijele krošnje koji bi formirali uzorak od najmanje deset listova;
- nekoliko nasumično uzetih grana koje imaju više listova (minimalno deset) – prvenstveno mladih.

U slučaju da se uzorci moraju uzeti u područjima gdje postoji više biljaka, moguće je uzeti uzorak koji se sastoji od maksimalno tri biljke (uzimajući nasumično listove i grane, kao što je prethodno navedeno). Uzorak se mora sastojati od biljaka iste sorte koje se nalaze na istoj parceli.

Dobro je također označiti na vrećici ili na zapisniku da je uzorak “zbirni uzorak”.

Broj uzetih uzoraka ovisi o broju biljaka i sorti.

5.4. Smjernice za praćenje vektora

Monitoring *X. fastidiosa* putem kontrole vektora vrlo je koristan u slučaju detekcijskog praćenja na području koje se i dalje smatra slobodnim od bakterija. Period monitoringa: maj-oktobar. Kulture za koje se preporučuje monitoring su: vinova loza, maslina i voćnjaci *Prunus* spp.

Inicijalno se mogu identifikovati najmanje pet značajnih parcela unutar zone gdje se nalazi vinova loza/ maslina kako bi se postavile zamke u boji za praćenje *Philaenus spumarius*, koji je mogući vektor *X. fastidiosa*. Postaviti zamke tačno ispod vegetacije, obraćajući pažnju da se izbjegne kontakt s deblima (kako bi se spriječilo njihovo prljanje).

U svakoj parceli postaviti četiri žute ljepljive zamke 40 x 25 cm: dvije u centru parcele i dvije na granici s neobrađenim područjima. Zamijeniti zamke svakih 15–20 dana, koristeći 40-ak zamki mjesečno. Označiti GPS-tačku u svakoj kontrolnoj zoni (naziv). Svaka zamka mora biti označena jedinstvenim kodom: (npr. Xylella_ime kompanije_redni br.). Za svaku prikupljenu zamku navesti: broj, datum stavljanja zamke u polje i datum uzimanja uzorka. Zamotati prikupljene zamke u prozirnu foliju i čuvati na hladnom i suhom mjestu. Zamke treba poslati u laboratoriju u roku od 24 sata nakon prikupljanja, putem kurira ili brzom poštom.

Ovaj monitoring omogućava prepoznavanje vrste cikada prisutnih u kulturama s najvećim rizikom i vršeći analizu DNK-a prikupljenih cikada može se isključiti prisustvo bakterije.

6. PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA

Uzorci moraju stići u laboratoriju u dobrom stanju, u zatvorenim i označenim vrećicama i u pratnji odgovarajuće dokumentacije. Tokom perioda registracije uzoraka na polju vrećica se mora dobro pregledati da bi se ustanovila eventualna prisutnost letećih insekata.

Vrećice koje eventualno sadrže insekte moraju se zatvoriti čvorom i odvojiti od ostalih uzoraka. Rukovati oprezno s ovakvom vrstom uzoraka.

Tokom transporta do laboratorije temperatura uzorkovanog materijala ne smije preći 4°C.

Za višegodišnje drvenaste vrste uzorkovano tkivo koje se treba uzeti za pripremu uzoraka za analizu sastoji se od peteljki, rebara i bazalnih dijelova plojke lista koji se uzmu sa zrelih listova.

Za zeljaste vrste mogu se uzeti dijelovi stabljike, mali listovi, glavna rebra donjih listova.

7. MJERE ZAŠTITE

7.1. Preventivne mjere

7.1.1. Fitosanitarni propisi i fitosanitarne mjere

X. fastidiosa je karantenska bolest u većini zemalja i, prema tome, pošiljke bilja ili dijelova bilja koji mogu biti domaćin *X. fastidiose* su pod strogim propisima. Ovi propisi zahtijevaju da se samo zdravo bilje proizvedeno u zdravom okruženju može izvoziti. Na nivou Evropske unije, i rod i vrsta podvrgnuta je karantenskoj regulativi za *X. fastidiosu* navedenoj u Prilogu I.

7.1.2. Agrotehničke mjere

Proizvodnja u voćnjacima (maslina, vinova loza i *Prunus* spp.) mora se voditi u skladu sa dobrom poljoprivrednom praksom, s posebnim osvrtom na navodnjavanje, koje je neophodno za poboljšanje vegetacijskog stanja.

Mehanička obrada tla (frezanje) ili uništenje korova herbicidima u voćnjacima/ vinogradima/ zasadama maslinicima u periodu prisustva mladih oblika vektora smanjuju fitosanitarni rizik prenosa bakterije.

7.1.3. Otpornost biljaka domaćina

Upotreba otpornih biljaka je bez sumnje najbolje rješenje za suzbijanje zaraze. Trenutno postoje otporne sorte za citrusu, ali ne i za vinovu lozu, *Olea* i *Prunus*.

7.1.4. Nadzor i monitoring s ciljem otkrivanja

Pravilno i efikasno provođenje monitoringa (vidjeti tačku 5).

7.2. Direktne mjere zaštite

Ne postoje metode zaštite direktno efikasne u borbi protiv *X. fastidiose*.

7.2.1. Mjere suzbijanja

U slučaju otkrivanja zaraženih biljaka unutar lota pronađenog tokom kontrole pri uvozu: potpuno uništiti lot.

U slučaju otkrivanja zaraženog bilja u rasadniku: uništiti cijeli zaraženi lot, provjeriti prisutnost vektora i primijeniti tretman insekticidima. Izvršiti testiranje na drugim biljkama domaćinima, kao i biljaka bez simptoma u cilju provjere njihovog zdravstvenog stanja.

U slučaju otkrivanja zaraženog bilja u voćnjaku/ vinogradu: uništiti zaraženo bilje i uništiti svo bilje bez simptoma koje se nalaze u krugu od 100 m. Provjeriti prisutnost vektora i primijeniti tretman s insekticidima.

U slučaju otkrivanja zaraženog bilja u javnim parkovima i/ili privatnim vrtovima: uništiti zaraženo bilje, uništiti svo bilje bez simptoma koje se nalaze u krugu od 100 m. Provjeriti prisutnost vektora i primjeniti tretman s insekticidima.

Zaraženo bilje može se uništiti spaljivanjem ili potpunim iskorjenjenjem iz tla.

7.2.2. Agrotehničke mjere

U slučaju prisutnosti zaraženog bilja, materijal orezivanja se može koristiti kao biomasa nakon što se isuši na licu mjesta, samelje/ isjecka na licu mjesta i distribuira se, te se može zakopati u polju.

S ciljem kontrole vektora u periodu prisustva mladih oblika cikada koje se obično pozicioniraju na zeljasto bilje, obaviti mehaničke operacije eliminisanja divljih biljaka (frezanje i mljevenje).

7.2.3. Hemijske mjere

Značajna mjera je suzbijanje insekata-vektora korištenjem specifičnih insekticida u fazi nimfe kao i u fazi imaga.

7.2.4. Biološke mjere

Trenutno ne postoje poznate i efikasne metode biološke zaštite.

7.3. Informativna kampanja

Treba maksimalno proširiti svijest o opasnosti ovog organizma, o prepoznavanju simptoma i o tehnikama za borbu protiv ovog organizma, kao i o prevenciji (s ciljem upoznavanja stručnjaka i građana o rizicima i mjerama koje treba poduzeti u slučaju zaraze).

U slučaju potvrđenog prisustva *X. fastidiosa* trebali bi se provesti programi obuke s ciljem obučavanja operatera i građana.

PRILOG I – SPISAK BILJAKA DOMAĆINA

- Acacia longifolia* (Andrews) Willd.
Acacia saligna (Labill.) H. L. Wendl.
Acer
Aesculus
Agrostis gigantea Roth
Albizia julibrissin Durazz.
Alnus rhombifolia Nutt.
Alternanthera tenella Colla
Amaranthus blitoides S. Watson
Ampelopsis arborea (L.) Koehne
Ampelopsis cordata Michx.
Artemisia douglasiana Hook.
Artemisia arborescens L.
Artemisia vulgaris var. *heterophylla* (H.M. Hall & Clements) Jepson
Avena fatua L.
Baccharis halimifolia L.
Baccharis pilularis DC.
Baccharis salicifolia (Ruiz & Pav.)
Brachiaria decumbens (Stapf)
Brachiaria plantaginea (Link) Hitchc.
Bidens pilosa L.
Brassica
Bromus diandrus Roth
Callicarpa americana L.
Capsella bursa-pastoris (L.) Medik.
Carex
Carya illinoensis (Wangenh.) K. Koch
Cassia tora (L.) Roxb.
Catharanthus
Celastrus orbiculata Thunb.
Celtis occidentalis L.
Cenchrus echinatus L.
Cercis canadensis L.
Cercis occidentalis Torr.
Chamaecrista fasciculata (Michx.) Greene
Chenopodium quinoa Willd.
Chionanthus
Chitalpa tashkinensis T. S. Elias & Wisura
Citrus
Coelorachis cylindrica (Michx.) Nash
Coffea
Commelina benghalensis L.
Conium maculatum L.
Convolvulus arvensis L.
Conyza canadensis (L.) Cronquist
Coprosma repens A. Rich.
Cornus florida L.
Coronilla valentina L.
Coronopus didymus (L.) Sm.
Cynodon dactylon (L.) Pers.
Cyperus eragrostis Lam.
Cyperus esculentus L.
Cytisus scoparius (L.) Link
Datura wrightii Regel
Digitaria horizontalis Willd.
Digitaria insularis (L.) Ekman
Digitaria sanguinalis (L.) Scop.
Disphania ambrosioides (L.) Mosyakin & Clemants
Duranta erecta L.
Echinochloa crus-galli (L.) P. Beauv.
Encelia farinosa A. Gray ex Torr.
Eriochloa contracta Hitchc.
Erodium
Escallonia montevidensis Link & Otto
Eucalyptus camaldulensis Dehnh.
Eucalyptus globulus Labill.
Eugenia myrtifolia Sims
Euphorbia hirta L.
Fagopyrum esculentum Moench
Fagus crenata Blume
Ficus carica L.
Fragaria vesca L.
Fraxinus americana L.
Fraxinus dipetala Hook. & Arn.
Fraxinus latifolia Benth.
Fraxinus pennsylvanica Marshall
Fuchsia magellanica Lam.
Genista monspessulana (L.) L. A. S. Johnson
Genista x spachiana (syn. *Cytisus racemosus* Broom)
Geranium dissectum L.
Ginkgo biloba L.
Gleditsia triacanthos L.
Hedera helix L.
Helianthus annuus L.

Hemerocallis
Heteromeles arbutifolia (Lindl.) M. Roem.
Hibiscus schizopetalus (Masters) J.D.
Hooker
Hibiscus syriacus L.
Hordeum murinum L.
Hydrangea paniculata Siebold
Ilex vomitoria Sol. ex Aiton
Ipomoea purpurea (L.) Roth
Iva annua L.
Jacaranda mimosifolia D. Don
Juglans
Juniperus ashei J. Buchholz
Koeleria bipinnata Franch.
Lactuca serriola L.
Lagerstroemia indica L.
Lavandula dentata L.
Lavandula stoechas L.
Ligustrum lucidum L.
Lippia nodiflora (L.) Greene
Liquidambar styraciflua L.
Liriodendron tulipifera L.
Lolium perenne L.
Lonicera japonica (L.) Thunb.
Ludwigia grandiflora (Michx.) Greuter &
 Burdet
Lupinus aridorum McFarlin ex Beckner
Lupinus villosus Willd.
Magnolia grandiflora L.
Malva
Marrubium vulgare L.
Medicago polymorpha L.
Medicago sativa L.
Melilotus
Melissa officinalis L.
Metrosideros
Metrosideros excelsa Sol ex Gaertn
Modiola caroliniana (L.) G. Don
Montia linearis (Hook.) Greene
Morus
Myrtus communis L.
Nandina domestica Murray
Neptunia lutea (Leavenw.) Benth.
Nerium oleander L.
Nicotiana glauca Graham
Olea europaea L.
Origanum majorana L.
Parthenocissus quinquefolia (L.) Planch.
Paspalum dilatatum Poir.
Persea americana Mill.
Phoenix reclinata Jacq.
Phoenix roebelenii O'Brien
Pinus taeda L.
Pistacia vera L.
Plantago lanceolata L.
Platanus
Pluchea odorata (L.) Cass.
Poa annua L.
Polygala myrtifolia L.
Polygala x grandiflora nana
Polygonum arenastrum Boreau
Polygonum lapathifolium (L.) Delarbre
Polygonum persicaria Gray
Populus fremontii S. Watson
Portulaca
Prunus
Pyrus pyrifolia (Burm. f.) Nakai
Quercus
Ranunculus repens L.
Ratibida columnifera (Nutt.) Wooton &
 Standl.
Rhamnus alaternus L.
Rhus
Rosa californica Cham. & Schldl.
Rosa x floribunda
Rosmarinus officinalis L.
Rubus
Rumex crispus L.
Salix
Salsola tragus L.
Salvia apiana Jeps.
Salvia mellifera Greene
Sambucus
Sapindus saponaria L.
Schinus molle L.
Senecio vulgaris L.
Setaria magna Griseb.
Silybum marianum (L.) Gaertn.
Simmondsia chinensis (Link) C. K.
 Schneid.
Sisymbrium irio L.
Solanum americanum Mill.
Solanum elaeagnifolium Cav.
Solanum lycopersicum L.
Solanum melongena L.
Solidago fistulosa Mill.

Solidago virgaurea L.
Sonchus
Sorghum
Spartium junceum L.
Spermacoce latifolia Aubl.
Stellaria media (L.) Vill
Tillandsia usneoides (L.) L.
Toxicodendron diversilobum (Torr. & A.
Gray) Greene
Trifolium repens L.
Ulmus
Umbellularia californica (Hook. & Arn.) Nutt.

Urtica dioica L.
Urtica urens L.
Vaccinium
Verbena litoralis Kunth
Veronica
Vicia faba L.
Vicia sativa L..
Vinca
Vitis
Westringia fruticosa (Willd.) Druce
Xanthium spinosum L.
Xanthium strumarium L.

PRILOG II - SPISAK BILJAKA DOMAĆINA ZA SPECIFIČNE SOJEVE

Biljke domaćini za koje je otkriveno da su osjetljive na *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex*:

<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	<i>Lavandula dentata</i> L.
<i>Artemisia arborescens</i> L.	<i>Lavandula stoechas</i> L.
<i>Asparagus acutifolius</i> L.	<i>Myrtus communis</i> L.
<i>Cistus monspeliensis</i> L.	<i>Pelargonium graveolens</i> L'Hér
<i>Cistus salviifolius</i> L.	<i>Polygala myrtifolia</i> L.
<i>Coronilla valentina</i> L.	<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh.
<i>Genista x spachiana</i> (syn. <i>Cytisus racemosus</i> Broom)	<i>Quercus suber</i> L.
<i>Genista ephedroides</i> DC.	<i>Rosa x floribunda</i>
<i>Hebe</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	<i>Spartium junceum</i> L.

Biljke domaćini za koje je otkriveno da su osjetljive na *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*:

<i>Acacia saligna</i> (Labill.) Wendl.	<i>Nerium oleander</i> L.
<i>Asparagus acutifolius</i> L.	<i>Olea europaea</i> L.
<i>Catharanthus</i>	<i>Polygala myrtifolia</i> L.
<i>Cistus creticus</i> L.	<i>Prunus avium</i> (L.) L.
<i>Dodonaea viscosa</i> Jacq.	<i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D.A. Webb
<i>Euphorbia terracina</i> L.	<i>Rhamnus alaternus</i> L.
<i>Grevillea juniperina</i> L.	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.
<i>Laurus nobilis</i> L.	<i>Spartium junceum</i> L.
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	<i>Vinca</i>
<i>Myrtus communis</i> L.	<i>Westringia fruticosa</i> (Willd.) Druce
<i>Myoporum insulare</i> R. Br.	<i>Westringia glabra</i> L.

Biljke domaćini za koje je otkriveno da su osjetljive na nekoliko podvrsta *Xylella fastidiosa*:

Coffea

POSEBAN NADZOR

Zlatna žutica vinove loze

Flavescence Dorée

Candidatus Phytoplasma vitis

i

Stolbur

Bois Noir

Candidatus Phytoplasma solani

1. UVOD

Kada se govori o žutilu vinove loze (*Grapevine Yellow*s – GY), misli se na bolesti vinove loze prouzrokovane fitoplazmama (mikroorganizmima s karakteristikama koje ih grupišu s virusima i bakterijama). Fitoplazme (MLO-mikoplazmama slični organizmi) nemaju ćelijskog zida, istih su dimenzija kao virusi, nisu pokretljive, ne mogu živjeti bez biljaka domaćina i šire se putem insekata vektora (naročito cikada).

Vinovu lozu pogađaju dvije osnovne vrste žutila: Flavescence Dorée (FD) – zlatna žutica vinove loze (zlatasto žutilo vinove loze) i Bois Noir (BN) – Stolbur, dvije bolesti koje imaju slične simptome, ali se međusobno razlikuju u načinu prenošenja bolesti, po insektima vektorima, životnom ciklusu i biljkama domaćinima. Kako bi se utvrdilo koja od ove dvije bolesti je u pitanju, moraju se provesti laboratorijska ispitivanja molekularnog tipa koja identifikuju patogene putem DNK-analize.

2. BILJE DOMAĆINI

Fitoplazma zlatne žutice vinove loze je obično vezana za rod *Vitis*, naročito vrstu vinovu lozu (*Vitis vinifera*). Pronađena je i na vrstama divlja pavitina (*Clematis vitalba*), joha (*Alnus glutinosa*), bob (*Vicia faba*) i ljetna krizantema (*Chrysanthemum carinatum*).

Fitoplazma Bois Noir osim na *Vitis vinifera* također je prisutna i na *Convolvulus arvensis*, *Solanum nigrum* i *Urtica dioica*.

3. SIMPTOMI BOLESTI

3.1. Tipični simptomi

Ispoljavanje simptoma varira ovisno o osjetljivosti sorte vinove loze. Među najosjetljivijim crnim sortama nalaze se: Barbera, Pinot Noir, Cabernet Franc, Lambrusco i Sangiovese. Među bijelim sortama su: Chardonnay, Pinot Grigio i Trebbiano.

Simptomi se ispoljavaju različito na istoj biljci i mogu biti prisutni i varirati na čitavom trsu i na pojedinačnim mladicama. Simptomi također mogu varirati iz godine u godinu.

Prvi simptomi zlatne žutice vinove loze javljaju se početkom ljeta, ali se već u proljeće mogu uočiti prvi znakovi s kasnim rastom mladica ili se rast mladica zaustavlja. Uz napredovanje vegetacije simptomi su intenzivniji i dostižu maksimum tokom kasnog ljeta.

3.1.1. Simptomi na početku vegetacije:

- Usporen rast mladica
- Prevelika proizvodnja vegetativnih klica
- Rast mladica sa skraćenim internodijama

- Kraći listovi
- Skraćeni internodiji koji često imaju cik-cak oblik
- Mjehurasti listovi s prištovima zbog smanjenog razvoja rebara
- Uvijanje plojke mladih listova prema naličju
- Sušenje vrhova mladica

3.1.2. Simptomi tokom ljeta:

Simptomi se ispoljavaju već početkom ljeta, ali se s vremenom pojačavaju, da bi bili potpuno uočljivi na kraju sezone. Simptomi su jasno vidljivi od fenološke faze zametanja ploda pa nadalje i dostižu vrhunac sa sazrijevanjem vinove loze. Patogen može prouzrokovati samo djelimična oštećenja, odnosno oštećenja samo nekih dijelova biljke, listova ili grozda. Simptomi vidljivi na različitim dijelovima biljke su dole navedeni.

Cvjetovi, mladi grozd:

Sušenje cvjetova ili grozda za vrijeme zametanja plodova.

Listovi:

- Crvenilo (crnih sorti) ili žutilo (bijelih sorti) plojke lista i rebara kompletnog lista
- Crvenilo ili žutilo dijelova lista između žila
- Uvijanje ivica listova prema naličju, zajedno s listom koji zadobije trokutasti oblik
- Nekroza žila, zajedno s dijelovima lista oko žila
- Gubitak elastičnosti lista, skraćenje i zadebljanje plojke lista s prištovima, koja na dodir ima teksturu papira i postane mrvljiv
- Smanjenje ugla spoja peteljke u list



Simptomi zlatne žutice vinove loze crne sorte



Simptomi zlatne žutice vinove loze bijele sorte

Grozdovi:

- Potpuno ili parcijalno sušenje, uključujući sušenje peteljke
- Potpuno ili parcijalno uvenuće
- Neuspješno sazrijevanje cijelog ili jednog dijela grozda

Izdanci:

- Skraćeni izdanci
- Slabo držanje, savitljivost, padanje
- Neuspješna ili nepravilna lignifikacija (odrvnjavanje); mladice poprimaju gumenu, a ponekad i spužvastu teksturu
- Pojava malih crnih pustula (koje izgledaju masne na bazi izdanka, kao i unutar izdanka).

3.2. Mogućnost zamjene zlatne žutice sa drugim štetnim organizmima i abiotkim faktorima

Simptomi zlatne žutice vinove loze su slični simptomima koje uzrokuju drugi štetni organizmi ili abiotki faktori. Zasebno analizom pojedinačnih simptoma, kao i kompletnom analizom svih simptoma skoro uvijek se može odrediti korektna dijagnoza. Iz tog razloga dobra je praksa ne određivati dijagnozu na osnovu jednog elementa, iako upečatljivog, već pokušati provjeriti konvergenciju mnogih mogućih simptoma, uključujući i one koji su u prethodnom tekstu pojedinačno opisani.

3.2.1. Uvijanje listova (uvijenosti lista vinove loze pridružen virus - *Grapevine Leaf Roll associated Virus*)

Uvijanje listova je virusna bolest koja se širi putem sadnog materijala, a čiji su vektori neke vrste štitastih ušiju.

Listovi zaraženih biljaka ispoljavaju preranu promjenu boje između avgusta i septembra s vidljivim crvenilom na crnim sortama vinove loze i žutilom na bijelim sortama (dok žile ostaju zelene). Promjene boje prati uvijanje plojke lista prema naličju lista.

Suprotno onome što se događa sa zlatnom žuticom vinove loze, promjena boje je vezana samo za dijelove plojke između rebara plojke, dok žile ostaju zelene. Osim toga, ovaj fenomen zahvata svo zrelo lišće kompletne biljke. Lignifikacija/ prelazak u drvo lastara je kompletna i ne dolazi do primjetnih promjena na nivou grozdova.



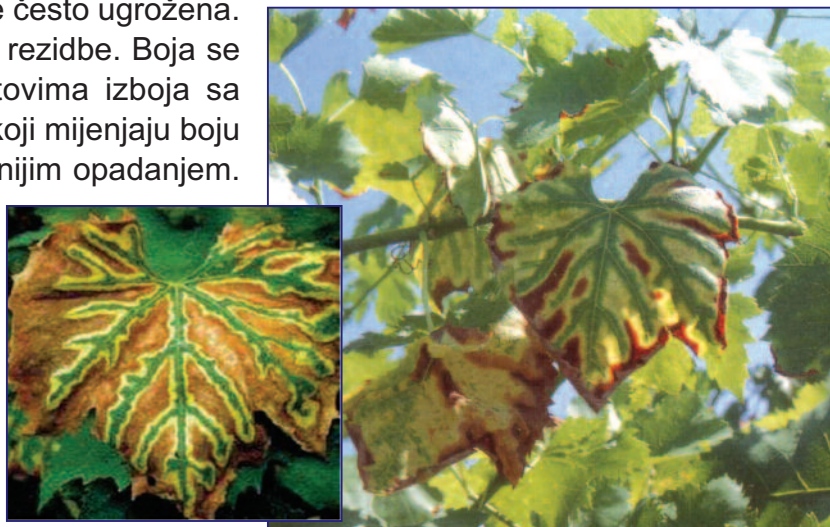
Simptomi prouzrokovani *Grapevine Leaf Roll associated virusom*

3.2.2. *Esca* (Apoplektično venuće vinove loze)

Apoplektično venuće vinove loze „eska“ je bolest kod koje je jedan od simptoma unutrašnje truljenje srži trsa koje uzrokuje patogena gljiva i u svom hroničnom obliku (postoji i apoplektični oblik s iznenadnim uginućem biljke) izaziva na nivou plojke listova karakteristične promjene boje između žila na listovima kompletne biljke, ili samo na jednom njenom dijelu.

Proizvodnja vinove loze je često ugrožena. Bolest se može prenijeti putem rezidbe. Boja se uglavnom mijenja na svim listovima izboja sa izraženim simptomima. Listovi koji mijenjaju boju idu ka progresivnoj nekrozi i ranijim opadanjem. Grozdovi se suše i ispod kože se pojavljuju se karakteristične tamne mrlje.

„Eska“ se može zamijeti sa zlatnom žuticom vinove loze, samo u slučajevima pojave simptoma na grozdu. Dekolorizacija/ gubljenje boje na listovima je različita između ove dvije bolesti.



Simptomi bolesti *eska* na vinovoj lozi

3.2.3. Kloroza izazvana nedostatkom željeza

Privremena nedostupnost željeza može dovesti do rasprostranjenog žutila vinove loze, naročito u proljeće. U periodu pred cvjetanje listovi (počevši od onih na vrhu) gube zelenu boju, postaju žuti i na kraju izbijele, dok rebra posljednja gube zelenu boju. Tkivo koje je izbledilo počinje da nekrotizira. Manjak željeza izaziva probleme u zamatanju plodova. Sezonske promjene vremena su odlučujući faktor ovih promjena.

Simptomi kloroze se javljaju u vrlo ranom periodu vegetacijskog razvoja. Listovi požute, također kod crnih sorti vinove loze, koji zadrže normalnu teksturu i ne uvenu.



Simptomi na vinovoj lozi prouzrokovani nedostatkom željeza

3.2.4. Nedostatak magnezija

Na kraju sezone rasta nedostupnost elementa u tlu zbog klimatskih, agrotehničkih, proizvodnih neuravnoteženosti mogu izazvati nekoliko promjena na listovima i grozdovima, (različito vidljivih, zavisno od osjetljivosti sorte).

Zreliji listovi imaju očite promjene boje, donekle slične onima kod „eske“. Promjena boje je izražena po obodima i širi se između nerava lista. Dolazi do sušenja peteljke prouzrokujući postepeno parcijalno uvenuće grozda. Simptomi na listovima jasno se razlikuju od simptoma zlatne žutice vinove loze. Jedina moguća zamjena može biti vezana za uvenuće grozdova. Lignifikacija izdanaka u slučaju nedostatka magnezija je uglavnom zadovoljavajuća.



Simptomi na vinovoj lozi prouzrokovani nedostatkom magnezija

3.2.5. Nedostatak kalija

Nedostatak kalija obično se javlja samo u mladim vinogradima i vezan je za nedostatak kalija u tlu. Na listovima se ispoljavaju promjene boje i češći su tokom ranog ljeta, tj. tokom maksimalnog vegetativnog razvoja. Listovi imaju prozirnu boju, koja je više izražena u dijelovima između žila, a naročito na rubovima listova. Promjena boje ide ka žutoj ili crvenoj zavisno od boje ploda. Rubovi listova se uvijaju prema licu lista.

Uvijanje listova prema licu lista isključuje zlatnu žuticu vinove loze, koju karakteriše uvijanje prema naličju lista. Kod nedostatka kalija nema značajnih promjena u lignifikaciji izdanaka i u formiranju plodova.

3.2.6. Rogati cvrčak (*Stictocephala bisonia*)

Prstenasti zarezi izazvani od ženki ovog insekta tokom polaganja jaja na izdancima ili na peteljka listova uzrokuju rane zbog kojih dolazi do prekida funkcije floema. Na vinovoj lozi mogu se uočiti izdanci s promjenama oblika i boje listova. Međutim, na mjestu gdje su ženke položile jaja, dosta je uočljiva vidljiva karakteristična otekлина. Ako se zarezi nalaze na peteljka mladih listova, simptom je ograničen na samo jedan list.



Štete na vinovoj lozi pricinjene napadom rogatog cvrčka (*Stictocephale bisonia*)

4. NAČIN PRENOŠENJA I ŠIRENJA

Insekti vektori ovih bolesti imaju usni aparat za bodenje i sisanje kojim se fitoplazma prenosi sa zaražene biljke na zdravu biljku. Kada insekt usvoji fitoplazmu, ona se zadrži u pljuvačnim žlijezdama, odnosno u organizmu i nakon perioda inkubacije, tokom kojeg se fitoplazma umnoži, omogućava insektu da zarazi zdrave biljke vinove loze. Fitoplazma je isključivo intercelularni štetni organizam i širi se u floemskim ćelijama gdje uzrokuje blokadu kretanja floemskog soka i narušava ravnotežu hormonskih aktivnosti. Kada je riječ o zlatnoj žutici vinove loze, širenje bolesti može prouzrokovati značajnu epidemiju jer se vektor udomaćio na vinovoj lozi. Također, bolest se može proširiti putem zaraženog sadnog materijala. Ove bolesti se ne prenose rezidbom ili kontaktom između korijenja susjednih biljaka ili preko ostataka nakon rezidbe koji ostanu u i na tlu.

Do sada jedini potvrđeni vektor zlatne žutice vinove loze je cikada, američki cvrčak (*Scaphoideus titanus*). On prezimljava u stadiju jajeta pod korom dvogodišnje rozgve (odrvnjela mladica vinove loze), larve prolaze kroz pet razvojnih faza, ima samo jednu generaciju godišnje i završi svoj životni ciklus isključivo na vinovoj lozi. Ne isključuje se postojanje drugih vektora, koji do sada nisu utvrđeni.



**Imago američkog cvrčka (*Scaphoideus titanus* Ball),
vektor zlatne žutice vinove loze**

Insekt vektor priznat za Bois Noir je cikada *Hyalesthes obsoletus* polifagna vrste čiji su privilegovani domaćini poponac (*Convolvulus arvensis*) i kopriva (*Urtica dioica*), ali se također može pronaći na drugim zeljastim biljkama, kao što su ljutić (*Ranunculus* spp.), divlji pelin (*Artemisia vulgaris*), a ponekad se može pronaći i na vinovoj lozi, paradajzu i krompiru.

Zaširenje na velike udaljenosti odgovoran je čovjek, trgovanjem zaraženog sadnog materijala.



**Imago *Hyalesthes obsoletus*,
vektor Bois Noir**

5. VIZUELNI PREGLEDI BILJA DOMAĆINA I UZIMANJE UZORAKA ZA LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

S ciljem otkrivanja bolesti, neophodno je vršiti pregled tokom vegetacione sezone, kada su simptomi vidljivi. Period obavljanja pregleda zavisi od sorte vinove loze na kojoj se treba izvršiti pregled, kao i od geografskog područja i lokacije na kojem se uzgaja vinova loza. Aktivnosti monitoringa počinju okvirno u julu i završavaju tokom septembra (u ravnicama) i oktobra (u vinogradima koji se nalaze u brdima ili na planinama).

5.1. Uputstva za vizuelne preglede

Vizuelni pregledi imaju za cilj prepoznavanje simptoma.

Moraju se vršiti:

- U rasadnicima za proizvodnju vinove loze: na matičnim biljkama; poljima kalemljenih matičnih biljaka; poljima matičnih biljaka za proizvodnju podloga;
- U vinogradima, obrađujući pažnju posebno na mlade vinograde gdje je korišten sadni materijal iz trećih zemalja;
- Na mjestima gdje se vrši kolekcija sorti, kao i vinogradima koji služe za eksperimentalne svrhe.

U vinogradima se mogu istovremeno obavljati praćenja žutila i *Xilella fastidiosa*. Biljke se moraju pregledati pojedinačno. Prikupljanje podataka u vinogradima mora omogućiti izvještavanje o broju biljaka (i/ili broju parcela), kao i o broju pregledanih hektara.

Biljke trebaju imati referencu lokacije ili biti označene pomoću GPS-a ili katastra. Plan monitoringa mora biti pripremljen u skladu s procjenom rizika epidemije, uzimajući u obzir sljedeće faktore:

- Područja koja treba pregledati:
 - Vinogradarska područja koja se nalaze u različitim regijama;
 - Područja s ustanovljenim prisustvom zlatne žutice vinove loze tokom prethodnih godina;
 - Područja u blizini lokacija gdje je već poznato prisustvo žutice vinove loze;
 - Područja u kojima postoje rasadnici vinove loze.
- Broj hektara koji treba pregledati po regiji prema procentu vinogradarskog područja u odnosu na cijelo područje cijelog vinogradskog područja jedne regije.
- Sorte koje treba pratiti:
 - Osjetljive sorte (Barbera, Chardonnay, Croatina, Lambrusco, Marzemino, Pinot sivi, Pinot Noir, Sangiovese i Trebbiano).

Nakon što se identifikuju područja i odrede hektari i vinogradi koji se moraju pregledati, izaberu se kompanije prema agrotehničkoj i sortnoj reprezentativnosti i njihovim lokacijama.

Uzimajući u obzir lokaciju i pregledanu površinu ($\% \geq 50\%$ polja trebaju biti stari vinogradi koji su već pregledani prethodnih godina).

U slučaju da postoji zaraza, savjetuje se praćenje nekoliko godina okvirno 50% vinograda od ukupnog broja pregledanih vinograda s ciljem praćenja epidemije i vršenja evaluacije efikasnosti mjera zaštite.

Izbor vrše osobe koje obavljaju monitoring (inspektori, ovlaštena lica i tehničari), jer dobro poznaju područja na kojima posluju. Također je važna spremnost vlasnika bilja ili kontakt osobe za saradnju i pružanje svih informacija neophodnih za popunjavanje obrazaca za prikupljanje agrotehničkih podataka.

U nastavku je lista aktivnosti koje su podijeljene po fazama (kako bi se mogle prilagoditi specifičnim situacijama u BiH).

U uredu

• FAZA 1: Kada tehničari izaberu pojedina polja, moraju putem katastra (ili putem drugog sistema koji se koristi u BiH) identificirati te parcele, gajene sorte i proizvodnju. Nakon toga vrše pregled na terenu.

Na terenu

- FAZA 2: Određivanje GPS-tački (pomoću instrumenata) u skladu sa sljedećim smjernicama:

- određivanje GPS-tačke za svaku praćenu parcelu,
- određivanje GPS-tačke za svaki uzeti uzorak,

- FAZA 3: Pregled područja zlatne žutice vinove loze i popunjavanje obrasca "obrazac monitoringa zlatne žutice vinove loze",

- analiza simptoma prema indikacijama pruženim u tački III - "Simptomi" (obraćajući pažnju da se provjeri prisutnost zajedničkih, tipičnih simptoma koji identifikuju zlatnu žuticu vinove loze, i izbroje biljke sa simptomima),

- brojanje odraslih *Scaphoideus titanus* ili mlađih razvojnih stadija vektora (na naličju listova) na uzorku od 100 listova u parceli koja je pod monitoringom,

- uzimanje uzoraka biljaka sa simptomima na temelju godišnjeg planiranja uzoraka planiranih za geografsko područje. Uzorci se trebaju uzeti iz pojedinačnih biljaka sa izraženim simptomima i sastojati se od: mladica, ogranaka, peteljki i listova (najmanje 15–20 listova po uzorku), isključujući vegetaciju koja je osušena, trula ili kod koje je došlo do promjene. Uzorci se trebaju staviti u službene vrećice koje su označene brojevima (ako su ih uzeli inspektori/ ovlaštena lica) ili jednostavno u vrećice označene rednim brojevima (ako su ih uzeli tehnički stručnjaci). Na vrećicama treba označiti: sortu, mjesto regije, datum i ime osobe koja je uzela uzorak. Ne zaboraviti da za svaki uzeti uzorak treba eventualno označiti lokaciju biljke (putem GPS-a) sa koje je uzet uzorak. Uzorci se trebaju odmah staviti u frižider i čuvati na hladnom.

- U slučaju da je vinograd u kojem se vrši monitoring identifikovan kao vinograd za prebrojavanje odraslih *Scaphoideus titanus* – tj. ako se u taj vinograd postave ljepljive zamke-ploče (tri žute zamke, dimenzije 10 x 25cm postavljene u biljkama na onoj visini gdje se očekuje najveće prisustvo vektora) potrebno je sedmično prebrojati zalijepljene insekte. Dogovoriti se s laboratorijom o mogućem slanju zamki na ispitivanje.

Sa zastupnikom firme – vlasnikom bilja

- FAZA 4: Ako monitoring vrše inspektori, mora se pripremiti zapisnik za svaku kompaniju. Kopija izvještaja uručuje se zastupniku firme.

- FAZA 5: Uz pomoć kontakt-osobe/ zastupnika firme moraju se dopuniti informacije "obrasca monitoringa zlatne žutice vinove loze" (tretmani, itd).

- NAPOMENA: Obratiti pažnju na postavljanje pitanja o suzbijanju i iskorijenjenju drugih biljaka sa simptomima zlatne žutice vinove loze svake proizvodne godine (ako je osoba neodlučna, bolje ne bilježiti dobiveni odgovor).

U uredu

- FAZA 6: Uzorkovani biljni materijal odmah se stavlja u frižider i dostavlja laboratoriji u roku od 24 sata od momenta uzimanja uzorka (dostavlja se putem kurira u posudi od stiropora s dodatkom leda). Paket treba popratiti kopija zapisnika koji je predviđen za uzorkovanje.

- FAZA 7: Podaci o uzorkovanju i kontroli moraju se unijeti u formulare predviđene za monitoring.

Na kraju sezone podaci o monitoringu se obrađuju i kreiraju trendovi fitoplazmoze u različitim zonama proizvodnje vinove loze. Obrađeni podaci koriste se za programiranje fitosanitarnih mjera koje treba poduzeti narednih godina kao i za buduće aktivnosti monitoringa.

6. PAKOVANJE, ČUVANJE I DOSTAVA UZORAKA

Uzimanje uzoraka je posebno delikatna faza, o kojoj ovisi dijagnoza bolesti. Parcijalna degradacija biljnog materijala uzorka može dovesti do nekorektnog rezultata analize. Integritet uzorka suštinski ovisi o izvornom stanju materijala u momentu uzimanja uzorka i o tome kako je materijal čuvan tokom transporta (u roku od nekoliko dana postanu stari ili oštećeni i na taj način su neupotrebljivi, napadnuti gljivicama ili vlažni zbog kiše).

Štetni organizmi zlatne žutice vinove loze su fitoplazme, koje ne mogu da žive same, već žive unutar floemskih sudova vinove loze, uzrokujući različite vrste fizioloških i bioloških promjena biljke. Povećanje simptoma uočava se od početka jula i dostiže najveći stepen krajem avgusta i septembra. Osim toga, od oktobra se simptomi bolesti mogu lako zamijeniti s prirodnim starenjem biljke.

Materijal za analizu mora se uzeti od mladica i ogranaka i listova sa simptomima.

Period uzimanja uzorka iz izdanaka i listova:

juni	juli	avgust	septembar	oktobar
------	------	--------	-----------	---------

■ moguće

■ idealno

6.1. Način rada

Svaki uzorak se odnosi na jednu biljku vinove loze koja mora biti obilježena i prepoznatljiva.

Uzeti dijelove izdanaka vinove loze sa simptomima. Ako biljka ima više ogranaka sa simptomima, uzeti dio svakog ogranka i sjediniti dijelove u jedan uzorak koji se treba sastojati od prosječno 10–15 listova.

Uzeti dijelove biljke u dobrom vegetacijskom stanju, koji nisu stari niti mehanički oštećeni. Izbjegavati starije listove i nove izdanke, gdje je koncentracija fitoplazme manja.

Uzeti dijelove ogranaka sa dovoljno listova kako bi se dogodilo fiziološko sušenje uzorka.

6.2. Slanje uzorka

Odmah staviti uzorak u posudu i ručni frižider i uvijek čuvati uzorak na hladnom (u frižideru ili hladiti s ledom), nikada ne zamrzavati.

Uzorak mora biti poslat u laboratoriju u roku od 24 sata u hladnom, putem kurira ili brzom poštom.

Uvijek obavijestiti laboratoriju (telefonom ili e-mailom) o slanju pošiljke i rokovima isporuke.

Ako se uz uzorke ne pošalje potrebna popratna dokumentacija, uzorak se ne prima i treba biti uništen.

Poslati uzorke u laboratoriju.

7. MJERE ZAŠTITE

7.1. Preventivne mjere

Vrlo je važno koristiti potpuno zdrav i kontrolisan sadni materijal. Obratiti pažnju na uvoz materijala koji se koristi za naučne svrhe.

7.1.1. Zakonodavne mjere

U Evropskoj uniji i BiH zlatna žutica vinove loze je bolest regulisana evropskim standardima i međunarodnom trgovinom. Bois Noir nije regulisana, ali je poželjno zahtijevati fitosanitarne garancije i za ovu fitoplazmu.

7.1.2. Agrotehničke mjere

Preporučuje se po mogućnosti ne praviti nove vinograde u neposrednoj blizini šume i neobrađenog područja, koji mogu biti izvor infestacije insekata vektora (divlje vinove loze i biljaka domaćina *Hyaletthes obsoletus*).

U vinogradima provesti načela dobre poljoprivredne prakse (GAP – good agricultural practices), a naročito iskorijeniti *Urticu dioicu* i *Convolvulus arvensis* sa uzgojnih površina.

7.1.3. Otpornost biljaka domaćina

Ne postoje sorte vinove loze koje bi se mogle smatrati otporne na zlatnu žuticu vinove loze. Svaka sorta ispoljava svoju specifičnu osjetljivost na ovog patogena. Stoga se sorte mogu podijeliti na: najosjetljivije sorte, prosječno osjetljive sorte i prividno tolerantne sorte. *Chardonnay* je jedna od najosjetljivijih sorti na zlatnu žuticu vinove loze i može poslužiti kao biljka indikator.

7.1.4. Nadzor i praćenje za otkrivanje

Važno je pravilno i efikasno provođenje monitoringa (vidjeti tačku 5.), kao i kontrolu sadnog materijala (komercijalnog, a i onog koji se koristi za naučne svrhe). U ovom pogledu, poželjno je vršiti kontrole sadnog materijala koji služi za kolekciju.

7.2. Mjere zaštite

Ne postoje direktni tretmani putem kojih se može suzbiti zlatna žutica vinove loze. Stoga, suzbijanje ovog patogena treba biti indirektnog tipa.

7.2.1. Mjere iskorjenjivanja

U slučaju pronalaska zaraženih biljaka unutar lota tokom kontrole uvoza lot se potpuno uništava.

U slučaju pronalaska zaraženih biljaka u rasadnicima sadnica loze i reprodukcijskog sadnog materijala: zabranjuje se korištenje sadnog materijala na najmanje dvije godine, provjerava se prisustvo vektora i vrši se tretman insekticidima. Nekalemljeni materijal s plemkama koji je iz prethodne sezone (i koji je uzet iz zaraženih matičnih biljaka) se uništava.

U slučaju pronalaska zaraženih biljaka unutar rasadnika uništava se sav materijal koji pripada istom lotu, provjerava se prisutnost vektora i vrši se tretman insekticidima. Također je potrebno izvršiti provjeru i doći do matičnih biljaka iz kojih potiču zaražene biljke i eventualno ne uzimati uzorke iz ovih biljaka tokom dvije godine.

U slučaju pronalaska zaraženih biljaka u vinogradima iz kojih se uzimaju pupoljci isključiti mogućnost uzimanja tih pupoljaka iz sorti koje su zaražene. U slučaju da nije moguće identifikovati i odvojiti sorte, zabraniti uzimanje pupoljaka na dvije godine iz svih dijelova vinograda.

U slučaju pronalaska zaraženih biljaka u vinogradu: zaražene biljke se uništavaju. Provjerava se prisustvo vektora i vrši se tretman insekticidima. Uništenje zaraženih biljaka može se izvršiti njihovim jednostavnim uklanjanjem i uništavanjem.

7.2.2. Agrotehničke mjere

U slučaju prisustva zlatne žutice vinove loze u vinogradima, pored implementacije dobre poljoprivredne prakse preporučuje se i eliminisanje *Urtice dioice* i *Convolvulus arvensis* u redu i između redova vinove loze. Potrebno je procijeniti ovisno o situaciji (starost biljaka, procent rasprostranjenosti biljki sa simptomima u vinogradu itd.) da li je potrebno uništenje biljaka sa simptomima.

7.2.3. Hemijske mjere

Važno je zaštititi vegetaciju od mogućeg prisustva insekata vektora sa specifičnim insekticidima u stadiju nimfe i u stadiju odraslih insekata. U svim slučajevima preporučuje se tretman velikom količinom vode kako bi se nadzemni biljni dijelovi dobro nakvasili.

7.2.4. Biološke mjere

Trenutno nisu poznate biološke metode za suzbijanje zlatne žutice vinove loze.

7.2.5. Medijska kampanja

Potrebno je u potpunosti informisati javnost o opasnosti štetnog organizma, o poznavanju simptoma i o tehnikama za suzbijanje i prevenciju kako bi stručnjaci bili upoznati s rizicima i mjerama koje treba poduzeti u slučaju zaraze.

