

ISSN 2623-6575

UDK 63

GLASILO FUTURE

PUBLIKACIJA FUTURE - STRUČNO-ZNANSTVENA UDRUGA ZA PROMICANJE ODRŽIVOG RAZVOJA, KULTURE I MEĐUNARODNE SURADNJE, ŠIBENIK

VOLUMEN 7 BROJ 4

LISTOPAD 2024.

Glasilo Future

Stručno-znanstveni časopis

Nakladnik:

FUTURA



Sjedište udruge: Šibenik

Adresa uredništva:

Bana Josipa Jelačića 13 a, 22000 Šibenik, Hrvatska / Croatia

☎ / 📠: +385 (0) 022 218 133

✉: urednistvo@gazette-future.eu / editors@gazette-future.eu

🌐: www.gazette-future.eu

Uredivački odbor / Editorial Board:Izv. prof. dr. sc. Boris Dorbić, prof. struč. stud. – glavni i odgovorni urednik / *Editor-in-Chief*Emilija Friganović, dipl. ing. preh. teh., univ. mag. nutr., v. pred. – zamjenica g. i o. urednika / *Deputy Editor-in-Chief*Ančica Sečan, mag. act. soc. – tehnička urednica / *Technical Editor*

Prof. dr. sc. Željko Španjol – član

Mr. sc. Milivoj Blažević – član

Vesna Štibrić, dipl. ing. preh. teh. – članica

Antonia Dorbić, mag. art. – članica

Gostujući urednik / *Guest editor* / (2024) 7(4) – Prof. dr. sc. Darko Vončina**Međunarodno uredništvo / International Editorial Board:**

Dr. sc. Gean Pablo S. Aguiar – Savezna republika Brazil (Universidade Federal de Santa Catarina)

Prof. dr. sc. Kiril Bahcevdandziev – Portugalska Republika (Instituto Politécnico de Coimbra)

Prof. dr. sc. Martin Bobinac – Republika Srbija (Šumarski fakultet Beograd)

Prof. dr. sc. Zvezda Bogevska – Republika Sjeverna Makedonija (Fakultet za zemjodjelski nauki i hrana Skopje)

Dr. sc. Bogdan Cvjetković, prof. emeritus – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Duška Čurić – Republika Hrvatska (Prehrambeno-biotehnoški fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Margarita Davitkovska – Republika Sjeverna Makedonija (Fakultet za zemjodjelski nauki i hrana Skopje)

Prof. dr. sc. Dubravka Dujmović Purgar – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Josipa Giljanović – Republika Hrvatska (Kemijsko-tehnoški fakultet u Splitu)

Prof. dr. sc. Sezai Ercişli – Republika Turska (Atatürk University Agricultural Faculty)

Prof. dr. sc. Semina Hadžiabulić – Bosna i Hercegovina (Agromediteranski fakultet Mostar)

Doc. dr. sc. Jasna Hasanbegović – Bosna i Hercegovina (Agromediteranski fakultet Mostar)

Prof. dr. sc. Péter Honfi – Mađarska (Faculty of Horticultural Science Budapest)

Prof. dr. sc. Mladen Ivić – Bosna i Hercegovina (Univerzitet PIM)

Doc. dr. sc. Anna Jakubczak – Republika Poljska (Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy)

Dr. sc. Željko Jurjević – Sjedinjene Američke Države (EMSL Analytical, Inc., North Cinnaminson, New Jersey)

Prof. dr. sc. Mariia Kalista – Ukrajina (National Museum of Natural History of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv)

Prof. dr. sc. Tajana Krička – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Doc. dr. sc. Dejan Kojić – Bosna i Hercegovina (Univerzitet PIM)

Slobodan Kulić, mag. iur. – Republika Srbija (Srpska ornitološka federacija i Confederation ornitologique mondiale)

Dr. sc. Jae Hwan Lee, pred. – Republika Koreja (Natural Science Research Institute of Sahmyook University in Seoul, South Korea)

Prof. dr. sc. Branka Ljevnaić-Mašić – Republika Srbija (Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu)

Prof. dr. sc. Zvonimir Marijanović – Republika Hrvatska (Kemijsko-tehnoški fakultet u Splitu)

Semir Maslo, prof. – Kraljevina Švedska (Primary School, Lundåkerskolan, Gislaved)

Prof. dr. sc. Ana Matin – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Elizabeta Miskoska-Milevska – Republika Sjeverna Makedonija (Fakultet za zemjodjelski nauki i hrana)

Prof. dr. sc. Bosiljka Mustać – Republika Hrvatska (Sveučilište u Zadru)

Prof. dr. sc. Ayşe Nilgün Atay – Republika Turska (Mehmet Akif Ersoy University – Burdur, Food Agriculture and Livestock School)

Nibir Pratim Choudhury, MBA – Republika Indija (PhD student i suradnik na projektu – University of Science and Technology Meghalaya)

Prof. dr. sc. Tatjana Prebeg – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Bojan Simovski – Republika Sjeverna Makedonija (Fakultet za šumarski nauki, pejzažna arhitektura i ekoinženering "Hans Em" Skopje)

Prof. dr. sc. Davor Skejić – Republika Hrvatska (Građevinski fakultet Zagreb)

Akademik prof. dr. sc. Mirko Smoljić, prof. struč. stud. – Republika Hrvatska (Sveučilište Sjever, Varaždin/Koprivnica, Odjel ekonomije)

Prof. dr. sc. Nina Šajna – Republika Slovenija (Fakulteta za naravoslovje in matematiko)

Doc. dr. sc. Mladenka Šarolić, prof. struč. stud. – Republika Hrvatska (Kemijsko-tehnoški fakultet u Splitu)

Prof. dr. sc. Andrej Šušek – Republika Slovenija (Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor)

Prof. dr. sc. Elma Temim – Bosna i Hercegovina (Agromediteranski fakultet Mostar)

Doc. dr. sc. Merima Toromanović – Bosna i Hercegovina (Biotehnički fakultet Univerziteta u Bihacu)

Prof. dr. sc. Marko Turk – Republika Hrvatska (Veleučilište PAR)

Prof. dr. sc. Ivana Vitasović Kosić – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Ana Vujošević – Republika Srbija (Poljoprivredni fakultet Beograd)

Sandra Vuković, mag. ing. – Republika Srbija (Poljoprivredni fakultet Beograd)

Prof. dr. sc. Vesna Židovec – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Denisa Žujo Zekić – Bosna i Hercegovina (Nastavnički fakultet Mostar)

Grafička priprema: Ančica Sečan, mag. act. soc.

Objavljeno: 09. listopada 2024. godine.

Časopis izlazi u elektroničkom izdanju dva puta godišnje, krajem lipnja i prosinca, a predviđena su i dva specijalna izdanja tijekom godine iz biotehničkog područja.

Časopis je besplatan. Rukopisi i recenzije se ne vraćaju i ne honoriraju.

Autori/ce su u potpunosti odgovorni/e za sadržaj, kontakt podatke i točnost engleskog jezika.

Umnožavanje (reproduciranje), stavljanje u promet (distribuiranje), priopćavanje javnosti, stavljanje na raspolaganje javnosti odnosno prerada u bilo kojem obliku nije dopuštena bez pismenog dopuštenja Nakladnika.

Sadržaj objavljen u Glasilu Future može se slobodno koristiti u osobne i obrazovne svrhe uz obvezno navođenje izvora.

Časopis je indeksiran u CAB Abstract (CAB International).

Riječ gostujućeg urednika

Poštovani čitatelji Glasila Future,

pred Vama je specijalno izdanje časopisa posvećeno profesoru emeritusu Bogdanu Cvjetkoviću. Svojim znanstvenim i stručnim radom, koji traje više od pola stoljeća, prof. Cvjetković ostavio je značajan i neizbrisiv trag ne samo u Hrvatskoj nego i svjetskoj fitopatologiji i fitofarmaciji. Ostavljajući iza sebe brojne generacije diplomiranih inženjera agronomije svojim entuzijazmom i predanošću fitopatologiji uspio je „zaraziti“ te biti predani mentor 18 magistara znanosti te 8 doktora znanosti. Širokog znanja i znanstvenih interesa magistrirao je na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu iz području biljne virologije, a doktorirao na svojem *alma mater* Agronomskom fakultetu u Zagrebu kod profesora Josipa Kišpatića na području biljne mikologije. U želji da ovim brojem djelomično oslikamo široko područje interesa prof. Cvjetkovića, ovo specijalno izdanje obuhvaća tri izvorna znanstvena rada te dva prethodna priopćenja iz područja biljne mikologije, bakteriologije te virologije. Kraj ovog specijalnog izdanja posvećen je crticama iz života dr. Željka Jurjevića, jednog od doktora znanosti koji je doktorirao pod mentorstvom prof. Cvjetkovića, a trenutno s uspješnom karijerom u Sjedinjenim Američkim državama (EMSL Analytical, Inc.). Izrazito mi je drago da su se sudjelovanju u ovom broju odazvali znanstvenici koje se bave fitopatologijom na području Hrvatske, ali i kolege iz inozemstva, dajući svoj značajan doprinos kvaliteti ovog specijalnog izdanja, ali i izražavajući pijetet prof. Cvjetkoviću.

Prvi rad kolegica Dušice Kovačević, Katarine Zečević te Ivane Stanković s Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu govori o djelomičnoj molekularnoj karakterizaciji izrazito polifagnog virusa mozaika krastavca izoliranoga iz dvije biljke božura sa simptomima mozaika i klorotičnih prstenova. Nakon potvrde virusa serološkim i molekularnim metodama sekvenciranjem dijela genoma proteinskog omotača utvrđeno je da izolati iz božura pripadaju u podgrupu IA. Autorice skreću pozornost da bi božur kao trajnica mogao imati značajnu epidemiološku ulogu u kontekstu značajnog izvora ovog virusa.

Rad kolega Kirila Bahcevandziewa te Antónia A. Monteiro (Research Centre for Natural Resources, Environment and Society - CERNAS, Portugal) vodi nas u područje fenotipskih i genotipskih interakcija između različitih kupusnjača te ekonomski značajnog uzročnika plamenjača kupusnjača (*Hyaloperonospora brassicae*). Kroz istraživanje je utvrđeno da izolati navedenog patogena iz različitih područja Europe pokazuju različite stupnjeve patogenosti. Analizirani model gen-za-gen otvara nove mogućnosti istraživanja rezistentnosti kod različitih kupusnjača te gena za patogenost uzročnika plamenjače.

Da su na gljivične patogene osjetljive i invazivne biljne vrste govori rad autora Darija Ivića i Adrijane Novak (Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu). Analizom stabala pajasena sa simptomima

sušenja i propadanja na području Nacionalnog parka Krka utvrđena je prisutnost 15 različitih vrsta polifagnih gljiva iz rodova *Diaporthe*, *Diplodia*, *Dothiorella*, *Fomitiporia*, *Fusarium*, *Paraconiothyrium*, *Peroneutypa*, *Rosellinia*, *Schizophyllum* te *Verticillium*. Autori ističu da je ulogu utvrđenih gljiva u sušenju i propadanju ove invazivne vrste potrebno utvrditi testovima patogenosti.

Prethodno priopćenje doktorice znanosti Katarine Martinko i studentice Ivone Novaković sa Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta donosi preliminarne rezultate *in vitro* istraživanja protugljivičnog djelovanja esencijalnih ulja timijana, divljeg mažurana i lovora na uzročnika crne truleži plodova različitih poljoprivrednih kultura (*Aspergillus niger* Tiegh.). Autorice zaključuju da prvenstveno eterična ulja timijana i divljeg mažurana imaju veliki potencijal kao fumiganti u kontroli crne truleži uskladištenih poljoprivrednih proizvoda, te kao takvi predstavljaju svojevrsnu alternativu trenutno često korištenim fungicidima.

Prethodno priopćenje doktorice znanosti Jelene Plavec (Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu) opisuje uzročnika bakterioznog paleža lijeske (*Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*) utvrđenog metodom lančane reakcije polimerazom iz rasadnika i komercijalnih nasada lijeske na području Hrvatske. Imajući u vidu sve veću popularnost ove kulture u našoj zemlji autorica skreće pozornost da će u budućnosti biti potrebno povesti više pažnje u praćenju ovog ekonomski značajnog patogena svrstanog na listu reguliranih nekarantenskih štetnika ne samo lijeske, već i drugih vrsta iz roda *Corylus*.

Crtice doktora znanosti Željka Jurjevića sažimlju različite dijelove profesionalnog razvoja prof. Cvjetkovića, ali ujedno predstavljaju i jednu toplu životnu priču protkanu zajedničkim trenucima provedenima s profesorom.

Vežući se na životopisne crtice dr. Jurjevića, i osobno kao jedan od doktoranada, mogu reći da bi se o liku i djelu prof. Cvjetkovića mogla napisati ne jedna, nego više knjiga. Na kraju mogu reći da mi je bila iznimna čast i zadovoljstvo intenzivno surađivati s profesorom sve do njegovog odlaska u mirovinu. I danas, sa životopisnim pričama i neograničenim praktičnim iskustvom, dragi mi je sugovornik na Zavodu za fitopatologiju u čiji razvoj je utkao značajno razdoblje svojega života i kojem je dao svoj neprocjenjivi obol!

Prof. dr. sc. Darko Vončina



Glasilo Future

Stručno-znanstveni časopis

FUTURA – stručno-znanstvena udruga za promicanje održivog razvoja, kulture i međunarodne suradnje, Bana Josipa Jelačića 13 a, 22000 Šibenik, Hrvatska

(2024) 7(4) 01–68

SADRŽAJ:

	Str.
Izvorni znanstveni rad (original scientific paper)	
<i>Dušica Kovačević, Katarina Zečević, Ivana Stanković</i> Partial molecular characterization of cucumber mosaic virus isolate infecting garden peony (<i>Paeonia officinalis</i>) in Serbia	01–13
<i>K. Bahcevandziev, A. A. Monteiro</i> Identification of <i>Brassica oleracea</i> accessions with specific reaction to <i>Hyaloperonospora brassicae</i> isolates	14–33
<i>D. Ivić, Adrijana Novak</i> Fungi associated with declining tree of heaven (<i>Ailanthus altissima</i>) in Krka National Park ...	34–45
Prethodno priopćenje (preliminary communication)	
<i>Katarina Martinko, Ivona Novaković</i> Antifungal activity of thyme, oregano and laurel essential oils against <i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	46–55
<i>Jelena Plavec</i> Xanthomonas arboricola pv. corylina, uzročnik bakterioznog paleža lijeske (<i>Corylus avellana</i>) u rasadnicima i komercijalnim nasadima lijeske u Hrvatskoj Xanthomonas arboricola pv. corylina, the causative agent of bacterial blight of hazelnut (<i>Corylus avellana</i>) in nurseries and commercial plantations in Croatia	56–63
Nekategorizirani rad (uncategorised paper)	
<i>Ž. Jurjević</i> Crtice (dashes)	64–66
Upute autorima (instructions to authors)	67–68

***Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*, uzročnik bakterioznog paleža lijeske (*Corylus avellana*) u rasadnicima i komercijalnim nasadima lijeske u Hrvatskoj**

***Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*, the causative agent of bacterial blight of hazelnut (*Corylus avellana*) in nurseries and commercial plantations in Croatia**

Jelena Plavec^{1*}

prethodno priopćenje (preliminary communication)

doi: 10.32779/gf.7.4.5

*Citiranje/Citation*²

Sažetak

Xanthomonas arboricola pv. *corylina* (*Xac*) je uzročnik bakterioznog paleža lijeske (*Corylus avellana* L.). Iako je bolest najznačajnija na običnoj lijeski, mogu biti zaražene i druge vrste roda *Corylus* spp., kao što su *C. maxima*, *C. pontica* i *C. colurna*. Budući da prisutnost *Xac* na ovim biljkama za sadnju može izazvati "neprihvatljiv ekonomski učinak", bakterija je svrstana od 2019. g. na listu reguliranih nekarantenskih štetnika (eng. *Regulated Non-Quarantine Pest*, RNQP). Bakteriozni palež lijeske rasprostranjen je u svim glavnim područjima uzgoja lijeske diljem svijeta. Bolest je posebno štetna u rasadnicima i mladim nasadima, jer su biljke osjetljivije dok su mlade. Međutim, jake zaraze mogu se vidjeti i u starijim proizvodnim nasadima. Kako se površine pod lijeskom posljednjih godina povećavaju, u drugim zemljama tako i u Hrvatskoj, povećala se i učestalost i značaj ove bolesti.

Ključne riječi: bakteriozni palež, identifikacija, kontrola, RNQP, fitosanitarne mjere.

Abstract

Xanthomonas arboricola pv. *corylina* (*Xac*) is the causal agent of bacterial blight of hazelnut (*Corylus avellana* L.). Although the disease is most significant on European hazelnut, other *Corylus* spp., such as *C. maxima*, *C. pontica*, and *C. colurna* can also be infected. As its presence on plants intended for planting can cause an "unacceptable economic impact", the bacterium has been listed as a regulated non-quarantine pest (RNQP) since 2019. Bacterial blight of hazelnut is widespread in all major hazelnut-growing regions worldwide. The disease is especially detrimental in plant nurseries and

¹ Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za zaštitu bilja, Gorice 68b, 10000 Zagreb, Republika Hrvatska.

* E-mail: jelena.plavec@hapih.hr (dopisna autorica).

² Plavec, J. (2024). *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*, uzročnik bakterioznog paleža lijeske (*Corylus avellana*) u rasadnicima i komercijalnim nasadima lijeske u Hrvatskoj. *Glasilo Future*, 7(4), 56–63. / Plavec, J. (2024). *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*, the causative agent of bacterial blight of hazelnut (*Corylus avellana*) in nurseries and commercial plantations in Croatia. *Glasilo Future*, 7(4), 56–63.

young orchards, as the plants are more susceptible in their early stages. However, severe infections can also occur in orchards later during exploitation. As the area of hazelnut orchards has increased in many countries, including Croatia, in recent years, the incidence and importance of this re-emerging disease has also increased.

Key words: bacterial blight, identification, control, RNQP, phytosanitary measures.

Uvod

Xanthomonas arboricola pv. *corylina* (*Xac*) je uzročnik bakterijske paleži lijeske (*Corylus avellana* L.). Iako je bolest najznačajnija na običnoj lijesci, *C. maxima*, *C. pontica* i *C. colurna* (EPPO, 2004) također mogu biti zaraženi. Uslijed porasta intenzivnog uzgoja lijeske posljednjih godina u svijetu (FAO, 2020), porasla je i učestalost bolesti uzrokovane *Xac*. U Republici Hrvatskoj lijeska se također sve više uzgaja te je od 2012. godine s 2400 hektara zabilježeno povećanje na 8230 hektara u 2022. godini (<https://ec.europa.eu/eurostat>).

Simptomi bakteriozne paleži javljaju se na listovima, pupovima, plodovima i drvenastim dijelovima biljke. Prvi simptomi uočljivi su u proljeće na pupovima koji se ne otvaraju, ili se ubrzo nakon početnog razvoja suše (Miller et al., 1949; Lamichhane i Varvaro, 2014). Karakteristični simptomi bolesti vidljivi su na listovima kao sitne, nepravilne, nekrotične pjegice okružene klorotičnim prstenom. U povoljnim uvjetima temperature i vlažnosti, pjegice se šire i spajaju, te se stvaraju veće nekrotične zone nepravilnog oblika. Listovi se suše i rubovi se oštećuju te biljke izgledaju kao da su spaljene plamenom, po čemu je bolest i dobila naziv (Miller et al., 1949; Arsenijević, 1997). Blago uleknute, tamne, vodenaste pjegice mogu se pojaviti i na ovojnici (egzokarpu) ploda, no rijetko zahvaćaju jezgru (Miller i et al., 1949). Mlade grane se suše, a njihova zaraza ima i najveći gospodarski značaj jer je to dio biljke koji daje plod (Miller i sur., 1949). Na deblu i većim granama dolazi do pojave rana ispod kojih je nakon uklanjanja kore vidljiva tamna nekroza koja difuzno prelazi u zdravo tkivo. Na tim se mjestima tijekom razdoblja visoke vlažnosti mogu vidjeti i kapi ljepljivog žućkastog bakterijskog eksudata (iscjetka) koji se tijekom vegetacije prenosi kapima kiše te tako omogućava sekundarne zaraze (Miller et al., 1949; Arsenijević, 1997). Intenzitet zaraze, uz okolišne uvijete, posebno ovisi o starosti biljke. Najveće su štete u rasadnicima i mladim nasadima (1-4 godine), gdje zaraza često završava slabljenjem i odumiranjem biljaka iako su značajne štete zabilježene i u starijim nasadima (Slika 1). Gubitci prinosa prosječno iznose oko 10%, ali zabilježeni su i drastični gubitci od 90 do 100% (Miller et al., 1949; Prunier et al., 1976; Lamichhane i Varvaro, 2014).

Općenito, bakterijski biljni patogeni prenose se vodom, odnosno kišnim kapima, vjetrom, različitim vektorima (uključujući i čovjeka) no zaraženi sadni materijal glavni je put unošenja i širenja ovog uzročnika (Lamichhane i Varvaro, 2014). Kontrola bolesti se postiže fitosanitarnim certificiranjem sadnog materijala. Bakterija *Xac* je od 2019. klasificirana kao regulirani nekarantenski štetni

organizam (RNQP). RNQP je definiran kao „nekarantenski štetnik čija prisutnost u biljkama za sadnju utječe na namjeravanu upotrebu tih biljaka s ekonomski neprihvatljivim učinkom i koji je stoga reguliran na teritoriju ugovorne stranke uvoznice“ (Picard et al., 2017), a razvijeni su i kategorizirani brojni prikladni dijagnostički alati i laboratorijske procedure kojima se dijagnosticira pojedine bakterijske vrste iz ove skupine ili im se pomoću njih analizira genetička raznolikost i struktura populacija te mehanizmi patogenosti (Catara et al., 2021). Budući da je prag RNQP na sadnom materijalu lijeske 0%, na sadnom materijalu lijeske *Xac* ne smije biti prisutan. Novim sustavom u području biljnoga zdravstva i službenih kontrola, na snazi od kraja 2019. godine, kontrola RNQP na bilju namijenjenom sadnji u nadležnosti je ovlaštenih specijaliziranih subjekata. Kako bi se provjerila usklađenost sadnog materijala proizvedenog u Hrvatskoj sa zahtjevima u području biljnoga zdravstva, u 2023. godini po prvi se puta provodio program posebnog nadzora usmjeren na rasadnike. U okviru navedenog programa uzeti su uzorci lijeske za analizu na *Xac* iz dva rasadnika, 3 uzorka iz jednog te 7 uzoraka iz drugog rasadnika, ukupno 10 uzoraka.



Slika 1. Sušenje dijela stabla lijeske uzrokovano bakterijom *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* (Foto: Dario Ivić).

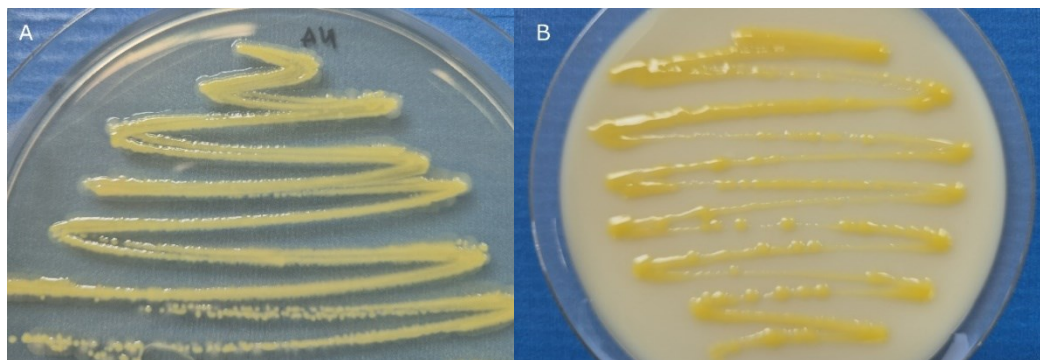
Figure 1. Drying of part of the hazelnut caused by the bacterium *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* (Photo: Dario Ivić).

Materijali i metode

Dijelovi oboljelog tkiva lista, pupoljka i kore grančice macerirani su u sterilnoj destiliranoj vodi. Macerat je naslojen na ploče s hranjivim agarom (NA) i inkubiran na 27 °C 48 h. Karakteristične pojedinačne žute kolonije su zatim precijepljene na hranjivu podlogu ekstrakta kvasca-dekstroze-CaCO₃ (YDC) (Schaad et al., 2001) i inkubirane pod istim uvjetima. Izolirane pojedinačne žute, konveksne kolonije upotrijebljene su za molekularnu potvrdu. Izdvajanje DNA iz bakterijskih kolonija izvedeno je pomoću komercijalno dostupnog kompleta DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Njemačka) prema uputama proizvođača. Radi potvrde izolata konvencionalnom lančanom reakcijom polimerazom (eng. *Polymerase Chain Reaction*, PCR) izvedena su dva testa, jedan koji je specifičan za predstavnike vrste *X. arboricola* i cilja gen *qumA* korištenjem para početnica XarbQ-F/XarbQ-R (Pothier i sur., 2011) te drugi, koji ima visoku specifičnost prema *corylina* sojevima a cilja dio *ftsX* gena, korištenjem para početnica XapY17-F/XapY17-R (Pagani, 2004; Pothier et al., 2011). Umnoženi produkti razdvojeni su elektroforezom u 1% -tnom agaroznom gelu, obojeni otopinom GelRed (Olerup SSP, West Chester, PA, SAD) i vizualizirani pod UV transiluminatorom (UViTech, Cambridge, Engleska, Ujedinjeno Kraljevstvo). U sve PCR testove uključena je DNA izolirana iz referentnog soja *X. a.* pv. *corylina* NCPPB 3037 (*Corylus avellana* - Ujedinjeno Kraljevstvo, 1978) kao pozitivna kontrola (K⁺), a reakcijska smjesa s dodatkom vode umjesto uzorka (W) predstavljala je negativnu kontrolu. Od produkata umnožavanja dobivenih PCR-om odabrana su po 2 izolata s obje lokacije i poslana na sekvenciranje (Genewiz, Njemačka).

Rezultati

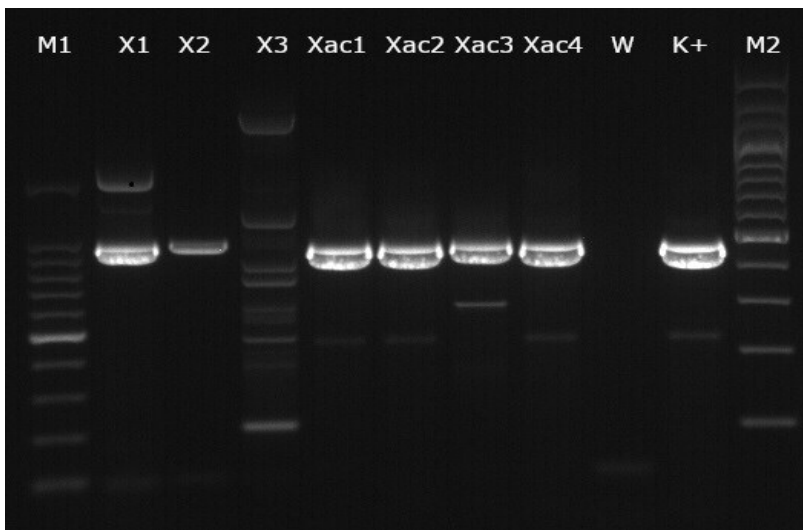
Iz prikupljenih uzoraka izolirani su različiti bakterijski sojevi na pločicama s hranjivim agarom. U 9 od 10 prikupljenih uzoraka utvrđeno je prisustvo bakterija koje formiraju male, okrugle, žute i sjajne kolonije, karakterističnih za rod *Xanthomonas* (slika 2, A i B).



Slika 2. Izgled kolonija *X. arboricola* pv. *corylina* na (A) hranjivom agaru (NA) i (B) na hranjivoj podlozi ekstrakta kvasca-dekstroze-CaCO₃ (YDC) nakon 72 h (Foto: Jelena Plavec).

Figure 2. Appearance of *X. arboricola* pv *corylina* colonies on NA (A) and YDC (B) medium after 72 h (Photo: Jelena Plavec).

U 9 od 10 analiziranih bakterijskih sojeva umnoženi su PCR produkti očekivane veličine. Produkt od 402 bp dobiven korištenjem para početnica XarbQ-F/XarbQ-R potvrdio je pripadnost vrsti *X. arboricola*, dok je drugim parom početnica (XapY17-F/XapY17-R) umnožen fragment *ftsX* gena očekivane veličine od 943 bp koji je karakterističan za vrstu *Xac* (slika 3). Analiza odabranih sekvenci dobivenih iz produkata umnoženih početnicama XapY17-F/XapY17-R potvrdila je prisutnost *Xac*. Hrvatski izolati pokazali su od 99,88% do 100% nukleotidnu identičnost s *Xac* sojem IVIA 3978 (CP076534) izoliranim iz lijeske u Španjolskoj. Na temelju izgleda kolonija na hranjivim podlogama NA i YDC, te na temelju molekularne detekcije, analizirani izolati prikupljenih u dva rasadnika u Hrvatskoj najvjerojatnije pripadaju bakteriji *X. arboricola* pv. *corylina*. Radi konačne identifikacije, uz ove preliminarne metode, trebalo bi provesti i ostale biokemijsko-fiziološke analize i test patogenosti izolata. Navedene uzorke bi ubuduće trebalo testirati novim protokolom za specifičnu detekciju *Xac*-a koja uključuje konvencionalni PCR te PCR u realnom vremenu (Kalužna et al., 2023).



Slika 3. PCR produkt veličine 943 bp umnožen početnicama XapY17-F/XapY17-R; X1, X2, X3 - uzorci prikupljeni u rasadniku 1; Xac1, Xac2, Xac3, Xac4 -uzorci prikupljeni u rasadniku 2; W - negativna kontrola; K+ pozitivna kontrola; M1 –marker 100 bp, M2 –marker 200 bp (oba markera Dye Plus, Takara, Japan).

Figure 3. PCR product size 943 bp amplified with primers XapY17-F/XapY17-R; X1, X2, X3 - samples collected in nursery 1; Xac1, Xac2, Xac3, Xac4 - samples collected in nursery 2; W - negative control; K+ positive control; M1 – marker 100 bp, M2 – marker 200 bp (both markers Dye Plus, Takara, Japan).

Rasprava i zaključci

Raniji rezultati su pokazali da je *Xac* prisutan u komercijalnim nasadima lijeske u kontinentalnom dijelu Hrvatske (neobjavljeni rezultati), te su uslijed povoljnih okolišnih uvjeta za razvoj bolesti, zabilježene i značajnije štete. Slična iskustva prijavljena su i u zemljama regije (Prokić, 2014; Popović et al., 2023) posljednjih godina. Međutim, preliminarni rezultati izloženi u ovom radu potvrđuju da je

Xac prisutna i u rasadnicima u Hrvatskoj, što je u skladu s ranije objavljenim tvrdnjama da je zaraženi sadni materijali uobičajeni izvor ove bolesti u cijelom svijetu (Lamichhane i Varvaro, 2014).

Kad je bolest već prisutna u nasadima, preporučuje se rezidba i uklanjanje zaraženih dijelova biljaka i zatvaranje rana. Bakrovi spojevi, koji se i inače koriste za kontrolu biljnih bakterioza (Agrios, 2005) koriste i za zaštitu od *Xac*, uglavnom u kombinaciji s ditiokarbamatima. Premda primjena tih pripravaka daje većinom zadovoljavajuće rezultate, uglavnom ako se radi o površinskim populacijama *Xac*, pojava na bakar otpornih sojeva *Xac* trenutno predstavlja glavnu prijetnju učinkovitom upravljanju bakterioznom paleži lijeske u ugroženim nasadima (Gardan, 1983; Lamichhane i Varvaro, 2014).

Ipak, najučinkovitija kontrola bakterioza i dalje je prevencija. Uz sadnju otpornih kultivara, kojih je uslijed povećanja globalne proizvodnje lješnjaka i nasada lijeske također sve više (Webber et al., 2021), najvažnija preventivna mjera je korištenje zdravog sadnog materijala (Janse i Wenneker, 2002; Lamichhane i Varvaro, 2014). Zemlje EPPO regije (eng. *European and Mediterranean Plant Protection Organization*) usvojile su propise kojima se može značajno poboljšati zdravstveno stanje sadnog materijala, a uključuju provođenje fitosanitarnih mjera, nadzor rasadnika i provedbu certifikacijskih shema (Janse i Wenneker, 2002). U kontekstu pregleda rasadničkog materijala na latentne infekcije, koje bi inače ostale neotkrivene i postale izvor primarne infekcije u novim nasadima (Catara et al., 2021; Kalužna et al., 2023) posebno je važan razvoj brzih, osjetljivih i vrlo specifičnih metoda, odnosno dijagnostičkih alata za preciznu dijagnostiku *Xac*.

Literatura

Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*, 5th edn. New York, USA: Academic Press.

Arsenijević, M. (1997). *Bakterioze biljaka*. Novi Sad: S Print.

Catara, V., Cubero, J., Pothier, J., Bosis, E., Bragard, C., Đermić, E., Holeva, M.C., Jacques, M-A., Petter, F., Pruvost, O., Robène, I., Studholme, D.J., Tavares, F., Vicente, J.G., Koebnik, R., Costa, J. (2021). Trends in molecular diagnosis and diversity studies for phytosanitary regulated *Xanthomonas*. *Microorganisms* 9(4), 862. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040862>

OEPP/EPPO (2004). *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*. *EPPO Bull.* 34 (2), 179–181. doi: 10.1111/j.1365-2338.2004.00716.x

FAO. World Food and Agriculture-Statistical Yearbook (2020). FAO: Rome, Italy, p. 366.

Gardan, L. (1983). *Bacterial Blight of Hazel-Nut Caused by Xanthomonas corylina*. Italy: Convegno Internazionale sul Nocciolo Avellino. Avellino, 443–50.

- Janse, J.D., Wenneker, M. (2002). Possibilities of avoidance and control of bacterial plant diseases when using pathogen-tested (certified) or-treated planting material. *Plant Pathology* 51, 523–36.
- Kalužna, M., Prokić, A., Obradović, A., Weldon, W.A., Stockwell, V.O., Pothier, J.F. (2023). Specific and sensitive detection tools for *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*, the causal agent of bacterial blight of hazelnut, developed with comparative genomics. *Frontiers in Plant Science* 14:1254107. doi: 10.3389/fpls.2023.1254107
- Lamichhane, J. R., Varvaro, L. (2014). *Xanthomonas arboricola* disease of hazelnut: current status and future perspectives for its management. *Plant Pathology* 63, 243-254. <https://doi.org/10.1111/ppa.12152>
- Miller, P. W., Bollen, W. B., Simmons, J.E. (1949). Filbert bacteriosis and its control. *Oregon Agricultural Experiment Station Technical Bulletin* 16, 1-70.
- Pagani, M. C. (2004). An ABC transporter protein and molecular diagnoses of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* causing bacterial spot of stone fruits. Dissertation. North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Picard, C., Ward, M., Benko-Beloglavec, A., Matthews-Berry, S., Karadjova, O., Pietsch, M., Van Der Gaag, D.J. (2017). A methodology for preparing a list of recommended regulated non-quarantine pests (RNQPs). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 47(3), 551-558.
- Popović, T., Adamović, J., Ivanović, M., Prokić, A., Obradović, A. (2023). First Report of *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* causing bacterial blight on hazelnut tree (*Corylus avellana*) in Montenegro. *Plant Disease*. doi: 10.1094/PDIS-01-23-0138-PDN.
- Pothier, J.F., Pagani, M.C., Pelludat, C., Ritchie, D.F., Duffy, B. (2011). A duplex-PCR method for species- and pathovar-level identification and detection of the quarantine plant pathogen *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. *Journal of Microbiological Methods* 86 (1), 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.03.019>
- Prokić, A.B. (2014). *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* – Identifikacija patogena i biodiverzitet populacije. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Prunier, J.P., Luisetti, J., Gardan, L., Germain, E., Sarraquigne, J.P. (1976). La bactériose du noisetier (*Xanthomonas corylina*). *PHM Revue Horticole* 170, 31–40.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, 3rd edn. St. Paul, MN, USA: *The American Phytopathological Society Press*, pp.373.

Webber, J.B., Wada, S., Stockwell, V.O., Wiman, N.G. (2021). Susceptibility of some *Corylus avellana* L. cultivars to *Xanthomonas arboricola pv. corylina*. *Frontiers in Plant Science*. doi: 10.3389/fpls.2021.800339

Primljeno: 17. svibnja 2024. godine.

Received: May 17, 2024.

Prihvaćeno: 24. rujna 2024. godine.

Accepted: September 24, 2024.