

POJAVA Eutypa lata (Pers.: Fr.) Tul., UZROČNIKA RAKA I IZUMIRANJA ČOKOTA („EUTIPIOZE“) VINOVE LOZE U SRBIJI I MOGUĆNOSTI NJEVOG SUZBIJANJA

Sažetak

Tijekom posljednjih pet godina (2003.-2007.) u pojedinim vinogradima na području Kruševca, Varvarina, Ražnja, Negotina, Vršca i okoline Novog Sada uočeni su pojedinačni čokoti, pa i do 20% njih, s izraženim specifičnim simptomima izumiranja i propadanja. Simptomi su posebno bili izraženi na sortama Talijanski rizling, Rajnski rizling i Sauvignon bijeli. Na oboljelim čokotima „karakteristični“ simptomi su se pokazali u vidu kloroze i peharastog uvijanja lišća, koje je obično postajalo sitnije od zdravog, te pojavom mladica s bitno skraćenim internodijama, dok se na poprečnom presjeku često uočavala nekrotična zona drvenastog dijela tkiva u obliku slova “V“. Na osnovi proučavanja patogenih, morfoloških i uzgajivačkih odlika izoliranog patogena, kao i primjenom molekularnih metoda, utvrđeno je da je uzročnik uočenih simptoma bolesti fitopatogena gljiva Eutypa lata. U radu je opisan značaj navedene vrste, simptomi koje ona uzrokuje i domaćini koje napada, kao i ciklus razvoja, s posebnim naglaskom na mjere za njeno suzbijanje.

***Ključne riječi** Eutypa lata, eutipoza, patogen, morfološke i uzgajivačke osobine, molekularne metode.*

Uvod

Površine pod vinovom lozom u okolini Kruševca, Varvarina, Ražnja, Negotina, Vršca, kao i okoline Novog Sada, značajne su zahvaljujući povoljnim klimatskim i zemljišnim uvjetima, kao i dugoj tradiciji uzgoja vinove loze u tim proizvodnim područjima. Međutim, relativno niski prosječni prinosi vinove loze kod nas u odnosu na razvijene zemlje svijeta, kao i njihovo veliko variranje u pojedinim vinogradima u pojedinim godinama, često su, osim ostalih razloga, uvjetovani i načinom uzgoja vinove loze koji, uz druge agrotehničke mjere, zahtijevaju i intenzivnu zaštitu. U takvim uvjetima nerijetko dolazi do pojave raznih bolesti među kojima se po svom značaju posebno ističu

Sanja Gajić¹, dipl.ing., doc.dr. Vojislav Trkulja², mr. Tanja Vasić³

¹ Poljoprivredni fakultet, Beograd, Srbija

² Poljoprivredni institut RS, Banja Luka, BiH

³ Institut za krmno bilje, Kruševac, Srbija

plamenjača, pepelnica, siva trulež i nekoliko drugih ekonomski štetnih mikoza i viroza, koje, ako se ne suzbijaju, mogu bitno umanjiti prinos i uzrokovati velike ekonomske štete.

Međutim, tijekom posljednjih pet godina (2003.-2007.) na tim područjima, u većem broju vinograda, utvrđena je i pojava oboljelih čokota s karakterističnim simptomima koji su se pojavili u vidu kloroze i peharastog uvijanja lišća, koje je obično postajalo sitnije od zdravog, te pojavom mladica s bitno skraćenim internodijama, dok se na poprečnom presjeku često uočavala nekrotična zona drvenastog dijela tkiva u obliku latiničnog slova “V“.

Imajući to u vidu, ali i činjenicu da gore navedene karakteristične simptome navedene biljne vrste iz familije *Vitaceae* može uzrokovati nekoliko različitih vrsta gljiva, i to *Phomopsis viticola* (uzročnik ekorkioze vinove loze), gljive iz roda *Botryosphaeria* (uzročnici raka i sušenja vinove loze) i *ESCA* (grupa gljiva koji su uzročnici sušenja (apopleksije) vinove loze), prikupili smo veći broj uzoraka s oboljelih čokota vinove loze, koje smo potom analizirali u Fitopatološkim laboratorijama Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu i Instituta za krmno bilje u Kruševcu, kao i u Poljoprivrednom institutu RS u Banja Luci radi utvrđivanja točne etiologije bolesti, odnosno determinacije uzročnika navedenih simptoma. Postotak napadnutih biljaka je bio različit (sl. 1), ali se na pojedinim vinogradima kretao i do 20%, a nisu bili rijetki ni vinogradi na kojima je došlo do većeg postotka zaraze, zbog čega je u takvim vinogradima došlo do značajnih ekonomskih šteta.



Sl. 1. *Eutypa lata*. Izgled vinograda s osušenim čokotima zbog jakog napada ovog patogena (foto: S. Gajić).

Ekonomska važnost uočene pojave, kao i činjenica da naoko identične simptome može uzrokovati nekoliko različitih parazita, poslužila nam je kao povod da u ovom radu detaljnije proučimo etiologiju uočene bolesti, kao i neke važnije patogene, morfološke i uzgajivačke odlike izoliranog parazita, što bi sve zajedno moglo biti važno za njegovo uspješno suzbijanje, a samim tim i ostvarivanje stabilnijih i većih prinosa vinove loze na tom području.

Simptomi bolesti

Karakteristični simptomi na oboljelim čokotima manifestiraju se na drvetu, mladicama, listovima, cvatovima i grozdovima vinove loze.



Sl. 2. *Eutypa lata*.
 a) Izgled tipičnog simptoma u vidu slova „V” na poprečnom presjeku oboljelih biljaka vinove loze; b,c) različiti simptomi ulegnuća na površini mrtvog drveta; d) izumrli čokot vinove loze (foto: S. Gajić);

Prvi simptomi na drvetu vinove loze su najuočljiviji u rano proljeće prije kretanja vegetacije i manifestiraju se u vidu tumornih tvorevina razvijenih oko starih rana od orezivanja. Rak je teško otkriti jer je pokriven korom drveta. Skidanjem kore drveta lako se vide karakteristična područja tamnog ili bezbojnog drveta koji se prostiru u pojasevima, na dolje i na gore, duž stabla, koji mogu biti relativno dugi. Ta pojava se prvo uočava na površini, poslije čega se širi u unutrašnjost, zahvaćajući središnji dio tkiva drveta. Izumrlo tkivo je suho, tamno ili sivosmeđe do svijetlosmeđe boje, tvrdo je i lomljivo. Zbog rasta zdravog dijela drveta u odnosu na zaraženo, dolazi do pucanja stabla na površini, uzduž nekrotičnog pojasa, pri čemu izvana, na mrtvom drvetu, nastaju

manje ili veće uzdužne pukotine. Na poprečnom presjeku oboljelog stabla manifestira se jače ili slabije izražena nekroza, u obliku slova "V" (klinast oblik), koja se širi prema središtu drveta i predstavlja karakterističan simptom „eutipoze“ (sl. 2 a). Nekroza tkiva se s vremenom širi kružno, zahvaćajući sve veći dio presjeka drvenastog dijela čokota, a istovremeno se širi i duž stabla, na gore i na dolje, dopirući do osnove korjenovog vrata. Rak se brže razvija na dolje nego prema krakovima i kordonima vinove loze, a sposoban je i uzrokovati potpuno sušenje inficiranih krakova čokota. Na drvetu, naročito oko starijih presjeka od rezidbe, uočavaju se blaga površinska ulegnuća mrtvog dijela (sl. 2 b,c) i na kraju potpuno izumiranje čokota (sl.2 d).

Sl. 3. *Eutypa lata*. e) simptomi na lastaru sa skraćenim internodijama tzv. „cik-cak“ internodije (foto: S. Gajić);



Prvi simptomi na mladica oboljelih biljaka u vinogradu se uočavaju u prva dva mjeseca od kretanja vegetacije, posebno kada su nove sezonske mladice dužine 20-25 cm. Tada se uočava deformacija i promjena boje mladica u svijetlozelenu i javlja se tzv. "cik-cak" raspored internodija (sl. 3). Jača izraženost simptoma iz godine u godinu se manifestira pojavom većeg broja vrlo skraćenih mladica koje rastu iz istog mjesta na kraku čokota, vrlo blizu jedan drugog (sl. 4). Mladi listovi su manji od zdravih, klorotični i s povijenim i poderanim rubovima (sl. 5), sa sitnim nekrotičnim pjegama po obodu lista koji kasnije u sezoni prijevremeno opadaju. Micelij gljive nikad nije izoliran iz listova s vidljivim simptomima, zbog čega se pretpostavlja da su simptomi na oboljelim

Sl. 4. *Eutypa lata*. Tipičan simptom bolesti izražen u vidu većeg broja skraćenih lastara koji izbijaju iz istog mjesta (foto: S. Gajić).



Sl. 5. *Eutypa lata*. Tipični simptomi eutipoze na listu vinove loze: lijevo - obolio list, desno - zdrav list (foto: S. Gajić).





Sl. 6. *Eutypa lata*. Tipični simptomi eutipoze na grozdu: lijevo - zdrav grozd, desno -grozd koji potječe s oboljele biljke (foto: S. Gajić).

listovima, kao i promjene na mladricama, izazvane translokacijom otrova eutipina (stvorenog u starijem drvetu koji je zaražen micelijem gljive) (Carter, 1994.; Munkvold *et al.*, 1994.; Mugnai, 1999.; Gubler *et al.*, 2005.). Kada se na zaraženim mladricama pojave cvatovi, oni mogu biti deformirani, a često dolazi i do sušenja pojedinih cvijetova u cvatovima, zbog čega se kasnije stvaraju tzv. „rahuljavi“ grozdovi, s neujednačenim (sitnim i krupnim) bobicama (sl. 6).

Navedene simptome treba razlikovati od drugih sličnih simptoma ili oštećenja, na primjer od simptoma koje uzrokuju druge fitopatogene gljive kao što su *Phomopsis viticola* (uzročnik ekscorioze vinove loze), gljive iz roda *Botryosphaeria* (uzročnici raka i sušenja vinove loze) i *ESCA* (grupa gljiva koja uzrokuje sušenja (apopleksije) vinove loze) (Mugnai, 1999.; Gubler *et al.*, 2005.).

Materijal i metode rada

Iz većeg broja prikupljenih uzoraka oboljelih čokota vinove loze izoliranje uzročnika bolesti obavljeno je standardnim postupkom čime je dobiven veći broj čistih kultura gljive od kojih su za daljnja proučavanja odabrana četiri izolata, i to: V.L. 17, V.L. 27, V.L. 29 i V.L. 30, dok su determinirani izolati *E. lata* 8F i B.X. 1.10, porijeklom iz fitopatološke kolekcije iz Francuske, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), korišteni kao kontrolni izolati.

Za preliminarnu provjeru patogenosti odabranih izolata gljive prema brzom metodi Perosa *et* Borgera (1994.) korištene su neožiljene reznice vinove loze u fazi mirovanja, dok su za proučavanje osjetljivosti, odnosno otpornosti mladih biljaka prema proučavanim izolatima korištene tri sorte vinove loze: Rajnski rizling, Talijanski rizling i Sauvignon bijeli. Neožiljene reznice odabranih sorti, u fazi mirovanja, stavljene su u sterilne vlažne komore promjera 40x60 cm. Zdrave, neožiljene reznice su zasijecane među dva nodija, a potom inokulirane nanošenjem sitnih fragmenata podloge i micelije proučavanih izolata gljive, poslije čega su obavijane parafilm trakom.

Od morfoloških i uzgajivačkih odlika odabranih izolata proučen je izgled, struktura, boja i porast micelija, kao i fruktifikacija parazita na krumpir-dekstroznoj podlozi, dok je od molekularnih metoda determinacije korištena PCR metoda prema Lecomte *et al.* (2000.), uz korištenje dvaju para specifičnih prajmera: Lata 1 i Lata 2.1 i Lata 1 i Lata 2.2. Ekstrakcija DNK iz micelije ispitivanih izolata gljive je izvršena prema metodi Day *et*

Shattock (1997.), dok su PCR produkti razdvojeni metodom elektroforeze na 1,5% agaroznom gelu.

Rezultati

Pri proučavanju patogenih odlika proučavanih izolata na neožiljenim reznicama vinove loze utvrđeno je da su sve testirane sorte te biljne vrste osjetljive prema svih šest proučavanih izolata gljive (sl. 7), ali je ustanovljeno da među pojedinim sortama postoje određene manje razlike u pokazivanju osjetljivosti, odnosno otpornosti prema tom parazitu, kao i da postoje manje razlike u pojavi stupnju patogenosti, odnosno virulentnosti, među pojedinim izolatima.

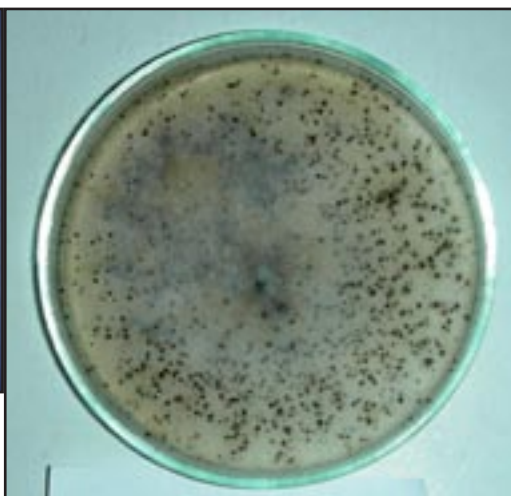


Sl. 7. *Eutypa lata*. Ogljed provjere patogenosti proučavanih izolata gljive na reznicama vinove loze sorte Rajnski rizling (foto: S. Gajić).



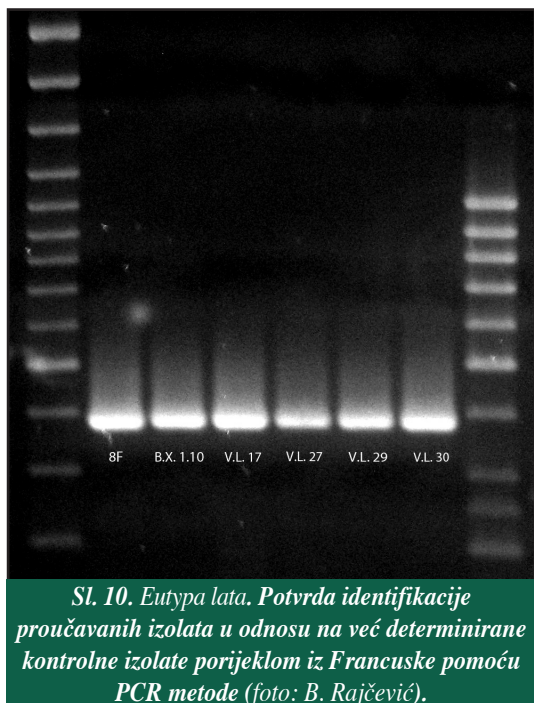
Sl. 8. *Eutypa lata*. Izgled kolonija gljive na krumpir-dekstroznoj podlozi (foto: S. Gajić).

Sl. 9. *Eutypa lata*. Izgled kolonija patogena nakon dva tjedna s pojavom crnih tjelašaca (foto: S. Gajić).



Pri proučavanju uzgajivačkih odlika utvrđeno je da svi ispitivani izolati imaju ujednačen porast micelija i da poslije sedam dana u potpunosti ispunjavaju Petrijeve zdjelice. Kolonije ispitivnih izolata su pamučasto bijele boje (sl. 8) dok su s naličija žutosmeđe boje. Nakon jednog do dva tjedna u supstratu se formiraju crna tjelešca (sl. 9). Pri korištenju molekularnih metoda identifikacije pomoću PCR utvrđeno je da svi ispitivani izolati, kao i kontrolni, pripadaju vrsti *E. lata* (sl. 10).

Na osnovu navedenih rezultata dobivenih tijekom proučavanja patogenih, morfoloških, uzgajivačkih i molekularnih karakteristika četiri proučavana izolata gljive, te njihovim uspoređivanjem s dva već identificirana kontrolna izolata, možemo zaključiti da svi



Sl. 10. *Eutypa lata*. Potvrda identifikacije proučavanih izolata u odnosu na već determinirane kontrolne izolate porijeklom iz Francuske pomoću PCR metode (foto: B. Rajčević).

pripadaju fitopatogenoj gljivi *Eutypa lata* (Pers.:Fr.) Tul., uzročniku raka i izumiranja čokota („eutipoze”) vinove loze, koja je u stranoj literaturi poznata i pod imenom ”mrtva ili odumiruća ruka” vinove loze. Daljnja proučavanja te bolesti, odnosno njenog uzročnika, s ciljem njegovog što boljeg upoznavnja i pronalaženja adekvatnih mjera borbe protiv njega, što je posebno važno s obzirom na ekonomsku važnost te bolesti, su u tijeku.

Domaćini

Među domaćinima fitopatogene gljive *Eutypa lata* navode se većinom drvenaste biljne vrste, od kojih su mnoge uzgajane, dok su neke spontano rastuće ili čine prirodne šume. Tako se među najznačajnije domaćine tog patogena ubrajaju: marelica (*Prunus armeniaca*), badem (*Prunus dulcis*), vinova loza (*V. vinifera*), jabuka (*Malus domestica*), kruška (*Pyrus communis*), limun (*Citrus limon*), orah (*Juglans regia*) i japanska trešnja (*Prunus salicina*). Osim navedenih, *E. lata* je izolirana i iz borovnice, crnog ribiza, kivija, krupnolisnog javora, oleandra, vrbe te biljaka iz roda *Ceanothus*. Smatra se da ta gljiva parazitira više od 80 biljnih vrsta, iz 27 različitih familija (Carter, 1975.; Glawe *et al.*, 1983.; Gubler *et al.*, 2005.).

Eutypa lata prvi put je opisana u mnogim zemljama svijeta kao uzročnik “gumozne” bolesti marelice. Patogen prodire kroz rane od orezivanja i izaziva rak koji obično završava izumiranjem napadnutih grana marelice (Carter 1957.; Carter *et Bolay* 1972.; Carter *et Moller* 1974.; Carter *et al.*, 1964.).

Sličan rak i propadanje su također utvrđeni i na vinovoj lozi. O tipičnom simptomu “mrtva ruka”, bolesti na vinovoj lozi, pisano je u mnogim područjima uzgoja vinove loze (Bolay *et Moller*, 1977.; Carter 1975.; Dye *et Carter* 1976.).

Na bademu *Eutypa lata* je prvobitno registrirana kao saprofit (Carter *et Talbot*, 1974.), na mrtvom panju te voćne vrste u Australiji (Carter, 1960.). Istraživanja provedena u Australiji i Sjevernoj Americi pokazuju da *Eutypa lata* može izazvati infekciju na bademu, ali se ne formira rak i izumiranje nije vidljivo kao kod marelice i vinove loze (Rumbos, 1985.).

Sedamdesetih godina prošlog stoljeća u Kaliforniji je utvrđeno da su vinova loza, marelica, kivi, borovnica, višnja i predstavnici roda *Ceanothus* prirodni domaćini patogena *Eutypa lata* i nosioci plodonosnih tijela (peritecija). Također je utvrđena nazočnost peritecija *Eutypa lata* na krupnolisnom javoru i oleandru, a naročito na mrtvim granama različitih vrsta vrba koje su bile prisutne u kanalima za navodnjavanje u blizini vinograda. Stoga se preporučuje uklanjanje i spaljivanje mrtvog drveta biljaka domaćina tog patogena, kao potencijalnog izvora inokuluma (Gubler *et al.*, 2005.).

Rasprostranjenost i ekonomska važnost

Eutypa lata je rasprostranjena širom svijeta, ali je više prisutna u područjima gdje je nivo godišnjih padalina veći od 600 mm, dok je u područjima gdje je nivo godišnjih padalina manji od 250 mm, mala vjerojatnost prisutnosti tog patogena (Bolay *et Carter*, 1985.).

Također, prema Carteru (1994.), taj patogen prevladava u područjima gdje su oštre zime, kao što su središnja Europa i istočni dio SAD-a, kao i u mnogim temperaturnim područjima, kao što su priobalna Kalifornija, jugoistočna Australija, sjeverna Francuska i južna Afrika.

Eutypa lata je odgovorna za velike ekonomske gubitke u vinskoj industriji u svijetu. Tako su gubici u neto dobiti na vinovoj lozi u Kaliforniji u 1999. godini izazvani tom gljivom procijenjeni na više od 260 milijuna dolara, odnosno izraženo u postotcima, od 30 do 62% (Mugnai, 1999.; Lecomte *et al.*, 2000.; Munkvold *et al.*, 1994.; Gubler *et al.*, 2005.).

U Južnoj Australiji su vršena istraživanja smanjenja prinosa vinove loze u dolini Eden, na sorti Širaz. U inficiranim vinogradima gubici u prinosu su bili oko 1500 kg/ha s procijenjenom vrijednošću od oko 2.800 australijskih dolara/ha. U tu procjenu nisu bili uključeni troškovi orezivanja i uklanjanja oboljelih čokota, niti činjenica da oboljeli čokoti daju nižu kvalitetu vina od zdravih čokota. Također, u Australiji je ukupni gubitak prinosa vinove loze inficirane tim patogenom za 2000./2001. godinu procijenjen na 20 milijuna australijskih dolara (Wicks *et Davies*, 1999.).

Zbog svega gore navedenog *Eutypa lata* smatra se vrlo značajnim patogenom vinove loze, koji nanosi velike ekonomske gubitke u proizvodnji grožđa i vina u svijetu.

Epidemiologija patogena

Eutypa lata prezimljava, odnosno prenosi se iz godine u godinu, u mrtvom drvenastom tkivu vinove loze i drugih biljnih vrsta njegovih domaćina, gdje se veliki broj peritecija (plodonosna tijela spolnog stadija gljive) formira u tamnom supstratu koji se naziva stroma. U regijama gdje su zime blage, peritecije *E. lata* dozrijevaju u rano proljeće, a

period njihovog pražnjenja traje od proljeća do kraja jeseni, budući da se askospore iz njih sukcesivno oslobađaju kontinuirano tijekom perioda padalina, počinjući nekoliko sati poslije početka kiše s vodenim talogom većim od 1 mm (Gubler *et al.*, 2005.).

E. lata je vaskularni patogen koji inficira vinovu lozu preko rana od orezivanja. Mada su peritecije u kasnu jesen već dosta ispražnjene, u njima još uvijek ima dovoljno askospora za inficiranje rana od orezivanja. U regijama gdje su zimske temperature ispod 0°C dominantne, rasprostiranje askospora je veliko pri kraju zime, kada je vrijeme rezidbe vinove loze. Askospore ostaju vitalne i do 2 mjeseca, a mogu se prenositi i vjetrom na udaljenosti od 50 do 100 km (Gubler *et al.*, 2005.).

Infekcija vinove loze nastaje kada askospore dospiju na svjež presjek od rezidbe, nakon čega uz pomoć vode prodiru u vaskularno tkivo povrijeđeno rezidbom, koje zarasta prirodnim putem tek dvije nedjelje poslije orezivanja. Iz tog razloga svježi presjeci su osjetljivi na infekciju dok god ne zarastu. Kiša je neophodna za oslobađanje askospora i nakon zračnog prenošenja i smještanja na otvorene krajeve vaskularnog tkiva napravljene rezidbom, askospore klijaju u provodnim žilama, u periodu od 11-12 h, pri optimalnoj temperaturi 20-25°C, obično 2 mm ispod površine presjeka. Micelija gljive u stablu i granama prvo zahvaća ksilem, a zatim se širi na kambij i floem (Carter, 1994.; Ivanović i Ivanović Dragica, 2005.). Askospore inficiraju svježere rane od orezivanja u sezoni mirovanja. Klijanje, invazija ksilemskog provodnog tkiva, zatim slabljenje biljaka zbog proizvodnje toksina i izazivanje truljenja drveta izlučivanjem enzima za degradaciju stanica također se događa u fazi mirovanja (Gubler *et al.*, 2005.).

Eutypa lata proizvodi i bespolne spore – konidije kao anamorfnu stadij ove gljive opisane su pod imenom *Libertella blepharis* A.L. Smith. Konidije se formiraju unutar piknida koji se razvijaju na drvenastom tkivu oboljelih biljaka, ali njihova funkcija u epidemiologiji bolesti još uvijek nije u potpunosti razjašnjena (Carter, 1991.a,b).

Patogen ne inficira vinovu lozu mlađu od 5 godina. Nakon infekcije micelija gljive u drvetu raste sporo, svega 10 do 20 cm godišnje, zbog čega se nakon infekcije simptomi na zeljastim organima vinove loze ne pojavljuju u prve 2 do 3 vegetacijske sezone. Tako duga inkubacija gljive u stablu i granama čini ovu bolest “podmuklom”, a zbog sporog razvoja bolesti simptomi se obično pokazuju u vinogradima starijim od 8 godina. Propadanje čokota rijetko se pojavljuje na biljkama mlađim od 10 godina, budući izumiranje čokota nastaje 2 do 3 godine nakon pojave prvih simptoma (Mugnai, 1999.; Gubler *et al.*, 2005.; Ivanović i Ivanović Dragica, 2005.).

Osobine patogena

Eutypa lata (Pers.: Fr.) Tul (syn. *E. armeniacae* Hansf. et Carter) formira peritecije u stromama na vanjskoj površini mrtvog drveta vinove loze. Zrele strome, koje se

slobodno formiraju na površini drveta, uočavaju se u vidu nejasno mutnog crnog sloja tkiva mrtvog drveta prožetog micelijem parazita, s neznatno hrapavom površinom koja nastaje zbog istaknutih vratova peritecija gljive.

Peritecije *Eutypa lata* su u obliku plosnatih boca. Svaka peritecija sadrži brojne askuse koji se stvaraju na drškama dugim 60-130 μm . Askusi su dimenzija 30-60 x 5-7,5 μm , s apikalnim otvorom. Svaki askus sadrži 8 askospora koje su bez sjaja, žute, 6,5-11 μm duge i 1,8-2 μm široke. Peritecije se generalno formiraju samo u područjima gdje je godišnji nivo padalina veći od 350 mm (Carter, 1957.).

Anamorfni stadij *Libertella blepharis* A.L. Smith se može naći na unutrašnjoj kori koja pokriva inficirano drvo. Pri proučavanju narančaste mase (eksudata) koja sadrži konidije, došlo se do zaključka da bespolne spore ne mogu klijeti u laboratorijskim uvjetima i da nema dokaza da one imaju ulogu u širenju bolesti. Međutim, postoji mogućnost da one funkcioniraju kao spermacije (Carter, 1957.; Ramos *et al.*, 1975.).

Eutypa lata se lako može uzgajati u laboratorijskim uvjetima, tako što se mali sterilni komadići uzeti s prijelaza zdravog i oboljelog drveta vinove loze stave na podlogu. Bijela micelij raste iz inficiranih komadića drveta poslije tri do četiri dana na temperaturi od 20-25°C. Peritecije se u kulturi ne formiraju, ali poslije šest do osam tjedana mogu se razviti konidiomate, iz kojih se u narančastoj masi (eksudatu) često izlučuju karakteristične jednostanične konidije (18-45 x 0,8-1,5 μm).

Izlaganjem kultura režimu 12 h svjetlo-tama ili ultraljubičastom zračenju pospješuje se sporulacija. Ne sporuliraju svi izolati i oni proizvode različitu količinu crnog pigmenta u podlozi poslije jednog do dva tjedna (sl. 9). Zbog toga se preliminarna dijagnoza vrši usporedbom morfologije kolonija starih pet do šest dana s referentnim kulturama presijanima u isto vrijeme (Glawe *et al.*, 1983.).

Suzbijanje

Suzbijanje *Eutypa lata* nije ni jednostavno, ni lako, budući da kemijska zaštita od ovog patogena daje ograničene rezultate. Zbog toga se, da bi se spriječila pojava eutipoze na vinovoj lozi, preporučuju *integralne mjere borbe*, među kojima posebnu važnost imaju preventivne mjere borbe koje se ogledaju u izboru uzgojnog oblika čokota, vremenu rezidbe i uklanjanju i spaljivanju oboljelih dijelova čokota vinove loze.

Što se tiče izbora uzgojnog oblika, preporučuju se oblici koji podrazumijevaju formiranje čokota po sistemu duplih trupova - u jednom ili dva kata. Rane od orezivanja na vinovoj lozi mogu biti osjetljive na infekciju *E. lata* duže od sedam tjedana, ali dužina tog perioda zavisi od vremena orezivanja, veličine rana i starosti orezivanog drveta. Premazivanjem rana od orezivanja i uklanjanjem oboljelih dijelova vinove loze i mrtvog

drveta smanjuje se izvor inokuluma u blizini vinograda (Mugnai, 1999.; Lecomte *et al.*, 2000.; Gubler *et al.*, 2005.). Preporučuje se uklanjanje i spaljivanje oboljelih dijelova čokota u proljeće, prije kretanja vegetacije.

Vrijeme rezidbe je jedan od bitnih čimbenika koji utječu na ostvarenje zaraze *Eutypa lata*. Zbog toga se preporučuje rana proljetna rezidba kao preventivna mjera borbe protiv ostvarenja infekcije *E. lata*. Nakon rane proljetne rezidbe na presjecima dolazi do pojave suzenja koje traje od 9 do 30 dana. Pretpostavlja se da suzenje najvjerojatnije sprječava ostvarenje infekcije *E. lata*. Smatra se da kapi tekućine koje tada konstantno izbijaju (cure) iz tkiva na presjeku, sprječavaju kontakt askospore i vaskularnog tkiva presjeka. Iako suzenje vremenom slabi, presjeci ne postaju osjetljiviji na infekciju. To se najvjerojatnije događa zbog toga što turgorov pritisak, koji postoji u živom dijelu vaskularnog tkiva, sprječava dospijevanje askospora na potrebnu dubinu za klijanje od 2 mm ispod oštećenog tkiva. Ta preventivna metoda može se provesti samo na manjim površinama, dok je na velikim površinama praktično vrlo teško organizirati rezidbu u tako kratkom vremenskom periodu jer ona zahtijeva angažiranje velikog broja radnika, zbog čega najčešće mora početi već u jesen i trajati sve do ranog proljeća, ako to vremenski uvjeti dopuštaju. Pri rezidbi se preporučuje izbjegavanje pravljenja velikih presjeka, kao i izbjegavanje rezanja odmah nakon kiša.

Zaštita kemijskim sredstvima se temelji na sprječavanju infekcija koje vrše askospore kada dospiju na nezarasle presjeka nastale orezivanjem. Presjeka koji su nastali uklanjanjem zaraženih dijelova drveta, potrebno je štititi od nove infekcije. Najčešće se odmah nakon orezivanja vrši njihovo premazivanje nekim od zaštitnih sredstava (mineralna ulja) ili fungicidima na bazi benzimidazola (karbendazim, tiabendazol). Uglavnom se štite presjeci čije je tkivo staro dvije ili više godina. Presjeka promjera do 10 mm ne treba štititi. Kada se vrši premazivanje presjeka mineralnim uljima, preporučuje se natapanje rana, da bi se produžilo njihovo djelovanje, budući da su u pitanju sredstva s kontaktnim djelovanjem koja ne mogu omogućiti dužu zaštitu presjeka. Jednogodišnje mladice nisu osjetljive prema *Eutypa lata*, pa njihova zaštita nije potrebna. Nakon rezidbe, u cilju sprječavanja mogućih infekcija čokota, preporučuje se i "plavo kupanje" nekim od fungicida na bazi bakra i to obavezno u pojačanoj koncentraciji (Ivanović i Ivanović Dragica, 2005.; Delibašić *et al.*, 2006.).

Također se preporučuje korištenje specijalnih škara koje prave male presjeka tijekom orezivanja i istovremeno vrše dezinfekciju rana, budući da u svom mehanizmu imaju dio u kojem je smješteno sredstvo za dezinfekciju. Budući da ne postoje fungicidi s kurativnim djelovanjem na taj patogen, preporučuje se uklanjanje dijelova drveta s vidnim simptomima bolesti i to tako da se dijelovi uklanjaju skidanjem 10-20 cm vidnog zdravog drveta vinove loze (Carter *et Perrin*, 1985.).

prijevod na hrvatski jezik Katarina Lučić, dipl. oec.

Literatura

- Bolay, A., Carter, M.** (1985.): Newly recorded hosts of *Eutypa lata* (= *E. armeniaca*) in Australia. Plant Prot. Q.1: 10-12.
- Bolay, A., Carter, M.** (1972.): Eutydieback of apricotis prevalent in Switzerland. Phytopathol. Z., 75: 187-189.
- Carter, M.V., Bolay, A., Rappaz, F.** (1983.): An annotated list and bibliography of *Eutypa armeniaca*. Rev. Plant Pathol. 62: 251-258.
- Carter, M.V.** (1957.): *Eutypa armeniaca* Hansf. et Carter, sp. Nov., an airborne vascular pathogen of *Prunus armeniaca* L. in South Australia. Aust. J. Bot. 5: 21-35.
- Carter, M.V.** (1960.): Further studies of *Eutypa armeniaca* Hansf. et Carter. Austral. J. Agric. Res., 11: 498-504.
- Carter, M.V.** (1975.): "Dying arm" disease of vines - a world wide problem. Austral. Pl. Pathol., 11: 46-48.
- Carter M.V.** (1991.a): The status of *Eutypa lata* as a pathogen. Monogr. Phytopathol. Pap. No. 32. International Mycological Institute, Surrey, UK.
- Carter, M.V.** (1991.b): *Eutypa dieback* ("Dying arm") disease of vines-progress towards control. Aust. Grapegrower Winemaker 172: 27-28.
- Carter, M.V.** (1994.): Wood and root diseases caused by fungi. *Eutypa dieback*. In R. C. Pearson, A.C. Goheen (ed.), Compendium of grape diseases, 3rd ed. APS Press. St. Paul, Minn. 32-34
- Carter, M.V., Moller, W.J.** (1974.): *Eutypa canker* of apricot in Spain. Plant Dis. Repr. 58: 442-443.
- Carter, M.V., Morvan, G.S., Castelian, C.** (1964.): An extension of the known distribution of *Eutypa armeniaca* Nature. 202: 1.134-1.135.
- Carter, M.V., Perrin, E.** (1985.): A pneumatic-powered spraying secateur for use in commercial orchards and vineyards. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb 25: 939-942.
- Carter, M.V., Talbot, P.H.B.** (1974.): *Eutypa armeniaca*. C.M.I. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 436, 2pp.
- Dye, M.H., Carter, M.V.** (1976.): Association of *Eutypa armeniaca* and *Phomopsis viticola* with a dieback disease of grapevines in New Zealand. Austral. Plant Pathol. Soc. Newsl. 5 (1): 6-7.
- Day, J.P., Shattock, R.C.** (1997.): Aggressiveness and other factors relating to displacement of populations of *Phytophthora infestans* in England and Wales. European Journal of Plant Pathology 103, 379-91.
- Delibašić, G., Gajić, S., Aćimović, S.** (2006.): Gljivična oboljenja drvetva vinove loze. Pesticidi i fitomedicina 21: 93-105.
- Glawe, D.A., Dille, M.A., Moller, W.J.** (1983.): Isolation and identification of *Eutypa armeniaca* from *Malus domestica* in Washington state. Mycotaxon, 18: 315-318.
- Gubler, W.D., Rolshausen, P.E., Trouillas, J.R., Urbez, J.R., Voegel, T.** (2005.): Grapevine trunk disease in California. <http://www.practicalwinery.com>. SAD.
- Ivanović, M., Ivanović, Dragica** (2005.): Bolesti voćaka i vinove loze i njihovo suzbijanje. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu.
- Lecomte, P., Peros, J.P., Blancard, D., Bastien, N., Delye, C.** (2000.): PCR assays that identify the grapevine dieback fungus *Eutypa lata*. <http://aem.asm.org>. France.
- Mugnai, L.** (1999.): Diseases of Grapevines - New Zeland Grape Vine Improvement file://C/My Documents/Standards.
- Munkvold, G.P., Duthie, J.A., Marois, J.J.** (1994.): Reductions in yield and vegetative growth of grapevines due to *Eutypa dieback*. Phytopathology 84: 186-192.
- Peros, J.P., Berger G.** (1994.): A rapid method to assess the aggressiveness of *E. lata* isolates and the susceptibility of grapevine cultivars to *Eutypa dieback*. Agronomie 14: 515-523.
- Ramos, D.E., Moller, W.J. English, H.** (1975.): Production and dispersal of ascospores of *Eutypa armeniaca* in California. Phytopathology 65: 1364-1371.
- Rumbos, I.** (1985.): Further pathogenicity studies of *Eutypa lata* (= *E. armeniaca*) on almond. Chiem-Options Mediterraneennes:79-89.
- Wicks, T., Davies, K.** (1999.): The effect of *Eutypa* on grapevine yield. The Australian Grapegrower and Winemaker Annual Technical Issue 1999.

APPEARANCE OF *Eutypa lata* (Pers.:Fr.) Tul., A CAUSATIVE AGENT OF BACTERIAL CANCER AND DYING OUT OF VINE PLANT (“EUTYPIOSIS”) OF WINE GRAPE IN SERBIA AND THE POSSIBILITIES OF ITS SUPPRESSION

Summary

During the last five years (2003-2007) in certain vineyards in the area of Kruševac, Varvarin, Ražanj, Negotin, Vršac and the surroundings of Novi Sad, there were noticed individual vine plants with specific symptoms of dying out and rotting, even up to 20% of them. The symptoms were especially expressed on the sorts Italian Riesling, Rhine Riesling, and Sauvignon Blanc. “Characteristic” symptoms on the diseased vine plants were expressed in the form of chlorosis and curling of the leaves in the form of a goblet, which usually became smaller than the healthy ones, then the appearance of lastar with significantly shortened internodes, whereas on the cross- section there was often noticed a necrotic zone of the woody part of the tissue in the shape of the letter “V”. Based on the research of pathogen, morphological and cultivating characteristics of the isolated pathogen, as well as by applying molecular methods, it has been found out that the causative agent of the noticed symptoms of disease is a phytopathogenic fungus *Eutypa lata*.

The paper describes the significance of the mentioned species, symptoms which it causes and hosts which it attacks, as well as the cycle of development, with special emphasis on its suppression.

Key words: *Eutypa lata*, eutypiosis, pathogen, morphological and cultivating characteristics, molecular methods.

*Blagoslovljen Božić i puno uspjeha, zdravlja
i sreće u 2009. godini želi Vam Pioneer Sjeme d.o.o.*



PIONEER.
A DUPONT COMPANY