

# Biscogniauxia mediterranea (De Not.) Kuntze, nova bolest mediteranskih hrastova u Republici Hrvatskoj

---

Vugdelija, Karmen

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:108:484770>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-23**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb Faculty of Forestry and Wood Technology](#)



**ŠUMARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU**

**ŠUMARSKI ODSJEK**

**SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ**

**URBANO ŠUMARSTVO, ZAŠTITA PRIRODE I OKOLIŠA**

**KARMEN VUGDELIJA**

***Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) Kuntze, NOVA  
BOLEST MEDITERANSKIH HRASTOVA U  
REPUBLICI HRVATSKOJ**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2019.**

**ŠUMARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU**

**ŠUMARSKI ODSJEK**

***Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) Kuntze, NOVA BOLEST  
MEDITERANSKIH HRASTOVA U REPUBLICI HRVATSKOJ**

**DIPLOMSKI RAD**

Diplomski studij: Urbano šumarstvo, zaštita prirode i okoliša

Predmet: Fitofarmacija u urbanim područjima

Ispitno povjerenstvo: 1. prof. dr. sc. Danko Diminić

2. doc. dr. sc. Milivoj Franjević

3. dr. sc. Jelena Kranjec Orlović

Studentica: Karmen Vugdelija

JMBAG: 0068222620

Broj indeksa: 809/16

Datum odobrenja teme: 25.4.2019.


Datum predaje rada: 3.9.2019.

Datum obrane rada: 20.9.2019.

**Zagreb, rujan 2019.**

Dokumentacijska kartica

Naslov	<i>Biscogniauxia mediterranea</i> (De. Not) Kuntze, nova bolest mediteranskih hrastova u Republici Hrvatskoj
Title	<i>Biscogniauxia mediterranea</i> (De. Not) Kuntze, new disease of Mediterranean oaks in the Republic of Croatia
Autor	Karmen Vugdelija
Adresa autora	Lanište 7, Zagreb
Mjesto izrade	Zagreb
Vrsta objave	Diplomski rad
Mentor	prof. dr. sc. Danko Diminić
Sumentorica	dr. sc. Jelena Kranjec Orlović
Godina objave	2019.
Sadržaj rada	Broj stranica: 44 Broj tablica: 1 Broj slika: 23 Broj navoda literature: 49
Ključne riječi	<i>Biscogniauxia mediterranea</i> , hrastovi, odumiranje, vodni stres, patogena faza, mjere zaštite
Key words	<i>Biscogniauxia mediterranea</i> , oaks, decline, water stress, pathogenic phase, protection measures
Sažetak	U 2014. godini je na području Istre te otoka Cresa utvrđena nova gljiva na hrastu crniki, meduncu i ceru, <i>Biscogniauxia mediterranea</i> (De Not.) Kuntze, koja kao jedan od čimbenika sudjeluje u njihovom odumiranju. Cilj ovog istraživanja je dati pregled dostupne literature o ovom patogenu, sa svrhom boljeg razumijevanja bolesti te mogućih mjera zaštite na području Republike Hrvatske.

	<b>IZJAVA O IZVORNOSTI RADA</b>	<b>OB ŠF 05 07</b>
		Revizija: 1
		Datum: 28. 6. 2017.

„Izjavljujem da je moj diplomski rad izvorni rezultat mogega rada te da se u izradi istoga nisam koristila drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni.“

---

*Karmen Vugdelija*

U Zagrebu 3. rujna 2019.

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. MEDITERANSKI HRASTOVI U REPUBLICI HRVATSKOJ.....	1
2.1. <i>Quercus cerris</i> (cer, hrast cer) .....	1
2.1.1. Područje rasprostranjenosti .....	1
2.1.2. Šumska vegetacija i stanište .....	2
2.1.3. Važnost i upotreba.....	3
2.1.4. Štetnici i bolesti.....	3
2.2. <i>Quercus ilex</i> (crnika, česmina, česvina).....	3
2.2.1. Područje rasprostranjenosti .....	3
2.2.2. Šumska vegetacija i stanište .....	4
2.2.3. Važnost i upotreba.....	5
2.2.4. Štetnici i bolesti.....	6
2.3. <i>Quercus pubescens</i> (medunac, hrast medunac).....	6
2.3.1. Područje rasprostranjenosti .....	6
2.3.2. Šumska vegetacija i stanište .....	7
2.3.3. Važnost i upotreba.....	8
2.3.4. Štetnici i bolesti.....	9
3. <i>BISCOGNIAUXIA MEDITERRANEA</i> U REPUBLICI HRVATSKOJ.....	9
4. OPIS GLJIVE <i>BISCOGNIAUXIA MEDITERRANEA</i> .....	11
5. PODRUČJE RASPROSTRANJENOSTI.....	12
6. DOMAĆINI .....	13
7. RAZMNOŽAVANJE .....	14
7.1. Nespolno razmnožavanje .....	14
7.2. Spolno razmnožavanje .....	15
8. GENETSKA VARIJABILNOST.....	17
9. EPIDEMIOLOGIJA.....	19
9.1. Predispozicije nastanka zaraze.....	19
9.1.1. Stres domaćina .....	19

9.1.2.	Količina padalina .....	20
9.1.3.	Ozon (O <sub>3</sub> ).....	20
9.1.4.	Temperatura.....	21
9.1.5.	Uvjeti klijanja askospora .....	21
9.2.	Način zaraze u biljci .....	23
9.3.	Odnos aminokiselina i patogena.....	24
9.4.	Način širenja patogena .....	25
9.4.1.	Abiotički vektori .....	25
9.4.2.	Biotički vektori.....	25
10.	PRISUTNOST U BILJNIM ORGANIMA .....	27
11.	SIMPTOMI BOLESTI.....	28
11.1.	Morfološke promjene .....	28
11.2.	Fiziološke promjene .....	29
11.3.	Smeđa trulež.....	30
12.	METABOLITI .....	30
12.1.	Fitotoksini.....	30
12.2.	Metaboliti u medicinske svrhe.....	31
12.3.	Fitotoksin za antifungalnim svojstvima .....	32
13.	MJERE ZAŠTITE.....	32
13.1.	Kemijska kontrola.....	33
13.2.	Biološka kontrola.....	34
14.	UPRAVLJANJE .....	36
14.1.	Silvikultura.....	36
14.2.	Kemijska kontrola.....	37
14.3.	Biološka kontrola.....	38
15.	ZAKLJUČAK .....	39
16.	POPIS LITERATURE .....	40

## POPIS SLIKA

<b>Slika 1.</b> Rasprostranjenost <i>Quercus cerris</i> po biogeografskim regijama: kontinentalna, alpinska, mediteranska (Flora Croatica Database. Preuzeto s <a href="https://hirc.botanic.hr/fcd/">https://hirc.botanic.hr/fcd/</a> ) .....	2
<b>Slika 2.</b> Rasprostranjenost <i>Quercus ilex</i> po biogeografskim regijama: kontinentalna, alpinska, mediteranska (Flora Croatica Database. Preuzeto s <a href="https://hirc.botanic.hr/fcd/">https://hirc.botanic.hr/fcd/</a> ) .....	4
<b>Slika 3.</b> Rasprostranjenost <i>Quercus pubescens</i> po biogeografskim regijama: kontinentalna, alpinska, mediteranska (Flora Croatica Database. Preuzeto s <a href="https://hirc.botanic.hr/fcd/">https://hirc.botanic.hr/fcd/</a> ) .....	7
<b>Slika 4.</b> Odstupanje srednje godišnje temperature zraka (°C) za 2012. godinu od prosječnih vrijednosti 1961-1990. (Državni hidrometeorološki zavod. Preuzeto s <a href="http://meteo.hr/index.php">http://meteo.hr/index.php</a> ).....	10
<b>Slika 5.</b> Odstupanje srednje godišnje temperature zraka (°C) za 2013. godinu od prosječnih vrijednosti 1961-1990. (Državni hidrometeorološki zavod. Preuzeto s <a href="http://meteo.hr/index.php">http://meteo.hr/index.php</a> ).....	10
<b>Slika 6.</b> Odstupanje godišnjih količina oborine koje su izražene u postocima (%) višegodišnjeg prosjeka (1961.-1990.) za 2014. godinu (Državni hidrometeorološki zavod. Preuzeto s <a href="http://meteo.hr/index.php">http://meteo.hr/index.php</a> ).....	11
<b>Slika 7.</b> Područje rasprostranjenosti <i>Biscogniauxia mediterranea</i> .....	13
<b>Slika 8.</b> Anamorfni oblik <i>Nolidosporium</i> spp. (Inacio i sur., 2011) .....	14
<b>Slika 9.</b> <i>Biscogniauxia mediterranea</i> na <i>Quercus suber</i> (Henriques 2015).....	16
<b>Slika 10.</b> Sedam dana stare kolonije <i>B. mediterranea</i> iz strome A i strome B (porvšina i poledina) (Henriques i sur., 2014b).....	18
<b>Slika 11.</b> Dendrogram strome A – pokazuje sličnost među izoliranim primjercima <i>B. mediterranea</i> (Henriques i sur., 2014b).....	18
<b>Slika 12.</b> Dendrogram strome B – pokazuje sličnost među izoliranim primjercima <i>B. mediterranea</i> (Henriques i sur., 2014b).....	19
<b>Slika 13.</b> Otpuštanje askospora u prirodnim uvjetima tijekom cijele godine, otpuštanje askospora je izraženo indeksom otpuštanja (DI) izračunatog sa formulom $DI=S(g \times n)/N$ (Vannini i sur., 1996) .....	21
<b>Slika 14.</b> Utjecaj gustoće suspenzije askospora na njihovo klijanje (Vannini i sur., 1996) .....	22
<b>Slika 15.</b> List <i>Quercus cerris</i> posprejan suspenzijom askospora gljive <i>B. mediterranea</i> , A – neprokljale askospore (list izložen ozonu), B – prokljale askospore i razvoj hifa, C – prokljale askospore i ulazak hifa kroz kutikulu (pp – točka ulaska, eh – hifa unutar epikutikularnog voska, D – anamorfni stadij <i>Nolidosporium</i> spp. (Paoletti i sur., 2006) .....	24
<b>Slika 16.</b> Vektor <i>Platypus cylindrus</i> (Belhoucine i sur., 2011) .....	26
<b>Slika 17.</b> Cvilidreta <i>Cerambyx cerdo</i> sa hodnicima (Europska komisija. Preuzeto s <a href="https://ec.europa.eu/commission/index_en">https://ec.europa.eu/commission/index_en</a> ) .....	27
<b>Slika 18.</b> Šumska nalazišta gljive <i>B. mediterranea</i> sa simptomima. A – periteciji na <i>Quercus ilex</i> , B – periteciji na <i>Q. cerris</i> , C – periteciji na <i>Q. pubescens</i> (Diminić i sur., 2019).....	28



<b>Slika 19.</b> Slika 25. A-C otvorene rane i nekroza drva uzrokovane gljivom <i>B. mediterranea</i> na inokuliranim sadnicama <i>Quercus cerris</i> (Diminić i sur., 2019).....	29
<b>Slika 20.</b> Kemijska struktura metabolita (Wu i sur., 2016) .....	32
<b>Slika 21.</b> Postotak rasta gljive <i>B. mediterranea</i> pod tretmanima bakrovim oksikloridom i propikonazolom naspram kontrolne grupe (Rostamian i sur., 2017) .....	33
<b>Slika 22.</b> Rast <i>Biscogniauxia mediterranea</i> sa različitim tretmanima (Rostamian i sur., 2017) .....	35
<b>Slika 23.</b> Prosječni rast (izražen u cm <sup>2</sup> ) <i>B. mediterranea</i> tijekom biološkog i kemijskog tretmana (Rostamian i sur., 2017) .....	35

## POPIS TABLICA

<b>Tablica 1.</b> Postotak klijanja askospora nakon inkubacije od 6h, 12h i 24h u vodi i temperaturama u rasponu od 5°C do 40°C (Vannini i sur., 1996) .....	23
--	----

## 1. UVOD

Ovaj rad se bavi upoznavanjem vrste *Biscogniauxia mediterranea* koja se pojavljuje u Europi već u počecima 20.stoljeća (najraniji spomenuti podatak), da bi se munjevitom brzinom proširila gotovo po cijeloj Europi, ali i cijelom svijetu. Prvi puta u Republici Hrvatskoj se pojavljuje 2014. godine u Istri prouzročivši odumiranje hrastova.

*B. mediterranea* preferira vrste porodice *Fagaceae*, ali dolazi na širokom rasponu domaćina, uostalom i na četinjačama. Izrazito je prilagodljiva na vremenske prilike i na različit okoliš, što potvrđuje činjenica da je prisutna na četiri kontinenta.

Budući da kao endofit obitava u domaćinu bez ispoljavanja simptoma bolesti, uslijed vodnog stresa, pada vitaliteta prelazi u patogenu, agresivnu fazu u kojoj usmrćuje domaćina. Prelazak u patogenu fazu je sve češći uslijed klimatskih promjena gdje su klimatski ekstremi sve češća pojava.

Kao što je već spomenuto, cilj rada je dati pregled vrste, sa trenutno dostupnom literaturom, da bismo ju što bolje razumjeli i sukladno time upotrijebili poznate mjere zaštite.

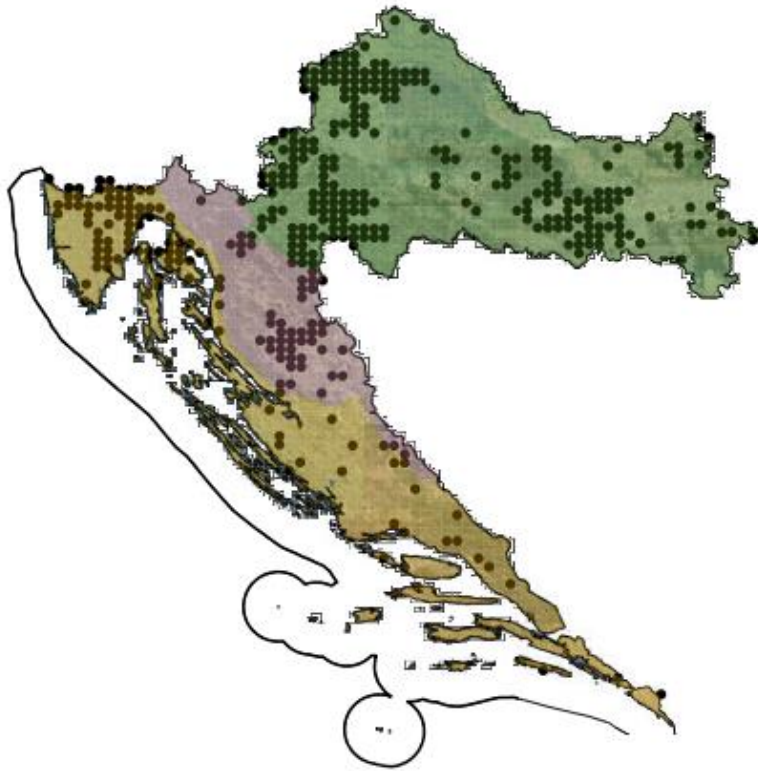
## 2. MEDITERANSKI HRASTOVI U REPUBLICI HRVATSKOJ

### 2.1. *Quercus cerris* (cer, hrast cer)

*Quercus cerris* L. je listopadna vrsta roda *Quercus* spp., koji pripada porodici *Fagaceae*, te je autohton u južnoj Europi (posebice u Italiji i na Balkanskom poluotoku) i Maloj Aziji. Brzog je rasta, visine do 35 m, promjera 1,5-2 m, te može doživjeti 120-150 godina (Idžojić, 2005; de Rigo i sur., 2016a).

#### 2.1.1. Područje rasprostranjenosti

*Quercus cerris* nalazimo u sve 3 biogeografske regije: kontinentalnoj, alpinskoj i mediteranskoj (Slika 1). U mediteranskoj regiji zauzima prostor submediterana. U submediteranskoj regiji raste u termofilnoj zoni listopadnih šuma crnoga bora (*Pinus nigra*). Za razliku od eumediteranske zone, odlikuje se nižim temperaturama u zimskim mjesecima te većom količinom padalina. Zauzima brežuljkasta područja u listopadnim šumama na suhim, toplim i dubljim tlima. (Flora Croatica Database. Preuzeto s <https://hirc.botanic.hr/fcd/>; Hrvatska enciklopedija. Preuzeto s <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=26315>; Priroda i biljke. Preuzeto s <https://www.plantea.com.hr>)



Slika 1. Rasprostranjenost *Quercus cerris* po biogeografskim regijama: kontinentalna (zeleno), alpinska (ružičasta), mediteranska (žuta), (Flora Croatia Database. Preuzeto s <https://hirc.botanic.hr/fcd/>)

### 2.1.2. Šumska vegetacija i stanište

Iako je *Q. cerris* rasprostranjen po cijeloj RH nije nositelj mnogih šumskih zajednica. Jedna od zajednica je *Fraxino orni-Quercetum cerridis* koja pripada svezi *Quercion petraeae-cerridis* u kojoj se objedinjuju zajednice cera, te zajednice cera i hrasta kitnjaka. Druga zajednica je *Quercetum frainetto-cerridis* koja pripada svezi *Quercion frainetto* najčešće na brežuljkastim terenima. *Q. cerris* nalazimo i u svezi *Carpinion betuli*, zajednice *Carpinion betuli-Quercetum roboris* kao subasocijacija *Aceri campestri-Quercetum cerris* (Vukelić 2012).

*Fraxino orni-Quercetum cerridis* su šume hrasta cera i crnog jasena, većinom panjače, koje uspijevaju na toplijim padinama na nadmorskoj visini od 500-900 m, na plitkim i srednje dubokim vapnenačkim tlima, crnici na vapnencu i na smeđem tlu na vapnencima i dolomitima. *Quercus cerris* prevladava u sloju drveća, uz cer dolaze *Fraxinus ornus*, *Ostrya carpinifolia* itd., te u sloju prizemnog rašća nalazimo termofilne i mezofilne vrste (Vukelić 2012).

*Quercetum frainetto-cerridis* je šuma hrasta sladuna i cera, osobito rasprostranjena na prijelaznim područjima stepe i šume. Kserotermne su zajednice razvijene na blažim nagibima južnih padina nadmorske visine 150-350 m. Leže na praporu i praporastim sedimentima na kojima se razvilo ilimerizirano tipično i pseudoglejno tlo. Nositelj zajednice je *Quercus frainetto*, ali *Q. cerris* dolazi kao druga najčešća vrsta (Vukelić 2012).

#### 2.1.3. Važnost i upotreba

Zbog niže tehnološke vrijednosti i činjenice da puca, drvo hrasta cera ima malo primjena, a jedna od njih je drvo za ogrjev. Jedno je od cjenjenijih vrsta drva za ogrjev zbog velike toplinske snage koja nastaje sagorijevanjem (de Rigo i sur., 2016a; Priroda i biljke. Preuzeto s <https://www.plantea.com.hr>).

#### 2.1.4. Štetnici i bolesti

U Republici Hrvatskoj neke od bolesti i štetnika koje napadaju hrast cer su: hrastov gubar *Lymantria dispar*, osa *Andricus quercusradicis*, hrastov ušenac *Phylloxera quercus*, pseudogljive roda *Phytophthora* (*P. cinnamomi*, *P. ramorum*), a umjereno je osjetljiv na rak kore pitomog kestena *Cryphonectria parasitica*, te u urbanim područjima na borovog četnjaka *Thaumetopoea processionea* (de Rigo i sur., 2016a).

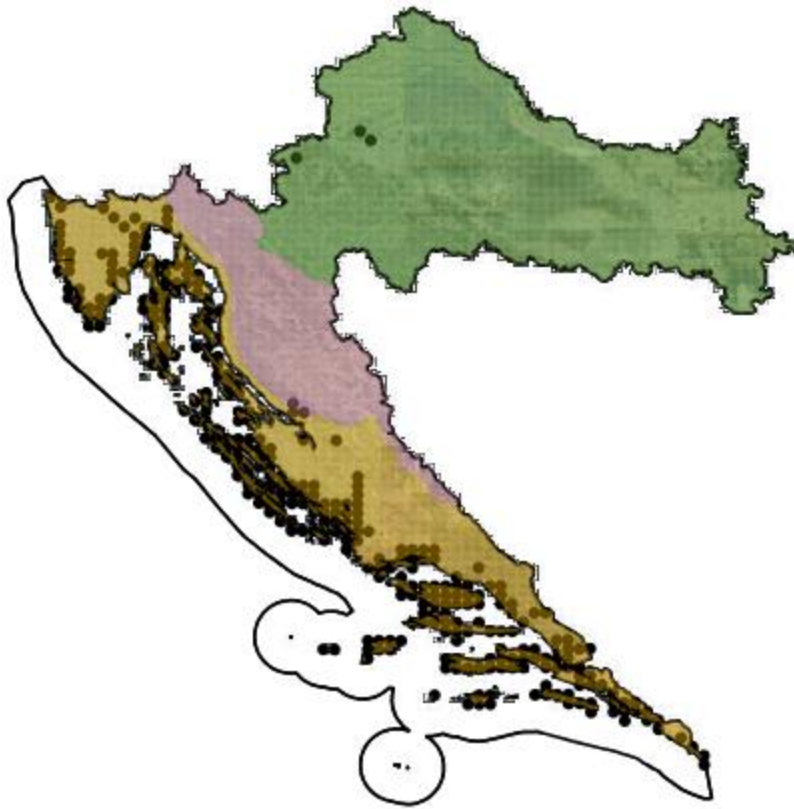
### 2.2. *Quercus ilex* (crnika, česmina, česvina)

*Quercus ilex* L. je vazdazelena vrsta hrasta iz porodice *Fagaceae*, koja raste kao grm ili niže stablo do 25 m visine. Autohton je na Mediteranu (od Portugala do Turske) gdje je dominantan u šumama i zajednici makija. Dobro podnosi zasjenu što mu omogućuje da se obnavlja ispod krošnje stabala, te može dosegnuti starost i do 1000 godina (de Rigo i sur., 2016b).

#### 2.2.1. Područje rasprostranjenosti

*Quercus ilex* zauzima cijelu mediteransku biogeografsku regiju (Slika 2), ali eumediteransku zonu u kojoj čini zajednice jedne od najvrijednijih mediteranskih šuma. Eumediteran karakteriziraju suha i vruća ljeta, te blage i kišovite zime, ali sa jakim udarima bure koju crnika dobro podnosi. Dolazi na dubljim i sušim staništima umjereno kisele reakcije, tla su većinom crvenice. Areal se rasprostire od južne i jugozapadne Istre gdje se nalaze nešto humidniji uvjeti, preko priobalja Kvarnera i Dalmacije, te kvarnerskih i dalmatinskih otoka na

kojima može zauzimati veće nadmorske visine pa sve do poluotoka Pelješca (Vukelić 2012; Priroda i biljke. Preuzeto s <https://www.plantea.com.hr>)



Slika 2. Rasprostranjenost *Quercus ilex* po biogeografskim regijama: kontinentalna (zelena), alpinska (ružičasta), mediteranska (žuta), (Flora Croatia Database. Preuzeto s <https://hirc.botanic.hr/fcd/>)

### 2.2.2. Šumska vegetacija i stanište

Zajednice *Quercus ilex* su proširene po cijeloj eumediteranskoj zoni, a najznačajnije zajednice pripadaju svezi *Quercion ilicis*. Ona obuhvaća najvažnije i najveće zajednice, posebno na otocima na kojima je temeljna vrsta hrast crnika (*Quercus ilex*) koji sa vazdazelenim vrstama tvori zajednice na pretežno južnom području, dok sa crnim jasenom tvori mješovite zajednice u humidnijem, sjeverozapadnom području (Vukelić 2012).

Najznačajnije zajednice hrasta crnike eumediteranske zone, sveze *Quercion ilicis*, su: *Myrto-Quercetum ilicis*, *Fraxino orni-Quercetum ilicis*, a u mediteransko-montanskom pojasu su zajednice: *Ostryo-Quercetum ilicis* i *Quercus ilici-Pinetum dalmaticae*. U svezi se nalaze i zajednice manjeg značaja i rasprostranjenosti: *Quercetum ilici-virgilianae* (jako degradirane šume crnike i duba) i *Pistacio-Rhamnetum alaterni* (makija tršlje i vazdazelene krkavine)

nastala degradacijom šuma crnike i crnog jasena. Šume se većinom nalaze u degradacijskom stadiju panjače i makije (Vukelić 2012).

*Fraxino orni-Quercetum ilicis* su mješovite vazdazelene šume hrasta crnike i crnog jasena koje su najproširenije šume eumediteranske zone. Rasprostranjuje se od J i JZ Istre do Prevlake. Na hladnijem dijelu areala zbog nešto nižih temperatura i većih količina oborina uspijevaju i listopadne vrste (Vukelić 2012).

*Myrto-Quercetum ilicis* su šume hrasta crnike s mirtom kao najtermofilnije crnikove zajednice u eumediteranskoj zoni u kojima izostaju listopadne vrste te uspijevaju samo vazdazelene. Rasprostire se na otocima od Unija i Lošinja do Lastova sa srednjim minimumom najhladnijeg mjeseca između 6-8°C i oborinama oko 1000mm. Šume su najčešće razvijene kao makija ili su u potpunosti iskrčene (Vukelić 2012).

*Ostryo-Quercetum ilicis* su šume hrasta crnike i crnoga graba u kojima se nalaze vazdazelene, ali i listopadne vrste zbog toga što zauzimaju površine većih nadmorskih visina jadranskih otoka, hladnijih i vlažnijih uvjeta, od Cresa do Korčule i Pelješca (Vukelić 2012).

*Quercu ilici-Pinetum dalmaticae* su šume dalmatinskoga crnoga bora koje rastu u mediteransko-montanskom vegetacijskom pojasu najčešće na plitkoj crnici ili posmeđenoj crvenici na kojima je endemični crni bor svojstvena i edifikatorska vrsta. Nastale su degradacijom crnikovih šuma, te je taj stadij trajnog karaktera (Vukelić 2012).

Osim što zajednice hrasta crnike nalazimo u svezi *Quercion ilicis* gdje je uglavnom i glavna drvenasta vrsta, nalazimo ga i u svezi *Oleo-Ceratonion*, u kojoj je glavna vrsta *Pinus halepensis*, koja obuhvaća najtoplije šume i njihove degradacijske stadije šume hrasta crnike i alepskog bora. Degradacijski stadiji su često guste, neprohodne šikare sastavljenih većinom od vazdazelenih, sklerofilnih vrsta u obliku grmlja i rjeđe nižeg drveća

*Quercu ilici-Pinetum halepensis* su šume alepskog bora i hrasta crnike gdje je alepski bor dominantna vrsta, a crnika raste u podstojnom sloju, kao sloj grmlja. Obuhvaćaju područje stenomediterana sa kserotermnijim uvjetima od eumediterana. Široko su rasprostranjene na otocima Hvaru, Braču, Korčuli, Lastovu, Mljetu, Murteru i Lokrumu (Vukelić 2012).

### 2.2.3. Važnost i upotreba

Drvo crnike je gusto, visoke tvrdoće te se teško suši i rezbari. Zbog te kvalitete se koristi u građevinarstvu, stolariji itd. (de Rigo i sur., 2016b; Priroda i biljke. Preuzeto s <https://www.plantea.com.hr>).

Osim klasične upotrebe drva, šume hrasta crnike pružaju i općekorisne funkcije (OKFŠ), kao što su rekreativna, erozijska funkcija i mnoge druge, jer su šume Mediterana podložne erozijama uslijed stalnih požara, suša, pašarenja i neadekvatnog gospodarenja.

Crnikove šume su uvelike degradirane čistim sječama na površinama sa stalnim sušama i vjetrom, a dodatno se degradiraju kada nakon požara nastaju zašikarene površine koje se ne privode prvotnoj vegetaciji nego se žele privesti poljoprivrednoj površini (Vukelić 2012).

#### 2.2.4. Štetnici i bolesti

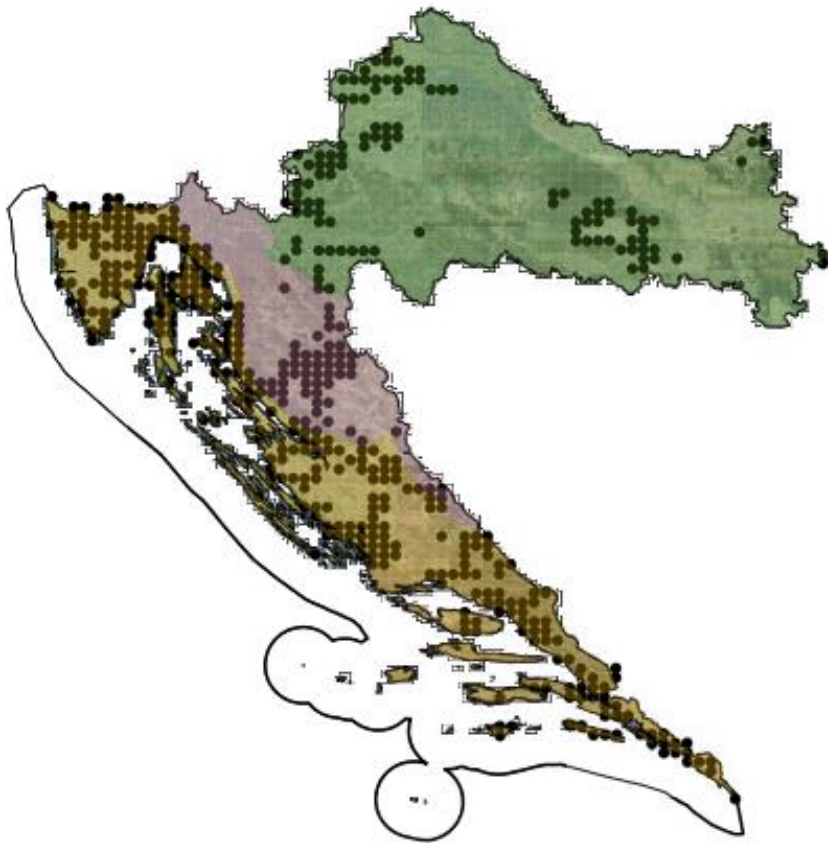
Dugačka razdoblja bez kiše sa sve većim brojem suših godina, stvaraju uvjete za vodni stres, te crnika postaje jako podložna patogenima kao što su: *Biscogniauxia mediterranea*, *Phytophthora quercina*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora ramorum* i rak kore pitomog kestena *Cryphonectria parasitica*, ali i insektima među kojima su od defolijatora najčešći hrastov gubar *Lymantria dispar*, smrekin prelac *Lymantria monacha*, hrastov zeleni savijač *Tortrix viridana* i kukavičji suznik *Malacosoma neustria* (de Rigo i sur., 2016b).

### 2.3. *Quercus pubescens* (medunac, hrast medunac)

*Quercus pubescens* Willd. je listopadna vrsta hrasta iz porodice *Fagaceae*, čije se područje rasprostranjenja proteže kroz južnu i srednju Europu te Malu Aziju. Uslijed česte hibridizacije sa drugim hrastovima (*Q. pyrenaica*, *Q. faginea*, *Q. petraea*, *Q. frainetto*), klimatskih događaja tijekom pleistocena i fragmentacije staništa ljudskom djelatnošću, došlo je do kombinacije hibridizacije i inbreedinga pri čemu je nastala velika varijabilnost unutar vrste (Idžojtić, 2005; Pasta i sur., 2016).

#### 2.3.1. Područje rasprostranjenja

*Quercus pubescens* nalazimo u sve 3 biogeografske regije: kontinentalnoj, alpskoj i mediteranskoj (Slika 3). U kontinentalnoj regiji zauzima prostor Žumberačkog gorja, Samoborskog gorja, Medvednice i slavonskog gorja (Papuk, Pšunj, Požeška gora, Dilj i Krndija) na kojima dolazi na vapnenastim tlima. U alpskoj regiji dolazi na Velebitu gdje je ujedno i najrasprostranjenija vrsta hrasta, a u mediteranskoj regiji zauzima prostor cijelog submediterana gdje su ljeta suha i vruća, ali su zime hladnije i sa većom količinom padalina za razliku od eumediterana. Nalazimo ga na toplim staništima sa plitkim i suhim vapnenačkim tlima slabo kisele reakcije (Priroda i biljke. Preuzeto s <https://www.plantea.com.hr>).



Slika 3. Rasprostranjenost *Quercus pubescens* po biogeografskim regijama: kontinentalna (zelena), alpinska (ružičasta), mediteranska (žuta), (Flora Croatia Database. Preuzeto s <https://hirc.botanic.hr/fcd/>)

### 2.3.2. Šumska vegetacija i stanište

Svezi *Ostryo-Carpinion orientalis* pripadaju šume i šikare hrasta medunca s crnim i bijelim grabom na neutrofilnim i bazičnim tlima, od Istre do dubrovačkog zaleđa. Sa meduncem raste bijeli grab u toplijem dijelu, a sa crnim grabom u hladnijem dijelu, prema bukovim šumama. U submediteranskoj zoni dolazi nekoliko zajednica koje su opisane u nastavku.

*Quercus pubescenti-Carpineum orientalis* su šume hrasta medunca i bijelog graba koje su najznačajnije zajednice submediteranske zone u područjima u kojima su rasprostranjene, od priobalnog pojasa sjevernog primorja sve do granice sa Crnom Gorom. Zajednicu nalazimo i u kontinentalnoj Hrvatskoj i to na području Like te na Plešivici. Dolazi u uvjetima umjereno tople klime sa većom količinom oborina. Šume su većinom u različitim degradacijskim stadijima zbog lošeg utjecaja stoljetnog iskorištavanja za ogrjev ili pašarenje, no danas tih utjecaja nema pa je većina šuma u progresiji (Vukelić 2012).



*Aristolocio luteae-Quercetum pubescentis* su šume i šikare hrasta medunca i crnoga graba koje zauzimju prostor Istre i Velebita u uvjetima hladnije klime. Nadmorska visina se proteže od obale pa do 900 m i naviše. Zadnja je šumska zajednica prije dolaska kontinentalnih zajednica pa tu ne dolaze vazdazelene vrste, a rijetko termofilne. Visoke šume su malih površina, često panjače u kojima prevladava crni grab (*Ostrya carpinifolia*), a najveće površine zauzimaju degradacijski oblici šikare u kojima je hrast medunac rijedak ili izostaje (Vukelić 2012).

*Quercus pubescenti-Ostryetum carpinifoliae* kontinentalne su šume hrasta medunca sa crnim grabom koje se rasprostiru kontinentalnom Hrvatskom sve do Ivanščice, Ravne gore i Kalnika na vapnencima i dolomitima (Vukelić 2012).

Svezi *Quercion pubescenti-petraeae* pripadaju zajednice na kontinentu brežuljkastog i brdskoga pojasa (250-700m). Medunac se nalazi u trima zajednicama:

*Fraxino orni-Quercetum pubescentis* su šume hrasta medunca i crnog jasena koje nalazimo na slavonskom gorju fragmentarno rasprostranjene. Zauzimaju prostor najčešće na ekstremno suhim staništima, izloženim i osunčanim padinama (Vukelić 2012).

*Potentillo albae-Quercetum pubescentis* su šume hrasta medunca sa bijelim petoprstom, reliktna su zajednica, nadmorske visine oko 350 m. Budući da su istarske zajednice florno posebne, Trinajstić (1982) ih je označio geografskom varijantom "*istriacum*" (Vukelić 2012).

*Molinio arundinaceae-Quercetum pubescentis* šume hrasta medunca s trstolikom beskoljenskom zauzimaju središnji dio Istre, na smeđem tlu. Zajednica je otvorena sklopa, na strmim padinama. Od preostalih šuma ima dosta panjača ili šikara koje se nalaze u sporij prirodnoj progresiji (Vukelić 2012).

### 2.3.3. Važnost i upotreba

Zbog neravnomjernog rasporeda drvnih vlakana i tvrdoće drva, po čemu je i dobio jedno od mnogih imena, hrastovina tvrda, drvna građa se uglavnom koristi kao drvo za ogrjev (Pasta i sur., 2016; Flora Croatica Database. Preuzeto s <https://hirc.botanic.hr/fcd/>).

Hrast medunac je jedan od najčešćih domaćina ekonomski važnih tartufa (*Tuber aestivum*, *T. macrosporum*, *T. magnatum*, *T. melanosporum* i *T. uncinatum*) (Pasta i sur., 2016) koji su najčešće nađeni u Istri, ali ih ima i u kontinentalnoj Hrvatskoj.

Gotovo sve šume medunca u kontinentalnoj Hrvatskoj su izuzete iz redovitog gospodarenja zbog velikog značenja u geofondu i biološkoj raznolikosti. Na staništima sa ekstremnim uvjetima ostaju kao trajni stadij, no tamo gdje su povoljniji uvjeti postoji mogućnost prelaska u druge složenije zajednice. Istarske zajednice imaju protuerozijsku funkciju na većim nagibima gdje tlo jako erodira pa na površinu izbija flišna podloga koju bujice više ispiru. Takve zajednice imaju ulogu u potrajnom gospodarenju šumama zbog gotovo onemogućene sukcesije (Vukelić 2012).

#### 2.3.4. Štetnici i bolesti

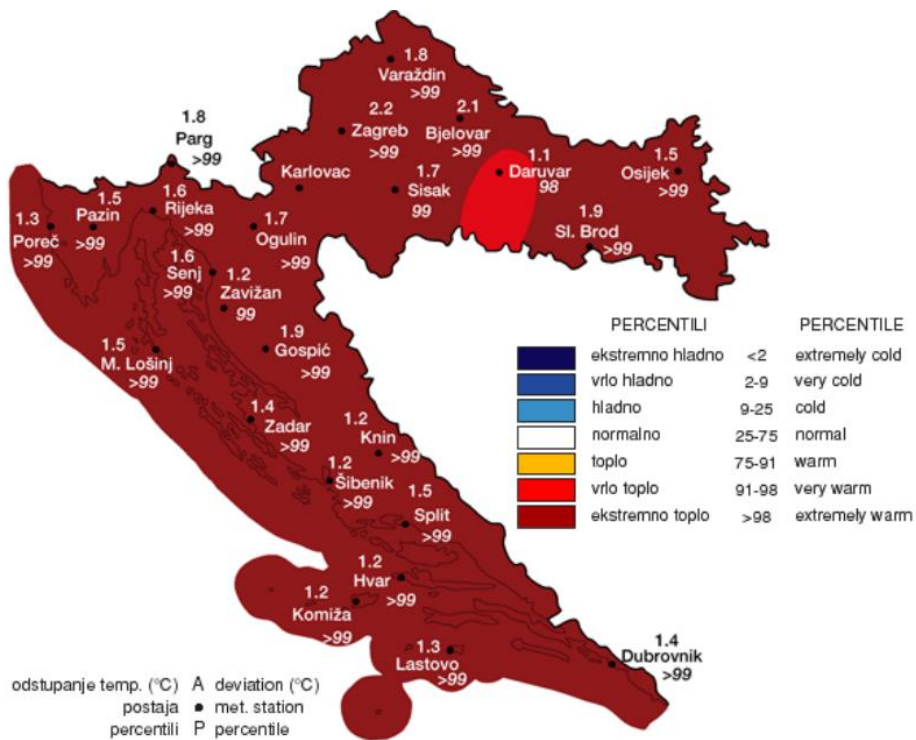
Iako je hrast medunac sposoban podnijeti ljetne suše i niske zimske temperature sve je više podložan napadima različitih patogena, uslijed sve većih klimatskih promjena. Jedne od patogena su gljive iz roda *Phytophthora*, kao što su: *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora ramorum* i *Phytophthora quercina* na koju je jako osjetljiv. Osim podložnosti na patogene, sklon je i napadima defolijatorima, kao što je hrastov gubar *Lymantria dispar* (Pasta i sur., 2016).

### 3. *BISCOGNIAUXIA MEDITERRANEA* U REPUBLICI HRVATSKOJ

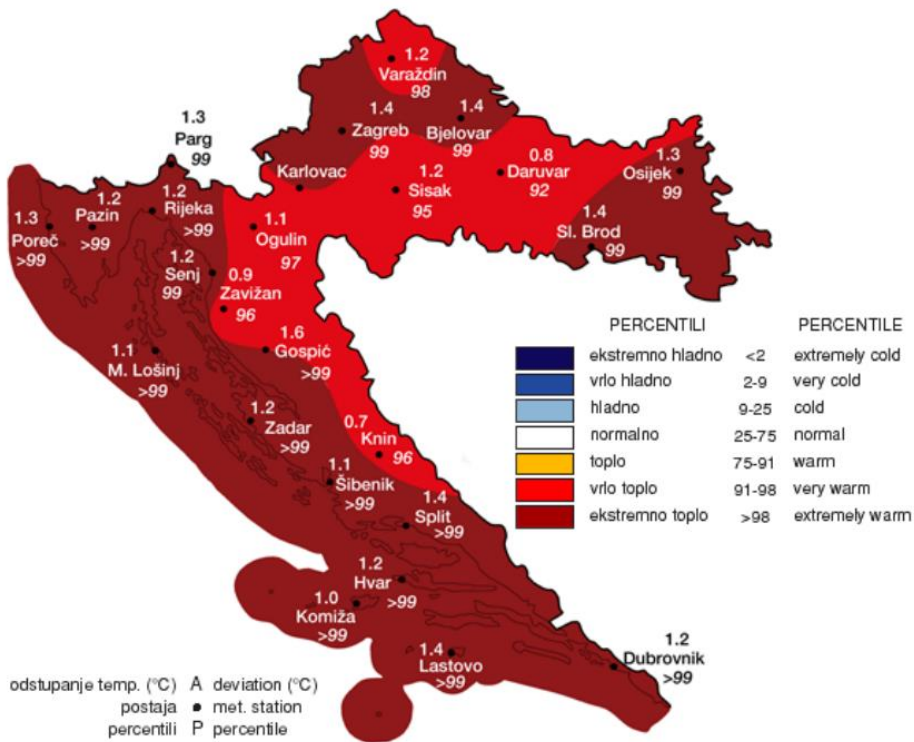
Na području zapadne Istre, točnije UŠP Buzet (šumarije Buje, Rovinj i Pula), 2014.godine uočeni su simptomi odumiranja hrastova *Quercus cerris* (cer), *Quercus ilex* (crnika) i *Quercus pubescens* (medunac) na površini od približno 800 ha. Utvrđeno je pucanje i otpadanje kore, sušenje krošnji i cijelih stabala (Anon., 2015).

U siječnju 2015. godine je na Šumarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu te Hrvatskom šumarskom institutu izvršeno istraživanje uzroka odumiranja. U istraživanju je obuhvaćen i otok Cres na kojem je također došlo do odumiranja mediteranskih hrastova, a zahvaćeni hrastovi su bili cer, crnika (najslabije pogođen) i medunac. Zabilježen je pronalazak bolesti na 357 stabala po hektaru, na kojima su pronađene crne strome na granama i deblima sa simptomima odumiranja, te je laboratorijski potvrđeno da se radi o vrsti *Biscogniauxia mediterranea* (Diminić i sur., 2019). *B. mediterranea* je endofit koji u stanju vodnog stresa domaćina prelazi u patogenu fazu kojom naposljetku uzrokuje smrt domaćina.

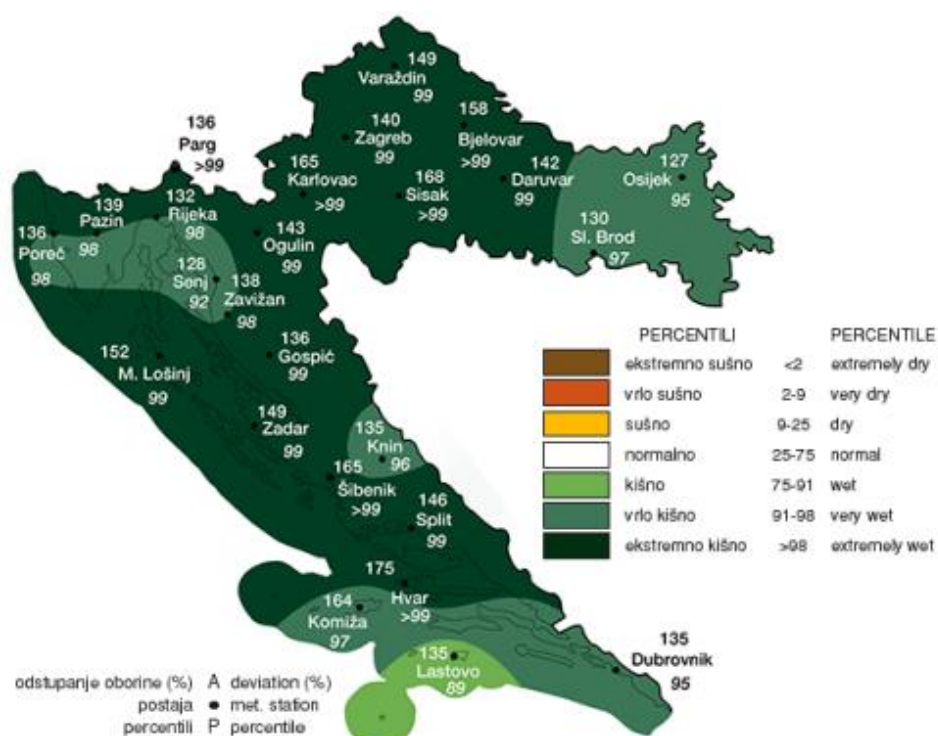
Ispoljavanje patogena 2015.g. se pripisuje vodnom stresu koji je uslijedio nakon nekoliko sušnih razdoblja u 2012. i 2013.g. (Slika 4 i Slika 5), kao i napadu defolijatora hrastovog gubara *Lymantria dispar* koji je dodatno narušio vitalitet hrastova, dok su u 2014.g. kišna razdoblja (Slika 6) dodatno pogodovala širenju patogena (Anon., 2015).



Slika 4. Odstupanje srednje godišnje temperature zraka (°C) za 2012. godinu od prosječnih vrijednosti 1961-1990., (Državni hidrometeorološki zavod. Preuzeto s <http://meteo.hr/index.php>)



Slika 5. Odstupanje srednje godišnje temperature zraka (°C) za 2013. godinu od prosječnih vrijednosti 1961-1990., (Državni hidrometeorološki zavod. Preuzeto s <http://meteo.hr/index.php>)



Slika 6. Odstupanje godišnjih količina oborine koje su izražene u postocima (%) višegodišnjeg prosjeka (1961.-1990.) za 2014. godinu, (Državni hidrometeorološki zavod. Preuzeto s <http://meteo.hr/index.php>)

#### 4. OPIS GLJIVE *BISCOGNIAUXIA MEDITERRANEA*

*Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) Kuntze, je gljiva čiji je basionim *Sphaeria mediterranea* De Not., ima brojne sinonime ali je najčešći *Hypoxyylon mediterraneum* (Mycobank Database. Preuzeto s: <http://www.mycobank.org/MB/439307>).

Sistematska pripadnost:

Carstvo: Fungi

Odjel: *Ascomycota*

Red: *Xylariales*

Porodica: *Xylariaceae*

Rod: *Biscogniauxia*

Rod *Biscogniauxia* ima preko 50 svojiti i rasprostranjen je po cijelom svijetu (Nugent i sur., 2005), sadrži vrste koje su poznati biljni patogeni (Wu i sur., 2016), među njima je i *Biscogniauxia mediterranea*. U razvojnom ciklusu ima nesavršeni i savršeni stadij, nesavršeni je anamorfnu *Nodulisporium*, a savršeni telemorfnu *Biscogniauxia mediterranea* (Inacio i sur., 2011). Postoji tipični varijetet *Biscogniauxia mediterranea* var. *mediterranea*, te još dva koja

se rasčlanjuju na temelju veličine askospora, a to su *Biscogniauxia mediterranea* var. *microspora* i *Biscogniauxia mediterranea* var. *marcospora* (Zíbarová i Kout, 2017).

*B. mediterranea* možemo naći u velikom broju domaćina u svojstvu endofita u svim vanjskim organima biljke bez ispoljavanja simptoma sve dok se biljka ne nađe u stresu (Linaldeddu i sur., 2008). Smatra se slabim patogenom koji napada domaćina koji je uvelike oslabljen ili mrtav. Može se klasificirati kao fakultativni saprotrof, većinu životnog ciklusa provede kao parazit, ali sposoban održati se na mrtvom tkivu (Nugent i sur., 2005).

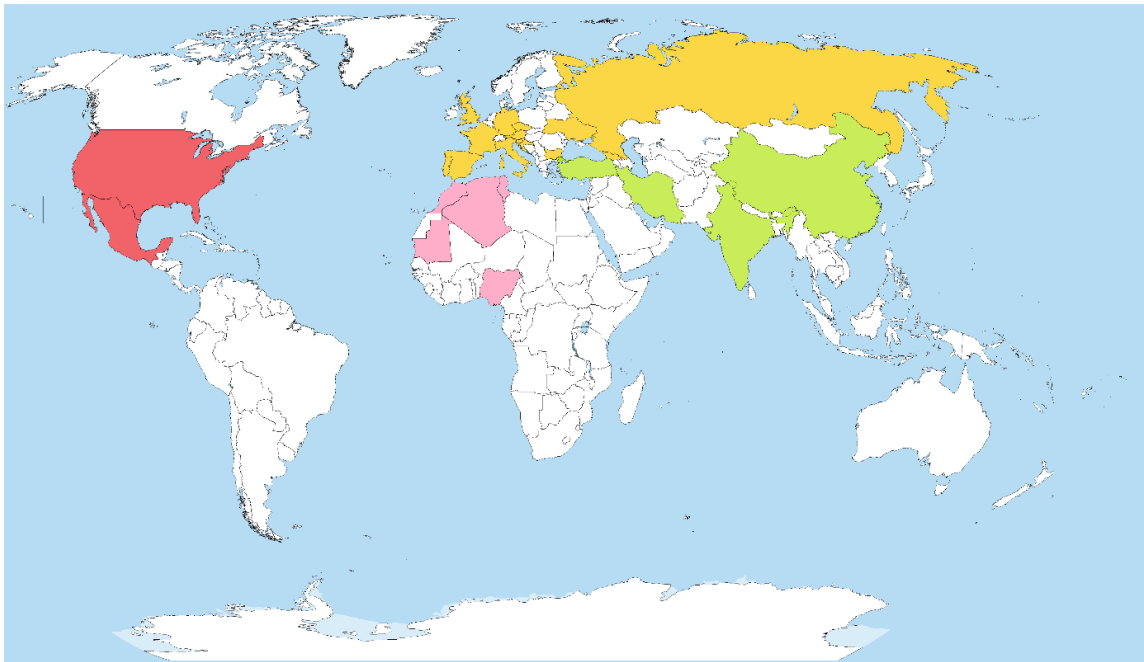
Nakon što se domaćin nađe u stresu, *B. mediterranea* prelazi iz latentne u patogenu fazu, brzo kolonizira ksilem i koru, inducira nekrozu i rakaste tvorevine, nastaju plodišta periteciji iz kojih askospore, vjetrom ili nekim drugim vektorom, šire daljnju zarazu, te u jednoj vegetacijskog godini cijela biljka može uginuti (Vannini i Valentini, 1994; Turco i sur., 2005; Henriques i sur., 2015b).

Ima široki spektar domaćina, ali najviše preferira vrste porodice *Fagaceae*, ali osobito rod *Quercus* spp. na kojima je jedan od glavnih uzročnika velikog odumiranja osobito na Mediteranu. Budući da je osjetljiva na promjene temperature i vlažnosti (Rostamian i sur., 2017), a mediteranska klima je podložna klimatskim promjenama, stvaraju se uvjeti koji pogoduju njenom razmnožavanju i širenju.

## 5. PODRUČJE RASPROSTRANJENOSTI

Unatoč tome što je prirodno rasprostranjenje gljive *Biscogniauxia mediterranea* Maroko (Moricca i sur., 2018), proširila se diljem svijeta posebno na Mediteranu. Širenju gljive *B. mediterranea* pogodovale su klimatske promjene, zbog sve dužih i češćih perioda suše.

Njezinu prisutnost nalazimo na četiri kontinenta: u Europi (Austrija, Bugarska, Češka, Francuska, Gruzija, Hrvatska, Italija, Korzika, Njemačka, Portugal, Rusija, Sardinija, Slovenija, Španjolska, Ukrajina, Velika Britanija), Sjevernoj Americi (Meksiko, SAD), Africi (Alžir, Maroko, Mauritanija, Nigerija, Tunis) i Aziji (Indija, Iran, Kina, Turska) (Slika 7) (Turco i sur. 2005; Henriques 2015; Henriques i sur. 2015a; Zíbarová i Kout, 2017; Rostamian i sur., 2017; Diminić i sur., 2019).



Slika 7. Područje rasprostranjenosti *Biscogniauxia mediterranea*

Postoji mogućnost da se prvi puta u Europi pojavila u Španjolskoj zbog neposredne blizine Maroka. Askospore su mogle biti prenešene vjetrom ili zbog kretanja čovjeka, no istraživanja o tome treba tek provesti. Njeno prvo spominjanje je u Portugalu 1930.g. (Henriques i sur. 2015a). Iako je češća pojava na južnom i središnjem Mediteranu (Luchi i sur. 2005), proširila se i na sjeverni Mediteran, ali i na susjedne države. Širenje na sjever dokazuje pojava u Sloveniji 2003.g. na krškom području (Jurc i Ogris 2006) i u Hrvatskoj 2014.g. u Istri i na otoku Cresu.

## 6. DOMAĆINI

Iako je prvi puta potvrđena na vrstama roda *Quercus* spp. (Moricca i sur., 2018), zbog velike rasprostranjenosti i činjenice da je prilagodljiva različitim klimatskim uvjetima, ova se gljiva nalazi na čitavom spektru domaćina.

Najviše preferira porodicu *Fagaceae*, uključujući rodove *Quercus* spp. (prisutnost je nađena na sljedećim vrstama: *Q. alba*, *Q. brantii*, *Q. castaneifolia*, *Q. cerris*, *Q. coccifera*, *Q. faginea*, *Q. frainetto*, *Q. ilex*, *Q. imbricaria*, *Q. infectoria*, *Q. libani*, *Q. lusitanica*, *Q. palustris*, *Q. persica*, *Q. pubescens*, *Q. pyrenaica*, *Q. rotundifolia*, *Q. suber*, *Q. virgiliana*), *Castanea* spp. (*Castanea sativa*), *Fagus* spp. (*Fagus sylvatica*), *Lithocarpus* spp., ali i porodicu *Betulaceae*, uključujući rodove *Carpinus* spp., i *Corylus* spp. Patogen je pronađen i na drugim drvenastim vrstama kao što su: *Acer* spp., *Alnus* spp., *Ceanothus* spp., *Eucalyptus* spp. (*Eucalyptus*

*globulus*), *Fraxinus excelsior*, *Juglans* spp., *Platanus* spp., *Pisonia* spp., *Populus* spp., *Rubus* spp. i *Zelkova* spp. (Gottschalk i Wargo, 1997; Capretti i Battisti, 2007; Henriques 2015; Zíbarová i Kout, 2017; Safae i sur., 2017; Karami i sur., 2018).

Safae i sur., (2017) pronalaze nekrozu na kori vrsta *Amygdalus* spp., *Acer monspessulanum*, *Cerasus microcarpa*, *Pistacia* spp. i *Rosa* spp., što dokazuje činjenicu da širi svoj areal i spektar domaćina prilagođavajući se klimatskim uvjetima.

Široki spektar domaćina dokazuje i prisutnost na četinjačama, točnije na rodu *Pinus* spp. (Eriksson i sur., 1990) i kao endofit na vrsti kaktusa (*Opuntia humifusa*) čiji je prirodni areal jug SAD-a i Meksiko (Silva-Hughes i sur., 2015).

## 7. RAZMNOŽAVANJE

U razvojnem ciklusu gljive *B. mediterranea* nalazimo nesavršeni i savršeni stadij. Nesavršeni stadij je opisan kao anamorfnu oblik *Nolidosporium* spp. (Inacio i sur., 2011). Savršeni stadij je opisan kao telemorfnu oblik *Biscogniauxia mediterranea*.

### 7.1. NESPOLNO RAZMNOŽAVANJE

Anamorfnu oblik *Nolidosporium* spp. je aseksualan oblik razmnožavanja nespolnim sporama, konidijama. Konidije su egzogene nespolne spore koje nastaju na hifama zvanima konidiofori (Slika 8). U prirodnim uvjetima ne žive dugo, te ih stoga patogen proizvodi u velikim količinama (Glavaš, 1996).



Slika 8. Anamorfnu oblik *Nolidosporium* spp., A – kolonija *Nolidosporium*, B i C – konidije sa konidioforima, (Inacio i sur., 2011)

Proizvodnja konidija se odvija ispod vanjske kore domaćina, gdje dolazi do vidljivog oticanja kore koja uslijed pucanja oslobađa praškastu masu konidija. U slučaju tanke kore grane, konidije ostaju ispod vanjske kore te se ne oslobađaju (Henriques, 2015).

Oblik konidija nastalih *in vitro* i u inficiranoj grani je drugačiji. U *in vitro* kulturi prevladava obrnuto jajasti oblik, dok su konidije inficiranih grana eliptičnog oblika. Iako su različitog oblika, razlike u dimenziji su beznačajne. Blago su ružičaste ili smeđe do maslinaste boje u masi, grube ili glatke površine (Henriques, 2015a; Henriques i sur., 2015b). Sa zrelošću postaju bradavičaste i tamno smeđe. Morfološki se razlikuju od vegetativnog micelija na kojima se nalaze bočno. Konidije nastaju procesom konidiogeneze, ravnomjerno su raspoređene po konidioforama koji otiču uslijed opetovane konidiogeneze (Henriques, 2015; Henriques i sur., 2015a).

Henriques i sur. (2015a) došli su do zaključka vezanog za pojavu anamorfa koji je sve češći oblik u sastojinama umjesto peritecija, te su iznijeli hipotezu da je moguća pojava neke druge srodne vrste ili pojava novog varijeteta.

Safae i sur. (2017) su primijetili da se pojava anamorfnog oblika povezuje sa relativnom vlažnošću. U proljeće kada je skinut parafilm sa mjesta na biljkama gdje je gljiva prethodno inokulirana, uočen je anamorfni oblik na rubovima nekroze, zbog vlažnosti koju je pružao parafilm, no u kasno proljeće kada je nastupila manja relativna vlažnost te više nije bilo parafilma, anamorfni oblik je postupno nestao i nije se više pojavljivao tijekom godine.

## 7.2. SPOLNO RAZMNOŽAVANJE

Telemorfni oblik *Biscogniauxia mediterranea* je seksualni oblik razmnožavanja spolnim sporama, askosporama. Askospore su endogene spolne spore koje nastaju u askusima, a njihovom nastanku prethodi oplodnja, sastoji se od spajanja plazme - plazmogamija i spajanje jezgre - kariogamija (Glavaš, 1996)

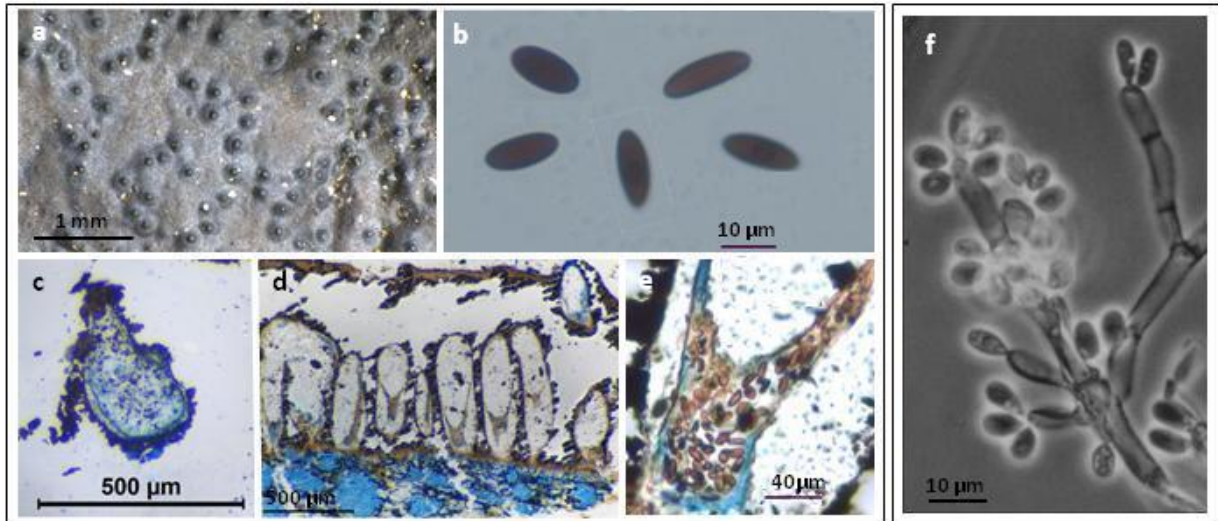
Proizvodnja askospora se odvija na istom mjestu u domaćinu kao i konidije, ispod vanjske kore domaćina, koja pod pritiskom puca i oslobađa ih. Tamnosmeđe su boje, elipsoidnog oblika zaobljenih krajeva, glatke, veličine 17-24 x 7-10  $\mu\text{m}$  (Trudell S., Ammirati J., 2009).

Askusi su osnovni organi u kojima nastaju spore u velikim količinama, te se oni nalaze u plodištu zvanom peritecij (Slika 9), te u svakom askusu nastaje po 8 askospora i oslobađaju se tijekom cijele godine (Glavaš, 1996; Linaldeddu i sur., 2008; Trudell S., Ammirati J., 2009).



Oblika su diska, veličine 160-185 x 9-12.5  $\mu\text{m}$ , unutarnji dio u kojem nastaju askospore je dugačak 120- 150  $\mu\text{m}$ , 2-3  $\mu\text{m}$  debljine i 4-5  $\mu\text{m}$  širine (Trudell S., Ammirati J., 2009).

Peritecij je plodište koje nastaje na tipu micelija zvanom stroma. Plodište je na bazi prošireno, pri vrhu suženo (vrat) sa otvorom kroz koji izlaze spore – askospore, a u čijoj se unutrašnjosti nalaze pravilno poredani akusi. (Glavaš, 1996).



Slika 9. *Biscogniauxia mediterranea* na *Quercus suber*, a – površina stroma, b – askospore, c i e – periteciji sa askosporama, f – konidiofori sa konidijama (Henriques, 2015)

Strome su ravnog ili blago konveksnog, elipsoidnog ili duguljastog oblika, crne do sjajno crne površine sa vanjskim slojem tamnosmeđe do crne boje. Na površini se nalaze cjevaste izbočine opisane kao vratovi peritecija, obrnuto jajastog do cjevastog oblika (Henriques i sur., 2014a; Henriques, 2015). Prema Zíbarovoj i Koutu (2017) razlike u izgledu stroma mogu se pripisati karakteristikama kore domaćina. Prema njihovom istraživanju strome sa vrste *Corylus avellana* su bile pravilnijeg i okruglijeg oblika bez uzdignutih rubova, dok su sa vrste *Fagus sylvatica* bile nepravilnijeg oblika vidno uzdignutih rubova.

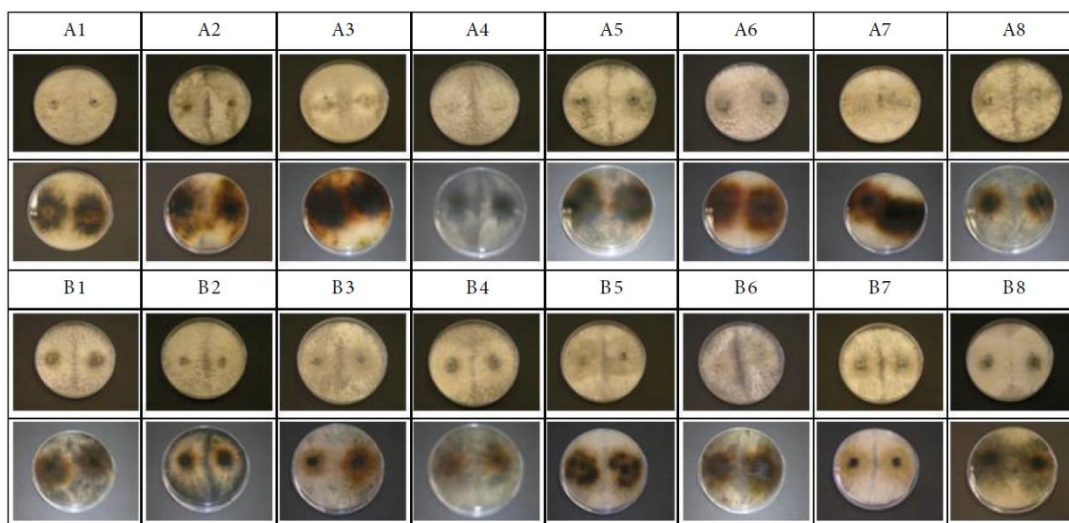
Iako je *Biscogniauxia mediterranea* telemorfni oblik, moguće je da ne dođe do njena razvoja. Razlog je ili da telemorf treba posebne uvjete ili patogen ima heterotaličnu oplodnju (Safae i sur., 2017), što znači da spore koje nastaju u miceliju su dva tipa "+" ili "-", te da bi došlo do oplodnje potrebna su dva različita micelija (reproduktivna tipa), pa se takva oplodnja zove heterotalična.

Safae i sur. (2017) su provodili eksperiment na vrsti *Quercus infectoria* inokuliranjem micelija jednog izolata *B. mediterranea* u odrezanu odnosno mrtvu granu, na kojoj se potom razvila dvodijelna stroma s peritecijima. Znajući za heterotaličnost vrste, došli su do pitanja

kako je došlo do razmnožavanja, te su ponudili moguće odgovore. Prva je mogućnost, pošto su u blizini inokulirane grane stavljene i druge grane koje su sadržavale strome s konidijama, da su te konidije odigrale ulogu spolnih spora i uzrokovale oplodnju suprotnog reproduktivnog tipa. Druga mogućnost je da je inokulirana grana uzeta iz šume već sadržavala patogena u latentnoj fazi, ali suprotnog reproduktivnog tipa. No zbog činjenice da je inokulirana grana bila potpuno suha, moguća je vjerojatnost da je upravo isušivanje tkiva domaćina jedan od uvjeta nastanka peritecija. Da bi se došlo do bilo kakvih zaključaka potrebna su daljnja istraživanja.

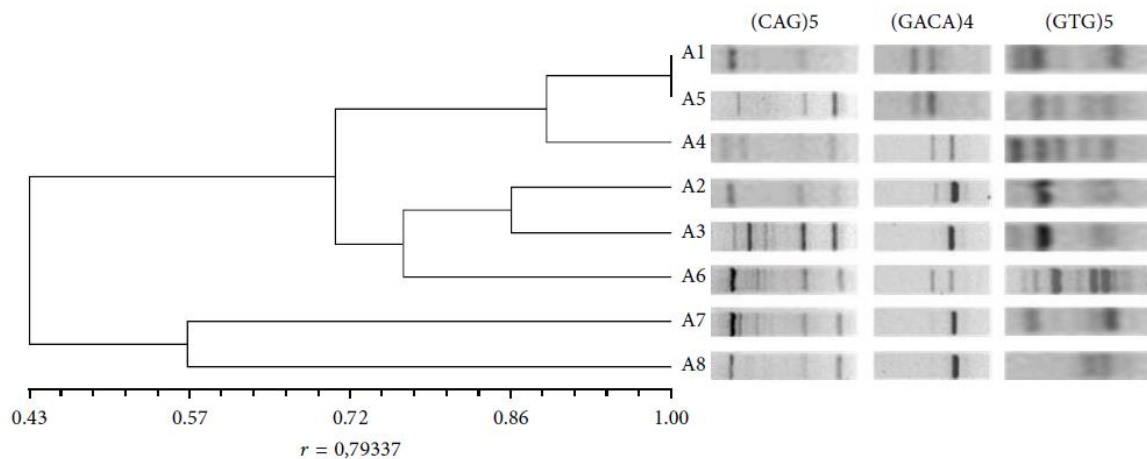
## 8. GENETSKA VARIJABILNOST

Rezultati dobiveni u istraživanju Jimeneza i sur. iz 2005.g. ukazuju na visoku genetsku varijabilnost gljive *B. mediterranea* na temelju morfologije kulture micelija, dužine inkubacije, brzine rasta i razmnožavanja, zbog čega nisu mogli utvrditi homogenu grupu. Visoka genetska varijabilnost je također pronađena unutar populacija izoliranih iz jedne strome sa različitih domaćina i lokaliteta. Navedeno istraživanje, koje su proveli Henriques i sur. (2014b) na hrastu plutnjaku (*Quercus suber*), je u skladu sa rezultatima istraživanja Vanninia i sur. iz 1999. g. i Jimeneza i sur. iz 2005.g. Rezultati istraživanja Henriques i sur. (2014b) govore o visokoj varijabilnosti unutar 16 izoliranih primjeraka iz dvaju stroma, s morfološkog aspekta, u pigmentaciji i pojavi zračnog micelija. Kolonije, sedam dana stare, varirale su od u cijelosti baršunastog micelija sa čupercima do djelomično baršunastog sa čupercima, te je gustoća varirala od srednje do visoke. Boja je varirala od bijele sa vinsko crvenkastim micelijem, smečkasto-sivkaste do zagasito sive (Slika 10).



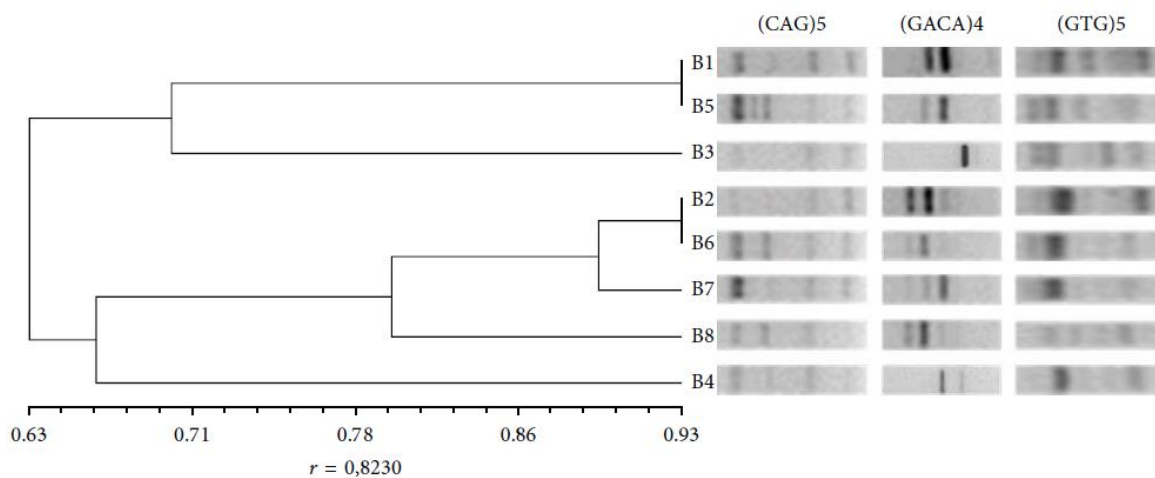
Slika 10. Sedam dana stare kolonije gljive *B. mediterranea* iz strome A i strome B (površina i poledina), (Henriques i sur., 2014b)

Osim toga, rezultati su prikazani i u obliku dvaju dendrograma koji pokazuju varijabilnost unutar pojedine strome, grupirane u dvije glavne grupe. Iz strome A (Slika 11) primjerci su grupirani u dvije glavne grupe sa sličnošću od 43 %. Prva grupa se sastoji od šest izoliranih primjeraka koji su se grupirali u podgrupe sa sličnošću većom od 70 %, te su samo dva primjerka pokazala sličnost od 100 %. Druga grupa se sastoji od dva izolirana primjerka sa sličnošću od 57 %.



Slika 11. Dendrogram strome A – pokazuje sličnost među izoliranim primjercima gljive *B. mediterranea*, (Henriques i sur., 2014b)

Iz strome B (Slika 12) primjerci su grupirani u dvije glavne grupe sa sličnošću od 63 %. Prva grupa se sastoji od tri izolirana primjerka od kojih je jedan izdvojen sa 70 % sličnošću, a druga dva sa do 90 % sličnosti. Druga grupa se sastoji od pet izoliranih primjeraka grupiranih u različite podgrupe sa sličnošću većom od 65 %, od kojih su dva primjerka do 90 % sličnosti.



Slika 12. Dendrogram strome B – pokazuje sličnost među izoliranim primjercima gljive *B. mediterranea*, (Henriques i sur., 2014b)

Prisutnost visoke genetske varijabilnosti u maloj populaciji, kao u navedenom istraživanju, može se objasniti činjenicom da se askospore prenose većinom vjetrom te mogu biti prenešene na daleke udaljenosti i na taj način prenijeti nove genotipove (Henriques i sur., 2014b). Visoki stupanj reprodukcije i heterotalična oplodnja predstavljaju važan unutarnji izvor genotipova unutar populacije. Budući da *B.mediterranea* ima heterotaličnu oplodnju, pojavljivanje različitih genotipova omogućuje dvama tipovima micelija "+" ili "-" (Safaei i sur., 2017) da se spoje i dođe do oplodnje. Česta oplodnja dvaju tipova micelija će osigurati čestu rekombinaciju gena i evoluciju ka većoj prilagodljivosti i stupnju preživljavanja (Henriques i sur., 2014b). S obzirom da je mediteranska klima pogodna za gljivu *B. mediterranea* i predviđene klimatske promjene će ići na ruku patogenu (Henriques i sur., 2015a).

Sve češća pojava atipičnih simptoma, osobito na mlađim stablima dovodi u pitanje je li došlo do promjena u epidemiologiji patogena, a uzrok tome mogu biti visoka genetska varijabilnost patogena kao i heterotalična oplodnja koja omogućuje prilagodbu na nove uvjete (Henriques i sur., 2014b). Zaraze na jednom domaćinu mogu biti uzrokovane različitim genotipovima u različito vrijeme i time gljivi osigurati prisutnost na domaćinu cijelo vrijeme u svojstvu endofita. Varijabilnost u genotipovima je od izuzetne važnosti za epidemiologiju jer pruža patogenu genetsku fleksibilnost za dugoročno preživljavanje i prilagodbu na okoliš (Henriques i sur., 2014b).

## 9. EPIDEMIOLOGIJA

### 9.1. PREDISPOZICIJE NASTANKA ZARAZE

#### 9.1.1. Stres domaćina

Vodni stres, uzrokovan sušom, je predisponirajući faktor za mnoge patogene pa tako i za patogenu gljivu *Biscogniauxia mediterranea*.

Smanjenjem vode u tkivima biljke, tkiva se nalaze u stresu i time potiču veću aktivnost patogena, te on mijenja svoje ponašanje prebacujući se iz latentne u patogenu fazu (Safaei i sur., 2017). *Quercus suber* i *Quercus cerris* su dvije vrste najjače zahvaćene infekcijom, ali je *Q. cerris* podložniji zbog većih potreba za vodom (Turco i sur., 2005). Pod stresom mijenja se metabolizam stanica koji rezultira kvantitativnim i kvalitativnim promjenama u strukturi karbohidrata i aminokiselina (Vannini i Valentini, 1994). Osim što vodni stres mijenja metabolizam stanica također i reducira količinu fenola što potpomaže širenju patogena (Capretti i Battisti, 2007).

Požarom uzrokovan stres inducirat će u biljci širenje patogena, dehidracija biljnih tkiva mogao bi biti glavni faktor za aktiviranje iz latentne u patogenu fazu (Anselmi i Mazzaglia, 2005).

Također i stres uzrokovan insektima je jedan od faktora, bilo da su to kornjaši ili defolijatori. Pokazale su se velike poveznice između *Platypus cylindrus* i *Cerambyx* spp. jer njihovi hodnici, osobito tijekom masovnih pojava, služe kao ulazne točke patogenu (Martín i sur., 2005; Inacio i sur., 2011). Kod defolijatora, masovna pojava gubara *Lymantria dispar* fiziološki oslabljuje domaćina i ostavlja mogućnost zaraze gljivom *B. mediterranea* (Capretti i Battisti, 2007).

#### 9.1.2. Količina padalina

Padaline su izrazito važan faktor koji utječe na otpuštanje askospora.

Henriques i sur., (2014a) su došli do zaključka da ukoliko su padaline više od 0,5 mm tri dana za redom, osigurat će se dovoljno vlažnosti za otpuštanje askospora i sprječavanje njihova sušenja dok se askospora ne primi za domaćina i proklije. Njihovi rezultati su u skladu sa onima drugih autora (Vannini i sur., 1996; Jimenez i sur., 2005) da je količina padalina ključni faktor za otpuštanje askospora.

Najveći broj infekcija askosporama je zabilježen u vrijeme visoke zračne vlage i za vrijeme kišnih mjeseci, dok se čini da se smanjuje tijekom veće sunčeve radijacije (Linaldeddu i sur., 2008).

#### 9.1.3. Ozon (O<sub>3</sub>)

Jača izloženost ozonu izmjenjuje strukturu puči i smanjuje sadržaj vode (Paoletti i sur., 2007) čime biljka postaje osjetljivija na zarazu.

#### 9.1.4. Temperatura

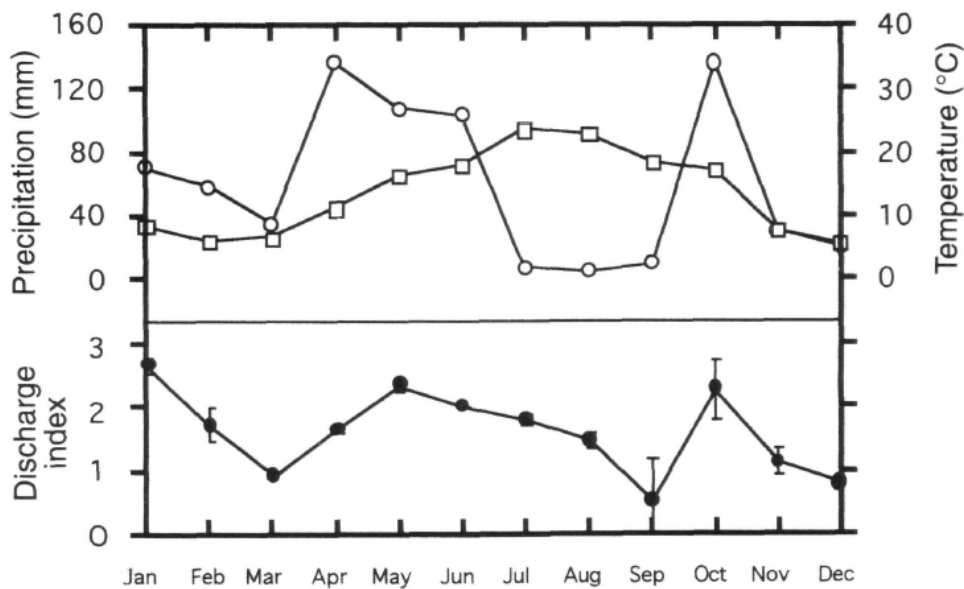
Najveća količina otpuštanja askospora se događa kad su temperature između 12-18°C (Henriques i sur., 2014a).

Tijekom suhih i vrućih mjeseci događa se najveći rast patogena kada su temperature povoljne (Vannini i Valentini, 1994). Optimalna temperatura za rast patogena je 30°C (Vannini i Valentini, 1994), minimalna temperatura je 5°C (7,5°C), a maksimalna 45°C (Henriques i sur., 2015a). Sposobnost ove gljive da prouzroči bolest na temperaturama od 5-45°C

pridonosi njenom širokom rasponu rasprostranjenja na Mediteranu gdje su zime sve toplije, a padaline sve neujednačenije (Linaldeddu i sur., 2008).

#### 9.1.5. Uvjeti klijanja askospora

Otpuštanje i klijanje askospora gljive *B. mediterranea* ovisi o prisutnosti vode i visokoj zračnoj vlazi (Slika 13), otpuštaju se iz stroma gotovo cijele godine za vrijeme visoke zračne vlage (Vannini i sur., 1996).



Slika 13. Otpuštanje askospora u prirodnim uvjetima tijekom cijele godine, otpuštanje askospora je izraženo indeksom otpuštanja (DI) izračunatog formulom  $DI = S(g \times n) / N$  ( $g$  – ocjena skale,  $n$  – broj uzoraka u svakom razredu,  $N$  – broj ispitanih peritecija) (Vannini i sur., 1996)

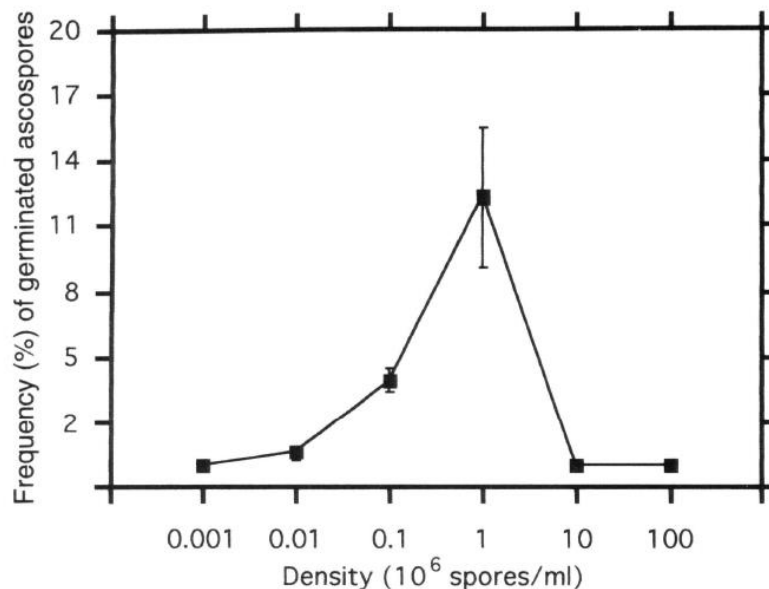
- otpuštanje askospora iz peritecija
- mjesečna količina padalina (mm)
- prosječna temperatura (°C)

Vannini i sur. (1996) su istraživali koji faktori utječu na otpuštanje i klijanje askospora, a istraživani faktori su: otpuštanje askospora u prirodnim uvjetima i *in vitro*, temperatura, zračna vlaga, pH, gustoća askospora u suspenziji i utjecaj tkiva domaćina. Rezultati pokazuju da i na otpuštanje i klijanje askospora djeluje više faktora od kojih su izdvojeni sljedeći:

1. Klijanje askospora se odvija u prisutnosti vode i visoke zračne vlage, stoga te značajke povećavaju mogućnost patogena za nove zaraze u različitim klimatskim uvjetima. Uslijed nedostatka padalina, visoka zračna vlaga se može pojaviti u šumama rano ujutro ili tijekom noći.

2. Došlo je do klijanja i *in vitro* u vodi i pri visokoj zračnoj vlazi, ali je izraženije i brže u tkivu domaćina. Čini se da tkivo domaćina stimulira bolju klijavost zbog veće prisutnosti hranjivih tvari potrebne patogenu.

3. Uspješnost klijanja u korelaciji je sa gustoćom suspenzije askospora, dostižući optimum pri  $10^6$  askospora/ml. Veća gustoća je inhibirala klijanje (Slika 14).



Slika 14. Utjecaj gustoće suspenzije askospora na njihovo klijanje (Vannini i sur., 1996)

4. Klijanje je moguće i u velikom rasponu pH 2.5-9.0, ali pokazuje lagani optimum pri kiselom pH 3.5-4.

5. Iako je optimum klijanja na temperaturi od  $35^{\circ}\text{C}$ , pogodne temp. su i  $25^{\circ}\text{C}$  i  $30^{\circ}\text{C}$ , dok se već na  $20^{\circ}\text{C}$  i  $40^{\circ}\text{C}$  ( $45^{\circ}\text{C}$ ) smanjuje postotak klijanja, iako je i dalje visok (Tablica 1). Treba istaknuti da je kratko izlaganje visokim temperaturama već potaknulo klijanje (120 min izlaganja na  $35^{\circ}\text{C}$  induciralo je 22 % klijanja nakon 24h). Patogen ima mogućnost klijati tijekom cijele godine, čak i ako je temperatura ispod  $10^{\circ}\text{C}$  ( $5^{\circ}\text{C}$ ) ako su askospore tijekom dana povremeno izložene temperaturi višoj od  $20^{\circ}\text{C}$ .

Tablica 1: postotak klijanja askospora nakon inkubacije od 6h, 12h i 24h u vodi i temperaturama u rasponu od 5°C do 40°C (Vannini i sur., 1996)

temperatura (°C)	klijanje askospora (%)		
	6h	12h	24h
5	0	0	0
10	0	0	3.1±1.3
20	0	15.6±1.8	41.3±4.9
25	0	50.6±8.7	84.3±2.7
30	10.2±0.3	89.2±1.8	89.6±3.1
35	15.1±0.8	89.3±2.3	95.2±2.3
40	0	20.3±2.4	27.2±1.5

U osnovi *B. mediterranea* je mezofilna gljiva zbog mogućnosti klijanja i razvoja u velikom temperaturnom rasponu 5°C -45°C (Linaldeddu i sur., 2008), ali je smatrana i kao termofilna gljiva jer ima optimum klijanja i razvoja na 35°C (Henriques i sur., 2015a).

## 9.2. NAČIN ZARAZE U BILJCI

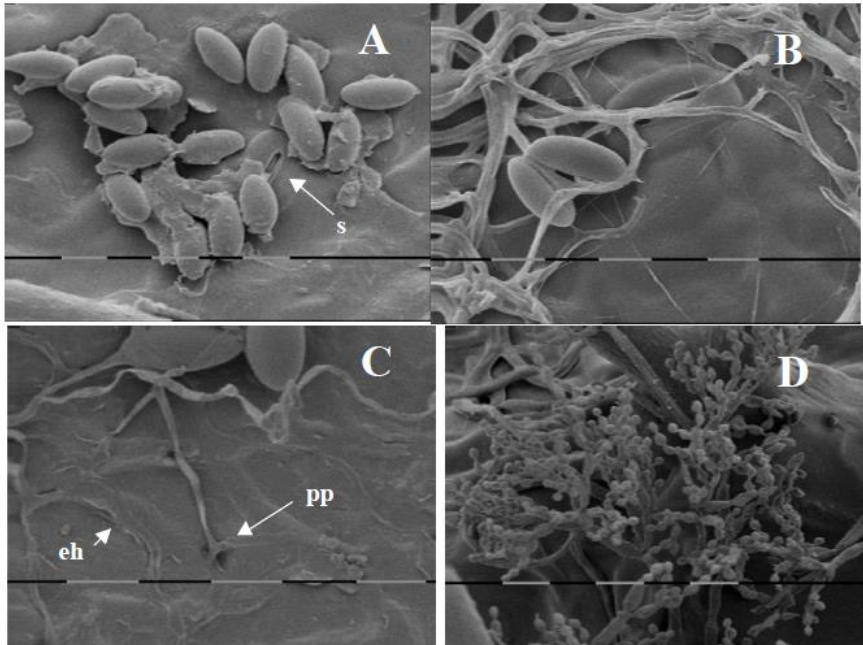
U slučaju da je *Biscogniauxia mediterranea* već prisutna kao endofit, zaraza započinje prelaskom iz latentne u agresivnu fazu pod vodnim stresom domaćina kada je niži vodni potencijal koji promovira rast micelija (Paoletti i sur., 2007; Ghanbary i sur., 2017).

Nakon prelaska u agresivnu fazu micelij ubrzano raste u provodnim žilama, kolonizirajući većinom ksilem čime nastaje embolija (Vannini i Valentini 1994; Paoletti i sur., 2007). Zbog embolije (stvaranje tila) u ksilemu ostaju prazni prostori te se tako micelij može učinkovitije proširiti, funkcionalnost ksilema opada, time i sposobnost domaćina da vrši transport vode iz korijena prema krošnji (Vannini i Valentini 1994). Osim embolije u ksilemu, na kambiju i ksilemu se stvaraju i rakaste tvorevine (Ghanbary i sur., 2017).

Otpuštanje askospora može biti u svim godišnjim dobima, a konidija većinom krajem ljeta (Linaldeddu i sur., 2008) te u tom slučaju spore *B. mediterranea* dolaze na domaćina, kliju i razvija se micelij čije će hife vršiti daljnju kolonizaciju domaćina. Tada hife mogu direktno prodrijeti u list kroz kutikulu, za što postoje dva načina. Prvi je postepena ugradnja hifa u epikutikularni vosak, dok je drugi erozija kutikule na mjestu kontakta sa hifom, a koja može biti potaknuta enzimima koji potiču razgradnju kutikule (Paoletti i sur., 2007).



Paoletti i sur. (2008) su istraživali utjecaj napada gljive *B. mediterranea* na domaćina izloženog ozonu ( $O_3$ ) (Slika 15) i rezultati su pokazali da blago povećanje ozona reducira količinu epikutikularnog voska i povećava vlažnost lista koji mogu pogodovati prodiranju hife kroz kutikulu. No glavni razlog većem prodiranju kroz kutikulu, je najvjerojatnije viši stupanj klijanja spora zbog toga što ozon mijenja strukturu epikutikularnog voska te tako mijenja okružje za klijanje spora.



Slika 15. List *Quercus cerris* tretiran suspenzijom askospora, A – neproklijale askospore gljive *B. mediterranea* (list izložen ozonu), B – proklijale askospore i razvoj hifa, C – proklijale askospore i ulazak hifa kroz kutikulu (pp – točka ulaska, eh – hifa unutar epikutikularnog voska, D – anamorfni stadij *Nolidusporium* spp. (Paoletti i sur., 2006)

### 9.3. ODNOS AMINOKISELINA I PATOGENA

Postoji korelacija između aminokiselina u supstratu i gljive *Biscogniauxia mediterranea*, koje mogu djelovati stimulirajuće ili inhibirajuće na patogena. Taj odnos su istražili Turco i sur., (2005) i došli do sljedećih rezultata dobivenih *in vitro*. Najizraženiji rast hifa je postignut na mediju bogatom asparaginom, dok je rast kolonije najslabiji bio na mediju bogatom glicinom. Koncentracija aminokiselina (arginin, leucin, izoleucin i triptofan) je bila veća u odumirućim stablima nego u zdravima, čak i do tri puta. No povećana koncentracija aminokiselina ne može biti pokazatelj indikatora stresa jer mnogi drugi faktori mogu utjecati na njihovu koncentraciju. Varijabilnost aminokiselina, u istraživanjima *in situ*, ovisi o pedoklimatskim uvjetima, starosti stabala, položaju lista u krošnji i genetskoj varijabilnosti stabala. Autori zaključuju kako unatoč tome što rezultati *in vitro* pokazuju da aminokiseline pozitivno utječu

na rast micelija *B. mediterranea*, nije moguće koristiti aminokiseline kao indikatore stresa stabala.

#### 9.4. NAČIN ŠIRENJA PATOGENA

Primarni izvor zaraze su askospore, dok se po rezultatima Safae i sur. (2017) konidije ne smatraju izvorima zaraze. U tom istraživanju konidije nisu bile u mogućnosti uzrokovati bolest u stakleničkim uvjetima, prema tome je zaključeno kako nemaju nikakvu ulogu u širenju bolesti.

##### 9.4.1. Abiotički vektori

Vjetar – anemohorija

Primarni vektor za raspršivanje askospora je vjetar (Henriques i sur., 2014a), omogućuje raspršivanje velikog broja askospora i na veće udaljenosti te je u mogućnosti prenijeti ih na sve vanjske organe biljke.

U istraživanju Linaldeddu i sur. (2008) nije utvrđena korelacija između brzine vjetra i broja infekcija askosporama, što pokazuje da je njihov kapacitet širenja vjetrom ograničen.

Voda – hidrohorija

Veća količina padalina je jedan od faktora za otpuštanje askospora, ali su istraživanja unatoč tome pokazala kako voda ne sudjeluje u velikoj mjeri za raspršivanje askospora, jer se u vrijeme sa više padalina raspršivanje smanjilo (Henriques i sur., 2014a).

##### 9.4.2. Biotički vektori

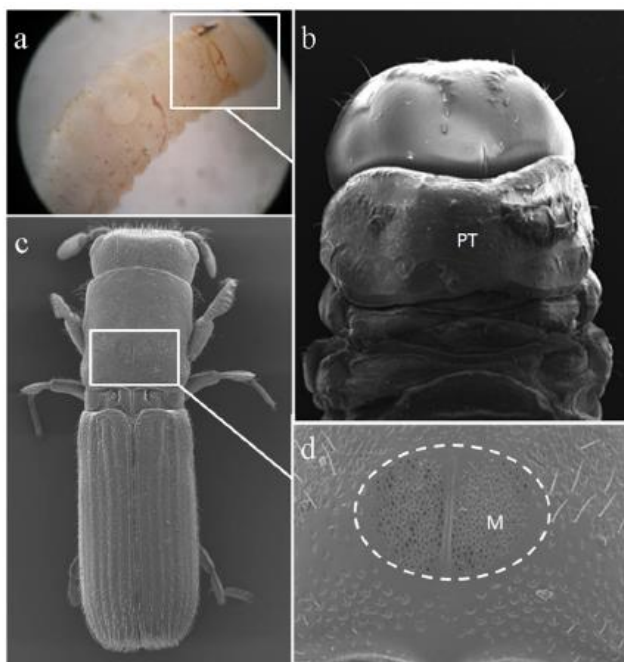
Insekti – entomohorija

Najvažniji biotički vektori su insekti kao prenositelji askospora na manje ili veće udaljenosti, ali i kao uzročnici rana koje služe za ulaz patogena (Henriques i sur., 2014a). Nekoliko vrsta insekata su identificirani kao vektori *Biscogniauxia mediterranea*, među njima su *Platypus cylindrus*, povezan sa *Quercus suber*, *Agrilus* spp., *Tropideres* spp. povezan sa *Quercus cerris* i *Cerambyx* spp. (Henriques i sur., 2014a).

Hrastov valjkasti srčikar, *Platypus cylindrus* je kornjaš koji spada u porodicu potkornjaka, a čiji su domaćini *Quercus* spp., *Fagus sylvatica*, *Fraxinus* spp., *Tilia* spp. i *Castanea sativa*.

Ovi kornjaši buše hodnike u drvu i ženke polažu jaja, te se i ličinke i odrasli hrane simbiotskim gljivama (Hrašovec i Franjević, 2011).

Inacio i sur. (2011) su proučavali povezanost potkornjaka *Platypus cylindrus* i patogena *B. mediterranea*. Uspjeli su izolirati patogena iz potkornjakovih hodnika te su zaključili da je potkornjak poslužio kao vektor *B. mediterranea*, ali za anamorfnu obliku *Nodulisporium* spp. koji se u tom istraživanju pokazao patogenim. Budući da je tako patogen već u domaćinu, zbog više hodnika u stablu brže će se širiti i izazivati više infekcija odjednom. Patogen se kroz hodnike širi zadržavanjem na protoraksu insekta prilagođenom za transport spora (Slika 16), koji je više razvijen u ženki (Belhoucine i sur., 2011).



Slika 16. Vektor *Platypus cylindrus*, a – ličinka 5. stadija, b – protoraks (PT), c – ženka, d – područje prilagođeno za transport spora (M) (Belhoucine i sur., 2011)

Vrste roda *Cerambyx* spp. su kornjaši koji spadaju u porodicu cvilidreta, oni su tehnički štetnici, ali i fiziološki jer napadom smanjuju vitalitet domaćina. Buše hodnike u drvu dugačke i nekoliko centimetara (Hrašovec i Franjević, 2011). Odnose između *Cerambyx* spp. i *B. mediterranea* su istražili Martín i sur. (2005) čiji su rezultati pokazali da između njih postoji veza. Ustanovili su da su hodnici cvilidreta ulazna mjesta za spore te su se zaraze lakše širile po domaćinu (Slika 17). Pritom se također pokazalo da su zaraze patogena jače na mjestima gdje se neprimjereno gospodarilo, u ovom slučaju sa *Quercus suber* i na vrlo mladim stablima iako su cvilidrete većinom pokazatelji zrelih šuma.



Slika 17. Cvilidreta *Cerambyx cerdo* sa hodnicima (Europska komisija. Preuzeto s [https://ec.europa.eu/commission/index\\_en](https://ec.europa.eu/commission/index_en))

Budući da su hodnici vrsta *Cerambyx* spp. ulazna mjesta gljivi *B. mediterranea* bila bi poželjna strategija njihove kontrole. Zbog europske Direktive o staništima u kojoj su neke vrste *Cerambyx* spp., kao *Cerambyx cerdo*, zaštićene (Matrin i sur., 2005) postavlja se pitanje na koji način bi se trebala provesti ta strategija.

#### Čovjek – antropohorija

Tijekom gospodarenja sastojinama može doći do prijenosa spora zbog čovjekove nepažnje ili neznanja. U područjima gdje je učestalo gospodarenje sa *Quercus suber* u svrhu proizvodnje pluta dođe do zaraze zbog kontaminirane opreme koja se koristi ili ozljeda na stablu koje nastanu uslijed skidanja pluta (Henriques i sur., 2014a). Također prodaja i sadnja zaraženog biljnog materijala (sadnice, reznice itd.) dovodi do zaraze, koja se u tom slučaju može i prenijeti na druge države i kontinente.

## 10. PRISUTNOST U BILJNIM ORGANIMA

*Biscogniauxia mediterranea* je endofit najčešće prisutan u kori i drvu zdravih stabala, ali i u ostalim organima: listovima, pupovima, izbojcima, granama, deblu (Linaldeddu i sur., 2008) Unatoč tome nije pronađen na žirevima hrasta (jedino kod odumirućih stabala), što dovodi u pitanje mogućnost prijenosa sjemenom ili korijenovim izdancima (Henriques i sur., 2014a).

Henriques i sur. (2014a) nisu dokazali da postoji prisutnost patogena u korijenu, što sugerira da patogen ne raste sistematično od baze debla ili korijena prema izbojcima. Stoga autori zaključuju da je razmnožavanje korijenovim izdancima siguran način razvoja novog stabla.

Prema istraživanju Henriques i sur. (2014a) sjeme zaraženo gljivom *B. mediterranea* nije prouzročilo zarazu sadnica koje su iz njega rasle, jer čini se da patogen ne prelazi iz sjemena u biljku, vjerojatno zbog činjenice da se patogen nalazio u kotiledonu, a ne u embriju.

## 11. SIMPTOMI BOLESTI

### 11.1. MORFOLOŠKE PROMJENE

*Biscogniauxia mediterranea* se najčešće pojavljuje na kori stabala, a moguće ju je naći i u ostalim organima bez ispoljavanja simptoma sve dok se biljka ne nađe u stresu (Evidente i sur., 2005).

U stresnim situacijama *B. mediterranea* može inficirati sve vanjske organe biljke, a pogotovo pupove (Linaldedd i sur., 2008), kada iz endofitske latentne faze prelazi u parazitsku fazu, razgrađujući celulozu i lignin (Wu i sur., 2016). U tom slučaju velikom brzinom kolonizira ksilem i koru (Ghanbary i sur., 2016) čime se smanjuje brzina rasta biljke, smanjuje se fotosinteza i provodljivost puči (Rostamian i sur., 2018).



Slika 18. Šumska nalazišta gljive *B. mediterranea* sa simptomima. A – periteciji na *Quercus ilex*, B – periteciji na *Q. cerris*, C – periteciji na *Q. pubescens* (Diminić i sur., 2019)

Nakon što gljiva kolonizira ksilem, pogoršava se zdravstveno stanje domaćina (Slika 18), što za posljedicu ima odumiranje krošnje, žućenje listova (Vannini i Valentini 1994), sušenje odrvenjelih organa (Linaldedd i sur., 2008) popraćeno pojavom nekroze (Slika 19) i rakastih tvorevina sa crnim izlučevinama jakog mirisa tanina (Vannini i Valentini, 1994; Evidente i sur., 2005; Turco i sur., 2005). Nekroza je smeđe do crnosmeđe boje na unutarnjoj kori i

površini drva, postepeno se širi uzduž debla često prodirući i do središta (Safae i sur., 2017), a ukoliko stvori prsten oko grane ona odumire (Karami i sur., 2108). Zbog stroma koje stvaraju pritisak unutar tkiva dolazi do povećavanja dimenzija rakastih tvorevina te pucanja i otpadanja kore grana i debla (Nugent i sur., 2005; Linaldedd i sur., 2008).



Slika 19. A-C otvorene rane i nekroza drva uzrokovane gljivom *B. mediterranea* na inokuliranim sadnicama *Quercus cerris* (Diminić i sur., 2019)

Strome se pritiskom pomiču prema površini odumrlih grana i debala te na kraju pucaju otpuštajući spore koje šire vjetrom i insektima i tako vrše daljnju infekciju (Moricca i sur., 2018) tako da u jednoj vegetacijskoj sezoni cijela biljka može uginuti (Turco i sur., 2005).

## 11.2. FIZIOLOŠKE PROMJENE

Uslijed vodnog stresa dolazi do fizioloških promjena u biljci, redukcije rasta i fotosinteze, smanjenja provodnosti puči, dehidracije stanica i nekroze (Ghanbary i sur., 2017), do sličnih ili istih promjena dolazi i zbog infekcije gljivom *Biscogniauxia mediterranea*.

Kombinacija vodnog stresa i infekcije gljivom *B. mediterranea* ima najveći utjecaj na redukciju vodnog potencijala ksilema, gdje postoji korelacija sa dužinom prodora infekcije što znači da negativan vodni potencijal pogoduje razvoju patogena u domaćinu (Ghanbary i sur., 2017). Micelij patogena ubrzano raste u provodnim žilama, kolonizirajući većinom ksilem čime nastaje embolija (Vannini i Valentini 1994; Paoletti i sur., 2007). Zbog sve većeg zatvaranja ksilema, gubi se hidraulička provodljivost, ostaju prazni prostori u njemu te se tako micelij može učinkovitije proširiti, čime opada funkcionalnost ksilema i sposobnost biljke da vrši transport vode iz korijena prema krošnji (Vannini i Valentini 1994).

Zbog vodnog stresa biljka je oslabljena i nije u mogućnosti stvoriti fizičku barijeru da zaustavi prodor patogena, jer su vodnim stresom zahvaćene sve biljne stanice i tkiva. U stanicama se mijenja količina i kvaliteta sastava karbohidrata i aminokiselina (Vannini i Valentini, 1994).

Tijekom prodora patogen ispušta toksine koji utječu na provodljivost puči čime se smanjuje razina fotosinteze (Ghanbary i sur., 2017).

Osim navedenih promjena dolazi i do smanjenja prosječne površine lista, pri čemu infekcija ne utječe na promjer i visinu stabljike, dok pod vodnim stresom dolazi do smanjenja istih. Infekcija također nema utjecaja ni na biomasu korijena, a razlog tomu može biti što biljka iskoristi rezerve ugljika za njegov razvoj, ali zato dolazi do smanjenja ukupne biomase (Ghanbary i sur., 2017).

Postoji negativan utjecaj i na razmjenu plinova unutar biljke nezavisno o veličini infekcije. Moguće je kvantificirati utjecaj patogena na razmjenu plinova i time procijeniti gubitak biomase, no to je teže provesti u šumskim uvjetima (Linaldeddu i sur., 2009).

### 11.3. SMEĐA TRULEŽ

Eriksson i sur. (1990) su proučavali razgradnju drva uzrokovanu različitim patogenima, među njima i gljivom *Biscogniauxia mediterranea*. Trulež na *Pinus* spp. i *Eucalyptus* spp. uzrokovana gljivom *B. mediterranea* je jako slična smeđoj truleži sa gubitkom celuloze i stvaranjem rombičnih šupljina unutar stijenki stanica. Celulozna vlakna se sastoje od primarnog sloja (P) i tri sekundarna sloja (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>) (Carrasco 2011). U slučaju djelovanja ove gljive sloj S<sub>2</sub> se razložio ostavljajući spužvastu jezgru, ali je sloj S<sub>3</sub> ostao netaknut, te se zbog tih neuobičajenih uzoraka truleži ona se ne smatra tipičnom smeđom truleži.

## 12. METABOLITI

### 12.1. FITOTOKSINI

*Biscogniauxia mediterranea* proizvodi dva otprije poznata toksina fenilacetatnu kiselinu i izokumarin 5-metillmelein, te novootkriveni toksin nazvan biscogniaukson (Wu i sur., 2016). Također, Evidente i sur. (2005) su izvršili ekstrakciju i identifikaciju toksina biscopiran iz tekuće kulture *B. mediterranea*, te su ga opisali kao glavni fitotoksični metabolit patogena.

Potonje istraživanje su autori vršili na reznicama hrasta plutnjaka (*Quercus suber*) i na rajčici (*Solanum lycopersicum*). Otkrili su da biscopiran u koncentraciji 0,26-0,0026 mmol/L uzrokuje pojačani rast gornje strane lista uzrokujući njegovo savijanje nadolje, tj. epinastiju

na reznicama plutnjaka i povijanje rajčice, a fenilacetatna kiselina u istoj koncentraciji uzrokuje nekrozu listova reznice plutnjaka, dok na rajčici uzrokuje unutarnje propadanje tkiva stabljike. Nije iznenađujuće što je i u ovoj studiji izoliran fitotoksin fenilacetatna kiselina jer je u prijašnjim istraživanjima okarakteriziran kao fitotoksični metabolit vrsta roda *Rhizoctonia* spp., također i izokumarin 5-metilmelein kao najčešće izoliran toksin razreda *Ascomycetes* (Evidente i sur., 2005).

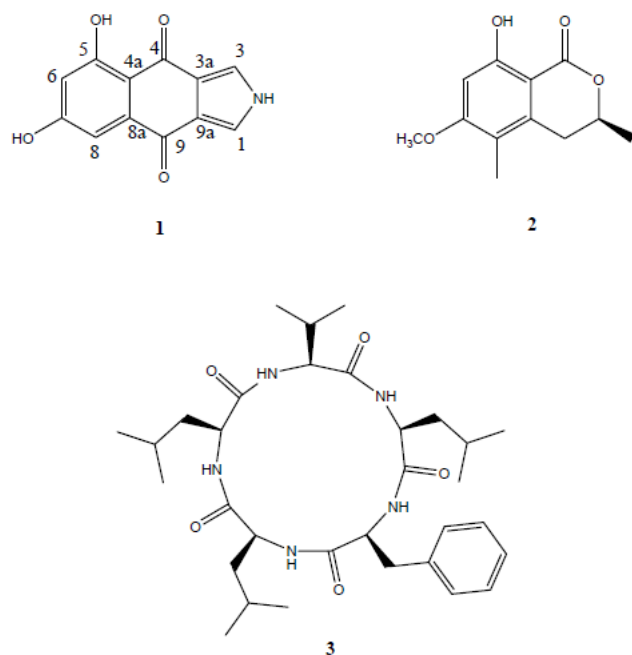
Provedena su mnoga istraživanja takvih metabolita sa stajališta tradicionalne taksonomije s ciljem boljeg razumijevanja odnosa unutar porodice *Xylariaceae*. Dobiveni podaci govore da postoje barem dvije glavne grupe unutar porodice, te je zbog proizvodnje izokumarin 5-metilmelein, *B. mediterranea* svrstana u grupu zajedno sa rodovima *Hypoxylon*, *Daldinia*, *Camillea* i *Entonaema* (Evidente i sur., 2005).

## 12.2. METABOLITI U MEDICINSKE SVRHE

Po prvi puta Wu i sur. (2016) su izolirali gljivu *B. mediterranea* sa morskog sedimenta Sredozemnog mora na dubini od 2800 m, te je jedan od metabolita identificiran kao novi izopirrolonaftokinon nazvan biscogniaukson (Slika 20). Rezultati otkrivaju da biscogniaukson inhibira aktivnost enzima GSK-3 $\beta$  bitnog za tretman protiv bolesti kao što su dijabetes tipa 2, neurološki poremećaji i raka. Također je pokazao slab inhibicijski utjecaj na *Staphylococcus epidermidis* (epidermalni stafilokok) i *Staphylococcus aureus* (zlatni stafilokok).

Uz biscogniaukson pronađena su još dva metabolita, tj fitotoksina, kao gore već navedeni izokumarin 5-metilmelein i fenilacetatna kiselina. Otkriveno je da fitotoksin fenilacetatna kiselina i njeni derivati pokazuju inhibicijska svojstva prema stanicama HTC-116 odgovornima za otpornost raka debelog crijeva na lijekove. Biscogniaukson i fitotoksin 5-metilmelein su pokazali antimikrobna svojstva prema bakteriji *Bacillus subtilis* i ljudskom patogenom kvascu *Candida albicans*, te isto tako inhibirajući učinak prema enzimima acetilkolinsterazi (AChE), fosfodisterazi (PDE-4B2) i proteinu tirozin fosfatazi (PTP1B).





Slika 20. Kemijska struktura metabolita, 1 – biscogniauxkon, 2 – 5-metil melein, 3 – fenilacetatna kiselina (Wu i sur., 2016)

### 12.3. FITOTOKSIN SA ANTIFUNGALNIM SVOJSTVIMA

Silva-Hughes i sur. (2015) proveli su istraživanje na kaktusu *Opuntia humifusa*, autohtonom u SAD-u i Meksiku, koji se koristi u medicinske svrhe. Pronašli su obilje endofitskih gljiva, među kojima je i *Biscogniauxia mediterranea*. Iz ekstrakta gljive *B. mediterranea* izolirali su toksin izokumarin 5-metillmelein, koji pokazuje antibakterijska i anntifungalna svojstva prema različitim mikroorganizmima.

Otkriveno je da je toksin izokumarin 5-metillmelein pokazao antifungalni učinak (inhibira rast 50-63 %) prema uzročniku crne pjegavosti vinove loze, *Phomopsis viticila* i uzročniku paleži lista jagode, *Phomopsis obscurans*, te slabi učinak (inhibira rast do 20 %) prema patogenima *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum fragariae* i *Fusarium oxysporum* (Silva-Hughes i sur., 2015).

## 13. MJERE ZAŠTITE

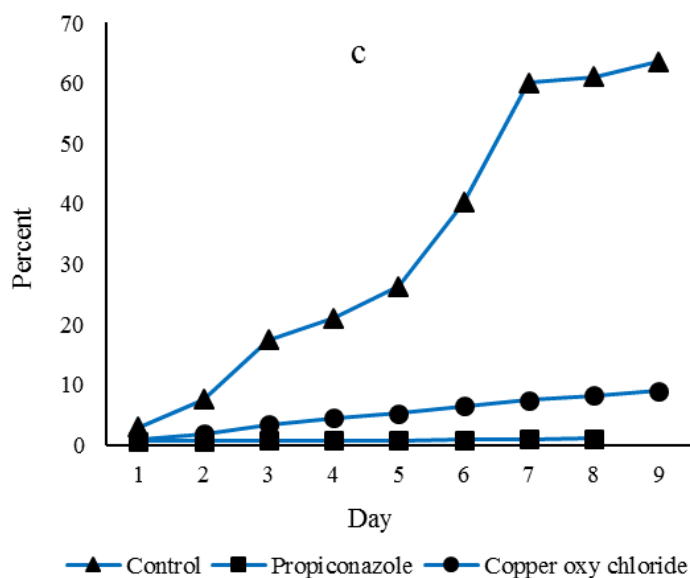
Budući da trenutno ne postoje mjere kojima se može potpuno spriječiti napad, te ukloniti *Biscogniauxia mediterranea*, način za smanjenje zaraze su preventivne mjere zaštite. Kako je njen razvoj u korelaciji sa slabošću domaćina, jedna od mjera je izbjegavati prekomjerno iskorištavanje šuma, te poboljšati makro i mikro hranjiva i pH tla (Henriques, 2015).

Uz preventivne mjere zaštite, mogu se koristiti kemijska i biološka kontrola.

### 13.1. KEMIJSKA KONTROLA

Uspješnost kemijski sintetskih fungicida, kao što su bakreni oksiklorid i propikonazol iznijeli su u istraživanju Rostamian i sur., (2017) kojim se pokazalo da je propikonazol mnogo uspješniji u inhibiranju rasta gljive *Biscogniauxia mediterranea*.

Istraživanje je provedeno u *in vitro* uvjetima gdje su fungicidi korišteni u standardnoj koncentraciji od 0,02 % u trajanju od 9 dana, uspoređujući sa kontrolnom grupom. U kontrolnoj grupi (u Petrijevoj zdjelici), gljiva *B. mediterranea* je dosegla maksimum za 9 dana. Nakon 9 dana rezultati su pokazali da je tretmanom bakrovim oksikloridom površina gljive bila 9,08 cm<sup>2</sup>, a propikonazolom 1,02 cm<sup>2</sup>. Bakrov oksiklorid je inhibirao rast gljive za 61,24 %, a propikonazol za 95,57 % (Slika 21).



Slika 21. Postotak rasta gljive *B. mediterranea* pod tretmanima bakrovim oksikloridom i propikonazolom naspram kontrolne grupe (Rostamian i sur., 2017)

Provedeno istraživanje Rostamian i sur. (2017) u kojem dobiveni rezultati pokazuju da i propikonazol i bakrov oksid inhibiraju rast gljive *B. mediterranea*, nije u skladu sa istraživanjem Karami i sur. (2018) također *in vitro*, čiji rezultati otkrivaju da bakrov oksid nije uopće inhibirao rast gljive.

Karami i sur. (2018) su u istraživanje vršili *in vitro* i *in vivo*. U *in vitro* su koristili dva sistemična fungicida propikonazol i karbendazim i dva nesistemična mankozeb i bakrov oksiklorid u različitim koncentracijama. Rezultati pokazuju da nesistemični fungicidi nisu inhibirali rast gljive *B. mediterranea* ni u jednoj koncentraciji, dok je propikonazol u potpunosti inhibirao rast gljive. U *in vivo* su koristili sistemične fungicide tako što su ih

aplicirali na stabla na dva načina. Prvi način je prskanje debla do 2 m visine fungicidom, a drugi je prskanje fungicidom oko baze stabla nakon što oprali deblo tim istim fungicidom do 2 m visine. Prethodno apliciranju fungicidom, debla su potpuno očišćena od mahovine, lišajeva itd. plastičnim četkama te su zaražena tkiva otklonjena zbog što manjeg utjecaja na nezaraženo tkivo. Rezultati pokazuju da sama aplikacija fungicida nije dostatna za učinkovitu inhibiciju gljive nego je potrebna kombinacija različitih mjera zaštite.

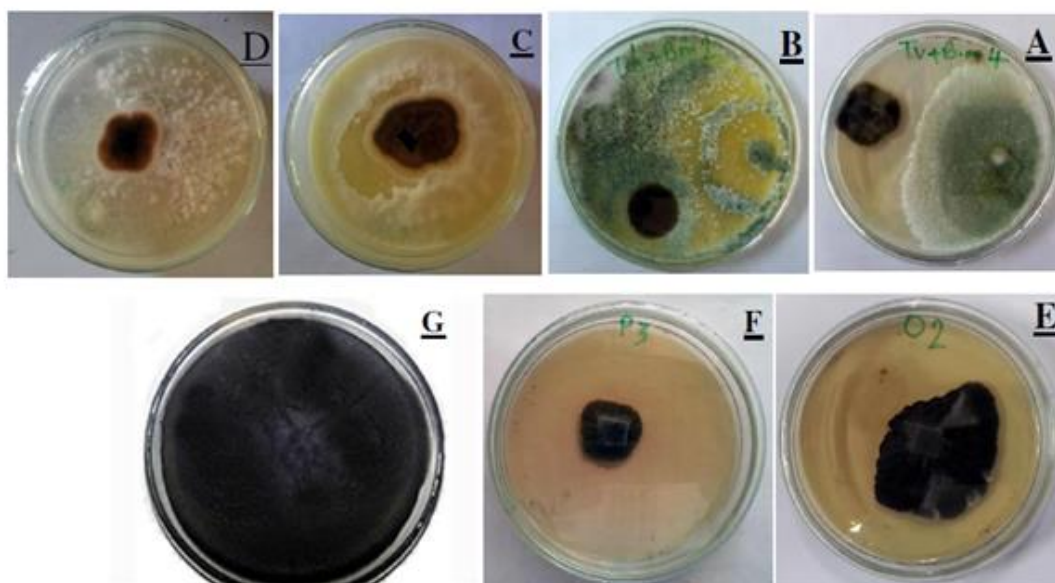
### 13.2. BIOLOŠKA KONTROLA

Upotreba nekih kemijskih sredstava za suzbijanje gljive *B. mediterranea* je zabranjena, zbog štetnosti za prirodu i živi svijet, zbog čega se traže neka biološki prihvatljivija rješenja.

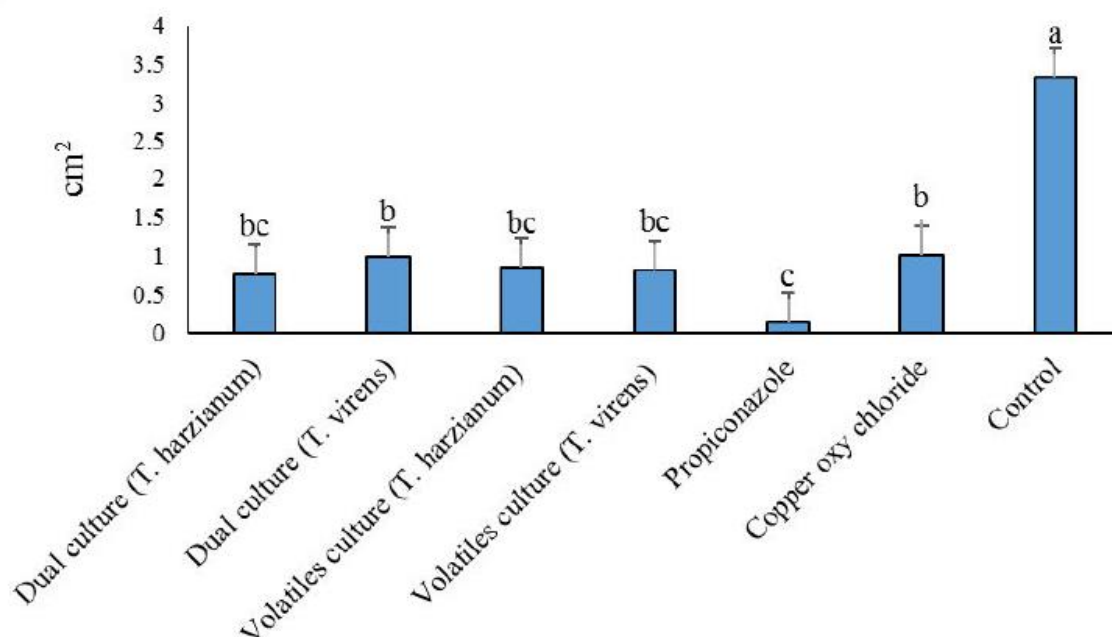
Jedno od njih su endofitne gljive roda *Trichoderma*, a to su *Trichoderma fertile*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma virens*, endofit *Epicoccum nigrum*, *Dictyochaeta parva*, endofit *Gliocladium roseum* i uzročnik sušenja *Verticillium* spp. (Mazzaglia i sur., 2005; Rostamian i sur., 2017).

Mazzaglia i sur., (2005) su istraživali mogućnost upotrebe vrsta *Trichoderma fertile* i endofite *Epicoccum nigrum*, *Dictyochaeta parva*, *Gliocladium roseum* i *Verticillium* spp. kao anatagonističkih gljiva u suzbijanju *B. mediterranea*. Soj *G. roseum* je pokazao slab utjecaj na rast patogena, ali je pokazao djelomična parazitska svojstva što bi trebalo dalje istraživati. *E. nigrum* i *Verticillium* spp. su reducirali rast patogena i prije kontakta njihovih micelija u dvojnim kulturama, što bi moglo biti rezultat otpuštanja nekih antibiotičkih tvari. Najučinkovitijim antagonistima su se pokazali *D. parva* i *T. fertile*, iako imaju drukčije mehanizme za suzbijanje. Oba antagonista su inhibirala rast micelija *B. mediterranea* bez njihovog kontakta time što su proizvodili toksične metabolite, ali je *T. fertile* još i parazitirala na kolonijama *B. mediterranea* te proizvela plodna tijela sa sporama.

Slično istraživanje su vršili Rostamian i sur., (2017) na *Quercus brantii* sa endofitima *Trichoderma harzianum* i *T. virens*. Došli su do zaključka da je u suzbijanju patogena *T. harzianum* uspješniji od *T. virens* (Slika 22 i Slika 23).



Slika 22. Rast *Biscogniauxia mediterranea* sa različitim tretmanima, A – rast sa *Trichoderma virens*, B – rast sa *Trichoderma harzianum*, C – rast sa *Trichoderma virens* (kultura sa hlapljivim elementima), D – rast sa *Trichoderma harzianum* (kultura sa hlapljivim elementima), E – rast sa tretmanom bakrovog oksiklorida, F – rast sa tretmanom Propikonazolom, G – kontrolna grupa (Rostamian i sur., 2017)



Slika 23. Prosječni rast (izražen u cm<sup>2</sup>) *B. mediterranea* tijekom biološkog i kemijskog tretmana (Rostamian i sur., 2017)

Oba prethodno opisana istraživanja ukazuju na moguću buduću primjenu biološke kontrole takve vrste u mjerama zaštite i sanacije zahvaćenih područja.

Drugačije rješenje je pošumljavanje zahvaćenog područja drugim odgovarajućim drvenastim vrstama koje su pokazale otpornost prema patogenu.

*Biscogniauxia mediterranea* nije prouzročila bolest na rodovima *Crataegus* spp. i *Ulmus* spp. u istraživanju kojeg su proveli Safae i sur. (2017), stoga bi se vrste tih rodova mogle koristiti za pošumljavanje na područjima zahvaćenih patogenom. Međutim, do tih podataka se došlo u staklenicima u kontroliranim uvjetima, te se ta pretpostavka mora testirati na odraslim stablima u terenskim uvjetima da bi se mogla vršiti daljnja istraživanja potencijalnog rješenja.

Zbog izrazite polifagnosti patogena te neometanog otpuštanja i širenja spora tijekom cijele godine, zahvaćena stabla bi se trebala odstraniti i spaliti da se smanji infekcijski potencijal (Linaldeddu i sur., 2008).

## 14. UPRAVLJANJE

Prema Martín i sur. (2005) loše gospodarenje je mogući primarni uzrok povećanja populacije cvilidreta *Cerambyx* spp., koje služe kao vektori gljive *B. mediterranea* koja se širi njihovim hodnicima u stablu. Ta činjenica može poslužiti za pouzdana predviđanja povećanja populacije i sukladno s time izraženije napade patogena za buduća istraživanja ili u svrhu upravljanja.

Prema europskoj Direktivi o staništima, hrastove i hrastovo-brijestove šume su zaštićene, stoga bi bila poželjna strategija kontrole štetočina. Neke vrste *Cerambyx* spp. kao *Cerambyx cerdo* su zaštićeni istom Direktivom (Martín i sur., 2005) te se tu nazire problem usklađivanja zaštite staništa i insekata i mjera zaštita protiv istih.

Karami i sur. (2018) su proveli istraživanje kojim su nastojali ustanoviti prikladnu metodu za upravljanje i suzbijanje gljive *Biscogniauxia mediterranea* kroz silvikulturu, korištenje fungicida (kemijska kontrola) i biološku kontrolu. Iako je *B. mediterranea* uzrokovala mnogobrojna odumiranja hrastova, učinkovite metode upravljanja i sprječavanja bolesti još nisu provedene. Tradicionalne metode upravljanja često uključuju uklanjanje i spaljivanje zaraženih stabala što je možda učinkovito, ali uzrokuje velike financijske izdatke, osobito ako je riječ o velikom broju stabala. Zbog takvih metoda i ograničenja u korištenju kemijskih fungicida, pronalazak alternativnih metoda suzbijanja je od velike važnosti.

### 14.1. SILVIKULTURA

Silvikulturalne metode, kao što su skarifikacija i fertilizacija tla, te sanitarne mjere, imaju za ciljeve bolju prozračnost tla tijekom razdoblja povećane količine vode, bolje protjecanje vode

kroz tlo tijekom sušnih razdoblja, formiranje sekundarnog korijenja i smanjenje problema manjka hranjiva. Njima se pokušava izbjeći stres i ojačati stabla na napade patogena.

Skarifikacijom tla cilj je reducirati kompaktnost tla, poboljšati prozračnost i aktivirati absorpciju hranjivih tvari kroz korjenove dlačice. Iako u istraživanju kojeg su proveli Karami i sur. (2018) skarifikacija nije imala skoro nikakvog učinka na tretirana stabla, kao mogući uzrok tomu navodi se da je skarifikacija možda oslobodila patogenu gljivu i pojačala njenu aktivnost.

Sanitarne mjere, kao što je paljenje zaraženih stabala, otklanjanje otpalog lišća, grančica, čak i jednogodišnjeg i višegodišnjeg bilja ispod stabala mogle bi učinkovito reducirati zaraze i njihovo širenje. Budući da nisu pronađene učinkovite mjere za suzbijanje patogena, najbolja strategija sprječavanja širenja je micanje zaraženih stabala i smanjivanje stresa na nezaražena stabla (Karami i sur. 2018).

Kombinacijom silvikulture i sanitarnih mjera, smanjivanjem inokuluma patogena i stresa na stabla, stvara se okruženje u kojem poboljšava zdravstveno stanje stabla čime ono postaje dovoljno otporno na bolest.

#### 14.2. KEMIJSKA KONTROLA

Kao što je već spomenuto *in vitro* istraživanja Rostamian i sur. (2017) i Karami i sur. (2018) nisu dala iste rezultate kod aplikacije sistemskih i nesistemskih fungicida. Korišteni sistemski fungicidi su propikonazol i karbendazim, a nesistemski su mankozeb i bakrov oksiklorid. Različiti rezultati ukazuju na potrebu za daljnjim istraživanjima aplikacije tih fungicida i pronalazak novih.

Propikonazol je organski fungicid koji djeluje preventivno i kurativno, te inhibira sintezu ergosterola (IBE), topljiv je u vodi i ujednačeno se distribuira po cijeloj biljci. Od sedam pripravaka propikonazola koji su bili registrirani kao dozvoljena sredstva za zaštitu bilja u RH, trenutno je trima pripravcima istekla registracija. Bakreni oksiklorid je anorganski fungicid na bazi bakra, djeluje preventivno i pripada skupini neznatno otrovnih spojeva za čovjeka. Od mnogih pripravaka koji su bili registrirani kao dozvoljena sredstva, danas je mnogima istekla registracija (Karami i sur., 2018; Cvjetković i Sever, 2018; Agroklub. Preuzeto s <https://www.agroklub.com/>).

Velika varijabilnost populacije *B. mediterranea* je važna za njenu epidemiologiju jer patogenu pruža genetsku varijabilnost za dugoročan opstanak i prilagodljivost na okoliš. Time se otvara

mogućnost evolucije osobina patogena kao što je virulentnost ili otpornost na pojedine fungicide (Henriques i sur., 2014b). Zbog te osobine patogena važno je ne koristiti samo fungicide nego istovremena aplikacija sa silvikulturalnim metodama, kao što su skarifikacija i fertilizacija tla te sanitarne mjere.

### 14.3. BIOLOŠKA KONTROLA

Karami i sur. (2018) su u istraživanju došli do zaključka da vrste *Trichoderma viride* i *Trichoderma atroviride* pokazuju značajan antagonizam protiv *B. mediterranea* i u *in vitro* i *in vivo* (u suspenziji prskanoj na tretirana stabla) uvjetima. Prednost je to što ova metoda ne iziskuje velika financijska sredstva. Unatoč tome potrebna su daljna istraživanja, osobito u terenskim uvjetima, zbog višestrukih utjecajnih čimbenika koji mogu smanjiti učinkovitost te mogućih štetnih posljedica primjene.

Pripravak od endofitske gljive *T. harzianum* je kontaktni antibiotski fungicid niske toksičnosti za insekte, okoliš i čovjeka, te se ne ubraja u otrove. U Republici Hrvatskoj je bio dostupan pripravak Trichodex WP kojemu je ukinuta/istekla registracija 2015. godine i više se ne nalazi na popisu dozvoljenih sredstava za zaštitu bilja (Agroklub. Preuzeto s <https://www.agroklub.com/>).

Unatoč tome što je svaka od opisanih metoda pokazala manji ili veći utjecaj na patogenu gljivu, nije dovoljna aplikacija samo jedne od njih, već kombinacija svih da bi se stablu omogućili što bolji uvjeti za obranu od patogena.

## 15. ZAKLJUČAK

Cilj rada je upoznati se sa gljivom *Biscogniauxia mediterranea* koja predstavlja sve veći problem ne samo za područje Mediterana nego i za cijeli svijet. Prvi puta se 2014. godine pojavljuje u Republici Hrvatskoj u Istri, iako je tada bila lokalizirana na područje Istre (nekoliko šumarija) i otoka Cresa, pitanje je dana kada će se početi širiti na jug, na cijelo prirodno rasprostranjenje cera, crnike i medunca. Klimatske promjene su neizbježne i sve izraženije, osobito u Sredozemlju gdje su velike i duge suše postale normalna pojava. Upravo takvi uvjeti pogoduju gljivi i njenom širenju.

Prilagodbu na nove uvjete i klimatske promjene omogućuje joj velika genetska varijabilnost i heterotalična oplodnja čime dobiva genetsku fleksibilnost za dugoročno preživljavanje (Henriques i sur., 2014b). Također zbog tih osobina, rekombinacijom gena, može postati otporna na trenutno poznate fungicide koji inhibiraju njen rast zbog čega se ukazuje potreba za različitim mjerama zaštite.

Ni jedna mjera zaštite se nije pokazala kao jedinom učinkovitom mjerom protiv gljive *B. mediterranea*, naprotiv potrebna je kombinacija više različitih mjera. Za sprječavanje masovnog odumiranja stabala i držanja koraka sa gljivom potrebna su daljna istraživanja mjera zaštite.



## 16.POPIS LITERATURE

- Anselmi N., Mazzaglia A. (2005) Correlation between the incidence of endophytic pathogenic fungi and oak decline in *Quercus ilex* L. after fire damages. *Integrated Protection in Oak Forests* 28(8); 93-99
- Belhoucine L., Bouhraoua R., Meijer M., Houbraeken J., Harrak M.J., Samson R.A., Equihua-Martinez A., Pujade-Villar J. (2011) Mycobiota associated with *Platypus cylindrus* (Coleoptera: Curculionidae, Platypodidae) in cork oak. *African Journal of Microbiology Research* 5(25); 4411-4423
- Capretti P., Battisti A. (2007) Water stress and insect defoliation promote the colonization of *Quercus cerris* by the fungus *Biscogniauxia mediterranea*. *European Journal of Forest Pathology* 37(2); 129-135
- Chinga-Carrasco G. (2011) Cellulose fibres, nanofibrils and microfibrils: The morphological sequence of MFC components from a plant physiology and fibre technology point of view. *Nanoscale Research Letters* 6(1):417. doi: 10.1186/1556-276X-6-417
- Diminić D., Kranjec Orlović J., Lukić I., Ježić M., Ćurković Perica M., Pernek M. (2019) First report of Charcoal Disease of Oak (*Biscogniauxia mediterranea*) on *Quercus* spp. in Croatia. *Plant Disease*. doi: 10.1094/PDIS-03-19-0458-PDN
- Cvjetković, B., Sever, Z. (2018) Fungicidi. *Glasiilo biljne zaštite* 1-2; 111-232
- Eriksson K.-E.L., Blanchette R., Ander P. (1990) *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components*. Springer Series in Wood Science. Springer-Verlag
- Evidente A., Andolfi A., Maddau L., Franceschini A., Marras F. (2005) Biscopyran, a phytotoxic hexasubstituted pyranopyran produced by *Biscogniauxia mediterranea*, a fungus pathogen of cork oak. *Journal of natural products* 68(4); 568-71
- Ghanbary E., Kouchaksaraei M.T., Mirabolfathy, Modarres Sanavi S.A.M., Rahaie M. (2017) Growth and physiological responses of *Quercus brantii* seedlings inoculated with *Biscogniauxia mediterranea* and *Obolarina persica* under drought stress. *Forest Pathology* 47(5). doi: 10.1111/efp.12353
- Glavaš M. (1996) *Osnove šumarske fitopatologije*, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

- Gottschalk K.W, Wargo P.M. (1997) *Oak Decline Around the World*, USDA Forest Service; U.S. Department of Agriculture interagency gypsy moth research forum 1996
- Henriques J. (2015) Charcoal disease (*Biscogniauxia mediterranea*) in cork oak decline in Portugal, Doktorska disertacija, Universidade de Lisboa
- Henriques J., Barrento M.J., Bonifacio L., Gomes A.A., Lima A., Sousa E. (2014a) Factors Affecting the Dispersion of *Biscogniauxia mediterranea* in Portuguese Cork Oak Stands. *Silva Lusitana* 22(1); 83-97
- Henriques J., Nóbrega F., Sousa E., Lima A. (2014b) Diversity of *Biscogniauxia mediterranea* within Single Stromata on Cork Oak. *Journal of Mycology*; 5. article ID 324249
- Henriques J., Nóbrega F., Sousa E., Lima A. (2015a) Morphological and genetic diversity of *Biscogniauxia mediterranea* associated to *Quercus suber* in the Mediterranean Basin. *Revista de Ciencias Agrarias* 38(2); 166-175
- Henriques J., Nóbrega F., Sousa E., Lima A. (2015b) Morpho-cultural and physiological features of *Biscogniauxia mediterranea* isolates associated with cork oak (neobjavljeno)
- Hrašovec B., Franjević M. (2011) *Primjenjena entomologija, pregled najznačajnijih vrsta šumskih kukaca i njihova osnovna biološka svojstva* (Skripta). Zavod za zaštitu šuma i lovno gospodarenje. Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- Inacio M.L., Henriques J., Guerra-Guimãres L., Gil Aziniheira H., Lima A., Sousa E. (2011) *Platypus cylindrus* Fab. (Coleoptera: Platypodidae) transports *Biscogniauxia mediterranea*, agent of cork oak charcoal canker. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 37; 181-186
- Karami J., Reza Kavosi M., Babanezhad M., Kiapasha K. (2018) Integrated management of the charcoal disease by silviculture, chemical and biological methods in forest parks. *Journal of Sustainable Forestry* 37(5); 429-444
- Linaldeddu B.T., Franceschini A., Pulina M.A. (2008) Epidemiological aspects of *Biscogniauxia mediterranea* in declining cork oak forest in Sardinia (Italy). *Integrated Protection in Oak Forests* 28(8); 75-81
- Luchi N., Capretti P., Pinzani P., Orlando C., Pazzagli M. (2005) Real-time PCR detection of *Biscogniauxia mediterranea* in symptomless oak tissue. *Letters in Applied Microbiology* 41; 61-68

- Martín J., Cabezas J., Buyolo T., Patón (2005) The relationship between *Cerambyx* spp. damage and subsequent *Biscogniauxia mediterranea* infection on *Quercus suber* forests. *Forest Ecology and Management* 216; 166-174
- Mazzaglia A., Anselmi N., Nasini M. (2005) Antagonism of endophytic fungi of *Quercus* towards *Biscogniauxia mediterranea*. *Integrated Protection in Oak Forests* 28(8); 91-92
- Moricca S., Bracalini M., Croci F., Corsinovi S., Riziero T., Orci A.R., Panzavolta T. (2018) Biotic Factors Affecting Ecosystem Services in Urban and Peri-Urban Forests in Italy: The Role of Introduced and Impending Pathogens and Pests. *Forests* 9(2); 65. doi 10.3390/f9020065
- Nugent L.K., Sihanonth P., Thienhirun S., Whalley A.J.S. (2005) *Biscogniauxia*: a genus of latent invaders. *Mycologist* 19(1); 40-43
- Paoletti E., Anselmi N., Franceschini A. (2007) Pre-Exposure to Ozone Predisposes Oak Leaves to Attacks by *Diplodia corticola* and *Biscogniauxia mediterranea*. *The Scientific World Journal* 7; 222-230
- Pasta, S., de Rigo, D., Caudullo, G. (2016) *Quercus pubescens* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp. e019e5c+
- de Rigo D., Enescu C. M., Houston Durrant T., Caudullo G. (2016a) *Quercus cerris* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp. e01b479+
- de Rigo, D., Caudullo, G. (2016b) *Quercus ilex* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp. e014bcd+
- Rostamian M., Kavosi M.R., Bazgir E., Babanezhad M. (2016) First report of *Biscogniauxia mediterranea* causing canker on wild almond (*Amygdalus scoparia*). *Australasian Plant Disease Notes* 11(1); 33. doi: 10.1007/s13314-016-0219-0
- Rostamian M., Kavosi M.R., Bazgir E., Babanezhad M. (2017) Charcoal Disease (*Biscogniauxia mediterranea*) Control Using Biological and Chemical Compounds in Vitro. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research* 3(4); 1961-1968

- Safae D., Khodaparast A., Mirabolfathy M., Sheikholeslami M. (2017) Some aspects of biology and host range of *Biscogniauxia mediterranea*, one of the causal agent of oak charcoal disease. *Mycologia Iranica* 4(2); 121-129
- Santos M.N.S. (2003) Contribution towards the knowledge of the relationship *Quercus suber* - *Biscogniauxia mediterranea* (syn. *Hypoxylon mediterraneum*). *Silva Lusitana* 11(1); 21-29
- Silva-Hughes A.F., Wedgeb D.E., Cantrellb C.L., Carvalhoa C.R., Panb Z., Moraesc R.M., Madoxxe V.L., Rosaa L.H. (2015) Diversity and antifungal activity of the endophytic fungi associated with the native medicinal cactus *Opuntia humifusa* (Cactaceae) from the United States. *Microbiological Research* 175; 67-77
- Trudell S., Ammirati J. (2009) *Mushrooms of the Pacific Northwest*. Timber Press
- Turco E., Lozzi I., Calami L., Marianelli L., Campaioli M., Dellavalle I., Capretti P., Ragazzi A. (2005) Growth of *Biscogniauxia mediterranea* and plant free amino acids: might correlation exist?. *Integrated Protection in Oak Forests* 28(8); 83-89
- Vannini A., Lucero G.S., Anselmi N., Vettrai A.M. (2008) Response of endophytic *Biscogniauxia mediterranea* to variation in leaf water potential of *Quercus cerris*. *European Journal of Forest Pathology* 39(1); 8-14
- Vannini A., Paganini R., Anselmi N. (1996) Factors affecting discharge and germination of ascospores of *Hypoxylon mediterraneum* (De Not.) Mill. *European Journal of Forest Pathology* 26(1); 12-24
- Vannini A., Valentini R (1994) Influence of water relations on *Quercus cerris*-*Hypoxylon mediterraneum* interaction: a model of drought-induced susceptibility to a weakness parasite. *Tree Physiology* 14(2); 129-139
- Vannini A., Valentini R., Luisi N. (1996) Impact of drought and *Hypoxylon mediterraneum* on oak decline in the Mediterranean region. *Annales des Sciences Forestières* 53(2-3); 753-760
- Vukelić, J. (2012) *Šumska vegetacija Hrvatske*. Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet Državni zavod za zaštitu prirode. Zagreb
- Wu B., Wiese J., Schmaljohann R., Imhoff J.F. (2016) Biscogniauxone, a New Isopyrrolonaphthoquinone Compound from the Fungus *Biscogniauxia mediterranea* Isolated from Deep-Sea Sediments. *Marine Drugs* 14(11); 204. doi: 10.3390/md14110204

Zíbarová L., Kout J. (2017) Xylariaceous pyrenomycetes from Bohemia: species of *Biscogniauxia* and *Hypoxylon* new to the Czech Republic, and notes on other rare species. *Czech Mycology* 69(1); 77-108

Elektronički izvori

Agroklub. Preuzeto s <https://www.agroklub.com/> (30.8.2019.)

Anon. (2015) *Izveštajno prognozni poslovi u šumarstvu za 2015/16. godinu*. Hrvatski šumarski institut. Preuzeto s [https://stetnici.blob.core.windows.net/web/post\\_attachments/IPP%20izvje%C5%A1taj%202015%20i%20prognoza%202016.pdf](https://stetnici.blob.core.windows.net/web/post_attachments/IPP%20izvje%C5%A1taj%202015%20i%20prognoza%202016.pdf) (18.2.2019.)

Flora Croatica Database. Preuzeto s <https://hirc.botanic.hr/fcd/> (17.7.2019.)

Hrvatska enciklopedija. Preuzeto s <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=26315> (17.7.2019.)

Mycobank Database: Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. Preuzeto s <http://www.mycobank.org/MB/439307> (23.1.2019.)

Priroda i biljke. Preuzeto s <https://www.plantea.com.hr> (2.7.2019.)