

Stručni članak
Professional paper

Prispjelo - Received: 15. 6. 2012.
Prihvaćeno - Accepted: 20. 9. 2012.

Sanja Novak Agbaba ¹, Nevenka Čelepirović², Željko Tomić³


SMOLASTI RAK BORA – POTENCIJALNA OPASNOST ZA BOROVE ŠUME U HRVATSKOJ

PINE PITCH CANCKER - POTENTIAL DANGER FOR PINES IN CROATIA

SAŽETAK

Gljiva *Gibberella circinata* uzročnik je bolesti smolastog raka bora (*Pinus* spp.). Bolest je prisutna u SAD-u, Meksiku, Južnoj Africi, Japanu, Čileu, a u Europi je lokalno prisutna u Španjolskoj, Italiji, Portugalu i Francuskoj. Gljiva je veoma štetna, zbog čega je uvrštena u karantenske i invazivne organizme te je uveden zakonski obavezni nadzor u EU 2007. godine. Kako predstavlja potencijalnu opasnost, u Hrvatskoj se od 2009. godine provodi posebni nadzor vrste *G. circinata* nad vrstama roda *Pinus*. Cilj je nadzora utvrditi je li bolest prisutna na teritoriju Republike Hrvatske. Zdravstvenim pregledima od 2009. do 2011. godine obuhvaćeno je 169 lokacija u 12 županija, na kojima je obavljen 201 pregled. Analizirana su 203 uzorka vrsta roda *Pinus* i *Pseudotsuga menziesii*. Svi rezultati analiza bili su negativni na prisutnost gljivičnog organizma *G. circinata*. Zbog opasnosti od moguće pojave bolesti u Hrvatskoj nastavlja se provođenje zdravstvenih pregleda borova i duglazije.

Ključne riječi: smolasti rak bora, *Gibberella circinata*, *Pinus* spp., *Pseudotsuga menziesii*, zdravstveni pregled, posebni nadzor

 Dopisni autor/Corresponding author: Tel. +385 1 6273 000, e-mail: sanjan@sumins.hr

¹ Hrvatski šumarski institut, Zavod za zaštitu šuma i lovno gospodarenje, Cvjetno naselje 41, 10 450 Jastrebrsko, Croatia

² Hrvatski šumarski institut, Zavod za genetiku, oplemenjivanje šumskog drveća i sjemenarstvo, Cvjetno naselje 41, 10 450 Jastrebrsko, Croatia

³ Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Zavod za zaštitu bilja, Svetošimunska 25, 10 040 Zagreb, Croatia

UVOD

INTRODUCTION

Smolasti rak bora bolest je koja uzrokuje sušenje borova iz roda *Pinus* spp. i duglazije *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. Nazvana je smolasti rak prema karakterističnom simptomu obilnog smoljenja na mjestu infekcije (Slika 1.). Od svih vrsta roda *Pinus* najosjetljivija je vrsta *Pinus radiata* D. Don. (Gordon i dr. 2001). Uzročnik je bolesti gljiva *Gibberella circinata* Nirenberg & O'Donnell koja zbog agresivnosti predstavlja ozbiljnu opasnost za borove šume (EPPO 2009). Bolest je prvi put zabilježena 1946. godine na jugoistoku SAD-a u Sjevernoj Karolini (Gordon i dr. 2001). U Kaliforniji je 1986. godine izazvala epidemiju (McCain i dr. 1987). Bolest se proširila na Japan (1990.), zatim na Južnu Afriku (1994.), u Meksiko (1999.) i Čile (2002.) (EPPO 2005).

U Europi je prvi put zabilježena u Španjolskoj 2005. godine u rasadnicima, u kulturama *Pinus radiata* te na pojedinim stablima alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.) i pinije (*Pinus pinea* L.) (Landeras i dr. 2005). Utvrđena je i u Italiji 2007. godine na borovima u gradskoj sredini (Carlucci i dr. 2007). Bolest se proširila na Portugal, gdje je utvrđena u rasadnicima 2007. (Braganca i dr. 2009) te na Francusku (EPPO 2008, 2009, 2010). Prema fitosanitarnoj kategorizaciji *G. circinata* nalazi se na EPPO (Europe Plant Protection Organisation) A 2 akcijskoj listi br. 306 karantenskih štetnih organizama kao važan patogen lokalno prisutan na području EU-a (EPPO 2005). *G. circinata* stavljena je na listu invazivnih vrsta (Invasive species compendium, www.cabi.org/isc) koje uzrokuju velike štete i mogu predstavljati ekonomsku i ekološku prijetnju ako se prošire na nova područja.



Slika 1. Simptomi smolastog raka bora na deblu bora *Pinus radiata*

Figure 1. Symptoms of pine pitch canker on the stem of *Pinus radiata*

Gibberella circinata nalazi se u prirodi u anamorfnom (konidijском) stadiju poznatom pod imenom *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell. Poznata je pod sinonimima *Fusarium subglutinans* f. sp. *pini* C. Correll i dr., *Fusarium lateritium* f. sp. *pini* Snyder i dr., *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* Wollenw i Reinking i *Fusarium subglutinans* (Wollenw i Reinking) P. E. Nelson i dr. (EPPO 2005). Po taksonomskom položaju spada u odjel *Ascomycota*, red *Hypocreales*, porodicu *Nectriaceae* (EPPO 2005). Gljiva *G. circinata* inficira sjeme, klijance, sadnice i stabla. Prenosi se sjemenom (Storer i dr. 1998) i zaraženim sadnicama, a sa zaraženih dijelova širi se makrokonidijama i mikrokonidijama nošenim vjetrom i kukcima (najčešće *Pytophthorus*, *Ips*, *Conophthorus* i *Ernobius*) (Gordon i dr. 2001). Svaka ozljeda na biljci, nastala tučom, rezidbom ili kukcima, pogodno je mjesto za početak zaraze (Slika 2.). Za infekciju je potrebna veća vlaga i više temperature te s tim u vezi najveće štete nastaju u području mediteranske klime (EFSA 2010).



Slika 2. Smolasti rak na dijelu debla *P. radiata* ozlijeđenom od tuče
Figure 2. Pine pitch canker on part of the stem injured by hailstones

EU je 2007. godine uveo obavezan nadzor nad pojavom i širenjem gljive *G. circinata* prema odluci Europske komisije o hitnim mjerama za sprječavanje ulaska i širenja gljive *G. circinata* u EU (2007/433/EC). U Hrvatskoj je 2009. godine na osnovi Odluke EU-a Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja donijelo Pravilnik o mjerama za sprječavanje unošenja i širenja gljive *G. circinata* (NN 55/2009) te odluku o provođenju programa posebnog nadzora nad smolastim rakom bora. U okviru posebnog nadzora provodi se ovo istraživanje čiji je cilj utvrditi je li gljiva *G. circinata*, uzročnik bolesti smolastog raka bora, prisutna na teritoriju Republike Hrvatske.

MATERIJALI I METODE

MATERIALS AND METHODS

Zdravstveni pregledi provedeni su na biljkama domaćina smolastog raka, vrstama roda *Pinus* (*P. nigra* J. F. Arnold, *P. halepensis* Mill., *P. sylvestris* L., *P. pinea* L., *P. maritima* Lam., *P. mugo* Turra) i *Pseudotsuga menziesii* od 2009. do 2011. godine, od travnja do sredine prosinca, jednom do dva puta godišnje. Područje istraživanja na moguću prisutnost gljive *G. circinata* obuhvatilo je 12 županija, od toga 4 u kontinentalnom i 8 u obalnom području od Istre do Cavtata (Slika 3.). Odabrane su županije u kojima postoji opasnost od pojave ove bolesti s obzirom na zastupljenost biljaka domaćina i povoljne klimatske prilike za razvoj smolastog raka bora.



Slika 3. Područje obavljenih zdravstvenih pregleda od 2009. do 2011. godine
Figure 3. Area of health condition surveys from 2009. to 2011. year

Zdravstveni pregledi obavljani su na terenu vizualnom analizom, a determinacija u laboratoriju makrometodama i mikrometodama te molekularnom metodom. Vizualnom analizom pregledavane su biljke u vrtnim centrima, na prodajnim mjestima, u parkovima, vrtovima, javnim zelenim površinama, rasadnicima, borovim kulturama i sastojinama. Postupak se sastojao u pregledu simptoma bolesti: polijeganje klijanaca, trulež korijena sadnica, vrata korijena, boja iglica, nekroza kore i smoljenje. Na odraslim stablima gledalo se postoje li rakaste ozljede, sušenje grana, venuće iglica i obilno smoljenje na deblu. U slučajevima postojanja simptoma bolesti i sumnje na zarazu uziman je uzorak za laboratorijsku analizu koji se sastojao od cijele biljke (klijanac, sadnica) ili bilo kojeg dijela sa simptomima nekroze, sušenja i smoljenja. Skupljeni uzorci analizirani su u laboratoriju za mikologiju Zavoda za zaštitu bilja Hrvatskog centra za poljoprivredu, hranu i selo i laboratoriju za fitopatološka ispitivanja Hrvatskog šumarskog instituta. Analiza se sastojala od makroanalize i mikroanalize. Makroanalizom uzorci su obrađeni i pregledani okularno i pomoću Zoom stereo mikroskopa Olympus SZH10 i istraživačkog mikroskopa Olympus BH2 sa svrhom utvrđivanja uzročnika smoljenja, sušenja i nekroza. Mikroanaliza se sastojala od obrade i pripreme uzoraka biljnog materijala, rezanja oboljelih dijelova na male komadiće, dezinfekcije 70 %-tnim alkoholom ili 3 %-tnom vodenom otopinom HCl i ispiranja u sterilnoj destiliranoj vodi te u konačnici od izolacije gljive na krumpirovoj hranjivoj podlozi s dodatkom streptomycin sulfata (PDAS). Pregledom morfoloških karakteristika kulture odredio bi se uzročnik simptoma bolesti. Godine 2011., nakon uvođenja metode molekularne detekcije gljive *G. circinata*, deset uzoraka nekrotičnog tkiva ispod smolastog dijela kore uzetih s grana i debla stabalaca alepskog bora analizirano je molekularnom metodom. Molekularna detekcija provodila se konvencionalnim PCR-om.

REZULTATI I RASPRAVA

RESULTS AND DISCUSSION

U razdoblju od 2009. do 2011. godine analizirana su 203 uzorka biljnog materijala: borova i duglazije. Uzorci su skupljeni u vrtnim centrima, parkovima, javnim zelenim površinama, u šumskim i hortikulturnim rasadnicima, u kulturama i šumskim sastojinama. Broj lokacija na kojima je provedeno istraživanje, broj vizualnih pregleda i skupljenih uzoraka po godinama istraživanja te rezultati analize biljnog materijala na prisutnost gljive *G. circinata* prikazani su u Tablici 1. Rezultati analiza uzoraka bili su negativni na prisutnost štetnoga gljivičnog organizma *G. circinata* uključujući molekularnu analizu deset uzoraka nekrotičnog dijela drva uzetih s debalca ispod smolaste kore.

Tablica 1. Broj županija, lokacija, vizualnih pregleda, uzetih uzoraka i rezultata laboratorijskih analiza po godinama istraživanja.

Table 1. Number of counties, locations, visual inspections, samples taken and the results of laboratory analysis by years of research.

Godina Year	Broj županija Number of counties	Broj lokacija Number of locations	Broj vizualnih pregleda Number of visual inspections	Broj uzetih uzoraka Number of taken samples	Rezultat laboratorijskih analiza Results of laboratory analysis
2009.	7	29	29	38	<i>Gibberella circinata</i> nije utvrđena / not found
2010.	11	72	88	86	<i>Gibberella circinata</i> nije utvrđena / not found
2011.	12	68	84	79	<i>Gibberella circinata</i> nije utvrđena / not found
Ukupno Total	12	169	201	203	<i>Gibberella circinata</i> nije utvrđena / not found

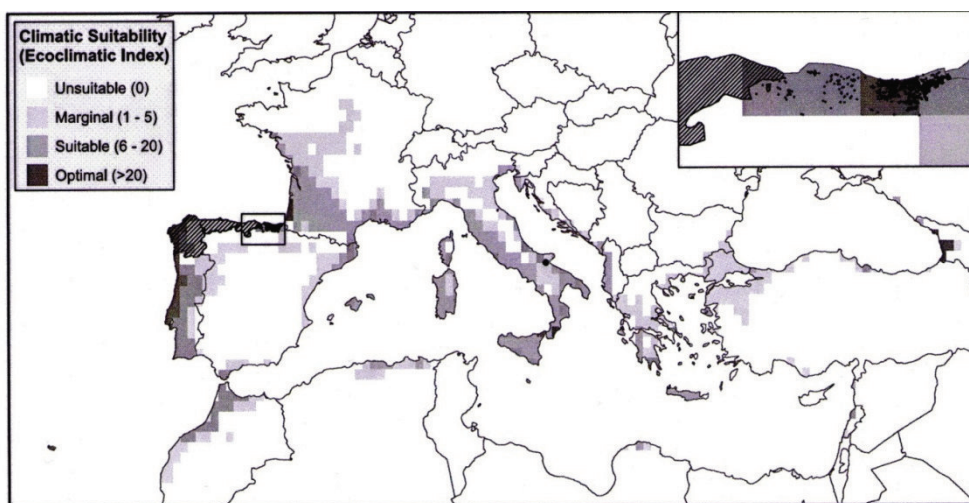
Na uzorcima biljnog materijala kao uzrok sušenja i propadanja utvrđeni su: gljivični organizmi: *Diplodia pinea* (Desm.) Kickx, *Phomopsis* sp., *Fusarium oxysporum* Schlecht ex Fries., *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Phytophthora* sp. i dvije nedeterminirane gljive; abiotički uzročnici: klimatski uvjeti, mehaničke ozljede; te ličinke borova smolara *Dioryctria splendidella* Herrich Schaffer i drugih nedeterminiranih vrsta kukaca koje su uzrokovala jače smoljenje na deblu i granama i ozljede slične rakastim tvorevinama.

S obzirom na to da slične simptome bolesti smolastog raka bora mogu uzrokovati i druge bolesti, kukci i abiotički čimbenici, dijagoza bolesti mora biti bazirana na testiranju (EPP0 2009) i laboratorijskim analizama. Osim toga, *Fusarium* vrste morfološki su vrlo slične i morfološka identifikacija nedovoljna je za detekciju *F. circinatum* (Steenkamp i dr. 1999) te stoga dijagnoza treba biti potvrđena molekularnom identifikacijom (EPP0 2009).

Zdravstveni pregledi borova i skupljanje uzoraka za laboratorijsku analizu obavljani su većinom na mediteranskom dijelu Hrvatske jer se prema mapi rizika bolesti, potencijalne rasprostranjenosti i mogućnosti pojave raka bora (Ganley i dr. 2009.) (Slika 4.) područje obalnog dijela Hrvatske ubraja u umjereno ugroženo područje. Prema procjeni rizika od širenja patogene gljive *G. circinata* na teritoriju Europske unije (EFSA 2010) najugroženijim se smatra mediteransko područje, posebno obalna područja Portugala, Španjolske, Francuske, Italije i Grčke.

Gljiva se može prenositi sa zaraženih područja u područje gdje bolest nije prisutna inficiranim sjemenom ili inficiranim sadnicama borova i duglazije (Storer i dr. 1998). Stoga su posebno važni zdravstveni pregledi uvezenoga biljnog materijala i rasadnika. Razlog što patogena gljiva *G. circinata* do sada nije otkrivena u Hrvatskoj

može biti neznatan uvoz sjemenog i sadnog materijala u Hrvatsku (MPRRR 2009, 2010, 2011). Šumarski rasadnici upotrebljavaju sjeme autohtonih vrsta borova i duglazije. Postoji tendencija hortikulturnih rasadnika za uvoz sjemena i novih vrsta borova (osobna komunikacija), što pokazuje važnost nastavka provođenja posebnog nadzora u Hrvatskoj. Trgovina sjemenom jedan je od najčešćih načina širenja *G. circinata* (EFSA 2010).



Slika 4. Karta ekoklimatske povoljnosti za smolasti rak bora za Europu (izvor: Ganley i dr. 2009)
Figure 4. Map of ecoclimatic suitability for pine pitch canker in Europa (source: Ganley et al. 2009)

Prema EPPO izvještajima (EPPO 2006, 2007, 2008, 2009) najveće štete zabilježene su u rasadnicima, na borovim plantažama i u šumama u Španjolskoj, Portugalu i Francuskoj, gdje su provedene mjere eradikacije uništavanjem biljaka spaljivanjem. Mjere za sprječavanje širenja patogene gljive *G. circinata* propisane su odlukom Europske komisije (2007/433/EC), a u Hrvatskoj Pravilnikom o mjerama za sprječavanje unošenja i širenja gljive *Gibberella circinata* Nirenberg & O'Donnell (NN 55/2009). U slučaju potvrde zaraze gljivom *G. circinata* uspostavlja se demarkirano područje (zaraženo i sigurnosno), zabranjuje se premještanje bilja iz demarkiranog područja i unutar njega, uništava se zaraženo bilje i prati se zdravstveno stanje. U nastojanju da se u slučaju pojave smolastog raka spriječi širenje bolesti i nastanak ekonomskih šteta u Hrvatskoj se velika pozornost posvećuje nadgledanju vrsta borova i duglazije u rasadnicima, kulturama i sastojinama.

ZAKLJUČCI

CONCLUSIONS

Zdravstvenim pregledima borova i duglazije u parkovima, vrtovima i na javnim površinama, u rasadnicima, šumskim kulturama i sastojinama nije evidentirana karantenska gljiva *G. circinata*, uzročnik smolastog raka bora.

Zbog njezine štetnosti i invazivnosti te prisutnosti u susjednim zemljama i mogućnosti unošenja u Hrvatsku potrebno je nastaviti s provođenjem redovitih zdravstvenih pregleda borova i duglazije.

ZAHVALE

ACKNOWLEDGMENTS

Zahvaljujemo Ministarstvu poljoprivrede, Upravi sigurnosti hrane i fitosanitarne politike na financiranju istraživanja kroz Program posebnog nadzora za *Gibberella circinata*.

Zahvaljujemo šumarskim i fitosanitarnim inspektorima na uspješnoj suradnji.

Zahvaljujemo voditeljima rasadnika, upraviteljima UŠP-a i šumarija na susretljivosti i suradnji pri odabiru i obilasku borovih sastojina i kultura.

Zahvaljujemo dr. sc. Rosi Raposo, INIA, Madrid, Španjolska, na donaciji izolirane DNA gljive *Gibberella circinata*.

LITERATURA

REFERENCES

- Braganca, H., Diogo, E., Moniz, F., Amaro, P. 2009. First Report of Pitch Canker on Pines Caused by *Fusarium circinatum* in Portugal. *Plant Dis.* 93(10): 1079-1079.
- Carlucci, A., Colatruglio, L., Frisullo, S. 2007. First report of pitch canker caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus halepensis* and *P. pinea* in Apulia (Southern Italy). *Plant Dis.* 91(12): 1683-1683.
- Landeras, E., García, P., Fernández, Y., Braña, M., Fernández-Alonso, O., Méndez-Lodos, S., Pérez-Sierra, A., León, M., Abad-Campos, P., Berbegal, M., Beltrán, R., García-Jiménez, J., Armengol, J. 2005. Outbreak of pitch canker caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus* spp. in Northern Spain. *Plant Dis.* 89(9): 1015-1015.
- EPP0 2005. *Gibberella circinata*. Data sheets on Quarantine pests. EPP0 Bulletin 35: 383–386.
- EPP0 2008. *Gibberella circinata* eradicated in France. EPP0 Reporting Service 2008/103.
URL: <http://archives.eppo.org/EPP0Reporting/2008/Rse-0805.pdf> (10.05.2012)
- EPP0 2009. Diagnostic *Gibberella circinata*. EPP0 Bulletin 39: 298–309.
- EPP0 2009. Situation of *Gibberella circinata* in France. EPP0 Reporting Service 2009/093.
- EPP0 2010. *Gibberella circinata* detected again in France. EPP0 Reporting Service 2010/034.
URL: <http://archives.eppo.int/EPP0Reporting/2010/Rse-1002.pdf>

- EFSA Panel on Plant Health (PLH) 2010. Risk assessment of *Gibberella circinata* for the EU territory and identification and evolution of risk management options. EFSA Journal 2010, 8(6):1620. 93 str.
- Ganley, R. J., Watt, M. S., Manning, L., Iturrutxa, E. 2009. A global climatic risk assessment of pitch canker disease. Can. J. For. Res. 39(11): 2246-2256.
- Gordon, T. R., Storer, A. J., Wood, D. L. 2001. The pitch canker epidemic in California. Plant Dis. 85(11): 1128-1139.
- Invasive species compendium. URL: <http://www.cabi.org/isc> (12.05.2012)
- McCain, A. H., Koehler, C. S., Tjosvold, S. A. 1987. Pitch canker threatens California pines. California agriculture 41: 22-23.
- MPRRR 2009, 2010, 2011. Program posebnog nadzora *Gibberella circinata* Nirenberg & O'Donnell – smolasti rak bora.
- MPRRR 2009, 2010, 2011. Izvješće o provedbi programa posebnog nadzora – *Gibberella circinata* Nirenberg & O'Donnell – Smolasti rak bora.
- MPRRR 2009. Pravilnik o mjerama za sprječavanje unošenja i širenja gljive *Gibberella circinata* Nirenberg & O'Donnell. Narodne novine 55/2009.
- Steenkamp, E. T., Wingfield, B. D., Coutinho, T. A., Wingfield, M. J., Marasas, W. F. O. 1999. Differentiation of *Fusarium subglutinans* f. sp. *pini* by histone gene sequence data. Appl. Environ. Microb. 65(8): 3401-3406.
- Storer, A. J., Gordon, T. R., Clark, S. L. 1998. Association of the pitch canker fungus, *Fusarium subglutinans* f. sp. *pini*, with Monterey pine seeds and seedlings in California. Plant Pathol. 47(5): 649-656.
- 2007/433/EC: Commission Decision of 18 June 2007 on provisional emergency measures to prevent the introduction into and the spread within the Community of *Gibberella circinata* Nirenberg & O'Donnell (document number C(2007) 2496).

PINE PITCH CANKER - POTENTIAL DANGER FOR PINES IN CROATIA

Summary

*The fungus *Gibberella circinata* is the casual agent of pitch canker disease on pines (*Pinus* spp.). The disease is present in the USA, Mexico, South Africa, Japan and Chile. In the Eu it is present in parts of Spain, Italy, Portugal and France. The fungus *G. circinata* is a quarantine and invasive organism and is potentially dangerous for pines in Croatia. Emergency regulations to prevent the introduction and spread of *G. circinata* have been implemented within the EU since the 2007 European Commission Decision (2007/433/EC). In 2009 Croatia adopted official measures through special supervision and annual surveys for the presence or continued absence of *G. circinata* on Pines species and *Pseudotsuga mensiessi* in its territory. Health condition surveys from 2009. to 2011. were conducted in 12 counties at 169 locations and 203 samples of diseased plant material were analyzed. All results of the analysis were negative for the presence of harmful fungal organism *G. circinata*.*

Key words: pitch canker, *Gibberella circinata*, *Pinus* spp., *Pseudotsuga mensiessi*, special supervision, health condition survey