

## **PHAEOACREMONIUM VRSTE U VINOVOJ LOZI SA SIMPTOMIMA ESKE I PETRIJEVE BOLESTI**

### *PHAEOACREMONIUM* SPECIES IN GRAPEVINES WITH ESCA AND PETRI DISEASE SYMPTOMS

**D. Ivić, Zdravka Sever, Petra Pilipović, Ana Marija Čajkulić,  
B. Cvjetković**

#### SAŽETAK

Gljive iz roda *Phaeoacremonium* ubrajaju se među uzročnike eske i eski sličnih bolesti vinove loze. Od 2009. do 2014., u šest vinograda (Kutjevo, Ilok, Nadin, Buje i Vukomeričke Gorice) sakupljeno je 16 uzoraka trsova sa simptomima Petrijeve bolesti (mladi vinograd u Nadinu) ili eske (ostali vinogradi). U 13 uzoraka nađene su vrste iz roda *Phaeoacremonium*, od toga u pet uzoraka u savršenom stadiju (periteciji), a u ostalih osam uzoraka u kondijskom stadiju. Analizom izolata na temelju morfologije i analizom sekvenci ITS1-5.8S-ITS2 ribosomske DNA utvrđeno je da izolati pripadaju vrstama *Phaeoacremonium mortoniae* (11 izolata), *P. aleophilum* (jedan izolat) i *P. rubrigenum* (jedan izolat). Za pet izolata koji su dobiveni iz peritecija nađenih na uzorcima vinove loze utvrđeno je da pripadaju vrstama *Togninia fraxinopennsylvanica* (*P. mortoniae*), *T. minima* (*P. aleophilum*) i *T. rubrigena* (*P. rubrigenum*). Rezultati predstavljaju prvi nalaz savršenih stadija *Phaeoacremonium* vrsta na vinovoj lozi u Hrvatskoj i upućuju na mogućnost da se spomenuti patogeni, uzročnici eske i eski sličnih bolesti, mogu razmnožavati konidijama i askosporama.

Ključne riječi: *Phaeoacremonium*, *Togninia*, eska, Petrijeva bolest

#### ABSTRACT

Fungi from the genus *Phaeoacremonium* are known to be among the causal agents of grapevine esca and esca-like diseases. From 2009 to 2014, 16 symptomatic samples of grapevine with esca or Petri disease symptoms were collected in Nadin (Petri disease symptoms), Kutjevo, Ilok, Buje and Vukomeričke Gorice (esca symptoms). *Phaeoacremonium* species were found in 13 samples. Perithecial stage (*Togninia*) was found in five samples, while only conidial stage was recorded in the other eight samples. Morphological

analysis and phylogenetic analysis of ITS1-5.8S-ITS2 ribosomal DNA sequences showed that 11 isolates can be identified as *Phaeoacremonium mortoniae*, one isolate as *P. aleophilum* and one isolate as *P. rubrigenum*. Five isolates derived from perithecia found on grapevine wood were confirmed as *Togninia fraxinopennsylvanica* (*P. mortoniae*), *T. minima* (*P. aleophilum*) and *T. rubrigena* (*P. rubrigenum*). This is the first record of *Phaeoacremonium* teleomorphs on grapevine in Croatia, which indicates that these causal agents of esca and esca-like diseases can reproduce both with conidia and ascospores.

Keywords: *Phaeoacremonium*, *Togninia*, esca, Petri disease

## UVOD

Eska je jedna od najranije opisanih bolesti vinove loze, no njena etiologija nije bila razjašnjena sve do početka 21. stoljeća (Surico i sur., 2006.; Mugnai i sur., 1999.). Iako se pojam „eska“ još uvijek često koristi za sve tipove bolesti drva vinove loze, sve se više prihvaća razdvajanje tog naziva na „pravu esku“, „mladenačku esku“ i Petrijevu bolest vinove loze (Surico i sur., 2006.). Uz sve te tipove bolesti još uvijek se vežu određene nepoznanice ili nesuglasice (Hofstetter i sur., 2012.; Surico, 2009.), no eska i eski slične bolesti raširene su u čitavom svijetu i uzrokuju velike ekonomske gubitke u svjetskom vinogradarstvu (Bertsch i sur., 2013.).

Iako je etiologija bolesti drva vinove loze kompleksna (Bertsch i sur., 2013.; Surico i sur., 2006.), glavnim uzročnicima „prave eske“ i Petrijeve bolesti smatraju se gljive *Phaeomoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf & L. Mugnai) Crous & W. Gams i vrste iz roda *Phaeoacremonium* (Bertsch i sur., 2013.; Surico i sur., 2006.). Gljive iz roda *Phaeoacremonium* izolirane su iz brojnih drvenastih biljaka domaćina, no najčešće se spominju upravo u kontekstu eske i eski sličnih bolesti vinove loze (Mostert i sur., 2006.). Veći broj do sada opisanih *Phaeoacremonium* vrsta pokazao se patogenim za vinovu lozu (Aroca i Raposo, 2009.; Surico i sur., 2006.; Sparapano i sur., 2001.). *Phaeoacremonium* vrste na vinovoj lozi uzrokuju tamnjenje drva i provodnog staničja, začepljenje ksilema, nekroze na listovima i pojavu tamnih točaka na bobicama (Bertsch i sur., 2013.; Aroca i Raposo, 2009.; Bruno i sur., 2006.; Gubler i sur., 2004.). Osim na vinovoj lozi, različite *Phaeoacremonium* vrste mogu biti patogene i na drugim drvenastim biljkama domaćinima (Carlucci i sur., 2015.; Mostert i sur., 2006.). Savršeni stadiji *Phaeoacremonium* vrsta, u slučajevima kada su nađeni, svrstani su u rod *Togninia* (Mostert i sur., 2006.).

Eska vinove loze raširena je u čitavoj Hrvatskoj (Ivić i sur., 2015.; Cyjetković, 2010.), u intenzitetu koji je vrlo različit od vinograda do vinograda (Ivić i sur., 2015.). Cilj rada bio je utvrditi i identificirati *Phaeoacremonium* vrste iz uzoraka vinove loze sa simptomima eske ili Petrijeve bolesti iz različitih područja Hrvatske.

## MATERIJALI I METODE

Uzorci drva vinove loze sakupljeni su od 2009. do 2014. godine u nekoliko vinograda gdje je manji ili veći broj čokota pokazivao tipične simptome eske ili Petrijeve bolesti. Uzorci su sakupljeni u vinogradu u okolici Iloka (simptomi eske), u dva vinograda u okolici Kutjeva (simptomi eske), u vinogradu u okolici Buja (simptomi eske), u vinogradu u Vukomeričkim Goricama (simptomi eske) te u mladom dvogodišnjem vinogradu u okolici Benkovca (simptomi Petrijeve bolesti). Sorte s kojih su uzeti uzroci bile su Chardonnay (Ilok), Graševina (Kutjevo i Vukomeričke Gorice), Rajnski rizling (Kutjevo), Teran (Buje) i Debit (Benkovac).

Odabrani simptomatični trsovi prerezani su pilom pri vrhu debla kako bi se vidjeli unutarnji simptomi u drvu. Nakon toga, sa svakog trsa uzet je dio glavnog debla dužine 20-tak cm i dopremljen u laboratorij. Ukupno je sakupljeno 16 uzoraka, od toga osam u Kutjevu, po tri u Iloku i u Nadinu te po jedan iz Buja i Vukomeričkih Gorica (Tablica 1.). Dijelovi debla prerezani su na dva dijela. Jedan dio je ispran pod mlazom tekuće vode, površinski steriliziran jednu minutu u 70 %-tnom etanolu, kratko ispran sterilnom vodom, osušen i ostavljen u vlažnoj komori na sobnoj temperaturi. Drugom dijelu oguljena je kora te je uzdužno i poprečno razrezan na manje dijelove. Razrezani dijelovi su površinski sterilizirani u 1 %-tnoj otopini natrijevog hipoklorita, isprani u sterilnoj vodi, osušeni i stavljeni na inkubaciju u vlažnu komoru na temperaturi od 22 °C. Nakon inkubacije od 7-15 dana, na svim dijelovima drva analiziran je razvoj gljiva pod stereomikroskopom. Analizirana je prisutnost plodnih tijela i micelija. Po potrebi, razvijeni micelij ili plodna tijela pregledani su mikroskopski kako bi se utvrdila eventualna prisutnost gljiva iz roda *Phaeoacremonium*. U slučajevima kada je micelij *Phaeoacremonium* vrsta nađen, sterilnom iglom je inokuliran na krumpir-dekstrozni agar (KDA). U slučajevima kada su nađeni periteciji koji bi prema morfologiji mogli pripadati rodu *Togninia*, sterilnom su iglom pojedinačno preneseni na KDA.

**Tablica 1. Broj i porijeklo uzoraka vinove loze sa simptomima eske ili Petrijeve bolesti u kojima su utvrđene gljive iz roda *Phaeoacremonium* u savršenom ili nesavršenom stadiju.**

**Table 1 Number and origin of samples of grapevine with esca of Petri disease symptoms in which *Phaeoacremonium* species were found in perfect or in imperfect state.**

Porijeklo uzorka Sample origin	Broj uzoraka No. of samples	Broj uzoraka s nadenim <i>Phaeoacremonium</i> vrstama No. of samples with <i>Phaeoacremonium</i> species found	Broj uzoraka s nadenim teleomorfom ( <i>Togninia</i> ) No. of samples with teleomorph ( <i>Togninia</i> ) found	Broj uzoraka s nadenim anamorfom No. of samples with anamorph found
Kutjevo	8	6	4	2
Ilok	3	2	-	2
Nadin	3	3	-	3
Buje	1	1	-	1
Vukomeričke Gorice	1	1	1	-

Nakon inkubacije od 14-30 dana, kulture na KDA su analizirane makroskopski i mikroskopski. Promatrani su izgled, rast i boja kolonije, hife, konidiofori, fjalide i konidije. Izolati koji su prema morfologiji odgovarali opisu roda *Phaeoacremonium* (Mostert i sur., 2006.) precijepljeni su s ruba kolonije u čistu kulturu i molekularno analizirani. Ukupno je analizirano 13 izolata.

Izolati su uzgajani 10 dana na KDA s celofanom, nakon čega je micelij sastrugan i usitnjen u tekućem dušiku. Ukupna DNA iz micelija ekstrahirana je kompletom DNEasy Plant Mini Kit® (Quiagen Inc., SAD) prema uputama proizvođača. Količina i kakvoća ekstrahirane DNA provjerena je na spektrofotometru. Ekstrakti DNA korišteni su u PCR reakciji s parom početnica ITS1/ITS4 (White i sur., 1990), u reakcijskoj smjesi i prema parametrima umnožavanja kako opisuju Mostert i sur. (2006). Produkti reakcije pročišćeni su korištenjem kompleta GenElute PCR Clean-Up Kit® (Sigma, SAD) i sekvencirani. Sekvence su uređene u programu Sequencher® (Gene Codes Corporation, SAD) i korištene u UPGMA filogenetskoj analizi s referentnim sekvencama iz GenBank® baze podataka. Sekvence *Phaeoacremonium mortoniae* CBS 101585 (AF295328.1), *P. aleophilum* CBS 246.91 (AY199934.1) i *P. rubrigenum* CBS 566.97 (AF197979) korištene su kao referentne sekvence. Filogenetske analize provedene su u programu MEGA 5.05 (Tamura i sur., 2011.).

## REZULTATI

Na presjeku svih 13 čokota sa simptomima eske bili su vidljivi tipični znakovi te bolesti unutar drva. Svi čokoti bili su iznutra više ili manje zahvaćeni s truleži drva. Na presjeku tri čokota sa simptomima Petrijeve bolesti bili su vidljivi potamnjeni provodni snopovi, no bez truleži drva. Od ukupno 16 uzoraka, gljive iz roda *Phaeoacremonium* izolirane su iz njih 13 (Tablica 1.). U tri uzorka (jedan iz Iloka i dva iz Kutjeva) gljive iz roda *Phaeoacremonium* nisu nađene.

Kulture sakupljenih izolata na KDA bile su bjeličaste, žuto-smeđe ili sive boje. Konidiofori su se stvarali na zračnom miceliju, bili su razgranati ili nerazgranati, s vršnim konidiogenim stanicama (fijalidama) na kojima su nastajale konidije u okruglim nakupinama. Konidije su se stvarale kod svih 16 izolata i bile su jednostanične, bezbojne i ovalno-izdužene ili bubrežaste. Morfologija svih izolata odgovarala je opisu roda *Phaeoacremonium* (Mostert i sur., 2006.). Izolati su na temelju morfologije determinirani kao *P. mortoniae*, *P. aleophilum* i *P. rubrigenum*.

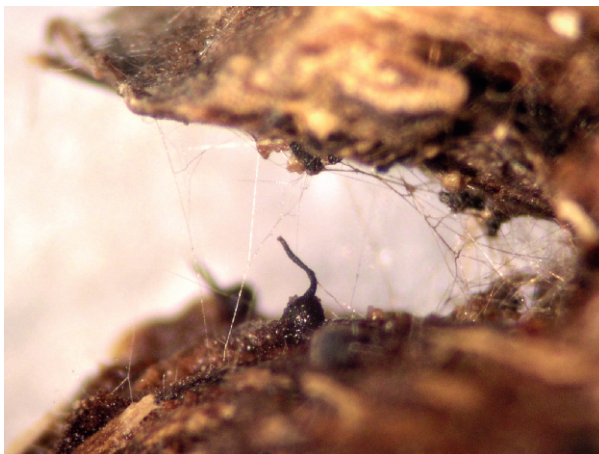
Periteciji nađeni na uzorcima iz Kutjeva i Vukomeričkih Gorica i inokulirani na KDA (izolati PDV1, DV1, PERI, DV3 i PER IT) dali su kolonije bjeličaste do žuto-smeđe, sa svim prethodno opisanim morfološkim obilježjima karakterističnima za rod *Phaeoacremonium*.

UPGMA filogenetsko stablo na osnovi sekvenci ITS1-5.8S-ITS2 ribosomske DNA referentnih izolata i izolata iz istraživanja pokazalo je jasno odvajanje tri grupe i grupiranje izolata s referentnim izolatima *P. mortoniae*, *P. aleophilum* i *P. rubrigenum* (Slika 2.). Filogenetska analiza potvrdila je identifikaciju izolata. Izolati PCNSA, PCN1, PDV1, PCNL, DV1, PERI, PCH5, PCH L, PCH1, PCH6 i PAL6 identificirani su kao *P. mortoniae* (*Togninia fraxinopennsylvanica*), izolat DV3 kao *P. aleophilum* (*Togninia minima*), a izolat PER IT kao *P. rubrigenum* (*Togninia rubrigena*).

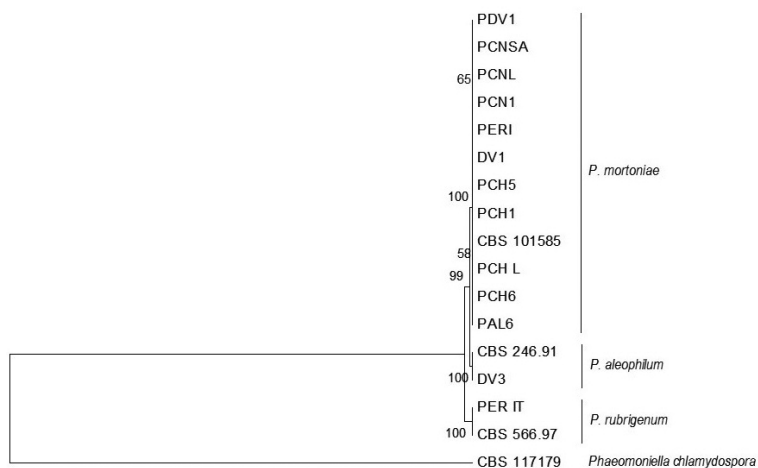
Morfološka i molekularna identifikacija izolata potvrdila je da periteciji nađeni na uzorcima vinove loze iz Kutjeva i iz Vukomeričkih Gorica pripadaju vrstama *T. fraxinopennsylvanica* (*P. mortoniae*), *T. minima* (*P. aleophilum*) i *T. rubrigena* (*P. rubrigenum*). Na uzorcima iz Kutjeva utvrđeni su periteciji *T. fraxinopennsylvanica* (izolati PDV1, DV1 i PERI) i periteciji *T. minima* (izolat DV3), dok su u uzorku iz Vukomeričkih Gorica utvrđeni periteciji *T. rubrigena* (izolat PER IT).

D. Ivić i sur.: *Phaeoacremonium* vrste u vinovoj lozi  
sa simptomima eske i Petrijeve bolesti

---



Slika 1. Peritecij *Togninia fraxinopennsylvanica* unutar drva vinove loze.  
Picture 1 *Togninia fraxinopennsylvanica* perithecium in grapevine wood.



Slika 2. UPGMA filogenetsko stablo na temelju sekvenci ITS1-5.8S-ITS2 ribosomske DNA referentnih *Phaeoacremonium* izolata iz GenBank® baze podataka i izolata s vinove loze iz istraživanja. Vrijednosti na ograncima temelje se na 500 ponavljanja.

Picture 2 UPGMA phylogenetic tree derived from sequences of ITS1-5.8S-ITS2 ribosomal DNA of reference *Phaeoacremonium* isolates deposited in GenBank© and isolates from grapevine analysed in the study. Bootstrap interior-branch values are based on 500 replicates.

## RASPRAVA

Unutar roda *Phaeoacremonium* trenutno je opisano gotovo 50 vrsta (Gramaje i sur., 2015.), među kojima je veći broj nađen na vinovoj lozi i smatra se uzročnikom eske i eski sličnih bolesti (Gramaje i sur., 2015.; Mostert i sur., 2006.; Surico i sur., 2006.). U ovom istraživanju determinirane su vrste *P. mertoniae*, *P. aleophilum* i *P. rubrigenum*, među kojima je dominantna bila *P. mertoniae* (*T. fraxinopennsylvanica*). Iste tri *Phaeoacremonium* vrste utvrdili su Essakhi i sur. (2008.) u simptomatičnim uzorcima vinove loze iz Hrvatske.

*P. aleophilum* navodi se kao najčešća *Phaeoacremonium* vrsta na vinovoj lozi u svijetu (Mostert i sur., 2006.; Mugnai i sur., 1999.) i uz vrstu *P. chlamydospora* smatra se jednim od glavnih uzročnika Petrijeve bolesti i svih tipova eske (Gramaje i sur., 2015.; Bertsch i sur., 2013.). Vrste *P. mertoniae* i *P. rubrigenum* zabilježene su na vinovoj lozi i navode se među uročnicima eske i eski sličnih bolesti, no rjeđe nego vrsta *P. aleophilum* (Essakhi i sur., 2008.; Mostert i sur., 2006.; Eskalen i sur., 2005.).

Periteciji *T. minima*, teleomorfa vrste *P. aleophilum*, nađeni su u pukotinama na kori i na ranama od rezidbe u vinogradima u Kaliforniji (Rooney-Latham i sur., 2005.). Slično su utvrdili Eskalen i sur. (2005.) za vrstu *T. fraxinopennsylvanica*, teleomorfa vrste *P. mertoniae*. Na temelju svojih opažanja, Rooney-Latham i sur. (2005.) iznose pretpostavku da se *P. aleophilum* (*T. minima*) unutar vinograda širi isključivo askosporama. Eskalen i sur. (2005.) takvu su pretpostavku potvrdili za vrstu *P. mertoniae* (*T. fraxinopennsylvanica*), čije su askospore uhvatili u vinogradu nakon kiša tijekom vegetacijske sezone. Slično kao u spomenutim istraživanjima iz Kalifornije, u ovom istraživanju je također utvrđena prisutnost peritecija *T. minima* i *T. fraxinopennsylvanica* na površini i unutar drva vinove loze sa simptomima eske. Nalaz peritecija te dvije vrste upućuje da se ta dva uzročnika eske i eski sličnih bolesti u Hrvatskoj također razmnožavaju spolno i vjerojatno šire askosporama. Razdoblje oslobađanja njihovih askospora nije poznato, no moguće je pretpostaviti da se oslobađaju nakon kiša i šire na veće udaljenosti unutar i izvan vinograda. Nalaz nesavršenog stadija (*Phaeoacremonium*) i savršenog stadija (*Togninia*) na simptomatičnim biljkama u ovom istraživanju pokazuje da se na zaraženom čokotu vinove loze mogu stvarati dva tipa inkula kojima se zaraza može širiti – konidije i askospore.

Osim na vinovoj lozi, vrste *P. mertoniae*, *P. aleophilum* i *P. rubrigenum* nađene su širom svijeta u brojnim drugim kultiviranim ili samoniklim

drvenastim biljkama domaćinima (Sami i sur., 2014.; Mostert i sur., 2006.; Damm i sur., 2008.; Eskalen i sur., 2005.). Te vrste pokazale su se patogenima, primjerice, na jabuci, krušci i dunji (Sami i sur., 2014.), maslini (Carlucci i sur., 2015.), šljivi ili marelici (Damm i sur., 2008.), dok je njihova patogenost na drugim domaćinima uglavnom još neistražena. Pretpostavlja se da brojne drvenaste biljke na kojima su zabilježene *Phaeoacremonium* vrste također mogu biti izvor inokula za zarazu vinove loze.

Istraživanje je pokazalo da su *Phaeoacremonium* vrste povezane s eskom i Petrijevom bolesti vinove loze u Hrvatskoj slične kao u drugim zemljama svijeta (Bertsch i sur., 2013.; Surico, 2009.; Mostert i sur., 2006.). Uz tri vrste utvrđene u ovom istraživanju (*P. mortioniae*, *P. aleophilum* i *P. rubrigenum*), među potencijalnim uzročnicima eske i Petrijeve bolesti u Hrvatskoj su prije utvrđene i gljive *Phaeomoniella chlamydospora* (Cvjetković i Ivić, 2004.), *Phaeoacremonium croatiense* (Essakhi i sur., 2008.) te *Fomitiporia mediterranea* (Ivić i sur., 2015.). Nalaz peritecija *T. fraxinopennsylvanica*, *T. minima* i *T. rubrigena* na čokotima sa simptomima eske pokazuje da se te gljive na zaraženim biljkama mogu razmnožavati spolno i širiti askosporama.

## LITERATURA

1. Aroca, A., Raposo, R. (2009.): Pathogenicity of *Phaeoacremonium* species on grapevines. *Journal of Phytopathology* 157: 413-419.
2. Bertsch, C., Ramírez-Suero, M., Magnin-Robert, M., Larignon, P., Chong, J., Abou-Mansour, E., Spagnolo, A., Clément, C., Fontaine, F. (2013.): Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathology* 62: 243-265.
3. Bruno, G., Sparapano, L., Graniti, A. (2007.): Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: IV. Diffusion through the xylem of metabolites produced by two tracheiphilous fungi in the woody tissue of grapevine leads to esca-like symptoms on leaves and berries. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 71: 106-124.
4. Carlucci, A., Lops, F., Cibelli, F., Raimondo, M.L. (2015.): *Phaeoacremonium* species associated with olive wilt and decline in southern Italy. *European Journal of Plant Pathology* 141: 717-729.
5. Cvjetković, B., Ivić, D. (2004.): Esca – apoplektično venuće starih i mladih čokota vinove loze. *Glasilo biljne zaštite* 6: 343-349.
6. Cvjetković, B. (2010.): Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze. Zrinski, Čakovec.



7. Damm, U., Mostert, L., Crous, P.W., Fourie, P.H. (2008.): Novel *Phaeoacremonium* species associated with necrotic wood of *Prunus* trees. *Persoonia* 20: 87-102.
8. Essakhi, S., Mugnai, L., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Surico, G. (2008.): Molecular and phenotypic characterisation of novel *Phaeoacremonium* species isolated from esca diseased grapevines. *Persoonia* 21: 119-134.
9. Eskalen, A., Rooney-Latham, S., Gubler, W.D. (2005.): Occurrence of *Togninia fraxinopennsylvanica* on esca-diseased grapevines (*Vitis vinifera*) and declining ash trees (*Fraxinus latifolia*) in California. *Plant Disease* 89: 528.
10. Gramaje, D., Alaniz, S., Pérez-Sierra, A., Abad-Campos, P., García-Jiménez, J., Armengol, J. (2008.): First report of *Phaeoacremonium scolyti* causing Petri disease in Spain. *Plant Disease* 92: 836.
11. Gramaje, D., Mostert, L., Groenewald, J.Z., Crous, P.W. (2015.): *Phaeoacremonium*: From esca disease to phaeohyphomycosis. *Fungal Biology* 119: 759-783.
12. Gubler, W.D., Thind, T.S., Feliciano, A.J., Eskalen, A. (2004.): Pathogenicity of *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora* on grape berries in California. *Phytopathologia Mediterranea* 43: 70-74.
13. Hofstetter, V., Buyck, B., Croll, D., Viret, O., Couloux, A., Gindro, K. (2012.): What if esca of grapevine were not a fungal disease? *Fungal Diversity* 54: 51-67.
14. Ivić, D., Sever, Z., Miličević, T. (2015.): An overview of grapevine esca in Croatia. IOBC-WPRS Conference of the Working group on "Integrated protection and production in viticulture", 20.-23. listopada 2015., Beč, Austrija.
15. Mostert, L., Groenewald, J.Z., Summerbell, R.C., Gams, W., Crous, P.W. (2006.): Taxonomy and pathology of *Togninia* (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Studies in Mycology* 54: 1-113.
16. Mugnai, L., Graniti, A., Surico, G. (1999.): Esca (black measels) and brown wood-streaking: Two old and elusive diseases of grapevine. *Plant Disease* 83: 404-418.
17. Rooney-Latham, S., Eskalen, S., Gubler, W.D. (2005.): Occurrence of *Togninia minima* perithecia in esca-affected vineyards in California. *Plant Disease* 89: 867-871.
18. Sami, S., Mohammadi, H., Heydarnejad, J. (2014.): *Phaeoacremonium* species associated with necrotic wood of pome fruits in Iran. *Journal of Plant Pathology* 96: 487-495.
19. Sparapano, L., Bruno, G., Graniti, A. (2001.): Three-year observation of grapevines cross-inoculated with esca-associated fungi. *Phytopathologia Mediterranea* 40: S376-S386.

20. Surico, G., Mugnai, L., Marchi, G. (2006.): Older and more recent observations on esca: a critical overview. *Phytopathologia Mediterranea* 45: S68-S86.
21. Surico, G. (2009.): Towards a redefinition of the diseases within the esca complex of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea* 48: 5-10.
22. Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011.): MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
23. White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.W. (1990.): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. U: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (ur.) *PCR protocols: A guide to methods and applications*. New York, Academic Press Inc., pp. 315-322.

**Adrese autora – Author's addresses:**

dr. sc. Dario Ivić  
e- mail: dario.ivic@hcphs.hr,  
dr. sc. Zdravka Sever,  
Petra Pilipović, mag. ing. agr.,  
Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Zavod za zaštitu bilja  
Gorice 68b, 10000 Zagreb

**Primljeno – Received:**

03.02.2017.

Ana Marija Čajkulić, dipl. ing.  
Savjetodavna služba  
Ivana Gorana Kovačića 13  
33000 Virovitica

prof. dr. sc. Bogdan Cvjetković  
Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet,  
Zavod za poljoprivrednu zoologiju  
Svetošimunska cesta 25  
10000 Zagreb