

## Pregled simptoma, epidemiologije i mjera za sprječavanje širenja zlatne žutice vinove loze u nezaražena područja

### Sažetak

Zbog potencijalno visokih šteta koje može uzrokovati, zlatna žutica se smatra jednom od najštetnijih bolesti vinove loze u Europi, gdje je indeksirana na A2 EPPO listi karantenskih organizama (Direktiva 2000/29/EC). Vektor koji epidemijski prenosi zlatnu žuticu s trsa na trs je američki cvrčak. Primarne štete uzrokovane zlatnom žuticom su znatno smanjenje prinosa i propadanje zaraženih trsova, a ukoliko se ne provode potrebne mjere suzbijanja, bolest se može epidemijski širiti te u roku od svega nekoliko godina vinograd može postati u potpunosti zaražen i neproduktivan. U slučaju sumnje na zarazu, potrebno je provjeriti javljaju li se na trsu najmanje tri različita simptoma koja su tipična za zlatnu žuticu, a to su promjena boje lista, izostanak odrvenjavanja mladica i sušenje bobica ili nekroza grozdova. Navedeni simptomi međutim nisu pouzdani pokazatelji zaraze zlatnom žuticom te se sa sigurnošću ova bolest može potvrditi jedino laboratorijskom analizom. U regijama u kojima zlatna žutica još nije utvrđena, iznimno je važno provoditi temeljito praćenje vinogradarskog područja kako bi se spriječio unos i eventualna pojava epidemijskog širenja zlatne žutice. Neke od ključnih mjera koje treba primijeniti u vinogradarskim regijama prije unosa zlatne žutice uključuju praćenje distribucije i visine populacije američkog cvrčka, uz izostanak primjene mjera suzbijanja vektora ukoliko je njegova populacija niska ili nepoznata. U područjima gdje je vektor zastupljen u visokim populacijama preporuča se primijeniti mjere njegova suzbijanja uz temeljito praćenje svih vinograda (proizvodnih i zapuštenih) kako bi se pravovremeno utvrdila eventualna pojava simptoma zlatne žutice vinove loze. U ovom je radu dan pregled simptoma zlatne žutice, primarnog vektora američkog cvrčka, biljaka domaćina te njihovog međusobnog odnosa, kao i pregled mjera za prevenciju širenja zlatne žutice u nova nezaražena područja.

**Ključne riječi:** *Ca. Phytoplasma vitis*, zlatna žutica vinove loze, američki cvrčak, praćenje, suzbijanje.

### Uvod

Zlatna žutica (franc. *flavescence dorée*) je vrlo značajna bolest vinove loze, koja pripada skupini žutica vinove loze (eng. *grapevine yellows*), a čiji je uzročnik fitoplazma *Ca. Phytoplasma vitis*. Po prvi put je utvrđena 1950-tih godina u Francuskoj, a nakon toga su i druge fitoplazmatске bolesti vinove loze zabilježene u ostalim državama Europe, poput sveprisutnog crnog drva (franc. *bois noir*) ili manje poznatih žutica astre (eng. *aster yellows*).

Na području Europe zlatna žutica je indeksirana na A2 EPPO listi karantenskih organizama (Direktiva 2000/29/EC) te se smatra jednom od najštetnijih bolesti europskog vinogradarstva, koja uzrokuje značajne ekonomske gubitke u mnogim europskim državama (EPPO, 2017). Primarni vektor koji epidemijski prenosi zlatnu žuticu s trsa na trs je američki cvrčak (*Scaphoideus titanus* Ball.), čiji je životni ciklus primarno vezan za vinovu lozu.

Glavne štete uzrokovane zlatnom žuticom su znatno smanjenje prinosa i propadanje zaraženih trsova. Ukoliko se ne provode potrebne mjere suzbijanja, bolest se može epidemijski širiti te u roku od svega nekoliko godina vinograd može postati u potpunosti zaražen. Unatoč tome što su mjere suzbijanja u svim europskim državama u kojima se uzgaja vinova loza propisane nacionalnim i regionalnim naredbama, zlatna žutica se i dalje širi u nova područja i zahtijeva stalno praćenje kako bi se utvrdila i spriječila nova područja zaraze.

<sup>1</sup> Kristina Grozić, mag. ing. agr., dr. sc. Marijan Bubola, dt. sc. Danijela Poljuha  
Institut za poljoprivredu i turizam, Karla Huguesa 8, 52440 Poreč, Hrvatska (kristina.grozic@gmail.com)

### Simptomi i značaj zlatne žutice

Trsovi zaraženi zlatnom žuticom razvijaju simptome koji se ne razlikuju od simptoma ostalih fitoplazmoza vinove loze (skupina žutica koja pored zlatne žutice uključuje i bolesti crno drvo i žutice astre). Simptomi zlatne žutice razvijaju se uglavnom godinu dana nakon nastanka infekcije (Caudwell, 1990; Hogenhout i sur., 2008), što može biti pod utjecajem različitih čimbenika poput osjetljivosti sorte (Chuche, 2010), varijabilne patogenosti fitoplazme (Angelini i sur., 2006), koncentracije fitoplazme u trsu (Roggia i sur., 2014), populacije vektora (Morone i sur., 2007) i abiotskih čimbenika (vodni stres) (Caudwell, 1964). Ponekad se prvi simptomi mogu uočiti već početkom kretanja vegetacijskog ciklusa na proljeće. Tada jedan od simptoma može biti kašnjenje ili izostanak otvaranja pupova (Caudwell, 1964), ali se takva opažanja svakako trebaju nadopuniti naknadnim pregledom trsova i utvrđivanjem tipičnih simptoma za zlatnu žuticu tijekom ljetnih mjeseci.

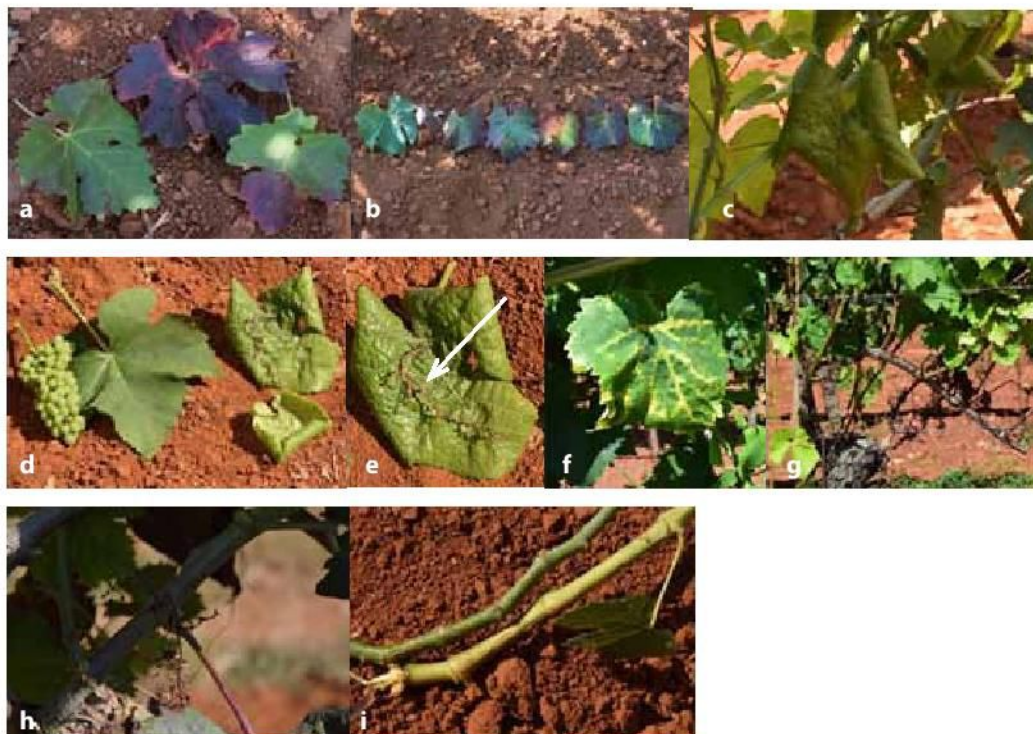
Tijekom proljetnih mjeseci razvijaju se simptomi poput kržljivog i reduciranog porasta mladica, njihovog nepravilnog (cik-cak) rasta i sušenja vrhova, reduciranog porasta i klorotičnosti plojke lista, blagog uvijanja lista prema naličju (kod pojedinih sorata) te promjene boje unutarnje strane kore iz zelene u smeđu (Grozić i sur., 2017).

Tipični simptomi zlatne žutice ipak su jasnije vidljivi tijekom ljeta, između srpnja i rujna. Na zaraženim trsovima tijekom ljeta simptomi se mogu uočiti već nakon fenofaze cvatnje, iako se pojedini simptomi razvijaju nakon fenofaze šare, kada i oni ranije razvijeni simptomi postaju jasnije vidljivi (Grozić i sur., 2017). Jedan od jasno vidljivih simptoma tijekom ljeta je promjena boje plojke lista (crvenilo na crnim sortama, žućenje na bijelim sortama) i djelomičan ili potpuni izostanak uroda (nekroza cvata ili bobica), dok je na pojedinim sortama moguće uočiti i uvijanje plojke lista prema naličju (skupina Pinota, Chardonnay, Traminac, skupina Muškata, itd.) te preuranjeno otpadanje listova (Slika 1).

Nakon fenofaze šare mogu se uočiti simptomi poput izostanka odrvenjavanja mladica, uslijed čega mladice postaju elastične (nedovoljno čvrste) i javlja se njihov nepravilan (uvijen) porast. Također, zabilježeno je da zeljaste mladice na zaraženim trsovima poprimaju netipično zeleno obojenje, na temelju kojeg se one mogu razlikovati od zeljastih mladica nezaraženih trsova (Slika 1), čija je pojava često povezana uz preopterećenost ili pretjeranu bujnost trsa. Uslijed jačeg nakupljanja šećera u listu, zabilježeno je zadebljanje plojke, zbog čega listovi postaju kruti i lome se ukoliko se saviju u ruci (Grozić i sur., 2017). Fitoplazma umanjuje i fotosintetsku aktivnost trsova i prijenos hraniva putem provodnog staničja floema, što smanjuje kvalitetu grožđa ili dovodi do sušenja grozdova, uslijed čega se prinos može smanjiti i do 100 % (Credi, 1989; Endeshaw i sur., 2012; Vitali i sur., 2013).

Opisani simptomi mogu biti više ili manje uočljivi, što može ovisiti o osjetljivosti sorte, stupnju zaraze fitoplazmom, klimatskim uvjetima i slično. Za razliku od sorata europske loze, podloge (američka loza) obično ne razvijaju simptome uslijed zaraze, što znači da one mogu biti asimptomatičan izvor fitoplazme.

Simptomi zlatne žutice se zbog sličnosti mogu ponekad greškom zamijeniti s nekim drugim simptomima, poput simptoma nedostataka hraniva te simptoma raznih biotskih ili abiotskih čimbenika. U slučaju sumnje, potrebno je provjeriti javljaju li se na trsu najmanje tri različita simptoma koja su tipična za zlatnu žuticu, a to su promjena boje lista, izostanak odrvenjavanja mladica te sušenje grozdova. Potom se zlatna žutica sa sigurnošću može potvrditi jedino laboratorijskom analizom. Budući da se simptomi zlatne žutice ne mogu razlikovati od simptoma ostalih fitoplazmoza vinove loze, analizom DNA biljnog tkiva pomoću lančane reakcije polimerazom (eng. *Polymerase Chain Reaction*; PCR) može se potvrditi da li je uzročnik razvijenih simptoma fitoplazma *Ca. Phytoplasma vitis* (Budinić i sur., 2014).



**Slika 1.** Simptomi zlatne žutice na vinovoj lozi: a) simptomi na listu sorte Cabernet Sauvignon, b) simptomi na listu sorte Teran, gdje je prvi list (lijevo) s nezaraženog trsa, c) uvijanje lista sorte Pinot bijeli, d) usporedba lista i grozda između nezaraženog (lijevo) i zaraženog (desno) trsa sorte Pinot bijeli, e) uvećan prikaz lista i grozda (označen strelicom) sa zaraženog trsa sorte Pinot bijeli, f) kloroza žila lista Malvazije istarske, g) kloroza listova, nedostatak odrvenjavanja i nekroza grozdova Malvazije istarske, h) nekroza grozda sorte Teran u fenofazi zametanja bobica, i) netipična obojenost neodrvenjelih mladica (gornja mladica) na zaraženom trsu Pinota bijelog. (snimila: K. Grozić)

**Figure 1.** Typical symptoms of flavescence dorée on grapevine: a) leaf symptoms on Cabernet Sauvignon, b) leaf symptoms on Teran, first leaf (left) is from an uninfected grapevine, c) leaf-roll in Pinot blanc, d) comparison of leaf and grape appearance between an uninfected (left) and infected (right) vine of Pinot blanc, e) enlarged detail of a leaf and grape (arrow) from an infected vine of Pinot blanc, f) leaf vein chlorosis on Istrian Malvasia, g) leaf chlorosis, lack of lignification and bunch necrosis on Istrian Malvasia, h) bunch necrosis during berry setting on Teran, i) atypical coloration of unligified canes on infected (upper cane) Pinot blanc. (author: K. Grozić)

Kod zaraženih trsova koji imaju razvijene grozdove, kvaliteta je obično niska zbog nepravilnog dozrijevanja uslijed zaraze fitoplazmom. Usprkos tome, u usporedbi sa smanjenjem prinosa, smanjenje kvalitete grožđa ima zanemariv značaj u pogledu ekonomskih gubitaka koje uzrokuje zlatna žutica.

U rasadničarskoj proizvodnji zlatna žutica predstavlja iznimno velik problem, budući da se sadnjom zaraženih cijepova bolest može širiti na nova područja. U slučaju determinacije zlatne žutice u matičnim trsovima ili loznim cijepovima, rasadnik može izgubiti pravo na dodjelu

biljne putovnice za tu tranšu proizvodnje, nakon čega je na području zaraze potrebno provesti radikalne mjere uklanjanja potencijalno zaraženih biljaka. U zaraženim područjima rasadničari trebaju temeljito provoditi mjere suzbijanja i sprječavanja širenja zlatne žutice, kao što su praćenje razvoja simptoma matičnih trsova i suzbijanje populacije američkog cvrčka. Detaljan opis mjera koje su po tom pitanju propisane u Republici Hrvatskoj nalazi se u Naredbi o poduzimanju mjera za sprječavanje širenja i suzbijanje zlatne žutice vinove loze (Narodne Novine 46/2017, u nastavku: Naredba) i Akcijskom planu za suzbijanje i sprječavanje širenja zlatne žutice vinove loze – Flavescence dorée za 2017. godinu (Ministarstvo poljoprivrede, 2017).

### **Zlatna žutica: odnos fitoplazme, vektora i biljaka domaćina**

U epidemiologiji zlatne žutice zastupljena su tri čimbenika: uzročnik fitoplazma *Ca. Phytoplasma vitis*, vektori koji povremeno ili epidemijski prenose fitoplazmu te primarne ili sekundarne biljke domaćini.

#### *Fitoplazma*

Fitoplazme taksonomski pripadaju domeni bakterija, ali za razliku od većine bakterija fitoplazme nemaju razvijenu staničnu stijenku, zbog čega su promjenjivog oblika. Fitoplazma zlatne žutice obitava u sitastima stanicama floema (provodnog staničja) trsa i može se prenositi s trsa na trs isključivo kukcima (u kojima se može razmnožavati) kao vektorima bolesti ili cijepljenjem uz korištenje zaraženog biljnog materijala. Uočena je genetska raznolikost unutar fitoplazmi uzročnika zlatne žutice te je nekoliko različitih sojeva rasprostranjeno diljem Europe. Do sada su u Europi utvrđene tri genetski različite skupine zlatne žutice (Malembic-Maher, 2009; Plavec i sur., 2015); FD1, koja je lokalizirana uglavnom na jugozapadu Francuske i gotovo je nema u ostalim regijama, FD2, koja je najraširenija skupina zlatne žutice u Europi i FD3, koja je prisutna uglavnom u Italiji. Na području Hrvatske utvrđene su sve tri genetski različite skupine zlatne žutice, što ukazuje na njezin višestruki unos i različit put širenja na području Hrvatske (Plavec i sur., 2013; Plavec i sur., 2016).

Sekundarne biljke domaćini mogu poslužiti kao izvor fitoplazme u prirodi, a to su obična pavitina (*Clematis vitalba* L.), crna joha (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) i razne vrste roda *Vitis* (Malembic i sur., 2007; Filippin i sur., 2009). Najzastupljenija hipoteza jest da je fitoplazma koja uzrokuje zlatnu žuticu nativna europska vrsta, od ranije prisutna u ostalim biljkama domaćinima, a introdukcijom američkog cvrčka postala je značajna bolest na vinovoj lozi (Arnaud i sur., 2007; Papura i sur., 2009).

#### *Vektori*

Američki cvrčak (*Scaphoideus titanus* Ball.) je filofagna vrsta koja se primarno hrani na listovima vinove loze. Uglavnom se hrani u provodnom staničju floema, međutim, može se hraniti i u ksilemu. Ličinke se hrane na sekundarnim i tercijarnim žilama plojke lista, dok se imago hrani na primarnim žilama plojke ili na lisnoj peteljci (Chuche i Thiery, 2014).

Američki cvrčak, kao glavni vektor širenja zlatne žutice, je univoltna vrsta koja prezimljava u stadiju jaja. Ženka odlaže jaja krajem ljeta ispod kore dvogodišnjeg drva, u obliku kojih ova vrsta prezimljava, a u proljeće iz jaja izlaze ličinke. Trajanje perioda tijekom kojeg ličinke izlaze iz jaja vezan je za ekološke uvjete u periodu mirovanja, a suprotno dosadašnjem mišljenju niske temperature nisu potrebne za prekid dijapauze (Chuche i Thiery, 2012).

Trajanje perioda tijekom kojeg ličinke izlaze iz jaja varira od regije do regije i dugačak period izlaska iz jaja tipičan je za regije koje karakteriziraju blage zime. Temperature značajno utječu na početak i trajanje perioda izlaska iz jaja, kao i na spol američkog cvrčka (Chuche i Thiery, 2014). Nakon izlaska iz jaja, ličinke prolaze ukupno pet razvojnih stadija, između svakog razvoj-

nog stadija se presvlače, a ukupno trajanje postembrionalnog razvoja iznosi od pet do osam tjedana, nakon čega slijedi pojava spolno zrelog oblika (imaga). Ličinke se obično zadržavaju na trsu na kojem je ženka položila jaja, ali uobičajeno je i kretanje skakanjem na obližnje trsove (Maixner i sur., 1993). Ličinke prva dva razvojna stadija hrane se uglavnom na listovima mladica koje se razvijaju iz spavajućih pupova pri bazi debla, dok se kasniji razvojni stadiji hrane na bazalnim listovima mladica koje su razvijene iz reznika i lucnjeva.

Počevši od prvog razvojnog stadija ličinke, američki cvrčak može usvojiti fitoplazmu hranjenjem na zaraženim trsovima i ostati zaražen do kraja svog životnog ciklusa. Period inkubacije od mjesec dana je potreban kako bi vektor postao infektivan. Tijekom tog perioda fitoplazma kruži hemolimfom ličinke te zatim dopire do žlijezda slinovnica gdje se umnožava. Jednom kad koncentracija fitoplazme u žlijezdama slinovnicama dosegne dostatnu razinu, ličinka hranjenjem započinje prenositi fitoplazmu na trsove pri svakom sljedećem ubodu, što se nastavlja do završetka životnog ciklusa imaga. Imago se obično pojavi u srpnju, vrlo je pokretan i kreće se letenjem. Američki cvrčak u svrhu parenja emitira vibracijske komunikacijske signale. Ženke postaju spolno zrele šest dana nakon prelaska u odrasli oblik, a kada su oplođene mogu početi odlagati jaja deset dana nakon kopulacije.

Sekundarni vektori fitoplazme *Ca. Phytoplasma vitis* na području Europe su vrste *Dictyophara europaea* L., *Oncopsis alni* Schranki te *Orientalus ishidae* Matsumura. One povremeno prenose fitoplazmu sa sekundarnih domaćina na vinovu lozu (Maixner i sur., 2000; Filippin i sur., 2009; Lessio i sur., 2016), ali nemaju veći značaj u epidemiologiji bolesti. Na području Republike Hrvatske potrebna su dodatna istraživanja biologije i ekologije ovih vrsta cvrčaka, kao i istraživanje njihova potencijalnog značaja u epidemiologiji zlatne žutice.

#### *Biljke domaćini*

U Europi je američki cvrčak uglavnom prisutan na vinovoj lozi, ali se ponekad može zadržavati i na ostalim biljkama domaćinima, poput vrbe (*Salix viminalis* L.) i breskve (*Prunus persica* (L.) Batsch) (Chuche i Thiery, 2014) ili pojedinim djetelinskim vrstama zastupljenim u zelenom pokrovu vinograda (Trivellone i sur., 2013). Veći dio svog životnog vijeka obitava na vinovoj lozi, ali se može povremeno hraniti i na drugim biljkama. Američki cvrčak može preferirati hranjenje na pojedinim sortama u odnosu na druge te su u nasadima s više sorata primijećene značajne razlike u visini populacije među različitim sortama (Schvester, 1962; Posenato i sur., 2001). Pored toga, razlike u visini populacije unutar istog nasada mogu biti uvjetovane i razlikama u ekološkim uvjetima koji su prisutni unutar vinograda, kao što su temperatura, vlaga, blizina šume, itd.

Kada vektor prenese fitoplazmu u provodno stanište trsa, fitoplazma putem floema kolonizira sve nadzemne dijelove biljke (mladica, list, cvat, bobice) i na taj način postaje izvor nove zaraze (Prezelj i sur., 2013). Američki cvrčak širi bolest tako što se najprije hrani na zaraženom trsu te se zatim premješta na drugi, dotad nezaraženi trs. Usljed toga je stupanj pojave simptoma bolesti u pojedinoj godini usko povezan s visinom populacije američkog cvrčka u prethodnoj godini (Morone i sur., 2007). Ukoliko se ne primijeni pravovremena zaštita vinograda primjenom učinkovitih insekticida, populacija američkog cvrčka može biti vrlo visoka, što doprinosi brzom širenju bolesti i povećanju broja zaraženih trsova, čija se brojnost može povećati čak i do četrdeset puta godišnje (Prezelj i sur., 2013).

#### **Praćenje vinogradarskog područja s ciljem determinacije populacije vektora ili učestalosti bolesti**

U regijama u kojima zlatna žutica još nije utvrđena, iznimno je važno provoditi temeljito praćenje vinogradarskog područja kako bi se spriječila introdukcija i eventualna pojava epi-

demijskog širenja zlatne žutice. Posebnu pažnju po tom pitanju treba posvetiti rasadničarskoj proizvodnji, kako bi se spriječilo širenje zlatne žutice korištenjem zaraženog sadnog materijala. Mjere koje treba primijeniti jesu praćenje rasprostranjenosti i visine populacije američkog cvrčka, a u slučaju kada je na nekom području vektor već prisutan u visokoj populaciji, to je područje potrebno temeljito pratiti s ciljem rane determinacije prvih simptoma zlatne žutice.

#### *Prepoznavanje vektora i utvrđivanje visine populacije*

Američkog cvrčka nije jednostavno determinirati, budući da su ličinke sitne i vrlo pokretne. Pored toga, ovaj je štetnik morfološki vrlo sličan pojedinim vrstama cvrčaka koji obitavaju na vinovoj lozi. Početni razvojni stadiji ličinke američkog cvrčka su najprije prozirne do bijele boje, a zatim s daljnjim razvojem poprimaju intenzivnije obojenje (Slika 2). Ličinke se može raspoznati zahvaljujući prisutnosti dviju simetričnih crnih točki na završnim segmentima zatka. Ličinke imaju tendenciju da odskoče s naličja lista ukoliko su uznemirene. Ovo ponašanje može pomoći u razlikovanju američkog cvrčka od ličinki ostalih vrsta cvrčaka koje su u istom periodu vegetacije prisutne na lozi, poput lozinog zelenog cvrčka (*Empoasca vitis* Goethe), koji se pri uznemiravanju kreće bočno na površini lista, kao i cvrčka *Zygina rhamni* Ferr., koji se pri uznemiravanju kreće pravocrtno po površini lista (Posenato i sur., 2001; Grozić i sur., 2017). Imago američkog cvrčka veličine je od 4,8 do 5,8 mm, smeđe je boje te ima mnogobrojne vidljive šare na prsištu (krilima) i zatku.



**Slika 2.** Razvojni stadiji ličinke i imaga američkog cvrčka: a) ličinka prvog razvojnog stadija, b) egzuvije lozinog zelenog cvrčka (lijevo) i američkog cvrčka (desno), c) ličinka trećeg razvojnog stadija, d) ličinka četvrtog razvojnog stadija, e) imago. (snimila: K. Grozić)

**Figure 2.** *S. titanus* nymphal and adult development stages: a) nymphal first development stage, b) exuviae of *E. vitis* (left) and *S. titanus* (right), c) nymphal third development stage, d) nymphal fourth development stage, e) adult development stage. (author: K. Grozić)

Provedba praćenja američkog cvrčka je vrlo značajna kako bi se utvrdila prva pojava ličinki u vinogradu. Pojavu ličinki prvog stadija mogu učinkovito utvrditi najčešće samo educirani stručnjaci. Kako bi praćenje bilo dovoljno precizno, vizualan je pregled prvog i drugog razvojnog stadija ličinke potrebno provesti na naličju 100 listova (po hektaru) koji se nalaze na mladima razvijenim iz spavajućih pupova pri bazi trsa, pritom pazeći da se mladice pretjerano ne tresu, budući da cvrčak može odskočiti i time umanjiti točnost praćenja. Za preostale razvojne

stadije ličinke potrebno je pregledati bazalne listove razvijene na rezniku ili lucnju.

Rasprostranjenost američkog cvrčka nije jednaka unutar vinograda te vrlo često dolazi do većeg nakupljanja ličinki u pojedinim dijelovima vinograda te je stoga praćenje u nekim slučajevima potrebno provoditi mnogo detaljnije i ponekad opširnije od 100 listova po hektaru.

Praćenje imaga američkog cvrčka provodi se primjenom žutih ljepljivih ploča, koje se postavljaju unutar vinograda, ali prema potrebi i u blizini samonikle ili zapuštene loze koja raste u okolici vinograda, a provodi se kako bi se utvrdila učinkovitost provedenih insekticidnih tretiranja i pratio dolet imaga iz okoline. Praćenje imaga američkog cvrčka može doprinijeti smanjenju širenja zlatne žutice u nezaražena područja. U regijama u kojima nije utvrđena zaraza zlatnom žuticom, a koje se nalaze u neposrednoj blizini zaraženih regija, praćenje i suzbijanje vektora je iznimno značajno.

Ukoliko je američki cvrčak utvrđen na nekom vinogradarskom području, to ne znači da je na tom području prisutna i zlatna žutica. Međutim, kod visokih populacija američkog cvrčka postoji veći rizik od budućeg epidemijskog širenja zlatne žutice u slučaju unosa fitoplazme. U tom slučaju potrebno je provoditi praćenje tijekom vegetacije, a kao preventivna mjera sprječavanja širenja ove bolesti mogu se primijeniti insekticidi za suzbijanje američkog cvrčka tijekom lipnja i srpnja. Prema iskustvima stečenim na području Istarske županije, izostanak suzbijanja štetnika vinove loze poput pepeljastog grozdovog moljca (*Lobesia botrana* Denis & Schiff.) ili lozinog zelenog cvrčka doprinosi razvoju visoke populacije američkog cvrčka, koja nakon introdukcije fitoplazme u vrlo kratkom periodu epidemijski proširi zlatnu žuticu vinove loze.

#### *Prevenција introdukcije zlatne žutice u nova vinogradarska područja uklanjanjem sekundarnih biljaka domaćina*

Samonikla ili zapuštena loza predstavlja prirodno stanište američkog cvrčka, a ova i ranije spomenute biljne vrste mogu biti domaćini fitoplazme zlatne žutice (Filippin i sur., 2009; Lessio i sur., 2014).

Ova prirodna staništa fitoplazme i njenih sekundarnih vektora stoga predstavljaju potencijalni rizik za introdukciju zlatne žutice u nova vinogradarska područja. Međutim, to isto stanište može biti korisno za vinogradarsku proizvodnju u smislu očuvanja bioraznolikosti i prirodne regulacije populacije pojedinih štetoinja. Stoga je važno razmotriti i procijeniti odnos između rizika introdukcije zlatne žutice i važnosti očuvanja prirodnog staništa u okolici vinograda, ali i ekonomske isplativosti uklanjanja sekundarnih biljaka domaćina s obzirom na njihovu široku rasprostranjenost u prirodi i trenutno relativno niski značaj u epidemiologiji zlatne žutice vinove loze (Jeger i sur., 2016).

#### *Praćenje šireg vinogradarskog područja*

Cilj praćenja šireg vinogradarskog područja jest utvrđivanje zdravstvenog stanja vinograda i ostalih biljnih vrsta te praćenje eventualne pojave i širenja novih štetnih organizama.

Pregled rasprostranjenosti simptoma zlatne žutice vinove loze potrebno je provoditi na razini pojedinih vinograda od strane samih proizvođača ili na široj regionalnoj razini putem organizirane provedbe praćenja. Kako bi praćenje šireg vinogradarskog područja bilo učinkovito, važno je da svi proizvođači i ostali dionici vinogradarsko-vinarskog sektora uključeni u praćenje budu svjesni posljedica koje može uzrokovati širenje zlatne žutice. Značajnu poteškoću u provođenju cjelovitog praćenja pojave i razvoja simptoma zlatne žutice mogu predstavljati zapušteni vinogradi, a posebice oni kojima je vlasnik nepoznat, strani državljanin ili su vlasnici zemljišta višestruki.

Područja bez zlatne žutice potrebno je što dulje očuvati od zaraze, a praćenje je ključan element u prevenciji epidemijskog širenja bolesti. Proizvođači trebaju biti educirani kako bi mogli

prepoznati simptome, a pored toga bitna je i dobra edukacija stručnjaka koji će organizirati ili vršiti praćenje šireg vinogradarskog područja.

U slučaju sumnje na pojavu simptoma zlatne žutice u nezaraženom vinogradarskom području, potrebno je obavijestiti nadležne službe, a u Hrvatskoj su to, sukladno Naredbi, Fitosanitarna inspekcija, Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo - Zavod za zaštitu bilja i Poljoprivredna savjetodavna služba.

Simptome zlatne žutice, crnog drva i žutica astre nije moguće razlikovati pregledom simptoma zastupljenih na trsu. S ciljem razlikovanja ovih triju fitoplazmatskih bolesti, ali i razlikovanja ovih bolesti od ostalih uzročnika koji imaju slične simptome, uzorke trsova iz nezaraženih područja potrebno je analizirati na prisutnost zlatne žutice u ovlaštenim laboratorijima u suradnji s nadležnim službama navedenim u Naredbi.

Budući da zlatna žutica u Europi ima status karantenske bolesti, u nezaraženom području je prijava simptomatičnih trsova koji potencijalno mogu biti zaraženi ovom fitoplazmom obavezna u svim europskim vinogradarskim regijama. U slučaju pojave zlatne žutice na području koje je dotad bilo nezaraženo, potrebno je provesti mjere suzbijanja vektora i potpunog uklanjanja zaraženih trsova u skladu s europskim i nacionalnim zakonodavstvom.

### **Sadnja nezaraženog sadnog materijala**

Primarni načini širenja zlatne žutice u nezaražena područja jesu sadnja zaraženog sadnog materijala te prijenos ili dolet zaraženog vektora. Pored toga, povremeno je moguć i prijenos zlatne žutice sa sekundarnih domaćina putem sekundarnih vektora na vinovu lozu.

U regijama u kojima nije potvrđena prisutnost zlatne žutice, rasadnici bi trebali primijeniti dodatne mjere prevencije širenja zlatne žutice, kao što su tretman toplom vodom na loznim cijepovima, temeljito praćenje zaraze na matičnim trsovima i preventivno suzbijanje vektora - američkog cvrčka. U Europi se, ovisno o zakonodavstvu pojedine države ili regije, primjenjuju različite zakonodavne odredbe koje se tiču rasadničarske proizvodnje, a u nekim je državama propisana zabrana proizvodnje i premještanja sadnog materijala ukoliko je na tom području zabilježena zaraza zlatnom žuticom (Direktiva 2000/29/EC; GU 159/2000; JORF 0304/2013; NN 46/2017).

#### *Mjere koje se provode u rasadnicima*

U rasadnicima se posebna pažnja treba posvetiti redovitom praćenju simptoma bolesti na matičnim trsovima, kako europske loze, tako i podloga (koje mogu biti bez simptoma). Svaki matični trs koji pokazuje simptome treba biti evidentiran i uklonjen zajedno s korijenom. U slučaju sumnje na pojavu simptoma zlatne žutice, o tome je potrebno obavijestiti nadležne službe te ako je sumnja osnovana, na uzorcima trsova potrebno je provesti laboratorijsko testiranje na zaraženost zlatnom žuticom. Pored toga, u matičnim nasadima obvezno je provoditi praćenje i suzbijanje ličinki i imaga američkog cvrčka.

#### *Tretman toplom vodom*

Tretman toplom vodom (eng. *Hot water treatment*) omogućuje uklanjanje fitoplazme iz sadnog materijala i može se koristiti kao mjera prevencije kojom se osigurava sadnja nezaraženog sadnog materijala u vinogradarsko područje u kojem zlatna žutica još nije prisutna. Toplom vodom se u kontroliranim uvjetima, u uređajima posebno osmišljenim za navedenu svrhu, tretiraju cijepovi ili reznice za razmnožavanje tako što se uranjaju u vodu zagrijanu na 50 °C u trajanju od 45 minuta (EPP0, 2012; Winetwork). Kombinacija trajanja tretmana i temperature vode je ključna za učinkovitost provedbe ove mjere, budući da se pri ovim uvjetima u potpunosti uklanja fitoplazma koja je eventualno prisutna u sadnom materijalu, a ne oštećuje se biljno tkivo i nema negativnih posljedica po rast i razvoj takvih cijepova.



## Zaključak

Zlatna žutica je vrlo ozbiljna bolest vinove loze i ako se ne suzbija na prikladan način, može se brzo širiti i uzrokovati znatne ekonomske gubitke u vinogradarsko-vinarskom sektoru. U Europi još uvijek ima regija u kojima zlatna žutica nije prisutna, ali se američki cvrčak brzo širi u nova područja, čime se stvaraju uvjeti za potencijalno daljnje epidemijsko širenje zlatne žutice. U regijama u kojima zlatna žutica još nije prisutna, pregledom vinograda može se spriječiti ili usporiti širenje američkog cvrčka, a ukoliko je američki cvrčak već prisutan u visokoj populaciji, svega jedan trs zaražen zlatnom žuticom može biti uzrok epidemijskog širenja bolesti. Podizanje razine svijesti te edukacija proizvođača i ostalih dionika u vinogradarsko-vinarskom sektoru o epidemiologiji zlatne žutice, simptomima i riziku kojeg ona predstavlja, kao i usmjerenog suzbijanja američkog cvrčka i uklanjanja zaraženih trsova iznimno je bitno u svrhu prevencije daljnjeg širenja ove bolesti.

## Zahvala

Rad je nastao kao rezultat projekta Winetwork, financiranog sredstvima Europske unije putem Obzor 2020 programa za istraživanja i inovacije, ugovor broj 652601. Zahvaljujemo se ostalim suradnicima na projektu Winetwork koji su svojim doprinosom pomogli u realizaciji ovog rada.

## Literatura

- Angelini, E., Filippin, L., Michielini, C., Bellotto, D., Borgo, M. (2006) High occurrence of Flavescence dorée phytoplasma early in the season on grapevines infected with grapevine yellows. *Vitis-geilweilerhof*, 45 (3), 151.
- Arnaud, G., Malembic-Maher, S., Salar, P., Bonnet, P., Maixner, M., Marcone, C., Boudon-Padieu, E., Foissac, X. (2007) Multilocus sequence typing confirms the close genetic interrelatedness of three distinct flavescence dorée phytoplasma strain clusters and group 16SrV phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe. *Applied and environmental microbiology*, 73 (12), 4001-4010.
- Budiščak, Z., Krizanac, I., Plavec, J. (2014). Zlatna žutica vinove loze – Flavescence dorée. Zagreb: Hrvatski centar za hranu, poljoprivredu i selo, Zagreb.
- Caudwell A. (1990) Epidemiology and characterization of Flavescence dorée (FD) and other grapevine yellows. *Agronomie*, 10, 655-663.
- Caudwell, A. (1964) Identification d'une nouvelle maladie à virus de la vigne, la "Flavescence dorée". Etude des phénomènes de localisation des symptômes et de rétablissement. *Annales des Epiphyties*, 15 (sp), 193.
- Chuche, J., Thiéry, D. (2012) Egg incubation temperature differently affects female and male hatching dynamics and larval fitness in a leafhopper. *Ecology and evolution*, 2 (4), 732-739.
- Chuche, J., Thiéry, D. (2014) Biology and ecology of the Flavescence Dorée vector *Scaphoideus titanus*: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34 (2), 381-403.
- Credi, R. (1989) Flavescenza dorata della vite in Emilia-Romagna: evoluzione della malattia nelle piante e suoi effetti sulla produzione e sullo sviluppo vegetativo. *Phytopathologia Mediterranea*, 28, 113-121.
- Direktiva 2000/29/EC. [http://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=CELEX%3A02000L0029-20140210\(03.3.2018.\)](http://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=CELEX%3A02000L0029-20140210(03.3.2018.))
- Endeshaw S. T., Murolo S., Romanazzi G., Neri D. (2012) Effects of Bois noir on carbon assimilation, transpiration, stomatal conductance of leaves and yield of grapevine (*Vitis vinifera*) cv. Chardonnay. *Physiologia Plantarum*, 145, 286-295.
- EPPO (2012) Hot water treatment of grapevine to control Grapevine flavescence dorée phytoplasma. *EPPO Bulletin*, 42, 490-492.
- EPPO (2017) <https://gd.eppo.int/taxon/PHY64/distribution> (22.10.2017.)
- Filippin, L., Jović, J., Cvrković, T., Forte, V., Clair, D., Toševski, I., Boudon-Padieu, E., Borgo, M., Angelini, E. (2009) Molecular characteristics of phytoplasmas associated with Flavescence dorée in clematis and grapevine and preliminary results on the role of *Dictyophara europaea* as a vector. *Plant Pathology*, 58 (5), 826-837.
- Grozić, K., Bubola, M., Poljuha, D. (2017) *Pregled preventivnih mjera za sprječavanje širenja zlatne žutice vinove loze u nezaražena područja*. Poreč: Institut za poljoprivredu i turizam.
- GU 159/2000. Decreto Ministeriale. Misure per la lotta obbligatoria contro la flavescenza dorata della vite. [http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2000/07/10/000A9090/sg;jsessionid=WQabR3MJieBO91TZleDpRQ\\_.ntc-as2-guri2a\(04.3.2018.\)](http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2000/07/10/000A9090/sg;jsessionid=WQabR3MJieBO91TZleDpRQ_.ntc-as2-guri2a(04.3.2018.))
- Hogenhout, S. A., Oshima, K., Ammar, E. D., Kakizawa, S., Kingdom, H. N., Namba, S. (2008) Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. *Molecular Plant Pathology*, 9, 403-423.
- Jeger, M., Bragard, C., Caffier, D., Candresse, T., Chatzivassiliou, E., Dehnen-Schmutz, K., Gilioli, G., Jaques Miret, J.A., MacLeod, A., Navajas Navarro, M., Niere, B., Parnell, S., Potting, R., Rafoss, T., Urek, G., Rossi, V., Van Bruggen, A., Van Der Werf, W., West, J., Winter, S., Bosco, D., Foissac, X., Strauss, G., Hollo, G., Mosbach-Schulz, O., Grégoire, J.-C. (2016) Scientific opinion on the risk to plant health of Flavescence dorée for the EU territory. *EFSA Journal*, 14 (12), 1-83.
- JORF 0304/2013. Arrêté du 2013 relatif à la lutte contre la flavescence dorée de la vigne et contre son agent vecteur. [https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrête/2013/12/19/AGRG1329211A/jo/texte\(04.3.2018.\)](https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrête/2013/12/19/AGRG1329211A/jo/texte(04.3.2018.))
- Lessio, F., Picciau, L., Gonella, E., Mandrioli, M., Tota, F., Alma, A. (2016) The mosaic leafhopper *Orientalus ishidae* host plants, spatial distribution, infectivity, and transmission of 16SrV phytoplasma to vines. *Bulletin of Insectology*, 69 (2), 277-289.
- Lessio, F., Tota, F., Alma, A. (2014) Tracking the dispersion of *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae) from wild to cultivated grapevine: use of a novel mark-capture technique. *Bulletin of entomological research*, 104 (4), 432-443.

- Maixner, M., Pearson, R.C., Boudon-Padieu, E., Caudwell, A. (1993) *Scaphoideus titanus*, a possible vector of Grapevine Yellows in New York. *Plant Disease*, 77 (4), 408-413.
- Maixner, M., Reinert, W., Darimont, H. (2000) Transmission of grapevine yellows by *Oncopsis alni* (Schrank) (Auchenorrhyncha: Macropsinae). *Vitis*, 39 (2), 83-84.
- Malembic, S., Salar, P., Vergnes, D., Foissac, X. (2007) Detection and diversity of "flavescence dorée" - related phytoplasmas in alders surrounding infected vineyards in Aquitaine (France). *Bulletin of Insectology*, 60 (2), 329-330.
- Malembic-Maher, S., Pascal, S., Carle, P., Foissac, X. (2009) Ecology and taxonomy of Flavescence Dorée phytoplasmas: the contribution of genetic diversity studies. U: *Le Progrès Agricole et Viticole*, ur. 16. *Meeting of the International Council for the Study of Virus and virus-like diseases of the Grapevine, Dijon (France)*, 31.08.-09.04.2009. Francuska, 132-134.
- Ministarstvo poljoprivrede (2017) Akcijski plan za suzbijanje i sprječavanje širenja zlatne žutice vinove loze – Flavescence dorée za 2017. godinu. <http://www.winetwork-data.eu/intranet/libretti/0/libretto16684-01-1.pdf> (04.3.2018.)
- Morone, C., Boveri, M., Giosue, S., Gotta, P., Rossi, V., Scapin, I., Marzachi, C. (2007) Epidemiology of flavescence dorée in vineyards in northwestern Italy. *Phytopathology*, 97 (11), 1422-1427.
- Narodne Novine 46/2017. Naredba o poduzimanju mjera za sprječavanje širenja i suzbijanje zlatne žutice vinove loze. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017\\_05\\_46\\_1086.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017_05_46_1086.html) (15.10.2017.)
- Papura, D., Delmotte, F., Giresse, X., Salar, P., Danet, J.L., van Helden, M., Foissac, X., Malembic-Maher, S. (2009) Comparing the spatial genetic structures of the Flavescence dorée phytoplasma and its leafhopper vector *Scaphoideus titanus*. *Infection, Genetics and Evolution*, 9 (5), 867-876.
- Plavec, J., Krizanac, I., Budinščak, Z., Škorić, D., Šeruga Musić, M. (2013) Distribution and epidemiology of Flavescence dorée phytoplasma in Croatia. *Glasilo biljne zaštite*, 13 (5), 385-390.
- Plavec, J., Krizanac, I., Budinščak, Z., Škorić, D., Šeruga Musić, M. (2015) A case study of FD and BN phytoplasma variability in Croatia: multigene sequence analysis approach. *European journal of plant pathology*, 142 (3), 591-601.
- Plavec, J., Krizanac, I., Budinščak, Z., Škorić, D., Šeruga Musić, M. (2016) A detective story: tracking of FD and FD-related phytoplasmas emergence and spread by MLST. U: *Browning, G. (ur.), 21st Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Brisbane (Australia)*, 03.-07.7.2016.
- Posenato, G., Mori, N., Bressan, A., Girolami, V., Sancassani, G.P. (2001) *Scaphoideus titanus*, vettore della flavescenza dorata: conoscerlo per combatterlo. *L'informatore agrario*, 15, 91-94.
- Prezelj, N., Nikolić, P., Gruden, K., Ravnikar, M., Dermastia, M. (2013). Spatiotemporal distribution of flavescence dorée phytoplasma in grapevine. *Plant Pathology*, 62 (4), 760-766.
- Roggia, C., Caciagli, P., Galetto, L., Pacifico, D., Veratti, F., Bosco, D., Marzachi, C. (2014) Flavescence dorée phytoplasma titre in field-infected Barbera and Nebbiolo grapevines. *Plant Pathology*, 63 (1), 31-41.
- Schvester, D. (1962) Sur les causes de la propagation en Armagnac et en Chalosse de la Flavescence dorée de la vigne. *Revue de Zoologie Agricole et Appliquée*, 10-12, 132-135.
- Trivellone, V., Jermini, M., Linder, C., Cara, C., Delabays, N., Baumgartner, J. (2013) Role of la flore du vignoble sur la distribution de *Scaphoideus titanus*. *Revue Suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 45 (4), 222-228.
- Vitali, M., Chitarra, W., Galetto, L., Bosco, D., Marzachi, C., Gullino, M. L., Spanna, F., Lovisolo, C. (2013) Flavescence dorée phytoplasma deregulates stomatal control of photosynthesis in *Vitis vinifera*. *Annals of applied biology*, 162 (3), 335-346.
- Winetwork. Hot water treatment. Technical datasheet. [http://www.winetwork-data.eu/en/technical\\_datasheet/technical\\_datasheet\\_hot\\_water\\_treatment\\_hwt\\_sc\\_16488.htm](http://www.winetwork-data.eu/en/technical_datasheet/technical_datasheet_hot_water_treatment_hwt_sc_16488.htm) (04.3.2018.)

## Review paper

## Review of symptoms, epidemiology and preventive measures that minimize the spread of flavescence dorée in uninfected areas

### Abstract

Flavescence dorée is one of the most important grapevine diseases in Europe with potential to cause significant damage, and therefore indexed on the A2 EPPQ Quarantine List (Directive 2000/29/EC). The vector that epidemically spreads the phytoplasma among vines is *Scaphoideus titanus*. Major damage caused by flavescence dorée is the reduction of yield and the decline of infected plants. In cases when necessary measures of suppression are not applied, the disease can spread epidemically and within a few years the vineyard can become completely infected and unproductive. In case of suspected infection, it is necessary to ascertain whether there are at least three different symptoms typical for the disease, such as atypical leaves discoloration, absence of shoot lignification, and berry shriveling or grape desiccation. However, described symptoms are not reliable indicators of flavescence dorée infection, so potential presence of the phytoplasma has to be confirmed by laboratory analysis. In the regions where the disease has not yet been established, it is extremely important to conduct detailed vineyard monitoring *s* in order to prevent introduction and eventual occurrence of the epidemic spread of flavescence dorée. Some of the key measures that should be applied in a vineyard region, prior flavescence dorée introduction, include: monitoring of *S. titanus* distribution and population but without implementation of vector control strategies when the vector population is low or not known; while in situations where the vector is present in high population it is advised to implement vector control strategies and thoroughly monitor all vineyards (productive and abandoned) in order to promptly determine flavescence dorée symptoms when they first appear. In this paper we present a brief review of flavescence dorée symptoms, its primary vector *S. titanus*, host plants and their mutual relationship, as well as an overview of measures recommended to implement in order to prevent the spread of the disease in uninfected areas.

**Keywords:** *Ca. Phytoplasma vitis*, flavescence dorée, *Scaphoideus titanus*, monitoring, management.