

dr. sc. Sara Godena

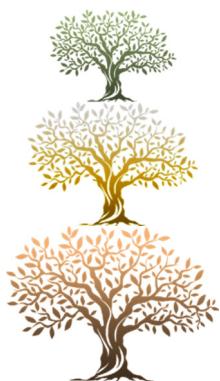
Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina



Priručnik o rezultatima VIP projekta



Uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina



Priručnik o rezultatima VIP projekta



MINISTARSTVO
POLJOPRIVREDE



ISTARSKA ZUPANIJA REGIONE
ISTRIANA



Impressum



Priručnik VIP projekta: 'Uzročnici sindroma sušenja masline u održivom maslinarstvu'

Izdavač Za izdavača

Institut za poljoprivredu i turizam, Poreč
dr. sc. Dean Ban

Autori

dr. sc. Sara Godena
dr. sc. Dario Ivić
dr. sc. Smiljana Goreta Ban

Fotografije

dr. sc. Dario Ivić
dr. sc. Sara Godena

Recenzentica

dr. sc. Elda Vitanović

Tisak

Nelograf

Naklada

210 komada

Mjesto i godina izdavanja

Poreč, 2019.

CIP zapis dostupan u računalnome katalogu Sveučilišne knjižnice u Puli
pod brojem 150113068

ISBN

978-953-7296-22-3

Priručnik je rezultat provedenog VIP projekta "Uzročnici sindroma sušenja masline u održivom maslinarstvu" (2016. - 2018.), financiranog od strane Vijeća za istraživanja u poljoprivredi (VIP) Ministarstva poljoprivrede RH, a sufinancirali su ga Upravni odjel za poljoprivredu, šumarstvo, lovstvo, ribarstvo i vodoprivredu Istarske županije, Grad Vodnjan-Dignano, Općina Marčana i Općina Grožnjan.

Projekt je realiziran na Institutu za poljoprivredu i turizam, Poreč u suradnji s Hrvatskim centrom za poljoprivredu, hranu i selo Zavod za zaštitu bilja, udrugom Agroturist Vodnjan-Dignano, Veleučilištem u Rijeci Poljoprivredni odjel u Poreču i Sveučilištem u Zagrebu Agronomski fakultet.

Sadržaj



Uvod	1
Prikupljanje uzoraka biljnog materijala i praćenje simptoma	3
Dijagnoza uzročnika bolesti sušenja masline	5
Utvrđene vrste fitopatogenih gljiva	6
Kemijska analiza prikupljenih uzoraka tla	28
Mikrometeorološki podaci s meteostanica i službeni meteorološki podaci DHMZ	30
Test patogenosti i praćenje simptoma na biljkama	35
Mjerene vrijednosti nakon umjetnih zaraza	42
Zaključci	46
Literatura	47



Uvod



U Istri se maslina tradicionalno uzgaja već stoljećima. Kvaliteta istarskog djevičanskog maslinovoga ulja u velikom je usponu već nekoliko desetljeća. Kao takvo može konkurirati kakvoćom svjetskim proizvođačima maslinovog ulja, međutim ne i količinom. Iz tog razloga, posljednjih godina nametnula se potreba za podizanjem sve većeg broja novih nasada masline, što se često čini sadnim materijalom upitne kakvoće i zdravstvenog stanja. S druge strane, djelovanjem sve ekstremnijih vremenskih prilika, u posljednjih nekoliko godina (ekstremna vlažnost, ekstremna suša i odstupanja od prosječnih temperatura zraka), proizvodnja maslina i maslinovog ulja u Republici Hrvatskoj, pa stoga i u Istri postaje izložena novim rizicima. Osim nepovoljnog djelovanja na maslinu, klimatski ekstremi uzrokuju pojavu i širenje određenih štetočinja, koji ranije nisu bili ekonomski važni, poput svrdlaša ili novih bolesti, koje do sada nisu zabilježene u Hrvatskoj. Primjeri novo zabilježenih bolesti na maslini u RH su sušenje izboja uzorkovano gljivama *Phoma incompta* i *Diplodia seriata* (Ivić i sur., 2010; Kalitera i sur., 2012), od kojih je posljednja zabilježena u Istri. Duža razdoblja suvišne vlage u tlu mogu prouzročiti ugušenje korijena, sušenje lišća te djelomičnu ili potpunu defolijaciju stabala. Smatra se da je količina oborina 120-130 mm nepovoljna za maslinu, koja mnogo bolje podnosi sušu nego višak vlage u tlu. Osim toga, posljednjih godina slijedom unaprjeđenja suvremenih uzgojnih praksi (intenzivan uzgoj u vrlo gustom sklopu, navodnjavanje i intenzivna folijarna prihrana) također dolazi do smanjenjag vigora i otpornosti stabala, a samim tim i do lakše zaraze masline raznim bolestima.

Posljednjih nekoliko godina u Istri je sve više raznih pojava na maslinama koje nisu poznate iskusnim maslinarima. Čak ni stručnjaci i znanstvenici nemaju valjane, empirijski utemeljene odgovore o kakvim se pojavama radi. Važno je istaknuti gospodarsku važnost masline kao poljoprivredne kulture u RH, te naglasiti kako su uzročnici bolesti iste do sada slabo istraživani. Za pretpostaviti je da su klimatske promjene te nove tehnologije u maslinarstvu glavni uzročnici pojave i porasta značenja nepoznatih ili slabo poznatih bolesti. Uzročnici sušenja masline verticilijsko venuče (*Verticillium dahliae*), antraknoza (*Colletotrichum spp.*) ili gljivični rak uzrokovan vrstama iz porodice *Botryosphaeriaceae* u RH uglavnom su nepoznati i nisu bili predmet sustavnih znanstvenih istraživanja. Dok se iste u različitim krajevima svijeta opisuju kao najvažnije na maslini, u RH navedene bolesti ili uopće nisu utvrđene ili do sada uslijed njih nisu zabilježene veće štete. Intenzivno podizanje novih nasada maslina i trgovina sadnim materijalom predstavljaju velik rizik za širenje karantenskih invazivnih biljnih parazita i štetnika. Tako u posljednje vrijeme Istri, ali i RH, prijeti pojava karantenske bakterije *Xylella fastidiosa*, koja je devastirala maslinike u susjednoj Apuliji (Italija).

U Istri je tijekom posljednjih nekoliko godina zabilježen sve veći broj slučajeva djelomičnog ili potpunog sušenja stabala masline. Ista još nije sustavno istražena, mada se za njenu pojavu vežu različita objašnjenja i teorije. Nije poznato da li su takvi slučajevi posljedica abiotskih čimbenika, ili su posljedica djelovanja biljnih patogena. Otkriće uzročnika sušenja masline ključno je u osmišljavanju prikladnih mjera zaštite. Ukoliko je riječ o biljnim patogenima, utvrđivanje istih prvi je korak u izradi strategije zaštite u okviru održive i tehnološki napredne proizvodnje maslina u Istri. Uz učinkovite mjere zaštite maslina u Istri, zasigurno će se povećati proizvodnja maslina i kakvoća maslinovog ulja, smanjiti će se rizici u proizvodnji, te će proizvođači biti upoznati s mogućim novim problemima i načinima njihovog suzbijanja.



Prikupljanje uzoraka biljnog materijala i praćenje simptoma na stablima maslina



Prikupljanje uzoraka biljnog materijala

Terensko istraživanje (vizualni pregledi, praćenje simptoma na stablima maslina i prikupljanje uzoraka biljnog materijala) provedeno je tijekom 2016., 2017. i 2018. godine. Istraživanje je obuhvatilo četiri najvažnija maslinarska uzgojna područja u Istri: (rovinjsko, porečko-vrsarsko, bujsko-umaško i vodnjansko-pulsko) i područje u okolini Zadra (otok Ugljan i Stankovci). Od ukupno pregledanih lokacija, s njih 25 prikupljeno je preko 100 uzoraka biljnog materijala. U rovinjskom maslinarskom uzgojnom području ukupno je pregledano deset, u porečko-vrsarskom šest, u bujsko-umaškom četiri, u vodnjansko-pulskom deset lokacija, te u okolini Zadra dvije lokacije.

Tijekom tri godine istraživanja uzorci biljnog materijala, na različitim lokacijama, prikupljeni su u nekoliko navrata:

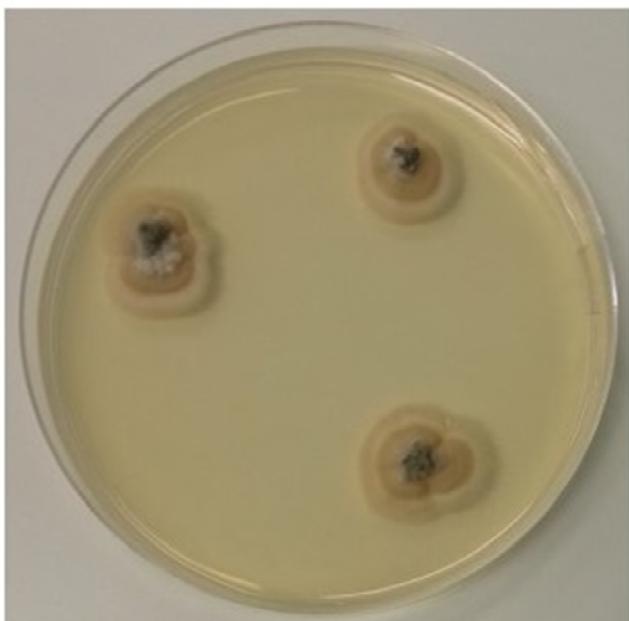
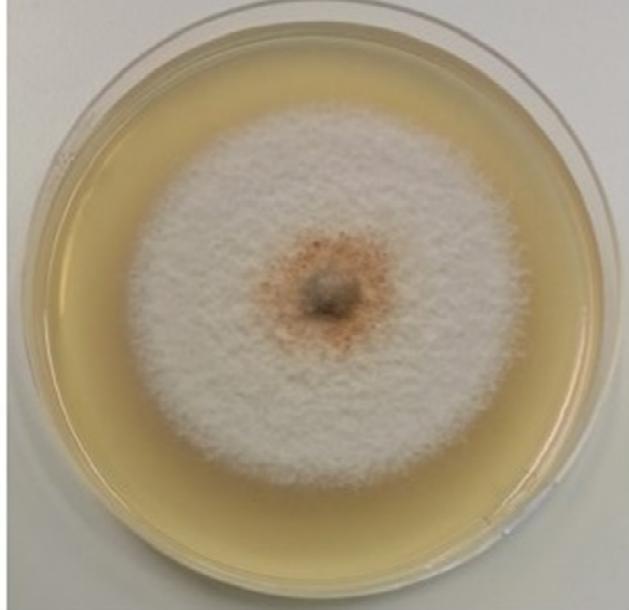
- rovinjsko uzgojno područje: rujan-listopad 2016. g.
- porečko-vrsarsko uzgojno područje: rujan-listopad 2016. g., lipanj-srpanj 2017. g., lipanj 2018. g.
- bujsko-umaško uzgojno područje: listopad 2016. g., kolovoz 2017. g.
- vodnjansko-pulsko maslinarsko uzgojno područje: rujan-prosinac 2016. g., listopad 2017. g.
- okolica Zadra (otok Ugljan i Stankovci): listopad 2016.

Simptomatologija

Vizualnim pregledom stabala maslina, na terenu, praćeni su simptomi promjene boje listova, djelomičnog ili potpunog sušenja biljaka, pojave rak-rana na izbojima, promjene boje ksilema ili floema, nekroze kambija ili patološke promjene na korijenovom vratu. Ukoliko su u nasada bili uočeni neki od gore navedenih simptoma, iz nasada su uzeti uzorci biljnog materijala. Ovisno o tipu simptoma, uzeti su različiti uzorci biljnog materijala kao što su: tkiva korijena ili korijenovog vrata, isječci nekrotiziranog kambija, isječci kore, dijelovi grana, dijelovi višegodišnjih grana ili mladice.

Prikupljanje mikrometeoroloških podataka

Na lokalitetima Cocaletto (rovinjsko uzgojno područje), Vodnjan (vodnjansko-pulsko uzgojno područje), Valice (bujsko-umaško uzgojno područje) i Poreč (porečko-vrsarsko uzgojno područje) pomoću bežičnih meteostanicama Nexus (TFA Dostmann GmbH & Co. KG., Wertheim-Reicholzheim, Njemačka) praćeni su klimatski elementi poput srednje dnevne temperature, relativne vlage zraka te količine oborina. Prikupljeni su i službeni klimatski podaci od Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ). Uz pomoć uređaja irometar odnosno tenziometar SR 45 cm (IRROMETER Co., Kalifornija, SAD) pratila se vлага tla.



Dijagnoza uzročnika bolesti sušenja maslina



Dijagnoza potencijalnih uzročnika djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina obavljena je u laboratoriju Zavoda za zaštitu bilja unutar Hrvatskog Centra za poljoprivredu, hranu i selo u Zagrebu. Iz simptomatičnih uzoraka biljnog materijala izolirane su potencijalno patogene gljive korištenjem konvencionalnih mikoloških metoda inokulacije na hranjive podloge. Na temelju morfologije kolonija u čistoj kulturi te izgleda, veličine i boje spora provedena je identifikacija gljiva do razine vrste ili roda. Potvrda identifikacije patogena ili identifikacija do razine vrste provela se molekularnim metodama temeljenim na lančanoj reakciji polimerazom (PCR), sekvenciranju i analizi sekvenca.

Simptomatični dijelovi korijena, kore korijenovog vrata, grana ili dijelova debla izrezani su i površinski sterilizirani potapanjem u 70 %-tni etanol te inokulirani na krumpir-dekstrozni agar (KDA) i agar s mrkvom. Nakon inkubacije od 10 do 30 dana na 25 °C, analizirana je morfologija kolonija dobivenih iz inokuliranih dijelova biljke. Odabrani izolati prebačeni su u čiste kulture na KDA te je nakon inkubacije, identične prethodno opisanoj, uslijedila analizira izgleda kolonija i morfologije spora. Na temelju morfologije kolonija u čistoj kulturi te izgleda, veličine i boje spora provedena je identifikacija gljiva do razine roda ili vrste. Za identifikaciju roda ili vrste korišteni su opisi Phillipsa i sur. (2013), Jiménez-Díaza i sur. (2012) i OEPP/EPPO-a (2007). Početnice korištene za lančane reakcije polimerazom (PCR) bile su ITS1/ITS4 (White i sur., 1990), EF728F/EF986R (Úrbez-Torres i sur., 2013), DF/DR, NDF/NDR (Pérez-Artés i sur., 2005), VdAve1F/VdAve1R (Hu i sur., 2015) te VdR2F/VdR2R (Short et al., 2014). Ukupna DNA iz izolata ekstrahirana je kompletom DNeasy Plant Mini Kit® (Qiagen Inc., SAD) prema uputama proizvođača, a PCR reakcije provedene su prema parametrima umnožavanja kako opisuju Hu i sur. (2015), Úrbez-Torres i sur. (2013), White i sur. (1990). Sekvence su uređene u programu Sequencher® (Gene Codes Corporation, SAD) i uspoređene sa sekvencama iz GenBank® baze podataka.

U prvoj fazi projekta utvrđeno je da se djelomično ili potpuno sušenje stabala masline u Istri može povezati ponajprije s gljivičnim bolestima. Prema simptomima, koji su opaženi na terenu i vrstama gljiva koje su izolirane iz simptomatičnih stabala, moguće je zaključiti da su u Istri prisutne mnoge gljivične bolesti, koje su u drugim zemljama svijeta opisane kao uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala masline. Na temelju provedenih aktivnosti tijekom istraživanja, moguće je utvrditi da su glavni uzrok djelomičnog ili potpunog sušenje stabala u maslinicima gljivične bolesti – verticilijsko venuće (*Verticillium dahliae*), trulež korijena (*Armillaria mellea*), botriosferijski rak (Botryosphaeriaceae), fomopsis (*Diaporthe neotheicola*) i odumiranje (*Pleurostomophora richardsiae*). Poljoprivrednim proizvođačima te bolesti uglavnom nisu poznate ili su im slabo poznate, veći dio njih u Hrvatskoj još nije opisan, a kod nas njihova raširenost i štetnost još nisu istraživane.

Utvrđene vrste fitopatogenih gljiva



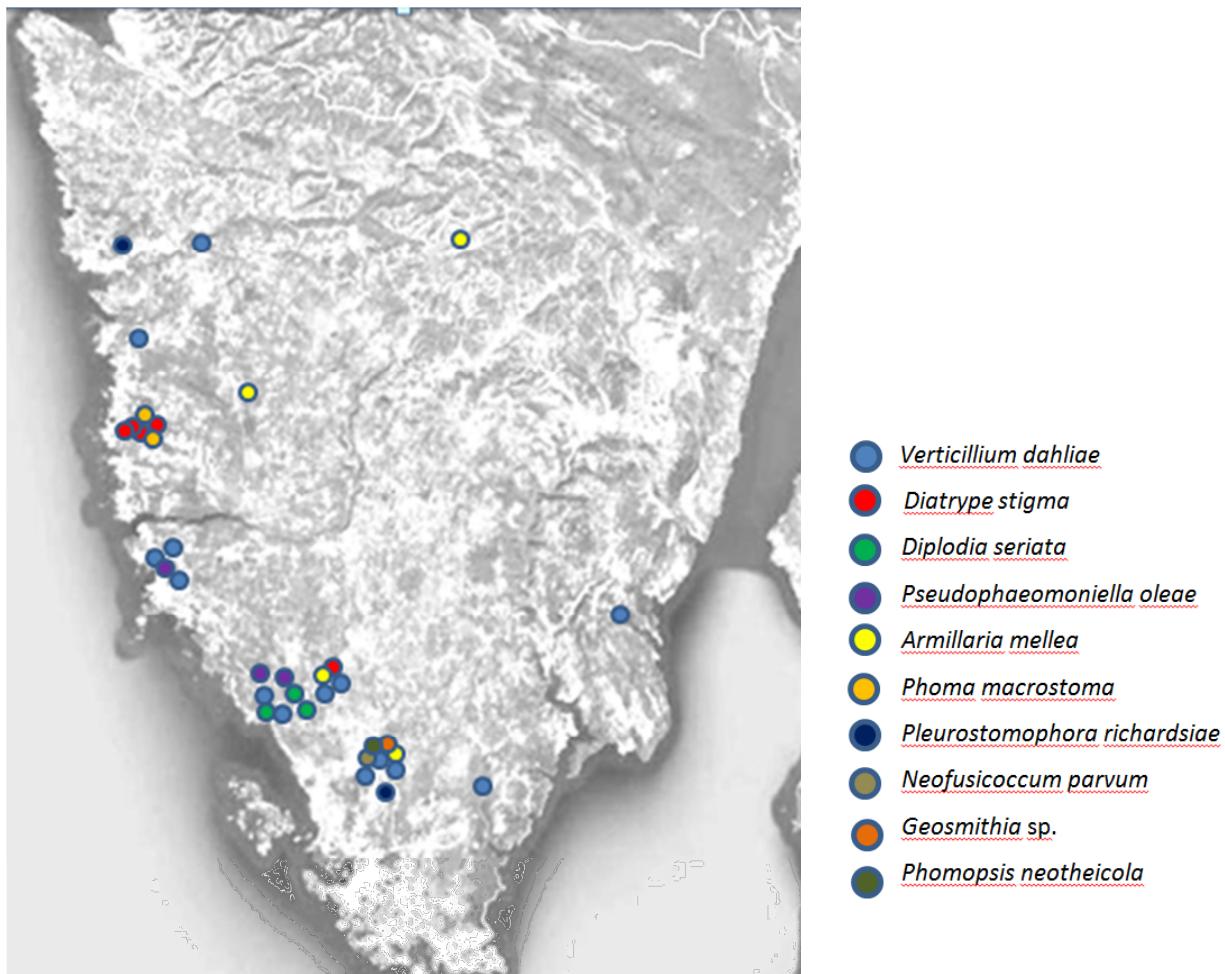
Slika 1. Kulture nekih gljiva izoliranih iz simptomatičnih stabala masline (foto: D. Ivić).

U različitim maslinarskim uzgojnim područjima ukupno su prikupljena 103 uzorka biljnog materijala. Iz uzoraka je izolirano 78 izolata različitih potencijalno fitopatogenih gljiva (Slika 1). Među njima utvrđene su patogene gljive koje napadaju korijen i provodno tkivo (*Verticillium dahliae* Kleb. i *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm.) te one koje napadaju nadzemne dijelove masline (Tablica 1 i 2). Vizualnim pregledom utvrđeno je da je najosjetljivija sorta na ove patogene bila Buža, jedna od najzastupljenijih sorti u Istri (Tablica 2). Ukupno je na vodnjansko-pulskom uzgojnom području utvrđeno šest vrsta gljiva (30 izolata), u rovinjskom pet (30 izolata), u porečko-vrsarskom četiri (13 izolata) te u bujsko-umaškom tri vrste gljiva (pet izolata) (Tablica 2).

Najčešća fitopatogena gljiva izolirana iz maslina, koje su imale simptome djelomičnog ili potpunog sušenja ili slabijeg rasta, bila je vrsta *Verticillium dahliae*. Prema brojnosti sakupljenih izolata slijedile su je fitopatogene i potencijalno fitopatogene gljive *Armillaria mellea* i neidentificirana vrsta iz roda *Geosmithia* (12 izolata svaka), *Diatrype stigma* (devet izolata), *Pseudophaeomoniella oleae* (šest izolata), vrste iz porodice Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata* i *Neofusicoccum parvum* – ukupno četiri izolata), *Phomopsis (Diaporthe) neotheicola* (tri izolata), *Pleurostomophora richardsiae* i *Phoma macrostoma* (dva izolata) i *Biscogniauxia mediterranea* (dva izolata). Prema dostupnoj literaturi, neke od spomenutih vrsta gljiva navode se kao uzročnici bolesti na maslini (*V. dahliae*, *A. mellea*, *Diplodia seriata*, *Pleurostomophora richardsiae*, *Neofusicoccum parvum* i *Diaporthe neotheicola*). Ostale gljive utvrđene tijekom istraživanja (*Phoma macrostoma*, *Biscogniauxia mediterranea* i *Geosmithia* sp.) u literaturi se ne navode kao patogeni na maslini.

Tablica 1. Vrsta utvrđenih gljiva, broj izolata i raširenost istih.

Vrsta utvrđenih gljiva	Broj izolata	Maslinarska uzgojna područja (R-rovinjsko, P-porečko-vrsarsko, B-bujsko-umaško, V-vodnjansko-pulsko i ZD-otok Ugljan)
<i>Verticillium dahliae</i>	28	R, P, B, V
<i>Armillaria mellea</i>	12	R, P, B, V, ZD
<i>Geosmithia</i> sp.	12	V
<i>Diatrype stigma</i>	9	R, P
<i>Pseudophaeomoniella oleae</i>	6	R
<i>Phomopsis (Diaporthe) neotheicola</i>	3	V
<i>Diplodia seriata</i>	3	R
<i>Pleurostomophora richardsiae</i>	2	B, V
<i>Phoma macrostoma</i>	2	P
<i>Neofusicoccum parvum</i>	1	V
<i>Biscogniauxia mediterranea</i>	1	B
UKUPNO: 11	78	



Slika 2. Geografska distribucija utvrđenih fitopatogenih gljiva u Istri.

Tablica 2. Lokaliteti i broj uzoraka koji su prikupljeni u Istri tijekom istraživanja od 2016. do 2017. godine, te utvrđeni izolati i njihov broj na određenim sortama.

Lokaliteti	Izolati	Broj izolata	Broj uzoraka	Sorta
ROVINJSKO maslinarsko uzgojno područje (9)				
Bale	<i>Verticillium dahliae</i> <i>Diatrype stigma</i>	3 2	6	Buža
Sanpruti	<i>Verticillium dahliae</i>	2	2	Buža
Palud	<i>Verticillium dahliae</i> <i>Diplodia seriata</i>	4 1	7	Buža
Španidiga	<i>Pseudophaeomoniella oleae</i> <i>Diplodia seriata</i>	2 1	4	Buža
Cocaletto	<i>Vericillium dahliae</i> <i>Diplodia seriata</i> <i>Pseudophaeomoniella oleae</i>	2 1 2	3	Buža
Bale	<i>Verticillium dahliae</i> <i>Armillaria mellea</i>	2 3	7	Buža
Valalta	<i>Verticillium dahliae</i>	2	3	Buža
Mondelaco	<i>Verticillium dahliae</i>	1	1	Picholine
Mondelaco	<i>Pseudophaeomoniella oleae</i>	2	2	Buža
POREČKO-VRSARSKO maslinarsko uzgojno područje (3)				
Poreč	<i>Diatrype stigma</i> <i>Phoma macrostoma</i>	7 2	12	Buža (Karbonaca, Rosinjola i Bova)
Barat (Višnjan)	<i>Armillaria mellea</i>	3	3	Leccino
Antonci (Tar)	<i>Verticillium dahliae</i>	1	1	Porečka rosulja
BUJSKO-UMAŠKO maslinarsko uzgojno područje (3)				
Valice (Butoniga)	<i>Armillaria mellea</i>	3	3	Istarska bjelica, Leccino, Coratina i Pendolino
Baredine	<i>Verticillium dahliae</i>	1	2	Črna
Fiorini (Radini)	<i>Pleurostomophora richardsiae</i>	1	6	Miješane talijanske sorte
VODNJANSKO-PULSKO maslinarsko uzgojno područje (8)				
Vodnjan	<i>Verticillium dahliae</i>	2	8	Leccino i Istarska bjelica
Vodnjan	<i>Verticillium dahliae</i>	2	4	Buža

Vodnjan	<i>Verticillium dahliae</i> <i>Neofusicoccum parvum</i>	3 1	12	Buža i Karbonaca
Vodnjan	<i>Diaporthe neotheicola</i> <i>Geosmithia</i> sp.	3 12	8	Buža
Galižana	<i>Pleurostomophora richardsiae</i>	1	1	Buža, Leccino i Picholine
Crni (Labin)	<i>Verticillium dahliae</i>	2	3	Plominka
Vodnjan	<i>Armillaria mellea</i>	3	3	Istarska bjelica
Marčana	<i>Verticillium dahliae</i>	1	2	Buža
Ukupno:	23	10	78	103

1. *Verticillium dahliae* Kleb., verticilioza ili začepljenje provodnih snopova, '*Verticillium wilt* (VW)'

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Hypocreomycetidae, Glomerellales, Plectosphaerellaceae, *Verticillium*.

Najveći broj izolata sakupljenih u istraživanju sa simptomatičnih stabala masline pripadao je vrsti *Verticillium dahliae* Kleb. Fitopatogena gljiva *V. dahliae* uzrokuje začepljenje provodnih snopova kod stabala masline (Slike 3 - 10), a smatra se najvažnijim i najštetnijim uzročnikom bolesti maslina u svijetu. Prvotno je otkrivena u Italiji 1946. godine. U Španjolskoj je utvrđena 1980. godine, nakon čega su uslijedili nalazi u drugim mediteranskim zemljama. U Hrvatskoj je na maslini potvrđena tek 2016. godine (Kaliterna i sur., 2016a). O ovoj se vrsti fitopatogene gljive već ranije pisalo u domaćim znanstvenim i stručnim časopisima i knjigama (Cvjetković, 2010; Kaliterna i sur., 2016b; Godena i sur., 2018; Godena 2015a i Godena 2015b).

Razlikuju se dva sindroma ove bolesti, akutni oblik, tzv. „apopleksija ili brzo venuće“ i kronični oblik tzv. „polaganog venuće“. „Apopleksija“ je karakterizirana venućem glavnih i sporednih grana, koje se javlja u mediteranskim klimatskim uvjetima uglavnom u kasnu zimu (do početka proljeća). Prvo listovi postaju klorotični, a zatim svijetlosmeđi, progresivno se uvrćući prema unutra, ostajući pritom na zahvaćenim granama. Konačni rezultat je brzo i drastično sušenje izbojka i grana. Kad se ovaj sindrom javlja kod mladih biljaka, vrlo često odumire čitavo stablo. Sindrom „polaganog venuće“ karakterizira obilna defolijacija (zeleno ili zelenkasto lišće), folijarna klorozna te mumifikacija i odumiranje cvatova, koje počinje u proljeće te simptomi polako napreduju do početka ljeta. Kod ovog gljivičnog oboljenja, pogodjene grane (ponekad i deblo) često mijenjaju boju u ljubičastu, te se mogu vidjeti vertikalne nekrotične lezije ksilema.

Izolati *V. dahliae* kod masline se klasificiraju u patotipove koji uzrokuju defolijaciju (tzv. patotip D) i one koji ne uzrokuju defolijaciju (patotip ND), prema njihovoj sposobnosti da uzrokuju potpunu defolijaciju zelenih listova. Patotip D je vrlo virulentan i uzrokuje izražene simptome, uključujući venuće, klorozu, defolijaciju, patuljavost i odumiranje čitavog stabla. Nedavne

epidemiološke studije u svijetu potvrdile su da se ovaj najštetniji patotip *V. dahliae* alarmantno širi. Patotip ND uzrokuje gotovo iste simptome kod masline kao i patotip D, iako u blažem ili umjerenijem stupnju. Prema literaturi i izvješćima iz Grčke, Španjolske, Sirije i Maroka, obično su jače pogodjeni bolešću mladi maslinici (5-10 godina starosti), a kao glavni razlog smatra se prethodni uzgoj osjetljivih kultura (krumpir, rajčica, lucerna, čak i maslina sama).

U ovom istraživanju utvrđeno je ukupno 28 izolata vrste *V. dahliae* (Slika 7). Molekularnom karakterizacijom izolata *V. dahliae* utvrđeno je da istarski izolati pripadaju manje agresivnom tipu *V. dahliae* (ND-tipu, nedefolijacijskom patotipu), te da u ovim uzorcima nije utvrđen agresivni tip ove vrste (D-tip, defolijacijski patotip). Prema geografskoj raširenosti, fitopatogena gljiva *V. dahliae* utvrđena je u svim istraživanim maslinarskim uzgojnim područjima, odnosno na ukupno 14 lokacija u Istri (Slika 2 i Tablica 2). Ova vrsta ujedno je utvrđena i ranije u Istri u Vodnjantu na sortama Buža i Istarska bjelica (Kaliterna i sur., 2016a i Kaliterna i sur., 2016b). Učestalost pojave *V. dahliae* upućuje na raširenost gljive u Istri, što može predstavljati relativno ozbiljan problem u maslinarstvu. U svijetu je ova vrsta veoma raširena u Španjolskoj (García-Ruiz i sur., 2015; López-Escudero i Mercado-Blanco, 2011).

Prema podacima iz literature, najpovoljnija temperatura zraka za razvoj verticilioze je od 22 do 25 °C (López-Escudero i Mercado-Blanco, 2011), što bi na području Istre bilo negdje u periodu od početka lipnja do kraja kolovoza. Međutim, ako su tijekom ljetnih dana temperature iznad 25 °C tijekom duljeg vremenskog perioda, širenje patogena i razvoj simptoma se zaustavlja.

Prema podacima iz literature (Calderón i sur., 2014), optimalna temperatura tla za infekciju ND patotipa je u rasponu od 16 do 20 °C, što bi na području Istre odgovaralo periodu od travnja do svibnja, te od rujna do listopada. Za razliku od ND patotipa, D patotip ima nešto viši raspon, od 16 do 24 °C što se tiče sorte Picual i 20 do 24 °C kod sorte Arbequina. Niži temperaturni optimum za razvoj patotipa ND ove vrste može objasniti zašto se taj patotip nalazi na geografski ograničenim i hladnijim područjima južne Španjolske, dok patotip D nalazimo u toplijim područjima Španjolske (Calderón i sur., 2014).

Najvažnija mjeru zaštite masline, a ujedno i najekonomičnija i ekološki najpovoljnija od ovog patogena je sadnja otpornih sorti. Prema literaturi, otporne sorte su Frantoio i Coratina, a Leccino, Ascolana Tenera i Oblica su osjetljive. Leccino je u nekim slučajevima spomenut i kao ekstremno osjetljiva sorta. Pretpostavlja se da prekomjerna gnojidba dušikom, osobito kombinirana s prekomjernim navodnjavanjem ili zalijevanjem u visokoj učestalosti, mogu povećati učestalost i jačinu infekcije. Obrada tla također je važan mehanizam širenja fitopatogene gljive *V. dahliae* unutar i među kultiviranim parcelama. Kako bi se izbjeglo širenje ovog patogena, korove bi trebalo suzbijati herbicidima. Simptomatične izbojke i grane zaraženih stabala treba odstraniti rezidbom i uništiti (preporučuje se spaljivanje), kako bi se izbjeglo daljnje širenje unutar nasada. Također, unatoč trošku, opalo zeleno lišće treba ukloniti, budući je važan izvor inokuluma i ključni faktor u širenju patogena unutar i između susjednih nasada masline. Od ostalih mjeru zaštite treba spomenuti i solarizaciju tla, no njena je mana visoka cijena. Nove metode zaštite od te bolesti u svijetu usmjeravaju se na smanjenje inokula u tlu. Obećavajući rezultati postignuti su uzgojem

nekih kultura iz porodice krstašica (Brassicaceae) poput uljane rotkve, smeđe ili crne gorušice te primjenom mikrobioloških gnojiva ili fungicida prije sadnje. Važna mjera sprječavanja širenja inokula i zaraze je izbjegavanje povrćarskih međuusjeva u maslinicima ili povrćarskih usjeva u neposrednoj blizini maslinika, što je katkad slučaj na manjim površinama u Istri.



Slika 3. *Verticillium dahliae* Kleb. uzročnik začepljenja provodnih snopova na maslini, 26. 09. 2016., detalj (foto: S. Godena).



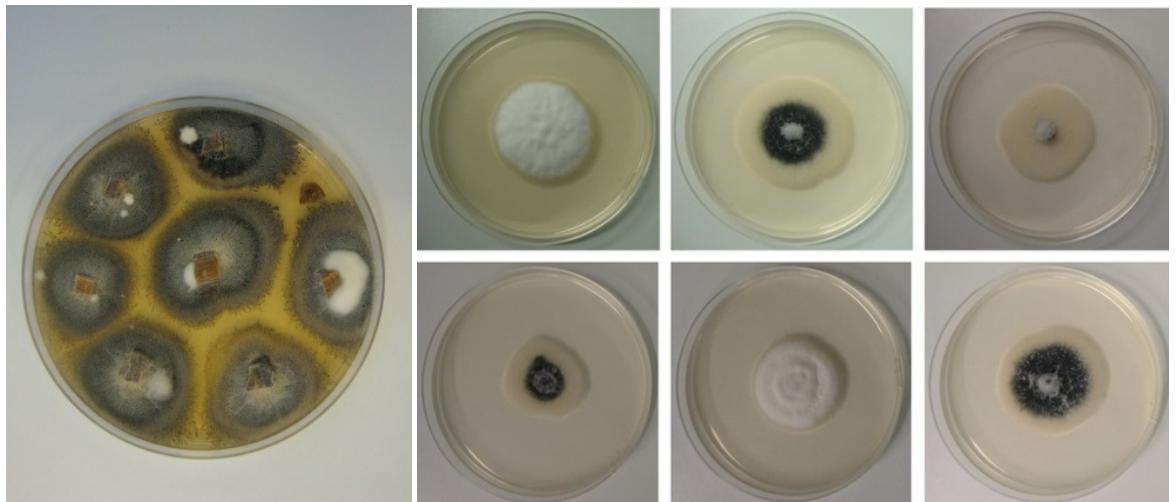
Slika 4. Zatamnjivanje provodnih snopova na presjeku grane masline uslijed zaraze s *Verticillium dahliae*, 6.12.2016. Ovakav tip simptoma na maslini je rijedak (foto: D. Ivić).



Slika 5. Sušenje stabla uslijed verticilioze – verticilijsko venuće, 28. 09. 2016. (foto: D. Ivić).



Slika 6. Simptomi verticilioze na maslini u okolini Labina, 6. 12. 2016. (foto: S. Godena).



Slika 7. *Verticillium dahliae* na umjetnoj hranjivoj podlozi (lijevo) i izolati *Verticillium dahliae* (izolati Ver/Sg4, Ver/Sg7, Ver/SG8, Ver/SG9, Ver/SG21 i Ver/SG26) na KDA nakon 7 dana inkubacije (desno) (foto: D. Ivić).



Slika 8. Djelomično sušenje stabla uslijed verticiloze – verticilijsko venuće, 28. 09. 2016. (foto: D. Ivić).



Slika 9. Osušene grane s otpalim lišćem – verticilijsko venuće, 28. 09. 2016. (foto: D. Ivić).



Slika 10. Sušenje zamenutih plodića i rodnih grančica (lijevo), smežurani plodovi na rodnim grančicama uslijed zaraze s *Verticillium dahliae* (sredina) i žućenje lišća u krošnji masline, nerijetko prvi simptom verticilijskog venuća, (desno), 28. 09. 2016. (foto: D. Ivić).

2. *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm., bijela trulež korijena (mednjača ili puza) *

* = fitopatogene gljive koje su prvi put utvrđene na maslini u Istri odnosno u Republici Hrvatskoj

Klasifikacija: Fungi, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Agaricomycetidae, Agaricales, Physalacriaceae, *Armillaria*.

Vrsta *Armillaria mellea* može se smatrati jednim od najštetnijih biljnih patogena uopće (utvrđena je na više od 600 biljnih domaćina) i važnim uzročnikom bolesti masline u Hrvatskoj. Opisana je u Hrvatskoj i poznata već skoro 100 godina (Đorđević, 1926; Vesjak, 1923; Katalinić i sur., 2009; Cvjetković, 2010). Simptomi kod ove gljive uključuju klorozu, sušenje vrhova grana i rijetku košnju. Kasnije listovi poprimaju žutu boju, pa smeđu, ali ne otpadaju. Nakon toga nastupa kolaps i stabla se suše, budući da gljiva prodire u korijenov vrat čime se prekida koljanje vode i hranjivih tvari. Kod zaraženih biljaka ova vrsta smanjuje sposobnost apsorpcije i usvajanja vode (Loreto i sur., 1993). Karakteristični simptomi vidljivi su ako se takvo stablo zareže na mjestu korijenova vrata. Tkivo ispod kore na korijenovom vratu vlažno je i meko, raspada se i prekriveno je debljim ili tanjim naslagama bijelog micelija (Slike 11 i 13), a simptomatični dijelovi kore ili drva imaju karakterističan miris „po gljivi“. Od 2013. godine ova je fitopatogena gljiva utvrđena na nekoliko lokacija u Republici Hrvatskoj, a najviše je slučajeva zabilježeno baš u Istri (Ivić i Godena, 2017).

U ovom je istraživanju utvrđeno ukupno 12 izolata ove vrste (Slika 14) na četiri lokacije. U svim slučajevima zaraze vrstom *A. mellea* (trulež korijena ili bijela trulež korijena), zaražena stabla su pokazivala simptome kloroze lišća i sušenje vrhova grana, dok su se stabla ili sušila ili su imala kronične simptome odumiranja (Slike 12, 15, 16 i 17). Ova je vrsta utvrđena u Istri u svim istraživanim maslinarskim uzgojnim područjima, odnosno na području Bala, Višnjana, Butonige i Vodnjana (Tablica 2), kao i u Dalmaciji na otoku Ugljan. Pojava ove gljive može se dovesti u vezu s

podizanjem maslinika na krčevinama šume ili makije. Mjere zaštite uglavnom su preventivne. Jedna od mjera je otkopavanje korijenovog vrata na stablima u poznatim žarištima zaraze, tj. oko prizemnog dijela biljke otkopa se zemlja do korijena i takva se jama drži otvorenom. Izlaganje gljive toplini i suši dovodi do njena povlačenja. Druga je mjeru biološka zaštita korištenjem antagonističkih gljiva iz roda *Trichoderma*. Na tržištu postoje dva pripravka, Tellus WP® i Patriot Dry®. Oba sredstva djeluju preventivno i primjenjuju se prije zaraze.



Slika 11. Bijeli micelij *Armillaria mellea* ispod kore prizemnog dijela debla 19. 04. 2017. (foto: D. Ivić).



Slika 12. Žućenje i nekroza lišća – prvi simptomi zadnjih faza zaraze s *Armillaria mellea*. Nakon pojave tih simptoma, u pravilu slijedi sušenje stabla, 29. 09. 2016. (foto: D. Ivić).



Slika 13. Naslage bijelog micelija *Armillaria mellea* na korijenovom vratu 20. 04. 2017. (foto: D. Ivić).



Slika 14. *Armillaria mellea* u čistoj kulturi nakon 28 dana inkubacije (foto: D. Ivić).



Slika 15. Trulež korijenovog vrata na stablu masline uzorkovana vrstom *Armillaria mellea*, 20. 04. 2017. (foto: D. Ivić).



Slika 16. Simptomi žućenja lišća i odumiranja stabla masline uzrokovan gljivom *Armillaria mellea*, područje Bala, 29. 09. 2016. (foto: S. Godena).



Slika 17. Osušeno stablo uslijed zaraze vrstom *Armillaria mellea*, 20. 04. 2017. (foto: D. Ivić).

3. *Geosmithia* sp.*

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Hypocreomycetidae, Hypocreales.

Utvrđeno je ukupno 12 izolata ove vrste, a vrsta je utvrđena samo na jednoj lokaciji unutar vodnjansko-pulskog maslinarskog uzgojnog područja. Vrsta *Geosmithia* sp., koja je izolirana iz simptomatičnih stabala, ne navodi se u literaturi kao patogena za maslinu. U testovima patogenosti, izolat *Geosmithia* sp. nije se pokazao patogenim na četverogodišnjim stablima masline.

4. *Diatrype stigma* *

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Xylariomycetidae, Xylariales, Diatrypaceae, *Diatrype*.

Ova vrsta utvrđena je kao patogen na maslini (Úrbez-Torres i sur., 2013), ali i na vinovoј lozi.

U ovom istraživanju utvrđeno je devet izolata ove vrste (Slika 18), a gljiva je utvrđena u rovinjskom i porečko-vrsarskom maslinarskom uzgojnom području na dva lokaliteta. U testovima patogenosti, izolat *D. stigma* nije se pokazao patogenim na inokuliranim četverogodišnjim stablima masline.



Slika 18. *Diatrype stigma* izolat EuM/SG-1 na KDA nakon 21 dan inkubacije (foto: D. Ivić).

5. *Pseudophaeomoniella oleae* *

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Eurotiomycetes, Chaetothyriomycetidae, Phaeomoniellales, *Pseudophaeomoniella*.

Do sada ova gljiva je utvrđena kao patogena jedino u Italiji u pokrajini Lecce (regija Apulija) (Nigro i sur., 2015). Tijekom ovog istraživanja ukupno je utvrđeno šest izolata ove vrste (Slika 19).

Gljiva je utvrđena jedino u rovinjskom maslinarskom uzgojnom području i to na tri lokaliteta. U testovima patogenosti, izolat *P. oleae* nije se pokazao patogenim na četverogodišnjim stablima masline.



Slika 19. *Pseudophaeomoniella oleae* izolati PhM/SG13 na KDA nakon 25 dana inkubacije (foto: D. Ivić).

6. *Diaporthe (Phomopsis) neotheicola* *

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Sordariomycetidae, Diaporthales, Diaporthaceae, *Diaporthe*.

Ova vrsta utvrđena je nedavno prvi put u Apuliji u Italiji (Frisullo i sur., 2015). Vrsta *Diaporthe neotheicola* je utvrđena samo u vodnjansko-pulskom maslinarskom uzgojnom području na jednom lokalitetu. Ukupno je utvrđeno kako tri izolata pripadaju rodu *Phomopsis* (*Diaporthe*). U testovima patogenosti, izolat *D. neotheicola* se pokazao kao slabi patogen na inokuliranim četverogodišnjim stablima masline.

7. *Diplodia seriata*

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Dothideomycetes, Botryosphaerales, Botryosphaeriaceae, *Diplodia*.

Iz nekrotičnih lezija i rak-rana na simptomatičnim maslinama izolirano je osam izolata za koje je analizom morfologije utvrđeno da pripadaju porodici Botryosphaeriaceae (Slika 20). Izolate za koje je utvrđeno da pripadaju rodovima *Diplodia* analizirani su sekvenciranjem dijela ITS1-5.8S-ITS2 ribosomalne DNA ili dijela gena translacijskog elongacijskog faktora 1α. Izolati su identificirani kao vrsta *D. seriata*.

Ukupno je utvrđeno tri izolata vrste *Diplodia seriata*. Vrsta *D. seriata* je već ranije utvrđena u dva maslinika u Istri na sortama Pendolino i Leccino (Kaliterna i sur., 2012a i Kaliterna i sur.,

2012b). Osim toga, vrsta je prisutna i na vinovoj lozi. Ova je vrsta utvrđena samo u rovinjskom maslinarskom uzgojnom području na tri lokaliteta. U testovima patogenosti dokazana je patogenost vrste *D. seriata* na inokuliranim četverogodišnjim stablima masline.



Slika 20. Rak na deblu masline. Iz lezija na stablima s takvim tipom simptoma izolirane su vrste iz porodice Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata* i *Neofusicoccum parvum*), 28. 09. 2016. (foto: S. Godena i D. Ivić).

8. *Pleurostomophora richardsiae* *

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Calosphaerales, Pleurostomataceae, *Pleurostomophora*.

Prema dostupnim podacima, *P. richardsiae* prvi put je utvrđena u Italiji, a u svijetu je prisutna kao vrlo agresivan parazit masline (Carlucci i sur., 2013).

U dva maslinika utvrđeni su vrlo karakteristični i neobični simptomi lezija na granama, slab vigor i odumiranje stabala uz pojavu nekroza ispod kore. Riječ je o nalazu vrste *P. richardsiae* (Ivić i sur., 2018). Ukupno je utvrđeno dva izolata navedene vrste (Slika 21 - 23). Gljiva *P. richardsiae* utvrđena je na dva lokaliteta u bujsko-umaškom i vodnjansko-pulskom maslinarskom uzgojnom području. Nalaz vrste *P. richardsiae* na maslini u Istri predstavlja drugi nalaz te gljive kao patogena masline u svijetu.



Slika 21. Odumiranje stabla masline uzrokovano gljivom *Pleurostomophora richardsiae*, 28. 09. 2016.
(foto: D. Ivić).



Slika 22. Nekroze na korijenovom vratu odumirućeg stabla masline iz kojih je izolirana gljiva *Pleurostomophora richardsiae*, 28. 09. 2016. (foto: D. Ivić).



Slika 23. Lezije na granama masline iz kojih je izolirana gljiva *Pleurostomophora richardsiae*, 14. 09. 2016. (foto: D. Ivić).

9. *Phoma macrostoma* *

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Dothideomycetes, Pleosporomycetidae, Pleosporales, *Phoma*.

Dva izolata, izolirana u ovom istraživanju, pripadala su rodu *Phoma* i identificirani su na temelju sekvenciranja ITS1/ITS4 regije kao *Phoma macrostoma*. Vrsta je utvrđena jedino u porečko-vrsarskom uzgojnom području i to na jednom lokalitetu. Prema podacima iz literature, ta vrsta se ne ubraja u parazite masline i vjerojatno je riječ o endofitu, koji nije vezan uz pojavu simptoma na stablima.

U Hrvatskoj je u Dalmaciji (otok Brač) utvrđena druga gljiva iz roda *Phoma* na maslini, a to je vrsta *Phoma incompta* (Ivić i sur., 2010). Vrsta se pokazala patogenom, no nije utvrđena u Istri u okviru ovog projekta.

10. *Neofusicoccum parvum* *

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Dothideomycetes, Botryosphaerales, Botryosphaeriaceae, *Neofusicoccum*.

Iz nekrotičnih lezija i rak-rana na simptomatičnim maslinama izolirano je osam izolata za koje je analizom morfologije utvrđeno da pripadaju porodici Botryosphaeriaceae. Identifikacija vrsta, izolata iz ove porodice, se utvrdila sekvenciranjem ITS1/ITS4 regije gena i gena za elongacijski faktor (EF regija). Gljiva *N. parvum* je potvrđena kao uzročnik bolesti na maslini u Italiji (Carlucci i sur., 2013), a osim na maslini prisutna je još na vinovoj lozi, te na velikom broju drvenastih domaćina. Ukupno je utvrđen samo jedan izolat ove vrste na maslini u Istri i to samo na jednom lokalitetu u vodnjansko-pulskom maslinarskom uzgojnom području (Slika 24).



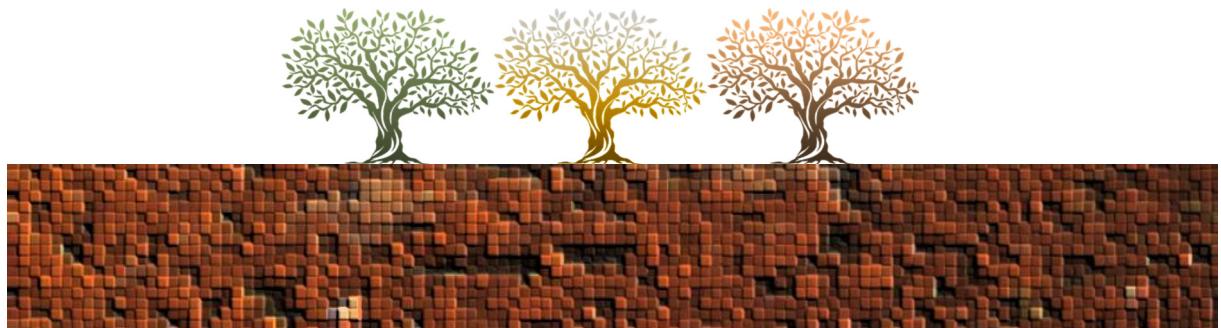
Slika 24. Rak na višegodišnjoj grani masline. Iz lezija na stablima s takvim tipom simptoma izolirane su vrste iz porodice Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata* i *Neofusicoccum parvum*), 29. 09. 2016. (foto: D. Ivić).

11. *Biscogniauxia mediterranea* *

Klasifikacija: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Xylariomycetidae, Xylariales, Graphostromataceae, *Biscogniauxia*.

U ovom istraživanju utvrđen je samo jedan izolat vrste *Biscogniauxia mediterranea* na bujsko-umaškom uzgojnном području. Gljiva je prema literaturi uzročnik bolesti na hrastovima te se ne navodi kao patogen na maslini.

Kemijska analiza prikupljenih uzoraka tla



Nakon provedene dijagnostike, kod maslina kod kojih su utvrđeni patogeni koji čine štete na korijenu (*V. dahliae* i *A. mellea*), prikupljeni su i uzorci tla, kako bi se provela kemijska analiza istih. Kemijskom analizom tla utvrđeni su: pH tla, količina makroelemenata N, P i K i organske tvari. Na ukupno 12 lokaliteta, sondom s dubine od 30 cm, uzorkovano je tlo za navedenu analizu. U rovinjskom maslinarskom uzgojnom području ukupno je prikupljeno pet, u porečko-vrsarskom jedan, u bujsko-umaškom dva i u vodnjansko-pulskom četiri uzorka. Uzorci su prikupljeni tijekom proljeća 2017. godine, odnosno 30. 03. na području Vodnjana, 31. 03. na području Poreča, 4. 04. na području Rovinja i 13. 06. na području Butonige. Kod utvrđene gljive *V. dahliae*, prikupljeno je 10 uzorka tla, a kod *A. mellea* tri uzorka tla. Ukupno je bilo 12 uzorka tla (budući su kod jednog uzorka utvrđene obje vrste).

Istraživanjem je obuhvaćeno obalno područje Istre (umaško područje, Poreč i Rovinj), kao i unutrašnjost (bujsko područje i Vodnjani), odnosno područja tipične istarske crvenice. Kemijska analiza tla provedena je u Pedološkom laboratoriju Instituta za poljoprivredu i turizam u Poreču. Pedološke analize su pokazale razlike između analiziranih uzoraka tla (Tablica 3).

Iz tablice je vidljivo da se prosječni pH u H₂O i KCl-u na istraživanim maslinarskim uzgojnim područjima, kretao od kiselog do alkalnog. Prosječna količina organske tvari kretala se od slabo humognog tla do dosta humognog tla.

Prema autorima López-Escudero i Mercado-Blanco (2011), tla kisele reakcije (< pH 5,5) inhibiraju rast *V. dahliae* te stvaranje i opstanak mikrosklerocija. Isti autori navode da se ovaj patogen obično razvija u tlu neutralne do alkalne reakcije tla (pH 6-9). Naši rezultati poklapaju se s rezultatima navedenih autora. Iz tablice je vidljivo kako je kod uzorka s najnižim prosječnim pH (4,84) utvrđena vrsta *A. mellea*, a ne *V. dahliae*. Spomenuti autori, u svojim istraživanjima, također navode da povećanje kalija u tlu dovodi do ublažavanja simptoma verticilijskog venuća. Rezultati našeg istraživanja podudaraju se s rezultatima njihova istraživanja. Uzorci tla prikupljeni u maslinicima u kojima je dijagnosticirana spomenuta fitopatogena gljiva bili su slabo kisele do alkalne reakcije. Najniži pH je zabilježen u rovinjskom i vodnjansko-pulskom, a najviši u bujsko-umaškom uzgojnem području. S obzirom na biljci pristupačan kalij, navedena tla su većinom bila dobro ili bogato opskrbljena tim makroelementom, dok je kod dva uzorka utvrđen izraziti višak istog (>45,0 K₂O/100 g tla). Najniža količina kalija utvrđena je u bujsko-umaškom, a najviša u porečko-vrsarskom uzgojnem području. Isto tako, tla su bila dobro opskrbljena dušikom, dok su količine fosfora u tlu najviše varirale, od vrlo slabo u bujsko-umaškom do dobro opskrbljenog tla u porečko-vrsarskom području.

Tablica 3. Rezultati kemijskih analiza tla prikupljenih u Istri (pH, ukupni N, P, K, te organska tvar).

Broj uzoraka/Lokalitet/ maslinarsko- uzgojno područje	pH (u H ₂ O) (u KCl)	N ukupni (%)	Biljci pristupačan fosfor (mg P ₂ O ₅ /100 g tla)	Biljci pristupačan kalij (mg K ₂ O/100 g tla)	Organska tvar (%)	Utvrđena fitopatogenična gljiva
	<i>Optimum:</i> 6,6-7,3 6,5-7,2	<i>Optimum:</i> 0,11-0,20	<i>Optimum:</i> 11-25	<i>Optimum:</i> 15-28	<i>Optimum:</i> 3,0-5,0	
1. Vodnjan	8,10 7,12	0,18	29,91	32,50	3,08	<i>Verticillium dahliae</i>
2. Vodnjan	7,55 6,20	0,14	2,84	18,40	2,41	<i>Verticillium dahliae</i>
3. Vodnjan	7,98 7,18	0,26	37,17	>45,00	4,46	<i>Verticillium dahliae</i>
4. Marčana	6,40 5,08	0,17	4,19	21,00	2,82	<i>Verticillium dahliae</i>
prosjek		7,51	0,19	18,53	29,23	3,19
VODNJANSKO- PULSKO		6,40				
5. Barat (Višnjan)	6,23 4,84	0,20	20,20	>45,00	3,36	<i>Armillaria mellea</i>
prosjek						
POREČKO- VRSARSKO		6,23	0,20	20,20	>45,00	3,36
		4,84				
6. Baredine	7,84 7,25	0,18	5,38	17,00	3,06	<i>Verticillium dahliae</i>
7. Butoniga	7,58 7,07	0,22	5,47	13,00	3,69	<i>Armillaria mellea</i>
prosjek						
BUJSKO-UMAŠKO		7,71	0,20	5,44	15,00	3,38
		7,16				
8. Rovinj (Palud)	7,63 6,54	0,15	15,15	34,00	2,51	<i>Verticillium dahliae</i>
9. Rovinj (Cocaletto)	7,98 6,99	0,15	19,24	35,00	2,43	<i>Verticillium dahliae</i>
10. Bale	7,60 6,59	0,13	15,04	29,00	2,08	<i>Verticillium dahliae i Armillaria mellea</i>
11. Rovinj (Valalta)	7,80 6,96	0,19	10,61	27,50	3,14	<i>Verticillium dahliae</i>
12. Rovinj	6,49 5,38	0,11	10,13	34,50	1,86	<i>Verticillium dahliae</i>
prosjek						
ROVINJSKO		7,50	0,15	14,04	32,00	2,40
		6,49				

Mikrometeorološki podaci s meteostanica i službeni meteorološki podaci DHMZ

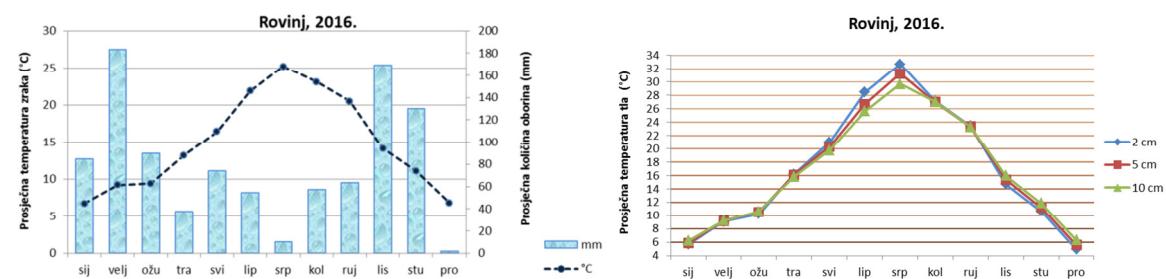


U 2016. i 2017. godini na četiri lokaliteta, Cocaletto (kod Rovinja), Butoniga, Vodnjan i Poreč pratili su se klimatski elementi (srednja dnevna temperatura i relativna vлага zraka te količina oborina) pomoću bežičnih TFA Nexus meteostanica (Slika 25). Na dubinama od 2, 5 i 10 cm, očitavala se i temperatura tla, a korišteni su i podaci Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ). Vlagu tla mjerena je pomoću tenziometra/irometra (SR 45 cm).

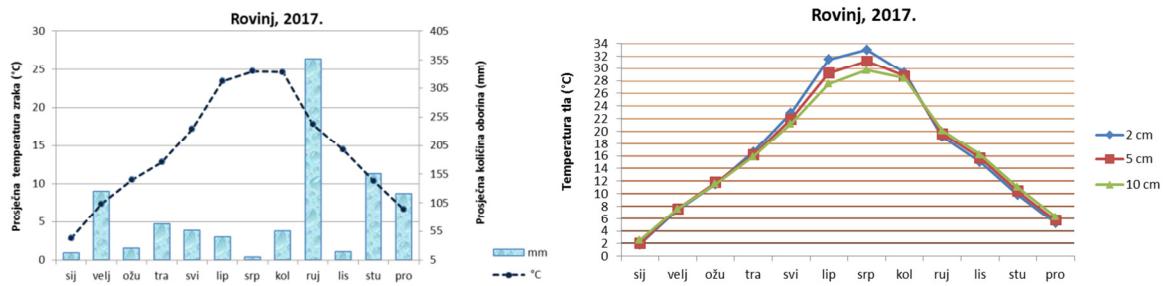
Razlike u meteopodacima između spomenutih lokaliteta prikazane su u Tablici 4 i grafikonima (Grafikon 1 - 8).



Slika 25. Termohigrometar TFA Nexus (lijevo); kišomjer (ombrograf) TFA Nexus (sredina) i irometar (tenziometar) (desno), okolica jezera Butonige, 9. 08. 2017. (foto: S. Godena).



Grafikon 1. Pregledni prikaz godišnjeg hoda temperature zraka i oborine na području Rovinja u 2016. godini i godišnji hod temperature tla na različitim dubinama na području Rovinja u 2016. godini (izvor: DHMZ).



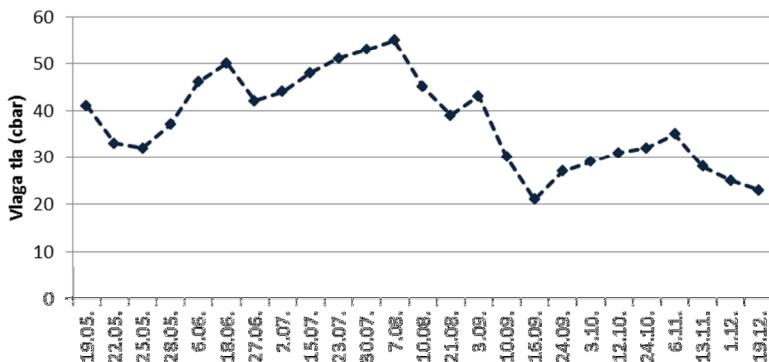
Grafikon 2. Pregledni prikaz godišnjeg hoda temperature zraka i oborina na području Rovinja u 2017. godini i godišnji hod temperature tla na različitim dubinama na području Rovinja u 2017. godini (izvor: Nexus meteostanica i DHMZ).

Tablica 4. Godišnje vrijednosti klimatskih elemenata na različitim lokalitetima u Istri u 2016. i 2017. godini.

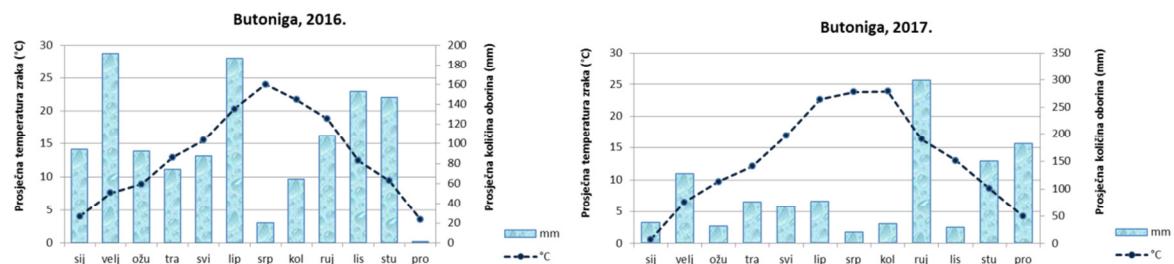
Rovinj	2016.	2017.
Temperatura zraka (°C)	14,8	14,4
Količina oborina (mm)	79,6	87,9
Relativna vlažnost zraka (%)	73,2	71,6
Temperatura tla na 2, 5 i 10 cm (°C)	17,0; 16,9; 16,8	17,0; 16,7; 16,5
Vrijednost na tenziometru (cbar/Kbar)	(-)	37,6
Butoniga		
Temperatura zraka (°C)	13,3	13,2
Količina oborina (mm)	101,7	94,2
Relativna vlažnost zraka (%)	84,8	(-)
Vodnjan		
Temperatura zraka (°C)	(-)	17,3
Količina oborina (mm)*	97,1*	84,1*
Relativna vlažnost zraka (%)	(-)	66,1
Temperatura tla (°C)	(-)	17,5
Vлага tla (cbar)**	(-)	71,1**
Poreč		
Temperatura zraka (°C)	14,6	14,2
Količina oborina (mm)	94,9	95,0
Relativna vlažnost zraka (%)	72,6	70,6
Vrijednost na tenziometru (cbar/Kbar)	(-)	44,9

(-) = nema podataka; * = godišnji podaci; ** = podaci dobiveni drugim mjernim instrumentom u razdoblju od 11. 04. do 31. 12. 2017.

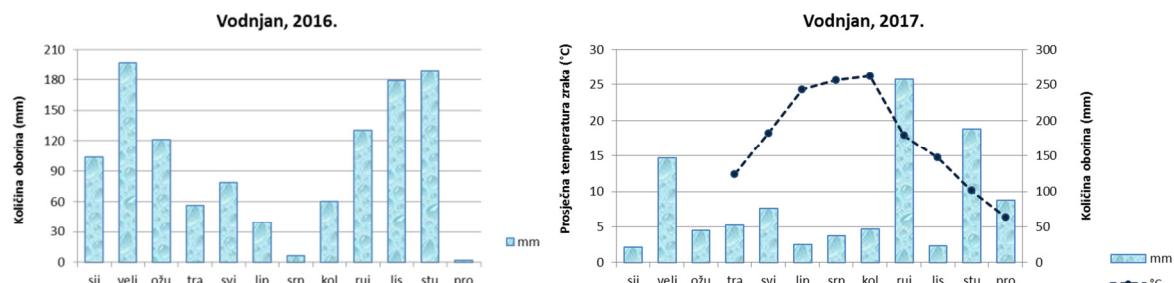
Rovinj, 2017.



Grafikon 3. Pregledni prikaz hoda vlage u tlu na području Rovinja od 19.05. do 19.12.2017. godine očitane na tenziometru/irometru (vrijednosti od 0 do 10 cbar ili kPa = vodom natopljeno zemljište; 30 = zemljište ima dovoljno vlage; 70 = zemljište ima malo vlage; od 70 i više = stresna vrijednost, tj. zemljište ima premalo vlage).

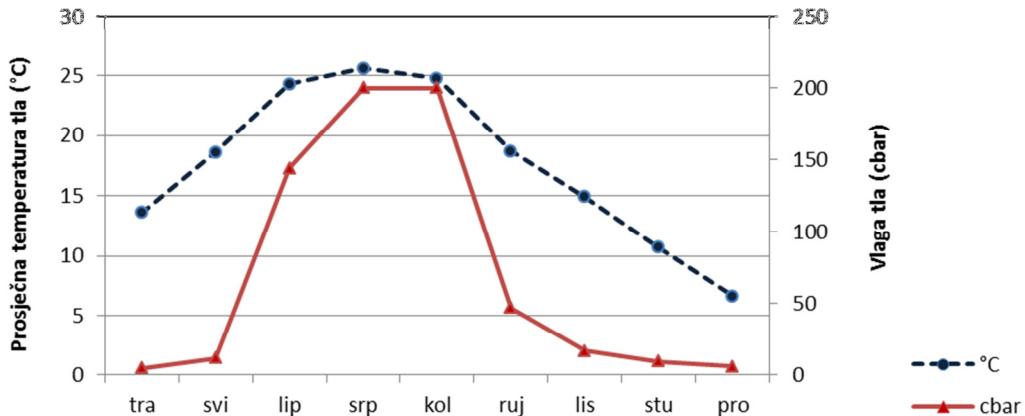


Grafikon 4. Pregledni prikaz godišnjeg hoda temperature zraka i oborine na području Butonige u 2016. godini i u 2017. godini (izvor: Nexus meteostanica i DHMZ).

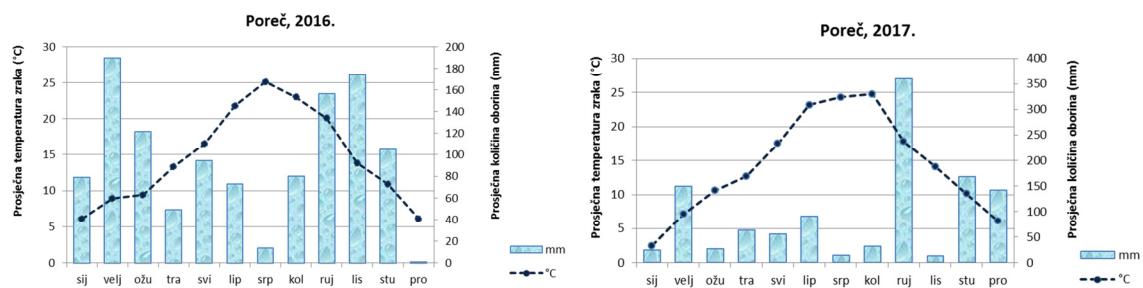


Grafikon 5. Pregledni prikaz godišnje količine oborina (2016. godina) na području Vodnjana, pregledni prikaz godišnjeg hoda temperature zraka od 11. 04. do 31. 12. 2017. godine i godišnja količina oborina na području Vodnjana u 2017. godini (izvor: Nexus meteostanica i DHMZ).

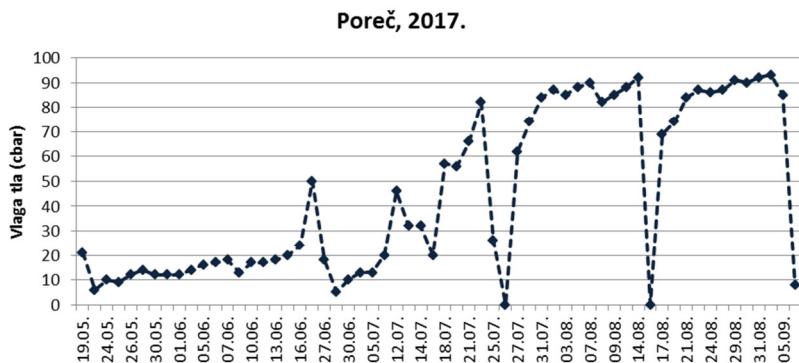
Vodnjan, 2017.



Grafikon 6. Pregledni prikaz hoda temperature tla i vlage u tlu na području Vodnjana od 11. 04. do 31. 12. 2017. godine.



Grafikon 7. Pregledni prikaz godišnjeg hoda temperature zraka i oborine na području Poreča u 2016. i 2017. godini (izvor: DHMZ).



Grafikon 8. Pregledni prikaz hoda vlage u tlu na području Poreča od 19. 05. do 7. 09. 2017. godine očitane na tenziometru/irometru (vrijednosti od 0 do 10 cbar ili kPa = vodom natopljeno zemljište; 30 = zemljište ima dovoljno vlage; 70 = zemljište ima malo vlage; od 70 i više = stresna vrijednost, tj. zemljište ima premalo vlage).



Test patogenosti i praćenje simptoma na biljkama



U vrtnom plasteniku Instituta za poljoprivredu i turizam u Poreču ukupne površine 96 m^2 uzgojile su se sadnice maslina za daljnja istraživanja. Biljke su se zalijevale jedan do dva puta na tjedan, ovisno o potrebi. Od listopada 2017. do listopada 2018. godine provedeni su testovi patogenosti. Ukupno se testiralo osam ranije utvrđenih fitopatogenih gljiva (Tablica 5). Na ukupno 60 dvogodišnjih sadnica maslina sorte Buža, Karbonaca, Rosinjola, Istarska bjelica, Leccino i Frantoio testirala se fitopatogena gljiva *V. dahliae* (Slika 26). Testirano je 10 biljaka, odnosno za svaku sortu bilo je sedam ponavljanja i tri kontrole. Supstrat dvogodišnjih sadnica zalijevan je suspenzijom od sedam različitih izolata vrste *V. dahliae* koncentracije 10^4 mikrosklerocija/ml. Kontrolne biljke zalijevale su se samo destiliranom vodom.



Slika 26. Dvogodišnje sadnice masline umjetno zaražene vrstom *V. dahliae* u plasteniku Instituta za poljoprivredu i turizam u Poreču, 28. 06. 2018. (foto: S. Godena).

Supstrat kod dvogodišnjih sadnica nije bio svugdje podjednak. Buža i Istarska bjelica su se nalazile u loncima s crvenicom, dok su druge sorte bile u miješanom supstratu.

Tablica 5. Izolati fitopatogenih gljiva koji su korišteni u testu patogenosti.

Red.br.	Uzročnik
1.	<i>Diplodia seriata</i> MSG-1
2.	<i>Neofusicoccum parvum</i> MSG-3
3.	<i>Diatrype stigma</i> MSG-12
4.	<i>Diaporthe (Phomopsis) neotheicola</i> MSG-18
5.	<i>Geosmithia</i> sp. DI-4
6.	<i>Pleurostomophora richardsiae</i> ZT 1/17, PI 2-17
7.	<i>Pseudophaeomoniella oleae</i> MSG-26
8.	<i>Verticillium dahliae</i> IS1, IS3, IS4, IS10, IS11, IS12, IS22

Gljive izolirane s nadzemnih dijelova maslina testirane su na četverogodišnjim biljkama. Na ukupno deset četverogodišnjih sadnica sorte Buža, testirano je šest potencijalnih uzročnika bolesti (Tablica 5). Na deblu i granama svake sadnice, nasumično je inokulirano po šest različitih testiranih vrsta. Ukupno je bilo 10 repeticija, a kontrolu su predstavljale neinokulirale grane. Na četverogodišnjim sadnicama najprije se izbušila rupica u kori drveta metalnom cjevčicom, u koju je stavljen isječak gljive uzgojene u petrijevoj zdjelici, nakon čega se rana zatvorila parafilmom. Na ljepljivoj traci označilo se o kojoj je gljivi riječ, kako bi se u narednom razdoblju mogli pratiti simptomi (Slika 27). Četverogodišnje sadnice masline nalazile su se u loncima s crvenicom.

Vrsta *P. richardsiae* testirana je na dvogodišnjim sadnicama sorte Buža u biološkoj komori Zavoda za zaštitu bilja, Hrvatskog centra za poljoprivrednu, hranu i selo u Zagrebu. Inokulirano je 12 biljaka, a za inokulaciju su korištена dva izolata *P. richardsiae*. Šest biljaka inokulirano je injektiranjem suspenzije konidija koncentracije 10^6 spora/ml, dok je šest biljaka inokulirano isjećima iz čistih kultura uzgajanih na KDA. Masline su inokulirane u bazu, sredinu i u gornji dio stabljike. Kontrolnih 12 biljaka inokulirano je sterilnom vodom i sterilnim isjećima KDA. Biljke su bile smještene u biološkim komorama na režimu tama/svjetlo (12h/12h), 18 °C/22°C.



Slika 27. Provođenje testa patogenosti ili mehanička inokulacija na četverogodišnjim sadnicama masline, 17. 10. 2017. (foto: S. Godena).

Opis simptoma na umjetno zaraženim sadnicama masline

Prema autorima García-Ruiz i sur., (2014), simptomi umjetne zaraze defolijacijskim patotipom (D) vrste *V. dahliae* trebaju biti očitani do 26. tjedna (šest mjeseci) nakon inokulacije. U našem istraživanju na dvogodišnjim sadnicama masline, različitog sortimenta, koristio se nedefolijacijski patotip (ND), manje agresivan patotip ove vrste, budući se defolijacijski patotip nije utvrdio. Izolati nisu razvili simptome na sadnicama sve do 10.04.2018. godine (25 tjedana od inokulacije), nakon čega su uočene obješene grane kod jedne dvogodišnje sadnice sorte Buža (biljka br. 3).

Petnaest tjedana nakon inokulacije (29. 01. 2018.), primijećena je početna klorozna vrušnjača mladićama sadnica maslina sorti Frantoio, Leccino, Istarska bjelica i Buža. Kod sorte Rosinjola počelo je uvijanje listova, a kod Karbonace primijećeno je žućenje i klorozna vrušnjača, te stvaranje novih mladića i listova. Oko 24. tjedana nakon inokulacije (3. 04. 2018.), zapažene su početne nekroze listova na različitim sortama. Kod Istarske bjelice, 4. 05. 2018. godine, uočeno je sušenje cvatova, dok je kod Leccina bila najizraženija vršna klorozna listova. Cvatanja je počela 25. 04. 2018. godine i gotovo su sve sorte cvale, osim Karbonace, Rosinjole i četiri sadnice sorte Buža.

Na jednoj dvogodišnjoj sadnici sorte Buža (biljka br. 3), 25. tjedna nakon inokulacije (10. 04. 2018.) prvotno su primijećene obješene grane. Simptomi su postali bolje vidljivi 20. 04. 2018. godine, kad su se počele javljati nekroze listova, sve su se više širile po površini, a listovi se uvijali prema unutra (Slike 28 - 30). Venuće sadnice uslijedilo je 4. 05. 2018. godine.

Dana 13. 06. 2018. godine pojavili su se simptomi poput defolijacije i početne nekroze, uslijed čega je nekoliko sadnica sorti Buža i Istarska bjelica uvenulo (Buža - 26. 07. 2018. godine, Istarska bjelica - 3. 09. 2018.).



Slika 28. Simptomi vrste *V. dahliae* na sadnici biljke br. 3., 23. 04. 2018. (foto: S. Godena).



Slika 29. Simptomi obješenih i suhih grana na sadnici sorte Buža izazvani umjetnom infekcijom fitopatogenom gljivom *Verticillium dahliae*. Lijevo – zdrava biljka, desno – uvenula biljka, 13. 06. 2018. (foto: S. Godena).



Slika 30. Sušenje mladih izbojka dvogodišnje sadnice masline talijanske sorte, 17. 09. 2018. (foto: S. Godena)

Na četverogodišnjim inokuliranim biljkama, testovi patogenosti pokazali su jasnu razliku između različitih vrsta gljiva. Najagresivnijim se pokazao izolat fitopatogene gljive *D. seriata*, odnosno taj se izolat najbrže širio kroz tkivo masline udomaćene sorte Buža (Slika 31, 33 i 34). Simptomi zaraze navedenom gljivom, na dvije sadnice četverogodišnje Buže, mogli su se vidjeti već 7. 11. 2017. godine, dakle 21 dan nakon testa patogenosti. Osim ove gljive, agresivna je bila i vrsta

N. parvum (Slika 31). Za razliku od našeg istraživanja, Moral i sur. (2010), vrstu *D. seriata* smatraju najmanje agresivnom, a onu najagresivniju vrstu *N. mediterraneum*. Prema Ammad i sur., 2014., na vinovoj lozi *D. seriata* je bila manje agresivna od *N. parvum*, koja je bila najagresivnija.

Oko 24. tjedna nakon inokulacije, (3. 04. 2018.) kod određenih biljaka zapaženi su tamnoljubičasti listovi, koji su se najčešće nalazili u blizini mjesta inokulacije gljivom *D. seriata*. Kasnije su listovi poprimili crvenkastu boju i najčešće otpadali. I kod vrsta *N. parvum*, *D. stigma* i *P. oleae* 27 tjedan nakon inokulacije (23. 04. 2018.), primjećeni su takvi tamni listovi (osobito vrhovi listova) u blizini mjesta inokulacije. Kod vrste *N. parvum*, dana 7. 05. 2018. godine, bila su vidljiva nekrotična ulegnuća, a kod vrste *D. seriata* pucanje kore (stvaranje rak rana) na mjestu nekroza.

Može se zaključiti kako su kod zaraze vrstom *D. seriata* utvrđeni simptomi poput crvene ili smeđe nekroze tkiva, sušenja cvatova, grana, crnih i crvenih listova (Slika 31), te pucanje kore (rak rane). Kod zaraze vrstom *N. parvum* uočene su udubljene nekroze (ulegnuća), sušenje cvatova, crvene ili smeđe nekroze tkiva i žućenje listova (Slika 31). Kod ostalih vrsta gljiva nije uočena pojava ulegnuća ili promjene boje tkiva (Slike 32 - 35).

U testovima patogenosti izolatima gljive *P. richardsiae* pojava simptoma praćena je 120 dana nakon inokulacije. Nakon navedenog razdoblja dvije, od 12 inokuliranih biljaka su se potpuno osušile. Navedene biljke su se osušile iznad mjesta inokulacije na srednjem dijelu stabljike. Crvenasta lezija javila se na svih 18 mesta inokuiranih isječkom gljive *P. richardsiae*, dok se isti simptom javio i na sedam od 18 inokuliranih mesta suspenzijom konidija. Ispod inokuliranih mesta na kojima se javila promjena boje na kori bile su vidljive nekroze kambija.



Slika 31. Simptomi nekrotičnih ulegnuća kore uslijed umjetne zaraze vrstom *Diplodia seriata*, test patogenosti na četverogodišnjoj sadnici masline sorte Buža, (biljka broj 8), 29. 11. 2017., 6 tjedana nakon testa patogenosti (lijevo) i nekrotična lezija izazvana umjetnom zarazom vrste *Neofusicoccum parvum*, četverogodišnja sadnica masline sorte Buža, (biljka broj 4), 04. 01. 2018., 11 tjedana od testa patogenosti (desno) (foto: S. Godena).



Slika 32. Simptom blage smede-crvene nekroze izazvanom vrstom *Diaporthe (Phomopsis) neotheicola* (vide se i točkasti crni piknidi ili plodišta gljive), 7. 06. 2018. (foto: S. Godena).



Slika 33. Simptomi ispod kore nakon inokulacije grana masline sa šest vrsta gljiva, 25. 07. 2018. Odozdo prema gore: *Diplodia seriata* MSG-1, *Neofusicoccum parvum* MSG-3, *Diaporthe neotheicola* MSG-18, *Diatrype stigma* MSG-12, *Geosmithia* sp. DI-4 i *Pseudophaeomoniella oleae* MSG-26. Kod inokulacije vrstama *D. seriata* i *N. parvum* vidljiv je razvoj nekroze, kod vrste *D. neotheicola* razvila se vrlo mala nekroza oko mesta inokulacije, dok kod vrsta *D. stigma*, *Geosmithia* sp. i *P. oleae* nije bilo razvoja nekroze dalje od inokuliranog mesta (foto: D. Ivić).



Slika 34. Posljedice umjetnih zaraza na četverogodišnjim maslinama, 25. 07. 2018. Gore lijevo, nekroze uzrokovane izolatom *Diplodia seriata*; gore desno, nekroze uzrokovane izolatom *Neofusicoccum parvum*; dolje lijevo, male nekroze oko mjesta inokulacije izolatom *Diaporthe neotheicola*; dolje desno, na mjestima inokulacije izolatom *Pseudophaeomoniella oleae* nisu se razvile nekroze (foto: D. Ivić).



Slika 35. Promjena boje kore (lijevo) i nekroze ispod kore (desno) na grani masline uslijed umjetne zaraze vrstom *Pleurostomophora richardsiae*, 12. 02. 2018. (foto: D. Ivić).

Mjerene vrijednosti nakon umjetnih zaraza



1. Duljina nekrotičnog tkiva (mm) na inokuliranim granama četverogodišnjih sadnica zaraženih uzročnicima koji napadaju nadzemne dijelove

Na inokuliranim granama četverogodišnjih sadnica sorte Buža, tijekom praćenja simptomatologije, pratila se duljina nekrotičnog tkiva (mm). Duljina se mjerila u završnoj fazi, prilikom prikupljanja uzorka izboja i grana. Najagresivnijom vrstom pokazala se *D. seriata* (Tablica 6). Već 7. 11. 2017. godine, odnosno tri tjedna nakon inokulacije, na dvjema sadnicama primjećeno je različito obojeno tkivo na mjestu inokulacije ovom vrstom. Nekrotično tkivo uzrokovano umjetnom zarazom vrstom *D. seriata* tri mjeseca nakon inokulacije (22. 01. 2018.) naraslo je 4,5 cm i vizualno se razlikovao od drugih inokuliranih mesta, odnosno umjetno zaraženih dijelova tkiva na ostalim maslinama. Na tim maslinama su uočena ili mala nekrotična posmeđenja ili ih uopće nije bilo. Uzorci grana su prikupljeni 13. 06. 2018. godine. Vrste *D. seriata* i *N. parvum* uzrokovale su nekroze ispod kore. Izolat *D. neotheicola* je uzrokovao vrlo male nekroze, koje su se proširile oko mjesta inokulacije. Kod inokulacije vrstama *D. stigma*, *P. oleae* i *Geosmithia* sp. nije uočeno napredovanje nekroze od mjesta inokulacije.

Tablica 6. Prosječna dužina nekrotičnog tkiva uzrokovana utvrđenim fitopatogenim gljivama kod četverogodišnjih sadnica sorte Buža.

Vrsta	Izolat	Duljina nekrotičnog tkiva (mm)
<i>Diplodia seriata</i>	MSG-1	66,7 mm
<i>Neofusicoccum parvum</i>	MSG-3	31,0 mm
<i>Diatrype stigma</i>	MSG-12	/
<i>Diaporthe (Phomopsis) neotheicola</i>	MSG-18	2,8 mm
<i>Geosmithia sp.</i>	DI-4	/
<i>Pseudophaeomoniella oleae</i>	MSG-26	/

*Umjetne zaraze vrstom *Pleurostomophora richardsiae* na dvogodišnjim sadnicama sorte Buža*

Nakon 120 dana, dvije od 12 biljaka inokuliranih izolatima *P. richardsiae* potpuno su se osušile iznad mjesta inokulacije na srednjem dijelu stabljike (Slika 36). Crvenkasta lezija javila se na svih 18 mjesta inokuiranih isječcima *P. richardsiae*, dok se isti simptom javio na sedam od 18 mjesta inokuliranih suspenzijom konidija. Ispod inokuliranih mjesta, na kojima se javila promjena boje na kori, bile su vidljive nekroze kambija. Nekroze su se javile na 25 od ukupno 36 mjesta inokulacije izolatima *P. richardsiae*. Duljine nekroza ispod kore kretala su se od 17 do 44 mm.



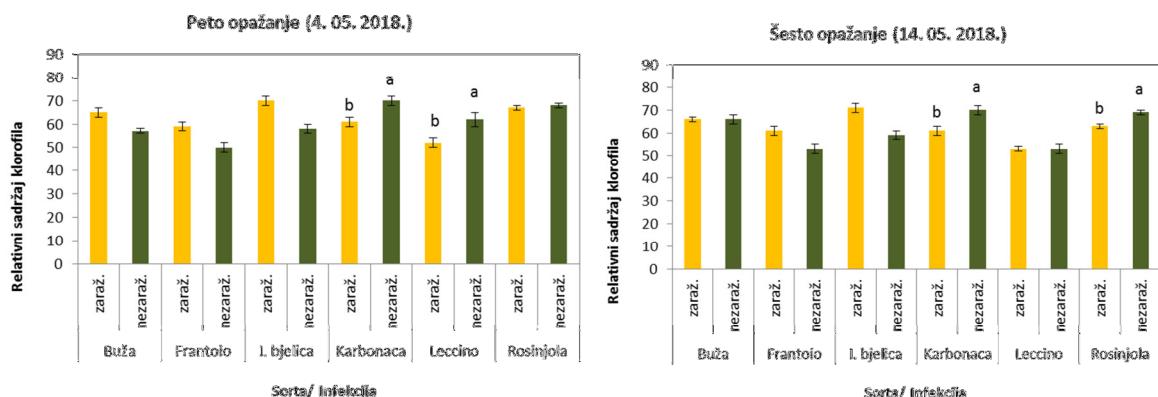
Slika 36. Dvogodišnje biljke masline umjetno zaražene izolatom gljive *Pleurostomophora richardsiae* (desno) i nezaražena kontrolna biljka (lijevo), 12. 02. 2018. Umjetno zaražena biljka osušila se u potpunosti tri mjeseca nakon zaraze (foto: D. Ivić).

2. Parametar stresa zaraze uzročnikom koji napada korijen (*Verticillium dahliae*)

Sadržaj klorofila

Sadržaj klorofila je prema literaturi najbolji pokazatelj tj. indikator za detekciju fitopatogene gljive *V. dahliae* u ranim fazama razvoja bolesti verticilioze. Isti može razlikovati asimptomatične biljke od biljaka koje pokazuju jako niski stupanj simptoma zaraze (Calderón i sur., 2014).

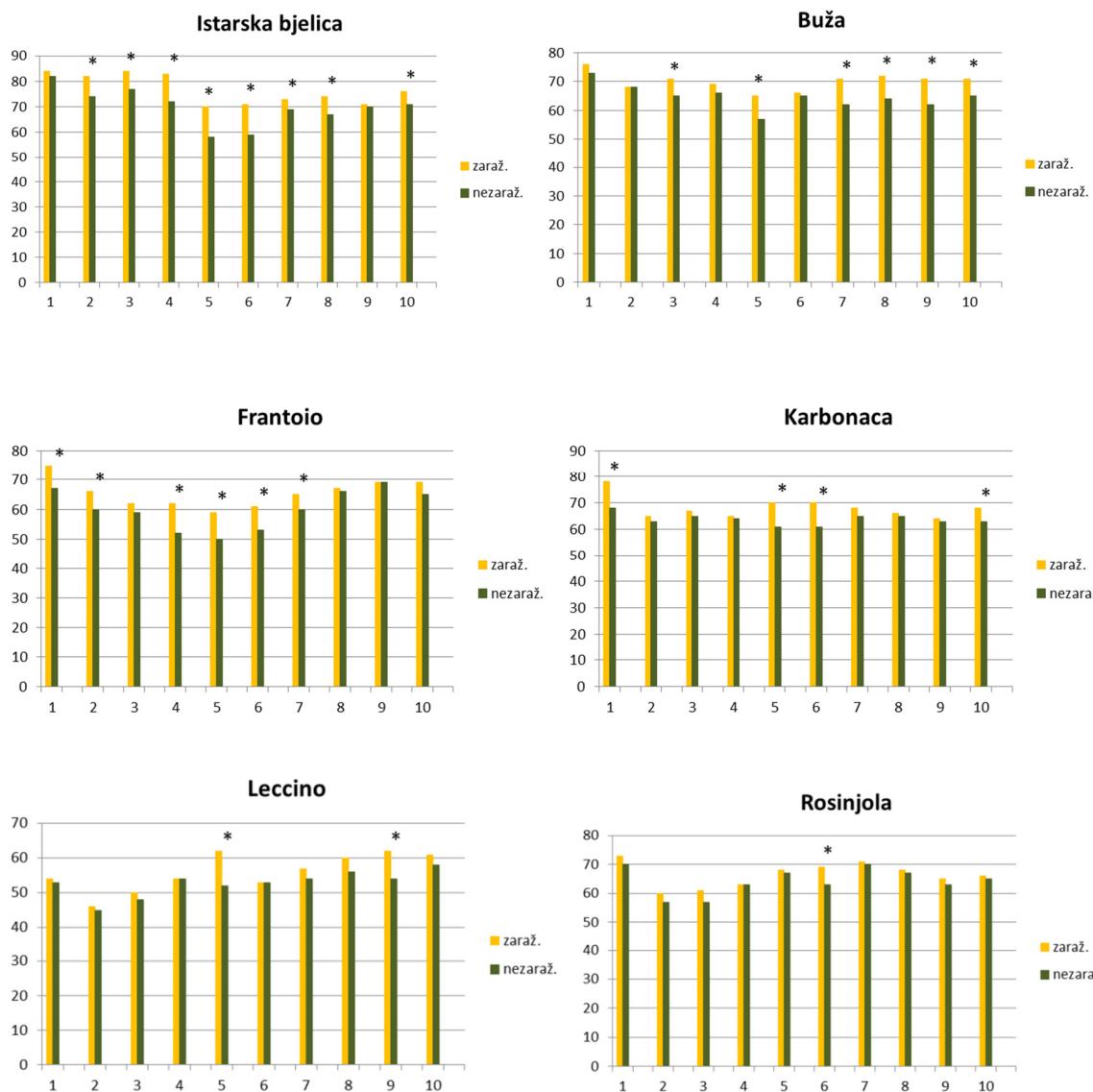
Sadržaj klorofila u našem istraživanju utvrđen je pomoću uređaja N-Tester (Yara, Engleska). Sadržaj klorofila je mjerен na četiri lista svake pojedine sadnice svakih sedam do 14 dana i to na gornjoj trećini biljke, tj. od trećeg (nodija) pazušca lista prema dolje. Ukupno je tijekom istraživanja provedeno 10 opažanja u razdoblju od 20. 03. do 14. 06. 2018. godine. Kontrolu su predstavljale po tri masline svake pojedine sorte, koje u testu patogenosti nisu umjetno inokulirane. Rezultati su prikazani u Grafikonima 10 - 16.



Grafikon 10. Relativni sadržaj klorofila izmjerен 4. 05. i 14. 05. 2018. pomoću uređaja N-tester. Slovima su označene vrijednosti koje se statistički razlikuju unutar sorte na razini $p < 0,05$.

Statistički značajna razlika u relativnom sadržaju klorofila, između zaraženih i zdravih sadnica, utvrđena je u petom i šestom opažanju i to na sortama Karbonaca, Leccino i Rosinjola.

Relativan sadržaj klorofila kod različitih sorti u 10 opažanja, prikazan je u Grafikonima 11 - 16. Najviše statistički značajnih razlika između zdravih i zaraženih sadnica utvrđeno je kod sorte Istarska bjelica (osam), a najmanje kod sorte Rosinjola (samo jedna).



Grafikoni 11-16. Relativni sadržaj klorofila kod različitih sorti (* - vrijednosti koje se statistički razlikuju na razini $p < 0,05$). Brojevi na horizontalnoj osi označavaju vrijeme opažanja, odnosno datume opažanja (20.03.2018. - 14.06.2018).

Zaključci



- Utvrđeni uzročnici djelomičnog ili potpunog sušenja stabala maslina u ovom istraživanju su različite patogene gljive koje napadaju korijen i/ili nadzemne dijelove masline.
- U ovom istraživanju prikupljena su 103 uzorka biljnog materijala s 25 lokaliteta, te je utvrđeno 78 izolata nekoliko različitih fitopatogenih gljiva.
- Najčešći izolirani patogen bila je gljiva *Verticillium dahliae*, odnosno njen manje agresivan nefolijacijski patotip (ND). Ista je utvrđena u svim maslinarskim uzgojnim područjima, odnosno na ukupno 14 lokaliteta u Istri.
- U istraživanju su utvrđene i druge gljive od kojih je po zastupljenosti najučestalija bila vrsta *Armillaria mellea* praćena *Geosmithia* sp., *Diatrype stigma*, *Pseudophaeomoniella oleae*, *Diaporthe (Phomopsis) neotheicola*, *Diplodia seriata*, *Pleurostomophora richardsiae*, *Phoma macrostoma* i *Neofusicoccum parvum*. Mješane zaraze u nasadima maslina su utvrđene na 35% istraživanih lokaliteta.
- Testom patogenosti ukupno se podvrglo osam utvrđenih fitopatogenih gljiva na ukupno 72 dvogodišnje i 10 četverogodišnjih sadnica masline, odnosno na ukupno šest različitih sorti maslina.
- Na inokuliranim se granama četverogodišnjih sadnica maslina sorte Buža, tijekom praćenja simptomatologije, pratila i duljina nekrotičnog tkiva, koja je mjerena u završnoj fazi, prilikom prikupljanja uzorka izboja i grana. Najagresivnijom vrstom pokazala se *Diplodia seriata* praćena vrstom *Neofusicoccum parvum*.
- S obzirom na relativni sadržaj klorofila kod različitih sorti, najviše statistički značajnih razlika između zdravih i zaraženih sadnica gljivom *Verticillium dahliae* utvrđeno je kod sorte Istarska bjelica (osam), a najmanje kod sorte Rosinjola (samo jedna).

Literatura



Ammad F., Benchabane M., Toumi M., Belkacem N., Guesmi A., Ameur C., Lecomte P., Merah O. (2014). Occurrence of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine dieback in Algeria. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 38: 865-876.

Calderón R., Lucena C., Trapero-Casas J. L., Zarzo-Tejada P. J., Navas-Cortés J. A. (2014). Soil Temperature Determines the Reaction of Olive Cultivars to *Verticillium dahliae* Pathotypes. PLoS ONE, 9 (10): e110664. doi: 10.1371/journal.pone.0110664.

Carlucci A., Raimondo M. L., Cibelli F., Phillips A. J. L., Lops F. (2013). *Pleurostomophora richardsiae*, *Neofusicoccum parvum* and *Phaeoacremonium aleophilum* associated with a decline of olives in southern Italy. Phytopathologia Mediterranea, 52 (3): 517–527.

Cvjetković B. (2010). Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze. Čakovec, Zrinski d.d.

Đorđević P. (1926). *Armillaria mellea* – uzrok propadanja slavonskog hrasta. Biologia Generalis, 2: 520-536.

Frisullo S., Elshafie H. S., Mang S. M. (2015). First report of two *Phomopsis* species on olive trees in Italy. Journal of Plant Pathology, 97 (2): 391-403.

García-Ruiz G. M., Trapero C., Del Rio C., López-Escudero F. J. (2014). Evaluation of resistance of Spanish olive cultivars to *Verticillium dahliae* in inoculations conducted in greenhouse. Phytoparasitica, 42: 205-212.

García-Ruiz G. M., Trapero C., Varo-Suarez A., Trapero, A., López-Escudero F. J. (2015). Identifying resistance to Verticillium wilt in local Spanish olive cultivars. Phytopathologia Mediterranea, 54 (3): 453-460.

Godena S. (2015a) Verticilioza - opasna bolest maslina (2). Gospodarski list, 10: 36-37.

Godena S. (2015b) Verticilioza - opasna bolest maslina. Gospodarski list, 9: 40-41.

Godena S., Ivić D., Dminić Rojnić I., Hlevnjak Pastrovicchio B. (2018). Fitopatogene gljive uzročnici sušenja masline (*Olea europaea*) na području Istre. Fragmenta Phytomedica et Herbologica, 32 (1): 43-51.

Hu, X.-P., Gurung, S., Short, D. P. G., Sandoya, G. V., Shang, W.-J., Hayes, R. J., Davis, R. M., Subbarao, K. V. (2015). Nondefoliating and defoliating strains from cotton correlate with races 1 and 2 of *Verticillium dahliae*. Plant Disease, 99: 1713-1720.

Ivić D., Tomic Z., Godena S. (2018). First report of *Pleurostomophora richardsiae* causing dieback of olive in Croatia. Plant Disease, 102 (12): 2648-2648.

Ivić D., Godena S. (2017). *Armillaria mellea* na maslini i nove perspektive u zaštiti od truleži korijena. Glasilo biljne zaštite, 17 (4): 378-383.

Ivić D., Ivanović A., Miličević T., Cvjetković B. (2010). Shoot necrosis of olive caused by *Phoma incompta*, a new disease of olive in Croatia. Phytopathologia Mediterranea, 49: 414-416.

Jiménez-Díaz R. M., Cirulli M., Bubici G., Jímenez-Gasco M. Del M., Antoniou P. P., Tjamos E. C. (2012). Verticillium wilt, a major threat to olive production: Current status and future prospects for its management. Plant Disease, 96: 304-329.

Kaliterna J., Miličević T. (2012a). Bolesti maslina uzrokovanе fitopatogenim gljivama iz porodice Botryosphaeriaceae. Glasilo biljne zaštite, Vol. 12, 4: 361-366.

Kaliterna J., Miličević T., Benčić Đ., Mešić A. (2016a). First Report of Verticillium Wilt Caused by *Verticillium dahliae* on Olive Trees in Croatia. Plant Disease, 100 (12): 2526-2526.

Kaliterna J., Miličević T., Benčić Đ., Mešić A. (2016b). Sušenje masline uzrokovanо gljivom *Verticillium dahliae* Kleb. u Istri. Glasilo biljne zaštite, 16 (6): 557-562.

Kaliterna J., Miličević T., Ivić D., Benčić Đ., Mešić A. (2012b). First report of *Diplodia seriata* as causal agent of olive dieback in Croatia. Plant. Disease, 96 (2): 290-290.

Katalinić M., Kačić S., Vitanović E. (2009). Bolesti i štetnici masline. Agroknjiga, Poljoprivredna – nakladnička zadruga, Split.

López-Escudero F. J., Mercado-Blanco J. (2011). Verticillium wilt of olive: a case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen. Plant Soil, 344: 1-50.

Loreto F., Burdsall Jr. H. H., Tirro' A. (1993). *Armillaria* Infection and Water Stress Influence Gas-exchange Properties of Mediterranean Trees. Horticultural Science, 28 (3): 222-224.

Moral J., Muñoz-Díez C., González N., Trapero A., Michailides T. J. (2010). Characterization and Pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* Species Collected from Olive and Other Hosts in Spain and California. Phytopathology, 100 (12): 1340-1351.

Nigro F., Antelmi I., Crous P. W. (2015). *Pseudophaeomoniella oleae*, Fungal Planet 351 – 10 june 2015, Persoonia, 34: 224-225.

OEPP/EPPO (2007). *Verticillium albo-atrum* and *V. dahliae* on hop. PM 7/78 (1) Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 37: 528-535.

Pérez-Artés, E., Garcia_Pedrajas, M. D., Bejarano-Alcázar, J., Jiménez-Díaz, R. M. (2000). Differentiation of cotton-defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* by RAPD and specific PCR analyses. European Journal of Plant Pathology, 106: 507-517.

Phillips A. J. L., Alves A., Abdollahzadeh J., Slippers B., Wingfield M. J., Groenewald J. Z., Crous P. W. (2013). The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. Studies in Mycology, 76: 51-167.

Shot, D. P., Gurung, S., Maruthachalam, K., Atallah, Z., Subbarao, K. V. (2014). *Veriticillium dahliae* race 2-specific PCR reveals a high frequency of race 2 strains in commercial spinac seed lots and delineates race structure. Phytopathology, 104: 779-785.

Úrbez-Torres J. R., Peduto F., Vossen P. M., Krueger W. H., Gubler W. D. (2013). Olive Twig and Branch Dieback: Etiology, Incidence, and Distribution in California. Plant Disease, 97 (2): 231-244.

Vesijak A. (1923). Bolesti gnjiloče žila u Dalmaciji. Jugoslavenski vinogradar i voćar, 7/8, 5-6.

White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocols: A guide to methods and applications (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ ur.). New York. Academic Press Inc., pp. 315-322.

VIP projekt „Uzročnici sindroma sušenja masline u održivom maslinarstvu“

Projekt je odobren i financiran od strane Vijeća za istraživanja u poljoprivredi (VIP) u sklopu Ministarstva poljoprivrede

Trajanje projekta

30. 06. 2016. - 31. 10. 2018.

Voditeljica projekta

dr. sc. Sara Godena

Suradnici na projektu

dr. sc. Dario Ivić

dr. sc. Smiljana Goreta Ban

dr. sc. Ivana Dminić Rojnić

izv. prof. dr. sc. Edyta Đermić

Bernardina Hlevnjak Pastrovicchio, dipl. ing. agr.

Elvino Šetić, dipl. ing. agr.

Sufinancijeri

Upravni odjel za poljoprivredu, šumarstvo, lovstvo, ribarstvo i vodoprivredu Istarske županije

Grad Vodnjan-Dignano

Općina Marčana

Općina Grožnjan

Zahvale

Zahvaljujemo se svim sufincijerima, koji su nam pomogli da provedemo ovo istraživanje.

Zahvaljujemo se i brojnim maslinarima na suradnji omogućivši nam pristup i uzimanje uzoraka u njihovim nasadima u kojima se provelo ovo istraživanje.

