

PRVI NALAZI PATOGENE GLJIVE *Chalara fraxinea* U HRVATSKOJ – NOVOG UZROČNIKA ODUMIRANJA JASENA (*Fraxinus* spp.)

FIRST RECORDS OF *Chalara fraxinea* IN CROATIA – A NEW AGENT OF ASH DIEBACK (*Fraxinus* spp.)

Lea BARIĆ¹, Miljenko ŽUPANIĆ², Milan PERNEK², Danko DIMINIĆ¹

Sažetak:

Odumiranje običnog jasena (*Fraxinus excelsior*) uzrokovano gljivom *C. fraxinea*, u posljednjih je 10 godina zahvatilo velik broj europskih zemalja. Osim na običnom jasenu, vrsta je utvrđena u Europi na poljskom jasenu (*F. angustifolia*), te na američkim i azijskim vrstama jasena. Odumiranje je izraženo u krošnji stabala i obuhvaća velik broj simptoma, od sušenja i prijevremenog opadanja lišća, do nekroze i diskoloracije kore i drva. Izolacijom gljive na umjetnoj hranjivoj podlozi dolazi do razvoja tipičnih morfoloških obilježja kultura. Askomicetni telemorf, gljiva *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, stvara svoja plodišta (apotecije) na otpalim prošlogodišnjim lisnim peteljka. Askospore savršenog stadija prenose se vjetrom i odgovorne su za širenje zaraze. U Hrvatskoj je patogena gljiva *Chalara fraxinea* prvi put uočena u Gorskom kotaru 2009. godine na stablima običnog jasena različite dobi na lokaciji Zalesina. Tijekom 2010. i 2011. godine istraživanjem prisutnosti simptoma utvrđena je nova bolest na običnom jasenu u Lici i Međimurju, te na poljskom jasenu u Međimurju i Slavoniji. U svibnju 2011. na području Gorskog kotara postavljene su četiri pokusne plohe običnog jasena na kojima se prate promjene stanja bolesnih stabala. Na označenim ploham obavljen je procjena osutosti krošanja stabala i sakupljene su prošlogodišnje lisne peteljke s razvijenim apotecijama savršenog stadija *H. pseudoalbidus*.

KLJUČNE RIJEČI: obični jasen, poljski jasen, odumiranje stabala, *C. fraxinea*, *H. pseudoalbidus*, nekroza, diskoloracija

UVOD

Introduction

Chalara fraxinea (Kowalski, 2006) je nova gljivična bolest, opisana prvi puta 2006. godine (Kowalski 2006), koja je u posljednjih desetak godina uzrokovala masovno odumiranje običnoga jasena (*Fraxinus excelsior* L.) diljem Europe. Simptomi bolesti prvi su put uočeni tijekom ranih 1990.-ih u Poljskoj i Litvi. U Poljskoj se bolest počela pojavljivati u istočnim dijelovima zemlje, šireći se prema jugu, zapadu i

sjeveru, da bi 1998. godine odumiranje jasena bilo zabilježeno u čitavoj zemlji. Tijekom 2002. godine bolest je zapažena lokalno u sjeveroistočnom dijelu Njemačke i na jugu Švedske, da bi već u ljeto 2004. godine bila masovno rasprostranjena po čitavoj Švedskoj. U to vrijeme, odumiranje jasena počelo je i u Danskoj, s epidemiološkim razmjerima u razdoblju od 2005–2007. (Bakys i dr. 2009b). Od tada do danas, prisustvo gljive *C. fraxinea* utvrđeno je u sljedećim europskim zemljama: Poljska (Kowalski 2006), Litva (Lygis i dr. 2005), Austrija (Halmschlager i Kirisits 2008), Nje-

¹ Lea Barić, znanstvena novakinja (baric@sumfak.hr), Prof. dr. sc. Danko Diminić (ddiminic@sumfak.hr), Sveučilište u Zagrebu Šumarski fakultet, Svetošimunska 25, Zagreb

² Mr. sc. Miljenko Županić (zupanicm@sumins.hr), Dr. sc. Milan Pernek, znanstveni savjetnik (milanp@sumins.hr), Hrvatski šumarski institut, Cvjetno naselje 41, Jastrebarsko

mačka (Schumacher i dr. 2007), Švedska (Bakys i dr. 2009b), Finska (Rytkönen i dr. 2010), Norveška (Talgø i dr. 2009), Danska (Thomsen i dr. 2007), Češka (Jankovsky i dr. 2009), Slovačka (EPPO 2010), Slovenija (Ogris i dr. 2009), Švicarska (Engesser i dr. 2009), Francuska (Chandelier i dr. 2009, Ioos i dr. 2009), Mađarska (Szabó 2008) i Italija (Ogris i dr. 2010). U Hrvatskoj je nova bolest prvi put potvrđena 2009. godine na stablima običnog jasena u Gorskom kotaru (Barić i Diminić 2010).

C. fraxinea je osim na običnom jasenu pronađena i izolirana iz poljskog jasena (*F. angustifolia* Vahl.) (Kirisits i dr. 2009a), američkih vrsta *F. nigra* Marsh., *F. pennsylvanica* Marsh., *F. americana* L., te azijske vrste *F. mandschurica* Rupr. (Drenkhan i Hanso 2010). Do sada nije zabilježena na *F. ornus* L., iako se vrsta pokazala osjetljivom u pokusima inokulacije (EPPO 2010).

Kako *C. fraxinea* predstavlja značajnu ekološku i ekonomsku prijetnju za jasenova stabla, uvrštena je na EPPO Alert List-u 2007. godine, kao i u NAPPO-ov Phytosanitary Alert System 2010. godine (Wojciech i dr. 2010).

Odumiranjem i propadanjem zahvaćena su stabla različite starosti, u šumskim sastojinama, rasadnicima i urbanim sredinama, neovisno o uvjetima staništa ili metodama gospodarenja (Bakys i dr. 2009a; Kowalski 2006; Schumacher i dr. 2010). Odumiranje je izraženo u krošnjama stabala i obuhvaća velik broj simptoma: venuće i prijevremeno opadanje lišća (Schumacher i dr. 2010), nekroze lišća, pupova, lisnih peteljki i kore, odumiranje izbojaka i grana (Bakys i dr. 2009a), rakaste tvorevine na izbojcima, granama i deblu (Skovsgaard i dr. 2009), te diskoloraciju drva smeđe do sive boje (Slika 1) (Halmschlager i Kirisits 2008). Nekrotizirani

dijelovi kore variraju u boji i veličini, te se uvijek pojavljuju bez sluzastih izlučevina na granama i deblu (Kowalski 2006). Na bolesnim stablima često dolazi do obilnog stvaranja zamjenskih izbojaka na granama i deblu (Slika 2) (Halmschlager i Kirisits 2008). Simptomi propadanja stabala izraženi su na stablima ispod prosječne veličine, na jedinkama slabijeg rasta u šumskim sastojinama gustoga sklopa te mladim sadnicama (Bakys i dr. 2009b; Halmschlager i Kirisits 2008). Mlađa zaražena stabla odumiru kroz nekoliko godina, dok kod starijih bolest poprima kronični karakter (Schumacher i dr. 2010).

Gljivu *C. fraxinea*, kao glavnog uzročnika odumiranja stabala običnog jasena, opisao je poljski znanstvenik Tadeusz Kowalski 2006. godine (Kowalski 2006). Sluzaste konidije *C. fraxinea* u prirodi se pojavljuju vrlo rijetko (Kowalski i Holdenrieder 2009b), pa se u početnim fazama istraživanja identifikacija vrste vršila na osnovu izolata dobivenih iz dijelova biljke sa simptomima zaraženosti (rub nekrotizirane kore, diskolorirano drvo, nekrotizirane lisne peteljke) (Ogris i dr. 2009). Uzgojem na umjetnoj podlozi gljiva razvija difuzno raširene, spororastuće, morfološki jedinstvene kolonije prljavobijele do žućkastosmeđe boje (Kowalski 2006). Vrlo brzo nakon otkrića ove gljive razvijene su i molekularne metode identifikacije *C. fraxinea* izravno iz tkiva običnog jasena, pri čemu se značajno smanjuje vrijeme potrebno za identifikaciju (Chandelier i dr. 2009, Ioos i dr. 2009, Johansson i dr. 2009).

Savršeni stadij patogena *Hymenoscyphus pseudoalbidus* Queloz, Grünig, Berndt, T. Kowalski, T.N. Sieber & Holdenrieder 2011 otkrili su Kowalski i Holdenrieder tijekom kolovoza i rujna 2008. godine, u rasadnicima i sastojinama zahvaće-



Slika 1. Simptomi odumiranja u krošnji stabla (D. Diminić, 28.5.2009., obični jase – Zalesina)

Figure 1 Dieback symptoms in tree crown

nim ovom bolesti. Plodišta ovoga stadija, apoteciji, razvijaju se ponajprije na prošlogodišnjim lisnim peteljkaama u listincu, rjeđe na izbojcima odumrlih jasenovih sadnica. Apoteciji nastaju od srpnja do rujna na površini pocrnjelih dijelova supstrata (pseudosklerocij) (Kowalski i Holdenrieder 2009b), ali mogu se pojaviti i ranije, tijekom svibnja i lipnja (Kirisits i dr. 2009b). Mladi apoteciji su bijele do krem boje, dok stariji i osušeni poprimaju smečkaste nijanse.

Biologija vrste nije još u potpunosti razjašnjena. U odnosu na sluzave, ljepljive konidije *C. fraxinea*, askospore *H. pseudoalbidus* se rasprostranjaju vjetrom, čime se može objasniti brzo širenje ovog patogena (Kowalski i Holdenrieder 2009b). Askospore se oslobađaju od lipnja ili srpnja, sve do rujna. Velika količina oborina i visoka zračna vlaga pogoduju oslobađanju askospora i povećavaju uspješnost infekcije (Kirisits i dr. 2009b).

Dosadašnjim istraživanjima, koja su predmetom ovoga rada, provedenim na području Hrvatske utvrđena je prisutnost *C. fraxinea* kao uzročnika ponajprije odumiranja običnog jasena. Pokusne plohe u Gorskom kotaru postavljene su s ciljem praćenja razvoja simptoma bolesti, biologije vrste *C. fraxinea*, te mogućeg utjecaja drugih abiotičkih i biotičkih čimbenika na zdravstveno stanje stabala.

Metode i područje rada

Materials and research area

Simptomi odumiranja stabala običnog jasena uzrokovanih gljivom *C. fraxinea*, u Hrvatskoj su prvi put zabilježeni u svibnju 2009. godine u Gorskom kotaru – uzorci za analizu bili su sakupljeni iste godine u gospodarskoj jedinici Bele-

vine, Zalesina. Sa nekoliko mladih stabala visine 2,5–4 m i promjera 3–5 cm sakupljene su grane dužine 1–1,5 m koje su izgubile list, s izraženom diskoloracijom i nekrozom kore. Analiza uzoraka obavljena je početkom lipnja u Laboratoriju za patologiju drveća Šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Sa grana s vidljivim simptomima diskoloracije kore rezani su uzorci duljine 5 cm radi izolacije gljive *C. fraxinea*. Uzorci grana su površinski sterilizirani u besprašnoj komori uranjanjem u 70 % etanol 10 sekundi, te isprani sterilnom destiliranom vodom. Sa uzoraka je skinut površinski sloj kore, te su sa rubova i iz središta nekroza rezani uzorci tkiva (veličine cca 3x3 mm). Sa drugih uzoraka istih grana, dijelovi s vidljivom nekrozom kore rezani su u cilju izolacije gljive iz tkiva diskoloriranog drva. Svi uzorci tkiva stavljeni su u petrijeve posude na hranjivu podlogu malt extract agar (MEA 2 %, 20g/l Biolife), te ostavljeni u klima komoru na temperaturu od 22 °C u cilju stimulacije rasta micelija, odnosno izolacije i determinacije gljive.

U listopadu 2010. godini istraživanje je prošireno na područje Gorskog kotara (šumarije Vrbovsko, Ravna Gora, Delnice i Mrkopalj), dok je 2011. godine prošireno i na sjeverni dio Hrvatske, s ciljem utvrđivanja rasprostranjenosti gljive, odnosno simptoma odumiranja. Na svim pregledanim ploham sakupljeni su uzorci sa stabala koja su pokazivala znakove slabljenja ili odumiranja. Uz obični jasen, uzorkovane su simptomatične grane poljskog jasena, radi utvrđivanja prisutnosti nove bolesti. Svi sakupljeni uzorci analizirani su na opisani način.

U svibnju 2011. određene su četiri trajne plohe običnog jasena na područjima gospodarskih jedinica Goranska Dobra (odsjek 23a), Ravna Gora (odjel 136 i odsjek 41a) i Belevine



Slika 2. Novi izbojci na jako zaraženom stablu (D. Diminić, 31.5.2011., obični jasen – Zalesina)

Figure 2 Newly developed shoots on heavily affected tree

Tablica 1. Opisi pokusnih ploha na području Gorskog kotara**Table 1** Description of sample plots in Gorski Kotar region

Gospodarska jedinica Forest management unit	Belevine	Goranska Dobra	Ravna Gora	Ravna Gora
Lokalitet / Locality	Belevine	Luke	Malo Duboko	Javorje
Odjel, odsjek Compartment, Sub-Compartment	10 a	23 a	136	41 a
Ekspozicija Exposition	Jl–J–JZ SE–S–SW	Zaravan Flat	S–SZ N–NW	SI–S NE–N
Tlo Soil	Distrično smeđe tlo, podzol, brunipodzol Dystric brown soil, Podzol, Brunipodzol	Distrični kambisol na klastičnim stijinama Dystric cambisol on clastic rocks	Smeđe tlo na dolomitu i vapnencu Brown soil on dolomite and limestone	Smeđe tlo na vapnencu i rendzina na dolomitu Brown soil on limestone and rendzina on dolomite
Fitocenoza Phytocoenoses	Šuma jele s rebračom i okruglolistnom bročikom Blechno – Abietetum galietosum rotundifoliae	Dinarska bukovo – jelova šuma Omphalodo – Fagetum	Dinarska bukovo – jelova šuma Omphalodo – Fagetum	Predplaninska bukova šuma s urezicom Homogino sylvestris– Fagetum sylvaticae
Površina (ha) Area (ha)	17,02	10,95	37,61	20,52
Nagib (°) Inclination (°)	5–13	0–0	5–18	–15
Obrast Density	Normalan Normal	0,46	0,93	0,87
Sklop Canopy	Nepotpun Partial	Potpun Full	Potpun Full	Rijedak Discontinued
Nadmorska visina (m) Altitude (m)	785–850	400	850–970	1130–1192
GPS kordinate GPS Coordinates	45° 23' 03" N 14° 52' 39" E	45° 23' 47" N 15° 03' 04" E	45° 17' 52" N 14° 57' 47" E	45° 19' 38" N 15° 00' 02" E
Starost stabala (godina) Age of trees (years)	10–20	20–30	15–25	10–40
Oštećenja (abiotički/ biotički čimbenici, mehanička oštećenja) Damage (abiotic/biotic factors, mechanical damage)	Štete od kasnog proljetnog mraza na mladim listovima (venuće) Spring frost damage on young leaves (wilting)	Štete od kasnog proljetnog mraza na mladim listovima (venuće) Spring frost damage on young leaves (wilting)	Štete od kasnog proljetnog mraza na mladim listovima (venuće) Spring frost damage on young leaves (wilting) Mehanička oštećenja od izvlačenja stabala na deblima Mechanical damage on stems from timber extraction	Nema oštećenja No damage
Osutost krošanja (%) Foliage transparency (%)	5–80	5–55	5–50	5–35
Apoteciji <i>H. pseudoalbidus</i> <i>H. Pseudoalbidus</i> apothecia (+/–)	+	+	+	+

(odsjek 10a). Na svakoj plohi obilježeno je 20 stabala s izraženim simptomima odumiranja, na kojima se tijekom sljedećih vegetacija planira kontinuirano praćenje promjena. S obzirom da su simptomi odumiranja najizraženiji u krošnji (Bakys i dr. 2009a; Halmschlager i Kirisits 2008; Schumacher i dr. 2010; Skovsgaard i dr. 2009), stabla su obilježena u lipnju kada je jasen na tom području u potpunosti prolištao. Procjena osutosti krošanja stabala na svakoj plohi

obavljena je prema ICP Forest standardima (ICP Forests 2010). Zabilježena su mehanička oštećenja, kao i pojava šteta uzrokovanih nekim biotičkim (gljive truležnice, kukci) ili abiotičkim (mraz, snjegolom, vjetroлом) čimbenicima. Sa tla ispod stabala sakupljene su prošlogodišnje lisne peteljke na kojima se razvijaju apoteciji savršenog stadija *H. pseudoalbidus* (Kowalski i Holdenrieder 2009b, Queloz i dr. 2010). Opisi ploha prikazani su u tablici 1.



Slika 3. Odumiranje grana (L. Barić, 30.6.2011., obični jasen – Zalesina)
Figure 3 Dieback of branches

Rezultati rada

Results

U krošnjama pregledanih i uzorkovanih jasenovih stabala zabilježeno je odumiranje izbojaka i grana, pri čemu su se pojedine grane u potpunosti osušile i ostale bez lišća (Slika 3). Na oboljelim izbojcima i granama zabilježena je diskoloracija kore žuto-smeđe do tamnije smeđe boje. U kori su utvrđeni jasni prijelazi između zdravih i oboljelih tkiva, a ispod kore jasno je bila izražena diskoloracija drva (Slika 4). Simptomi su uočeni u krošnjama stabala različite dobi. Svi zabilježeni simptomi odgovaraju opisima simptoma *C. fraxinea* literaturi (Kowalski 2006, Bakys i dr. 2009b).

Prisutnost patogena *C. fraxinea* u Gorskom kotaru potvrđena je 2009. godine analizom prvih sakupljenih uzoraka iz Zalesine. Gljiva je na hranjivoj podlozi nakon 3 tjedna razvila micelij promjera oko 2 cm, što pokazuje da gljiva na umjetnom mediju raste vrlo sporo. Miceliji su varirali u boji i veličini, od prljavobijele do žučkastosmeđe sa bijelim uzorcima (Slika 5). Izolati su precijepljeni na nove hranjive podloge radi dobivanja čistih kultura vrste. S obzirom da na temperaturi od 22 °C nije došlo do sporulacije, petrijeve posude sa čistim kulturama gljive omotane su parafilmom i stavljene u hladnjak na temperaturu od 4 °C.



Slika 4. Diskoloracija kore i drva (D. Diminić, 28.5.2009., obični jasen – Zalesina)

Figure 4 Bark and wood discoloration

Nakon 12 dana na temperaturi od 4 °C, na micelijima je došlo do sporulacije, odnosno do razvoja fialida i fialokonidija. U zonama sporulacije micelij je poprimio tamnosivu do crnu boju. Fialide su utvrđene maslinastosmeđe boje, cilindričnog oblika do oblika boce, dimenzija 16–25 (20) µm. Fialokonidije su utvrđene bezbojne i jednostanične, dimenzija 2–4 (3) x 2–3 (2) µm (n= 100), cilindričnog oblika, s jednom do dvije kapljice ulja unutar spore (Slika 6). Izlučene su na vrhu fialida u obliku sluzastih kapljica, rjeđe lanaca. Prva formirana konidija razlikovala se od ostalih u obliku i veličini, nešto duža i sužena pri vrhu, veličine 5–8 (6) x 2–3 (2) µm.



Slika 5. Kultura *C. fraxinea* na MEA (D. Diminić, 10.09.2009.)

Figure 5 *C. fraxinea* culture on MEA

Morfološka obilježja izolata gljive dobivenih iz oboljelih grana, kao i izgled i veličina fialida i fialokonidija (spora), odgovaraju opisima Kowalskog (2006). Opisanim simptomima bolesti na stablima uz navedena obilježja izolata gljive potvrđen je nalaz nove fitopatogene gljive *C. fraxinea* na običnom jasenu u Hrvatskoj.

Iz kore i grana uzorkovanih tijekom 2010. i 2011. godine sa pregledanih lokaliteta u Hrvatskoj, *C. fraxinea* je uspješno izolirana iz većeg broja uzoraka. Potvrđen je i nalaz patogena na poljskom jasenu, pri čemu se morfološka obilježja izolata, te izgled i veličina fialida i fialokonidija podudaraju s rezultatima nalaza na običnom jasenu. Lokaliteta na kojima je do sada potvrđen nalaz gljive *C. fraxinea* prikazani su u tablici 2.



Slika 6. Fialide i fialokonidije *C. fraxinea* (L. Barić, 15.12.2009.)
Figure 6 *C. fraxinea* phialides and phialoconidia

Tablica 2. Potvrda nalaza *C. fraxinea* na pregledanim lokalitetima
Table 2 Confirmation of *C. fraxinea* presence on examined localities

Lokalitet – gospodarska jedinica; odjel, odsjek Locality – Forest management unit; Compartment, Sub-Compartment	Datum uzorkovanja Date of sampling	Vrsta Species	Nalaz <i>C. fraxinea</i> <i>C. fraxinea</i> presence (+/–)
Zalesina g.j. / m.u. Belevine; 10a	27.05.2009. 15.10.2010.	obični jasen common ash	+
Vrbovsko g.j. / m.u. Goranska Dobra; 23a	14.10.2010.	obični jasen common ash	+
Ravna Gora g.j. / m.u. Ravna Gora; 18a, 41a, 111, 132, 136	14.10.2010.	obični jasen common ash	+
Kotoriba g.j. / m.u. Donje Međimurje; 69c, 70c	26.5.2011.	poljski jasen narrow-leafed ash	+
Đurđevac g.j. / m.u. Đurđevačke nizinske šume; 89c	15.6.2011.	poljski jasen narrow-leafed ash	+
Ivanec g.j. / m.u. Ravna gora; 7g	4.7.2011.	obični jasen common ash	+
Ivanec g.j. / m.u. Sjeverna Ivančica; 12c	4.7.2011.	obični jasen common ash	+
Krapina g.j. / m.u. Macelj; 20a	5.7.2011.	obični jasen common ash	–
Krapina g.j. / m.u. Strahinjčica-Trnovec; 1b, 1c	5.7.2011.	obični jasen common ash	+
Jasenak privatne šume / private forests – Vrelo	24.8.2011.	obični jasen common ash	+
Ozalj g.j. / m.u. Sušica; 20b	25.8.2011.	obični jasen common ash	–
Samobor g.j. / m.u. Žumberak – Novoselska gora; 14b	30.08.2011.	obični jasen common ash	+
Korenica g.j. / m.u. Laudonov gaj; 3b	1.9.2011.	obični jasen common ash	+
Osijek g.j. / m.u. Osječke nizinske šume; 35a	7.9.2011.	poljski jasen narrow-leafed ash	–
Sunja g.j. / m.u. Lonja; 61a	9.9.2011.	poljski jasen narrow-leafed ash	–
Đurđevac g.j. / m.u. Đurđevačka Bilogora; 44d	13.9.2011.	poljski jasen narrow-leafed ash	+
Pisarovina g.j. / m.u. Pisarovinski lugovi; 6a	14.9.2011.	poljski jasen narrow-leafed ash	+
Risnjak NP Risnjak; 90, 50	22.9.2011.	obični jasen common ash	+
Jastrebarsko g.j. / m.u. Jastrebarski lugovi	23.9.2011.	poljski jasen narrow-leafed ash	+
Čakovec g.j. / m.u. Gornje Međimurje; 9d	28.9.2011.	poljski jasen narrow-leafed ash	–

Osutost krošanja najizraženija je na plohama Belevine i Luke. Prošlogodišnje postrane grane i izbojci izrazito su zahvaćene sušenjem, pri čemu su pojedini izbojci u potpunosti ogoljeli već krajem 6. mjeseca. Visoki postotak osutosti krošanja izražen je na mladim stablima, čak 50–80 % osutosti, dok se kod starijih stabala kreće od 5–20 %. Venuće i opadanje mladog, zaraženog lišća zabilježeno je krajem lipnja na svim trajnim plohama. Krajem svibnja 2011. godine na otpalim prošlogodišnjim lisnim peteljka uočen je nastanak inicijalnih stapki apotecija savršenog stadija *H. pseudoalbidus*. Potpuno razvijeni apoteciji sa zrelim sporama spremnim za zarazu sakupljeni su na trajnim plohama krajem lipnja (Slika 7). Pojava plodišta na peteljka zabilježena je do kraja rujna, pri čemu je njihova brojnost i vitalitet na pojedinim lokacijama ovisila o količini vlage dostupne za razvoj. Od srpnja do rujna bilo je iznimno sušno razdoblje s temperaturama natprosječnim za područje Gorskog kotara. Na plohama koje su na nižim nadmorskim visinama (Belevine i Luke), u uvjetima niske zračne vlage i visokih temperatura, početkom rujna na peteljka su pronađeni samo malobrojni, već stari i odumrli apoteciji. Na lokalitetima Malo Duboko i Javorje, u zasjeni stabala i u listincu gdje se zadržala vlaga, manji broj živih i zrelih apotecija pronađen je do kraja rujna.

Rasprava Discussion

Novo utvrđena fitopatogena gljiva *C. fraxinea* ima značajan negativan utjecaj na ekološku i ekonomsku vrijednost običnog i poljskog jasena. S obzirom da još uvijek postoje mnoge nejasnoće vezane za biologiju vrste i patogenost, potrebno je izvršiti daljnja istraživanja da bi se mogle primijeniti neke od mjera zaštite i suzbijanja ovog patogena (EPPO 2010). Moguće je da je pojava bolesti uvjetovana genetskim obilježjima *F. excelsior*, uvjetima staništa i načinima gospodarenja (Skovsgaard i dr. 2009). U skladu s navedenim, u prvim fazama daljnjih istraživanja pojave i štetnosti u Hrvatskoj, u cilju rasvjetljavanja okolnosti (uvjeta), pozornost je usmjerena na mogući utjecaj temperature i vlage na razvoj i širenje patogena.

Zbog svoje agresivnosti, brzine širenja i visoke stope mortaliteta jasenovih stabala, smatralo se da je riječ o invazivnom organizmu (Halmschlager i Kirisits 2008, Bakys i dr. 2009a, Ogris i dr. 2009). S druge strane, postojala je mogućnost da se radi o do sada neotkrivenoj, autohtonoj vrsti, endofitu *F. excelsior*, koji je postao patogen promjenama uvjeta okoliša (Bakys i dr. 2009a).

U područjima pogođenim bolešću mogu se uočiti još uvijek zdrava ili neznatno zaražena stabla. Istraživanja provedena u sjemenskim plantažama u Danskoj sugeriraju da među klonovima postoji značajna razlika u razini otpornosti prema *C. fraxinea* (McKinney i dr. 2011). Isti rezultati



Slika 7. Apoteciji *H. pseudoalbidus* na prošlogodišnjim peteljka (L. Barić, 7.7.2011., obični jase – Javorje)

Figure 7 *H. pseudoalbidus* apothecia on leaf petioles from previous year

dobiveni su u početnim istraživanjima provednim u klonskim sjemenskim plantažama u Austriji (Kirisits i dr. 2009b). U budućnosti pozornost treba posvetiti očuvanju potencijalno otpornih ili tolerantnih jedinki unutar zaraženih područja, koje bi sačinjavale bazu za stvaranje nove populacije jasena, te na taj način podržavati prirodnu regeneraciju (EPPO 2010, Kirisits i dr. 2009).

Do sada nema pouzdanih informacija o načinu gospodarenja običnim jasenom u zaraženim sastojinama. Preporuča se sječa isključivo odumrlih ili jako oboljelih stabala. *C. fraxinea* urokuje fiziološko slabljenje stabala jasena, otvarajući na taj način put sekundarnim štetnicima kao što su potkornjaci i truležnice (Skovsgaard i dr. 2009). Ukoliko je moguće, pojedinačnim stablima se mogu odrezati zaraženi izbojci i grane, da bi se spasili stabljika i korijen koji proizvode nove postrane izbojke (Kirisits i dr. 2009b).

U urbanim sredinama i u rasadnicima, daljni napredak bolesti može se usporiti sanitarnim mjerama, uklanjanjem otpalog lišća i lisnih peteljki sa tla u jesen, prije pojave apotecija savršenog stadija, radi manje produkcije askospora (EPPO 2010, Kirisits i dr. 2009b).

Zaključak Conclusion

C. fraxinea je izolacijom iz kore i drva oboljelih grana u razdoblju od 2009. do 2011. godine potvrđena na običnom i poljskom jasenu na širem području Hrvatske. Simptomi odumiranja s visokim postotkom osutosti krošanja zabilježeni su na mladim stablima, i to na plohama na nižim nadmorskim visinama (Belevine i Luke). Na istim lokacijama zreli apoteciji teleomorfa *H. pseudoalbidus* pojavljivali su se od kraja lipnja do kraja kolovoza, dok su na višim nadmorskim visinama (Javorje i Malo Duboko) pronađeni sve do kraja rujna.

U daljnjim istraživanjima treba nastaviti pratiti utjecaj *C. fraxinea* i na odumiranje poljskog jasena, te istražiti varijabilnost hrvatskih izolata ovog patogena. Uz praćenje biologije vrste, potrebno je pratiti utjecaj biotskih i abiotičkih čimbenika (promjene u temperaturi i količini oborina, sušna razdoblja) na pojavu i širenje nove bolesti.

Literatura References

- Bakys, R., R. Vasaitis, P. Barklund, K. Ihrmark, J. Stenlid, 2009a: Investigations concerning the role of *Chalara fraxinea* in declining *Fraxinus excelsior*. *Plant pathology*, 58 (2): 284–292.
- Bakys, R., R. Vasaitis, P. Barklund, I. M. Thomsen, J. Stenlid, 2009b: Occurrence and pathogenicity of fungi in necrotic and non-symptomatic shoots of declining common ash (*Fraxinus excelsior*) in Sweden. *Eur. J. Forest Res.*, 128 (1): 51–60.
- Barić, L., D. Diminić, 2010: Prvi nalaz patogene gljive *Chalara fraxinea* Kowalski na bijelom jasenu (*Fraxinus excelsior* L.) u Gorskom kotaru, u: B. Cvjetković (ur.), 54. seminar biljne zaštite, Hrvatsko društvo biljne zaštite, 33, Zagreb.
- Chandelier, A., F. André, F. Laurent, 2009: Detection of *Chalara fraxinea* in common ash (*Fraxinus excelsior*) using real time PCR. *For. Path.*, 40 (2): 87–95.
- Drenkhan, R., M. Hanso, 2010: New host species for *Chalara fraxinea*. *New disease reports*, 22: 16. [doi: 10.5197/j.2044-0588.2010.022.016]
- Engesser, R., V. Queloz, F. Meier, T. Kowalski, O. Holdenrieder, 2009: Das Triebsterben der Esche in der Schweiz. *Wald und Holz*, 6: 24–27.
- EPPO, 2010: http://archives.eppo.org/MEETINGS/2010_conferences/chalara_oslo.htm
- Halmschlager, E., T. Kirisits, 2008: First report of the ash dieback pathogen *Chalara fraxinea* on *Fraxinus excelsior* in Austria. *Plant Pathology*, 57 (6): 1177.
- ICP Forests, 2010: http://www.icp-forests.org/pdf/FINAL_Crown.pdf
- Ioos, R., T. Kowalski, C. Husson, O. Holdenrieder, 2009: Rapid *in planta* detection of *Chalara fraxinea* by a real-time PCR assay using a dual-labelled probe. *Eur. J. Plant. Pathol.*, 125 (2): 329–335.
- Jankovsky, L., O. Holdenrieder, 2009: *Chalara fraxinea* – Ash dieback in the Czech Republic. *Plant Protect. Sci.*, 45: 74–78.
- Kirisits, T., M. Matlakova, S. Mottinger-Kroupa, E. Halmschlager, F. Lakatos, 2009a: *Chalara fraxinea* associated with dieback of narrow-leafed ash (*Fraxinus angustifolia*). *Plant Pathology*, 59 (2): 411.
- Kirisits, T., M. Matlakova, S. Mottinger-Kroupa, T. L. Cech, E. Halmschlager, 2009b: The current situation of ash dieback caused by *Chalara fraxinea* in Austria, U: H. T. Doğmus-Lehtijärvi (ur), Foliage, Shoot and Stem Diseases of Forest Trees, Proceedings of the conference of IUFRO working party 7.02.02., Eğirdir, Turkey, May 11–16, 2009, SDU Faculty of Forestry Journal, Isparta, 97–119.
- Kowalski, T., 2006: *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. *For. Path.*, 36 (4): 264–270. Berlin.
- Kowalski, T., O. Holdenrieder, 2009a: Pathogenicity of *Chalara fraxinea*. *For. Path.*, 39 (1): 1–7.
- Kowalski, T., O. Holdenrieder, 2009b: The telemorph of *Chalara fraxinea*, the causal agent of ash dieback. *For. Path.*, 39 (5): 304–308.
- Lygis, V., R. Vasiliauskas, K. H. Larsson, J. Stenlid, 2005: Wood inhabiting fungi in stems of *Fraxinus excelsior* in declining ash stands of northern Lithuania, with particular reference to population of *Armillaria cepistipes*. *Scand. J. For. Res.*, 20 (4): 337–346.
- McKinney, L.V., L. R. Nielsen, J. K. Hansen, E. D. Kjaer, 2011: Presence of natural genetic resistance in *Fraxinus excelsior* (Oleaceae) to *Chalara fraxinea* (Ascomycota): an emerging infectious disease. *Heredity*, 106: 788–797.
- Ogris, N., T. Hauptman, D. Jurc, 2009: *Chalara fraxinea* causing common ash dieback newly reported in Slovenia. *Plant Pathology*, 58 (6): 1173.
- Ogris, N., T. Hauptman, D. Jurc, 2010: First report of *Chalara fraxinea* on Common ash in Italy. *Plant Disease*, 94 (1): 133.
- Queloz, V., C. R. Grünig, R. Berndt, T. Kowalski, T. N. Sieber, O. Holdenrieder, 2010: Cryptic speciation in *Hymenoscyphus albidus*. *For. Path.*, DOI: 10.1111/j.1439-0329.2010.00645.x
- Rytönen, A., A. Lilja, R. Drenkhan, T. Gaitnieks, J. Hantula, 2010: First record of *Chalara fraxinea* in Finland and genetic variation among isolates sampled from Åland, mainland Finland, Estonia and Latvia. *For. Path.* DOI: 10.1111/ j.1439-0329.2010.00647.x
- Schumacher, J., A. Wulf, S. Leonhard, 2007: Erster Nachweis von *Chalara fraxinea* T. Kowalski sp. nov. in Deutschland – ein Verursacher neuartiger Schäden an Eschen. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.*, 59 (6): 121–123.
- Schumacher, J., R. Kehr, S. Leonard, 2010: Mycological and histological investigations of *Fraxinus excelsior* nursery saplings naturally infected by *Chalara fraxinea*. *For. Path.*, 40 (5): 419–429.
- Skovsgaard, J.P., I. M. Thomsen, I. M. Skovsgaard, T. Martinussen, 2009: Associations amongst symptoms of dieback in even-aged stands of ash (*Fraxinus excelsior* L.). *For. Path.*, 40 (1): 7–18.
- Szabó, I., 2008: First report of *Chalara fraxinea* affecting common ash in Hungary. *Plant Pathology*, 58 (4): 797.
- Talgo, V., A. Sletten, M. B. Brurberg, H. Solheim, A. Stensvand, 2009: *Chalara fraxinea* isolated from diseased ash in Norway. *Plant Disease*, 93 (5): 548.
- Thomsen, I.M., J. P. Skovsgaard, P. Barklund, R. Vasaitis, 2007. Svampesygdom er årsag til toptørre i ask [A fungal disease is the cause of ash dieback]. *Skoven*, 05/2007: 234–236.
- Wojciech, K., M. Zarek, T. Kowalski, 2010: Genetic variability of *Chalara fraxinea*, dieback cause of European ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Mycol. Progress*: 1–9. DOI: 10.1007/s11557-010-0724-z

Summary:

Chalara fraxinea is a novel disease responsible for common ash (*F. excelsior*) dieback during last 10 years in many European countries. The disease was also confirmed on narrow-leafed ash (*F. angustifolia*), and on American and Asian ash species.

The symptoms of dieback are especially visible in tree crowns, including wilting and premature leaf shedding, necrosis of bark and wood discoloration. Isolation of *C. fraxinea* from infected bark and wood on artificial media resulted in growth of morphologically specific colonies. The telemorph of *C. fraxinea*, *Hymenoscyphus pseudoalbidus* apothecia, are developed on leaf petioles from previous year in the litter. Ascospores of telemorph are wind-dispersed, and are responsible for the rapid spread of this disease.

Presence of *C. fraxinea* on common ash trees in Croatia was first recorded in Gorski Kotar region in 2009, affecting trees of different ages. In the same year, pathogen was successfully isolated from necrotic bark and wood tissues. In 2010 and 2011, research was expanded on larger territory of Croatia in order to determine distribution of the pathogen. The shoots and branches with developed symptoms were collected from common and narrow-leafed ash. In May 2011, four sample plots of common ash were marked in Gorski Kotar region. On each plot, 20 ash trees affected with *C. fraxinea* were selected for monitoring of health condition changes. The assessment of crown condition (foliage transparency) was made on selected trees on plots, also registering the other biotic (wood decay fungi, insects damage) and abiotic (frost, windthrow, snow damage) factors that could additionally have influence on ash dieback. Leaf rachises with mature *H. pseudoalbidus* apothecia were sampled from litter for further analyses.

The biology of *C. fraxinea* species is still unknown, so it is necessary to continue and make further research, to provide disease management and control measures.

KEY WORDS: common ash, narrow-leafed ash, dieback, *C. fraxinea*, necrosis, discoloration, telemorph