

**RASPROSTRANJENOST HIPOVIRULENTNIH SOJEVA  
*CRYPHONECTRIA PARASITICA* (Murr.) Barr, UZROČNIKA RAKA  
PITOMOG KESTENA, U BOSNI I HERCEGOVINI  
Distribution of hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica* (Murr.)  
Barr, cause of the chestnut blight, in Bosnia-Herzegovina**

Tarik Treštić i Midhat Usčuplić  
Šumarski fakultet Sarajevo

**Abstract**

Sweet chestnut (*Castanea sativa* Miller) in Bosnia-Herzegovina is growing only as a forest tree species managed as coppices. Chestnut fruit is the secondary product here and there are no selected fruit trees. Largest chestnut sites are on north-west (Cazin), east (Bratunac-Srebrenica) and south (Konjic-Jablanica), but there are many small-scattered patches of this species all over the country. However, chestnut area is decreasing due to the blight and in some places chestnut is replaced with other tree species. Many chestnut stands are degraded due to lack of silvicultural treatment. *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr was first found in the north-west chestnut region in 1961, next to Croatia border, apparently introduced from this country, but it is present everywhere today. First occurrence of the hypovirulent types of canker was observed in 1980 and eversince severity of the disease is slowing down in north-west and south regions where hypovirulence is wide spread and gradually is increasing. Unfortunately it does not exist yet in other chestnut regions.

Kay words: *Castanea sativa*, chestnut blight, *Cryphonectria parasitica*, dsRNA, hypovirulency, vegetative incompatibility

**1. Uvod**

Evropski pitomi kesten (*Castanea sativa* Miller) rasprostranjen je u južnoj Evropi, sjevernoj Africi i jugozapadnoj Aziji. Naseljava topla i sunčana staništa sa dubokim, rastresitim i kiselim zemljištima. U Bosni i Hercegovini raste na brežuljkastim terenima pojasa hrastovih šuma, na nadmorskoj visini 150-700 m, a najvažnija nalazišta su: a) na sjevero-zapadu (Cazinska krajina) oko 6.850 ha; b) na jugu (Konjic-Jablanica) oko 200 ha i c) na istoku (Bratunac-Srebrenica) oko 730 ha (Karta 1., prema Sučić, 1953.). Međutim, kesten se u manjim grupama ili pojedinačno javlja skoro svudje.



Karta 1.: Nalazišta pitomog kestena u BiH  
 Map 1.: Distribution of chestnut stands in B&H

Za razliku od drugih evropskih zemalja u BiH, nažalost, ne postoje voćnjaci ove biljne vrste. I pored raznolike upotrebne vrijednosti (kvalitetno tehničko drvo, štapovi, kolje, plod, tanin, cvijet i dr.) pitomi kesten se kao šumska vrsta javlja samo u uzgojnom obliku panjača, koje su jako devastirane ili zapuštene, dijelom i zbog pojave raka.

Rak pitomog kestena, koji uzrokuje patogena gljiva *C. parasitica*, otkriven je u BiH 1961. godine (Usčuplić, 1961), vjerovatno raširen is kestenovih šuma susjedne republike Hrvatske. Ova gljiva, za koju se vjeruje da je porijeklom iz istočne Azije, je uzrokovala najveću epifitociju jedne šumske vrste drveća u svijetu. Nakon što je, uvozom ukrasnih sadnica azijskih vrsta pitomog kestena, unešena u SAD, gdje je otkrivena 1904., *C. parasitica* je uzrokovala masovno propadanje američkog pitomog kestena (*Castanea dentata* Borkh.) na površini oko 3,6 miliona ha. Iako je, ubrzo, bolest bila pronađena i u Evropi (1938. godine), njen intenzitet nije bio tako snažan, najviše zbog pojave hipovirulencije u populaciji patogena. Naime, u Italiji je već 1950-tih

zapaženo da se neka zaražena stabla oporavljaju, razvijajući u zoni raka kalusno tkivo (Biraghi, 1951., prema Anagnostakis, 1987). Francuski istraživač Grente je prvi zapazio razlike morfoloških karakteristika virulentnih i hipovirulentnih formi patogena (Grente, 1965., prema Anagnostakis, 1987.) i utvrdio da se svojstvo hipovirulencije može prenositi. On je vjerovao da se uzročnik ove pojave nalazi u citoplazmi i da se anastomozom hifa prenosi sa jedne micelije na drugu. Ove pretpostavke su kasnije potvrđene. Konstatovano je da je uzročnik hipovirulencije dvolančana ribonukleinska kiselina (dsRNA) u citoplazmi patogena, koja je, inače, karakteristična za mikoviruse. Hillman et al. (1995.) su eksperimentalno potvrdili da je hipovirulencija rezultat superparazitizma virusnog porijekla, i ovu dsRNA svrstali u familiju *Hipoviridae*.

Istraživanja o porijeklu hipovirulencije pomogla su razvoju metoda biološkog suzbijanja patogena, koji se prvo razvijao u voćnjacima, a zatim i prirodnim sastojinama pitomog kestena. U osnovi, ovaj metod podrazumijeva vještačko unošenje hipovirulentnih izolata u voćnjake i šume, čije se kasnije širenje prepušta prirodi.

Način širenja hipovirulencije još uvijek nije poznat, ali je sigurno da ova pojava, između ostalog, ovisi i o intraspecijskom diverzitetu, tj. o vegetativnoj kompatibilnosti dijelova populacije patogena, koja može biti ograničavajući faktor razmjene ćelijskog sadržaja između hifa različitih micelija.

Istraživanja populacione strukture patogena i širenja hipovirulencije vrše se u BiH od 1980. godine, kada je ova pojava kod nas prvi put otkrivena (Ušćuplić, 1983; Ušćuplić and Trestić, 1998).

## 2. Materijal i metod

Uzorci raka su prikupljeni etapno, sa više lokaliteta, na stalnim i privremenim oglednim plohama veličine 1 ha. Izbor uzoraka raka je bio slučajan i uvijek sa različitih stabala, bez obzira na njihov izgled i vitalnost, ili karakteristike rak rana. Uzorci su sakupljeni po dvije metode:

a) Metod transekta, pri čemu su odabirana stabla čije su se projekcije krošnja nalazile na pravcu kretanja, korišten je na slijedećim lokalitetima:

· Projsa (Cazin). Stalna ogledna ploha sa mladom kestenovom panjačom koja je nastala nakon više uzastopnih golih sječa u prošlosti izvršenih radi suzbijanja bolesti. Većina stabala je zaražena, ali je samo mali broj njih uginuo. Tipovi hipovirulentnog raka su vrlo rašireni (kalusiranje rane ili razvoj raka u površinskom sloju kore).

· Donja Koprivna (Cazin). Kestenova panjača nastala nakon gole sječe u vrijeme prve pojave epidemije bolesti. Kasnije je degradirana učestalim nekontrolisanim sječama pojedinačnih stabala. Preostala stabla su uglavnom sa simptomima hipovirulentnog raka (površinski rak ili kalusiranje stare rane).

· Krtići (Konjic). Jednodobna sastojina stara oko 35 godina, u kojoj nisu zapaženi značajniji antropogeni uticaji. Iako su simptomi bolesti prisutni na skoro svim stablima kestena, sušenja su ograničena samo na grane i izbojke. Uglavnom su zastupljene rak rane zatvorenog tipa sa rijetko prisutnim plodonosjenjem patogena.

· Bužim. Jednodobna sastojina stara 45-50 godina. Na odraslim stablima sastojine evidentan je hronični razvoj bolesti sa prisustvom patogena u široj zoni oboljele kore. Plodonošenje patogena je primjetno duž pukotina kore i na odumrlim granama. Primjećena su sušenja biljaka u rubnoj zoni sastojine, na mladim stablima nastalim nakon nekontrolisane sječe.

· Vrnograč (Velika Kladuša). Jednodobna panjača starosti 5 godina, nastala nakon gole sječe. Veliki broj infekcija konstatovan na pridancima stabala nastalih širenjem patogena preko neobrađenih panjeva. Na plohi je primjećeno sušenje biljaka i plodonošenje patogena.

· Sarajevo. Kultura pitomog kestena stara 30 godina. Na ovom lokalitetu, u okviru istraživanja različitih sistema podizanja kultura šumskih vrsta drveća, osnovana je i ova sastojina površine oko 1 ha. Kultura je gotovo potpuno propala, mnoga stabla su odavno suha, a prisutan je samo virulentni tip raka.

· Bratunac. Mješovita sastojina bukve i pitomog kestena sa stablima starim oko 50 godina. Zbog bolesti i neodgovarajućeg gospodarenja pitomi kesten na ovom lokalitetu je u nestajanju.

· Ilinčica (Tuzla). Čista sastojina pitomog kestena izdanačkog porijekla, nastala nakon više uzastopnih sječa, jako devastirana i zbog uticaja raka.

· Gajevi (Tuzla). Čista sastojina pitomog kestena vještački podignuta, stara oko 30 godina, jako stradala od raka, sa tendencijom zamjene kestena drugim lišćarima.

b) Metod mrežno raspoređenih tačaka (odstojanja 10x20m) podrazumijevao je prikupljanje uzoraka oboljele kore sa stabala najbližih datoj tački. Ovaj metod primjenjen je na sljedećim lokalitetima:

· Skokovi (Cazin). Jednodobna sastojina starosti 9 godina. U sastojini su bila prisutna sušenja biljaka i drugi simptomi koji su ukazivali na različite razvojne faze bolesti.

· Seonica (Konjic). Sastojina stara 30-35 godina, sa pojedinačnim odraslim stablima koja su u sastojini su izvor zaraznog inokuluma. Sušenja su prisutna samo na granama u krošnji stabala i na mladim biljakama u rubnoj zoni sastojine.

Iz prikupljenih uzoraka izolovan je patogen *C. parasitica* na krompir-dekstroza-agar hranjivu podlogu (PDA). Analiza morfoloških karakteristika micelija vršena su 15 i 30 dana nakon presijavanja. Sve kulture su opisane prema boji micelija, obilnosti plodonošenja, veličini i boji plodonosnih tijela (Slika 1.) i na osnovu toga je izvršena podjela izolata na virulentne (oranž ) i hipovirulentne (bijeले). Za određivanje vegetativno-kompatibilnih (vc) grupa izolata korišteni su testeri evropske klasifikacije. Ovaj test je istovremeno korišten i za dodatno određivanje hipovirulencije izolata, na osnovu promjene oranž boje testera u bijelu (pri sparivanju sojeva gljive), što je rezultat migracije virusa iz bijelog izolata (Slika 2.).



Photo: orig.

Slika 1: Bijeli (hipovirulentni) izolat  
*C.parasitica*

Photo 1: White (hypovirulent) strain  
of *C.parasitica*

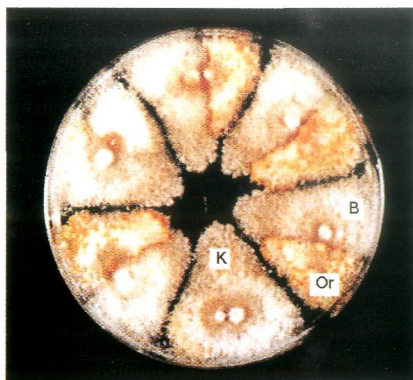


Photo: orig.

Slika 2: Test kompatibilnosti :  
("B"= hipovirulentni izolat inkompatibilan sa  
"Or"= virulentnim; "K"= kompatibilni izolati)

Photo 2: Compatibility test:  
("B"= hypovirulent strain, "Or"= virulent  
strain, "K"= compatible strains)

### 3. Rezultati istraživanja

Rezultati laboratorijskih istraživanja dati su u tabeli 1.

Tabela 1.: Karakteristike populacije patogena u odnosu na virulenciju  
Table 1: Characteristics of pathogen populations in relation to virulency

Lokalitet Locality	Virulentni izolati Virulent		Hipovirulentni izolati Hypovirulent		Ukupno Total
	N	%	N	%	
Projsa (Cazin)	13	35	24	65	37
D. Koprivna (Cazin)	8	33	16	67	24
Krtići (Konjic)	10	22	35	78	45
Bu ĩim	12	27	33	73	45
Vrnograĉ (V.Kladuša)	29	60	19	40	48
Sarajevo	50	100	0	0	50
Bratunac	58	100	0	0	58
Ilinĉica (Tuzla)	14	100	0	0	14
Gajevi (Tuzla)	54	100	0	0	54
Skokovi (Cazin)	10	22	36	78	46
Seonica (Konjic)	7	12	53	88	60

### 4. Diskusija

Dobijeni rezultati laboratorijskih istraživanja pokazuju da je hipovirulencija prisutna na lokalitetima sjeverozapadnog i južnog nalazišta pitomog kestena. Na tim područjima uĉešće ovih sojeva patogena je 40-88 % od ukupnog broja analiziranih izolata. Veća zastupljenost hipovirulentnih izolata u južnom nalazištu pitomog kestena vjerovatno je rezultat intraspecijske homogenosti populacije patogena, odnosno

prisutva manjeg broja *vc* grupa (konstatovane su svega 3 *vc* grupe, među kojim je jedna dominantna i prisutna čak u 91% slučajeva). Sjeverno-zapadno nalazište pitomog kestena se, također, odlikuje značajnim prisustvom hipovirulencije, posebno u odraslijim sastojinama. Heterogenost ovih populacija (prisutno je 19 *vc* grupa), kao mogući ograničavajući faktor za širenje hipovirulencije, ne dolazi do punog izražaja, jer među konstatovanim *vc* grupama dominiraju svega četiri.

Zastupljenost hipovirulentnih izolata na lokalitetima istog nalazišta pitomog kestena je različita prvenstveno zbog starosti analiziranih sastojina. Starije i srednjobodne sastojine pitomog kestena imaju veće učešće hipovirulentnih izolata nego mlađe. Naime, u mlađim sastojinama, proces odumiranja zaraženih stabala virulentnim sojem patogena (prstenovanje debla) teče brzo, tj. okonča se prije dospijeca virusa. Kasnije, na starijim stablima većeg promjera, razvoj bolesti se odvija sporije, pri čemu je rak ograničen na zonu oboljele kore koja rijetko zahvata cijeli obim debla. U ovakvim okolnostima dospijeca zaraznog potencijala sa prisutnim virusom je sve izvjesnije i u stalnom je porastu sa starošću sastojine. Međutim, moguć je izuzetak da i mlađe sastojine, na manjim površinama, u čijem su okruženju odrasle sastojine sa već prisustvom hipovirulencijom, budu zahvaćene ovom pojavom u prvim godinama razvoja. Ovakav primjer zabilježen je na lokalitetu Skokovi (Cazin).

Hipovirulencija, osim što uzrokuje specifičan razvoj bolesti, ograničen samo na zonu oboljele kore, umanjuje i sposobnost plodonošenja patogena. Zbog toga se prisustvo ove pojave u sastojinama pitomog kestena povoljno odražava na njihovu zdravstvenu sliku i bezbjedan budući razvoj.

Na lokalitetima Sarajevo, Bratunac, Ilinčica i Gajevi nije utvrđeno prisustvo hipovirulentnih izolata. Mogući razlozi su kasno dospijeca patogena na ove lokalitete, i/ili izolovanost ovih sastojina od drugih nalazišta kestena. Populacije patogena na ovim lokalitetima su homogene, sa malim brojem *vc* grupa. Morfološke karakteristike izolata patogena u pogledu boje, plodonošenja i strukture su skoro identične, što upućuje na zaključak da se radi o klonskim populacijama patogena određene *vc* grupe. Ovakve populacije patogena su skoro idealne za razvoj hipovirulencije, a razloge njenog eventualnog odsustva treba tražiti u drugim faktorima.

## 5. Zaključak

Utvrđeno je prisustvo hipovirulencije na području sjeverozapadnog i južnog nalazišta pitomog kestena. Visoka zastupljenost hipovirulentnih izolata u populacijama patogena sa ovih područja potvrđuje uspješnost prirodnog širenja ove pojave. Mjerama njege i pravilnim gospodarenjem moguće je, dodatno, unaprijediti zdravstvenu sliku i uzgojni oblik ovih sastojina.

Da bi se ubrzalo širenje hipovirulencije i u druga područja, gdje ove pojave još nema, potrebno je hipovirulentne izolate odgovarajućih *vc* grupa gljive unositi vještačkim inokulacijama. Ovako bi se biološki i ekološki prihvatljivim načinom popravila zdravstvena slika i ovih sastojina. Međutim, za potpun uspjeh ovog metoda potrebno je prilagoditi tehnologiju uzgoja izdanačkih šuma kestena, posebno u fazi obnove (obrada panjeva stabala matične sastojine). Nastavak istraživanja raka pito-

mog kestena, radi boljeg razumijevanja procesa širenja (prenošenja) hipovirulencije unutar populacije patogena omogućio bi dalje unapređivanje ovog metoda zaštite.



Slika 3.: Stabla pitomog kestena formirana iz pravilno obrađenog panja  
Photo 3: Chestnut coppices growing from proper treated stump

Photo: orig.

### Literatura

1. Anagnostakis, S.L. (1987): Chestnut blight: The classical problem of an introduced pathogen. *Mycologia*, 79, 1: 23-37.
2. Hillman, B.I., D.W. Fulbright, D.L. Nuss and N.K. van Alfen (1995): Hypoviridae. In: *Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses*. Ed. by F.A. Murphy, C. M. Fauquet, D.H.L. Bishop, S.A. Ghabrial, A.W. Jarvis, G.P. Martelli, M.A. Mayo and M.D. Summers. Springer-Verlag/Wien, 261-264.
3. Sučić, J. (1953): O arealu pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) na području Srebrenice, sa kratkim osvrtom na ostala nalazišta kestena u NR BiH. Institut za naučna šumarska istraživanja u Sarajevu, Sarajevo, knjiga II, sveska 4.
4. Usčuplić, M. (1961): Pojava raka kestenove kore u Bosni. *Narodni šumar*, 10-12: 581-588.
5. Usčuplić, M. (1983): Nova istraživanja raka pitomog kestena. *Zaštita bilja*, Beograd, Vol. 34 (3), 165: 317-328.
6. Uscuplic, M. and M. Trestic (1998): Chestnut blight in Bosnia-Herzegovina and its control. *Proceedings of the second international symposium on chestnut*. Ed. by G. Salesses, *Acta Horticulturae*, 494: 489-494.

### Summary

Sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Bosnia-Herzegovina is growing only as a coppices. Chestnut fruits are the secondary products here and there are no selected fruit trees. Largest chestnut sites are on north-west (Cazin), east (Bratunac-Srebrenica) and south (Konjic-Jablanica), but there are many small-scattered patches of this species all over the country. However, chestnut area is decreasing due to the blight and in some places chestnut is replaced with other tree species. Many chestnut stands are degraded due to lack of silvicultural treatment. *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr was first found in the north-west chestnut region, next to Croatia border, in 1961, apparently introduced from this country, but it is present everywhere today. First occurrence of the hypovirulent types of canker was observed in 1980 and ever since severity of the disease is slowing down in north-west and south regions where hypovirulency is wide spread and gradually is increasing (today is present 40-88 %). Unfortunately it does not exist yet in other chestnut regions.