

Keča N. 2010. *The test of eight tree species resistance to the attack of Armillaria mellea and A. ostoyae by artificial infection*. Bulletin of the Faculty of Forestry 102: 41-56.

Ненад Кеча

UDK: 630*443:630*172.8 *Armillaria* spp.

Оригинални научни рад

DOI: 10.2298/GSF1002041K

ПРОВЕРА ОСЕТЉИВОСТИ ОСАМ ДРВЕНАСТИХ ВРСТА НА ВЕШТАЧКЕ ИНФЕКЦИЈЕ ГЉИВАМА *ARMILLARIA MELLEA* И *A. OSTOYAE*

Извод: У шумским екосистемима у Србији присутано је пет *Armillaria* врста. Познавање разлика у патогености појединих *Armillaria* врста према шумским врстама од великог је значаја за шумарску праксу. Циљ истраживања је био да се провери осетљивост 8 врста дрвећа на инфекције гљивама *A. ostoyae* и *A. mellea*. Помоћу штапића леске претходно инфицираних наведеним *Armillaria* врстама извршена је инфекција, постављањем непосредно уз коренов врат. У периоду од 18 месеци праћено је здравствено стање биљака. Уочене су разлике између осетљивости појединих врста, али не и између патогености *A. mellea* и *A. ostoyae*. Најосетљивије су биле саднице оморике, јеле и белог и црног бора, затим смрче и дуглазије, а највећу отпорност су показале биљке лужњака и китњака.

Кључне речи: *Armillaria mellea*, *A. ostoyae*, осетљивост, вештачке инфекције, четинари, лишћари

THE TEST OF EIGHT TREE SPECIES RESISTANCE TO THE ATTACK OF *ARMILLARIA MELLEA* AND *A. OSTOYAE* BY ARTIFICIAL INFECTION

Abstract: In the forest ecosystems in Serbia five *Armillaria* species are present. Understanding differences in the pathogenicity of *Armillaria* species to the tree species is of a great importance for the foresters. The aim of study was to test susceptibility of eight forest tree species to attack of *Armillaria mellea* and *A. ostoyae*. The sticks of Hazel previously infected with mycelium of two *Armillaria* were placed next to the root collar of two years old seedling. In the period of eighteen months health status of tested seedlings was observed. Differences in susceptibility among tested tree species was observed, while there was no difference in the pathogenicity between *Armillaria mellea* and *A. ostoyae*. The most susceptible species were Serbian Spruce, Common Fir, Scots and Austrian Pine, following by Spruce and Douglas Fir, while more resistant were Pedunculate and Sessile oak.

Key words: *Armillaria mellea*, *A. ostoyae*, sensitivity, artificial infections, conifer, deciduous trees

др Ненад Кеча, доцент, Универзитет у Београду - Шумарски факултет, Београд
(e-mail: nenad.keca@sfb.rs)

1. УВОД

Шумски екосистеми у Србији заузимају 29,1% територије, а доминантне су шуме букве и храстова, док четинари заузимају мање од 10% (Banković *et al.*, 2009). У шумама у Србији је присутно пет *Armillaria* врста (*A. cepistipes*, *A. gallica*, *A. mellea*, *A. ostoyae* и *A. tabescens*) (Кеча, 2009). Велика недоумица за истраживаче биле су патогене карактеристике појединих врста. Познавање патогености врста које су присутне у појединим екосистемима има велики значај за преузимање одговарајућих мера. Забуну чини то што се у шумама готово увек у алтернацији јављају најчешће две, па чак и три, *Armillaria* врсте. У таквим ситуацијама било би неопходно знати да ли се ради о патогенима или о паразитима слабости или чак сапрофитима.

Истраживања су спроведена на великом броју домаћина и са великим бројем изолата почевши од Garrett-a (1970). Инокулација младих биљака у контејнерима омогућила је добијање вредних информација о процесу инфекције и патогености *Armillaria*. У Северној Америци значајан допринос још пре поделе на врсте дали су Shaw (1977), а затим су истраживања настављена од Mallett и Hiratsuka (1988). Истраживања патогености установила су постојање разлика између појединих врста. Две најагресивније врсте су *A. mellea* и *A. ostoyae* (Kile *et al.*, 1994). Проблеми изазвани од *A. ostoyae* су генерално повезани са *Abietineae*. Врста се ретко понаша као примарни паразит у природним екосистемима, мада су и такве ситуације пронађене у Француској (Kile *et al.*, 1994). Међутим, патогеност се повећава у шумским плантажама, нарочито ако су једнодобне и подигнуте од једне врсте (Lung, Taris, 1984). *A. mellea* напада лишћаре, *Cupressaceae* и понекад младе *Abietineae* (Guillaumin *et al.*, 2005).

Према наводима из западне Европе, у лишћарским шумама, нарочито мешовитим, она је факултативни паразит (Kile *et al.*, 1994). Међутим, у јужној Европи а нарочито Грчкој, *A. mellea* је главни патоген на четинарским врстама нарочито рода *Abies* (Tsorelas, 1999). Преостале три врсте су сапрофити или само паразити слабости (Kile *et al.*, 1994). *A. gallica* се понекад понаша као слаб патоген. Врста која је честа у алтернацији са *A. ostoyae*, а која се истиче по својим сапрофитским особинама је *A. cepistipes*.

Скорашња истраживања патогености и вируленција, извршена у Швајцарској, показала су да се ова врста најчешће понаша као сапрофит на садницама смрче (Prospero *et al.*, 2004). Неки истраживачи напомињу да се у Финској и Шкотској ова врста често среће као изазивач трулежи приданка (Korhonen, 1978).

Циљ истраживања био је да се установе разлике у осетљивости између шест четинарских врста (бели и црни бор, смрча, јела, оморика и дуглазија) и две врсте храстова (лужњак и китњак) на инфекције гљивама *Armillaria mellea* и *A. ostoyae*.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

Провера отпорности/осетљивости осам врста шумског дрвећа извршено је на садницама старости две године. У истраживања је укључено шест четинарских врста (*Picea abies*, *Abies alba*, *Pinus nigra*, *P. sylvestris*, *Picea omorika* и *Pseudotsuga taxifolia*) и две врсте хрстова (*Quercus robur* и *Q. petraea*). Тестирано је по 100 индивидуа сваке од наведених врста дрвећа. У пролеће (март) треће вегетације саднице су пресађене у пластичне контејнере запремине 1 L и контејнер је испуњен мешавином тресета и песка у размери 4:1 (хумус рН 3,6-3,9). Уз коренов врат саднице постављено је парче пластичне цеви (10×2 cm), при чему се водило рачуна да не дође до оштећења корена. Сваки контејнер је нађубрен са око 2-3 g споро отапајућег ђубрива Osmocote Plus (Scots Europe B.V., Heerlen, Холандија). Саднице хрстова су због већих димензија сађене у пластичне врећице запремине 2 L.

У сваком контејнеру/пластичној врећици налазила се по једна биљка, која је инфицирана једним инокулумом смештеним на место пластичне цеви одмах уз корен и коренов врат биљке.

Биљке су после пресађивања гајене у спољашњим условима у засени. Због подједнаких услова за развој водило се рачуна о равномерном распореду врста на читавој површини. Биљке су заливане према потреби, а најчешће два пута седмично током вегетације. Због појаве штетних гриња (*Tetranychus urticae* Koch) четинарске саднице су током вегетације третиране са Talstar 10-ЕС (Галеника - Фитофармација) у тронедељним интервалима. Као превентива против *Microsphaera alphitoides* Grif. & Maubl. - пепелнице храста, *Mycophaerella pini* Rostrup apud Munk. - црвене прстенасте пегавости борових четина, *Sphaeropsis sapinea* Dyko et Sutton - антрахнозе избојака борова и др. патогена коришћен је бакарни креч S-50 (Жупа - Крушевац) у тронедељним интервалима у периоду од маја до септембра.

Контролисана је патогеност за два изолата који су представљали врсте *Armillaria mellea* (Ф. Гора, китњак, изолат из плодносног тела - XI, 2002. год.) и *A. ostoyae* (Тара, оморика, изолат из подкорне мицелије - X, 2002. год.). Примарна идентификација ових изолата извршена је на основу плодноносних тела. Контрола идентификације извршена је PCR-RFLP методом и секвенцирањем PCR производа.

2.1. Припрема инокулума

Инокулум је припремљен по измењеном методу Mansilla и сар. (2001). Припремљени штапићи од лесковог дрвета (1,5-3×6-7 cm) стерилисани су у металним кутијама у трајању 45 мин на 121°C и притиску од 1,1 бара. Након стерилизације штапићи су преливени са 125 mL селективне подлоге. Инокулација са *Armillaria mellea* и *A. ostoyae* извршена је убацивањем, у кутије, 5 фрагмената развијене мицелије величине 1×1 cm. Кутије са инокулумом су инкубиране 60 дана у мраку на температури од 23°C, која је оптимална за развој ових врста.

Да би се обезбедио подједнак узорак, 40 биљака сваке од 8 контролисаних врста инфицирано је са контролним изолатом *Armillaria mellea* и *A. ostoyae*. У свакој варијанти по 10 садница послужило је као контрола. У контролном делу су уместо инфицираних фрагмената употребљени стерилни фрагменти леске. Након инфекције посуде су допуњене тресетом и поново распоређене равномерно по читавој површини огледа.

После инокулације оглед је контролисан свакога месеца ради утврђивања симптома напада *Armillaria* - болести корена. Контролисано је присуство хлоротичних и убијених биљака током две вегетације у укупном трајању од 18 месеци. Убијене саднице су одмах контролисане на присуство мицелије испод коре у зони камбијума на кореновом врату, али нису уклањане до краја огледа због симулације очувања склопа између биљака. На крају експеримента саднице су преконтролисане и раздвојене у три категорије: мртве, хлоротичне (хлороза присутна на четинама и лишћу и присутна поткорна мицелија) и здраве (без видљивих надземних симптома инфекције *Armillaria* врстама).

Контакт ризоморфи је оцењиван према следећој скали: 0 - ризоморфе одсутне, 1 - ризоморфе прикачене на једној тачки на корену, 2 - ризоморфе видљиве на две до четири тачке на корену и 3 - ризоморфе присутне на читавој површини корена (Prospero *et al.*, 2004). Количина произведених ризоморфи на инокулуму оцењивана је на следећи начин: 0 - ризоморфе одсутне, 1 - ризоморфе расту из једне тачке на инокулуму, 2 - ризоморфе расту из две до четири тачке на инокулуму и 3 - ризоморфе присутне по читавој површини инокулума.

Оцена патогености утврђена је према методу Morrison-а (2004). Прегледано дрвеће разврстано је у следеће категорије: I - ризоморфе нису произведене на фрагменту инокулума, II - ризоморфе произведене, али нема контакта са садницом и III - ризоморфе чврсто прикачене за корење. Величина штете причињене након контакта (за III категорију) оцењивана је према 5 категорија. У прву категорију су сврстане су биљке код којих је примећен (1) чврст контакт између корена дрвета и ризоморфи, као и пенетрација ризоморфи али без формирања некроза, (2) некрозе на бочном корењу, срчаница прстенована <25% или приданак <10%, (3) срчаница прстенована >25%<100% или приданак прстенован >10%<50%, (4) срчаница потпуно прстенована или приданак прстенован >50%<100% и (5) стабло мртво због напада *Armillaria* врста. Просечна оцена добијена је сабирањем оцена анализираних садница и дељењем са бројем контролисаних биљака.

На крају огледа на селективној МЕА подлози извршена је реизолација гљива *A. mellea* и *A. ostoyae* из лескових штапића, подкорне мицелије и ризоморфи.

2.2. Статистичка анализа

Статистичка анализа добијених података урађена је помоћу програмског пакета Statistica ver. 6 (StatSoft, Inc. (2001) Tulsa, OK, USA) и Excel 2002 (Microsoft

Corporation 1985-2001). Разлике у вредностима за поједине врсте дрвећа тестиране су уз помоћ једносмерне анализе варијанси ANOVA (One-way ANOVA). Интеракције између појединих фактора као што су протекло време и одумирање садница тестиране су помоћу различитих типова регресије (линеарне, експоненцијалне), да би се утврдило који тип највише одговара. За утврђивање различитих нивоа патогености и могућности издвајања и груписања појединих врста у различите категорије коришћена је кластер анализа.

3. РЕЗУЛТАТИ

Истраживања у трајању од две вегетације односно 18 месеци показала су да *Armillaria mellea* и *A. ostoyae* имају способност да у условима вештачких инфекција остваре заразу и убију младе биљке. Виталност инокулума кретала се у интервалу од 92-100% и после две вегетације проведене у супстрату. Основна претпоставка овог огледа била је да се инфекције најчешће остварују преко контакта корења са ризоморфама. Постављена хипотеза потврђена је резултатом да је преко 88%, али врло често и свих 100% (табеле 1-2) виталних инокулума произвело ризоморфе. Уочене разлике између појединих домаћина и *Armillaria* врста приказане су у следећим поглављима.

3.1 Осетљивости испитиваних врста на *A. mellea*

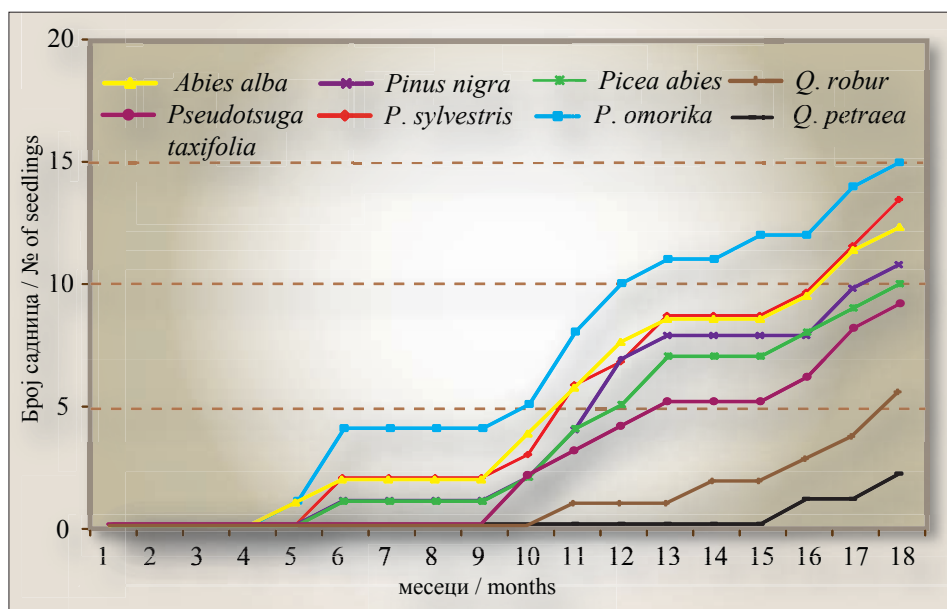
Armillaria mellea је показала да је способна да нападне и убије саднице свих 8 испитиваних дрвенастих врста. Пошто је инокулум био постављен непосредно уз стабло и корен све биљке чији су инокулуми произвели ризоморфе сматрано је да су изложене нападу гљиве. Заражене биљке добијале су карактеристичну промену боје четина у хлоротичну, а затим црвенкасто смеђу боју, а затим је долазило до сушења биљка.

Први симптоми уочени су после три месеца, а прве мртве саднице оморике (*Picea omorika*) и јеле (*Abies alba*) после 5 месеци (графикон 1). У периоду од шест месеци све врсте, осим дуглазије имале су 1-2 мртве саднице, док је прва мртва садница код дуглазије је уочена тек у 9 месецу. Током мировања садница од 7. до 10. месеца није примећена појава нових изумрлих садница. Прве хлоротичне саднице храстова уочене су после 10 месеци, а прва мртва садница лужњака на прегледу после 10 месеци. Најдужи временски период од инфекције до појаве прве мртве индивидуе запажен је код китњака и износио је 15 месеци.

Највећи број изумрлих садница у једном месецу био је 12, а најмањи 1 садница у најтоплијем месецу - јулу. У периоду од 18 месеци гљива је убила 80 садница, од чега 72 четинарске и 6 лишћарских. Симптоме хлорозе и одумирања показивало је 12 четинарских и 1 лишћарска садница. Највише заражених биљака уочено је код

Табела 1. Осегљивост 8 испитиваних врста на напад *Armillaria mellea*, током 18 месеци трајања огледа
 Table 1. Susceptibility of 8 tested tree species to attack of *Armillaria mellea*, during 18 months of experiment

Домаћин Host	<i>Picea abies</i>		<i>Pseu- dotsuga menziesii</i>		<i>Abies alba</i>		<i>Picea omorika</i>		<i>Pinus nigra</i>		<i>Pinus sylvestris</i>		<i>Quercus robur</i>		<i>Quercus petraea</i>	
	№	%	№	%	№	%	№	%	№	%	№	%	№	%	№	%
Витални сегменти Vital segments	39	92	38	95	40	100	32	97	37	93	40	100	40	100	24	96
Витални сегменти производе ризоморфе Vital segments produc- ing rhizomorphs	39	100	37	97	39	98	31	97	37	100	39	97	38	95	22	88
Саднице изложене Exposed seedlings	№	39	37	39	33	37	33	37	37	37	39	39	38	38	22	22
Саднице заражене Infected seedlings	12	31	12	32	17	44	19	57	15	40	18	46	10	26	5	23
Оштећење са вредностима 1-3 Damages with values 1-3	15	38	13	35	16	41	11	33	16	43	19	49	11	29	6	27
Просечна вредност оштећења Average value of damage		3,6		3,6		4		4,1		3,9		4,1		3,9		3,3
Заражене саднице убијене Infected seedlings killed	10	83	9	76	13	76	15	78	11	73	14	78	6	60	2	40
Заражене саднице убијене у 1. год. Infected seedlings killed in 1 year	4	40	3	33	6	46	8	53	4	33	6	43	1	17	0	0
Производња ризоморфи Rhizomorphs production		2		1,8		1,9		1,6		1,9		1,6		1,7		2,1



Графикон 1. Морталитет двогодишњих садница 8 различитих дрвенастих врста у периоду од 18 месеци након инокулације са изолатом *A. mellea*

Figure 1. Mortality of two years old seedlings of 8 different tree species, 18 months after inoculation with *A. mellea*

оморику (57%) и белог бора (46%), док су се вредности за остале четинаре кретале у интервалу од 31-44% (табела 1). Степен заразе храстова био је око 25%.

Отпорност је изражена као број инфицираних садница који је убијен. Подаци о уделу убијених садница након остварене инфекције (табела 1) указују да се ради о патогену, који је способан да убије од 73-83% нападнутих четинарских, односно 40-60% заражених храстових садница. Број биљака убијених у првој години највећи је за омурику и износи 53%. На другом месту се налазила јела (46%), затим бели бор (43%), док су остале врсте имале вредности мање од 40%. За наведени период постоји јасна разлика између четинара и лишћара (китњак 0%, лужњак 17%).

Штете проузроковане на биљкама представљене су просечним вредностима оштећења, а вредности добијене за изолат *A. mellea* кретале су се од 3,3-4,1 (табела 1). Вредности су највеће за омурику и бели бор, затим за јелу, црни бор и лужњак. Једино за овај фактор резултати показују да је смрча трпела мања оштећења него један од лишћара.

3.2 Осетљивости испитиваних врста на *A. ostoyae*

Јасно се уочава разлика између осетљивости/отпорности четинара и лишћара према нападу *A. ostoyae*, што је у складу са чињеницом да је она првенствени

Табела 2. Осетљивост 8 испитиваних врста на напад *Armillaria ostoyae*, током 18 месеци трајања огледа
 Table 2. Susceptibility of 8 tested tree species to attack of *Armillaria ostoyae*, during 18 months of experiment

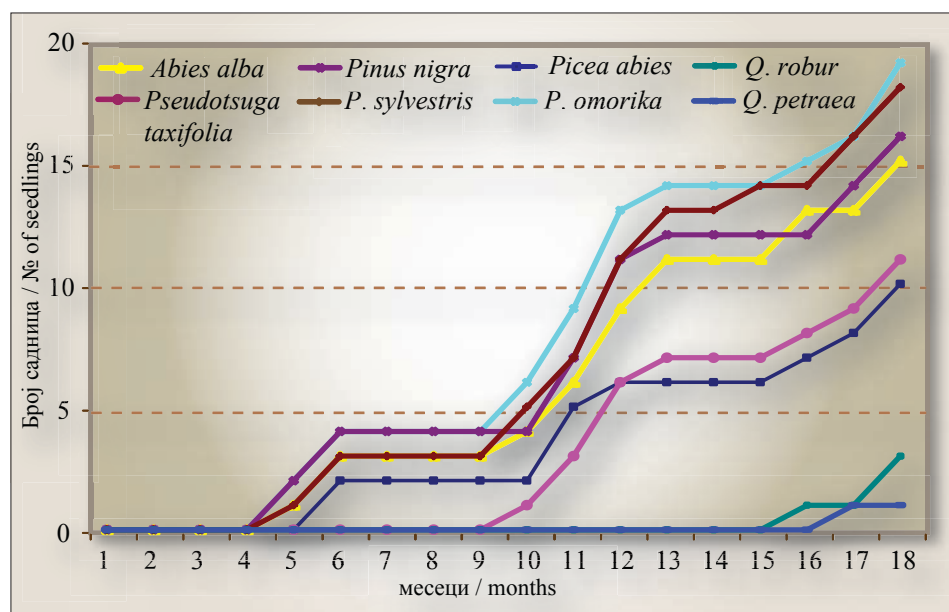
Домашин Host	<i>Picea abies</i>		<i>Pseu- dotsuga menziesii</i>		<i>Abies alba</i>		<i>Picea omortika</i>		<i>Pinus nigra</i>		<i>Pinus sylvestris</i>		<i>Quercus robur</i>		<i>Quercus petraea</i>	
	№	%	№	%	№	%	№	%	№	%	№	%	№	%	№	%
Витални сегменти Vital segments	40	100	40	100	37	92	40	100	40	100	40	100	39	98	25	100
Витални сегменти производе ризоморфе Vital segments produc- ing rhizomorphs	39	92	37	93	37	100	39	97	38	95	40	100	39	100	21	84
Саднице изложене Exposed seedlings	№	39	37	37	37	37	39	39	38	38	40	40	39	39	21	21
Саднице заражене Infected seedlings	14	35	14	38	19	51	23	59	19	50	21	52	7	18	4	19
Оштећење са вредностима 1-3 Damages with values 1-3	18	46	16	43	14	38	15	38	18	47	17	42	5	13	6	29
Просечна вредност оштећења Average value of damage		3,9		4,1		4,2		4,4		4,2		4,3		3,8		3,4
Заражене саднице убијене Infected seedlings killed	10	71	11	79	15	79	19	83	16	84	18	86	3	43	1	20
Заражене саднице убијене у 1. год. Infected seedlings killed in 1 year	3	30	3	27	6	40	9	47	7	44	7	39	0	0	0	0
Производња ризоморфи Rhizomorphs production		2,2		2,1		2,2		2		2,3		2,2		2,4		1,3

паразит на четинарским врстама. Виталност инокулума имала је вредности преко 92%.

Удео заражених садница кретао се у интервалу од 35% код смрче, па чак до 59% код оморике (табела 2). За разлику од четинара број заражених садница код лишћара био је испод 20%. Даљим прегледом табеле може се запазити да су и биљке које су заражене у 71-86% случајева биле убијене, што указује на високу патогеност ове гљиве. Не постоји статистички значајна разлика између појединих врста ($p < 0,46$).

Просечне вредности оштећења на биљкама имале су, такође, високе вредности и кретале су се у интервалу од 3,9-4,4 за четинарске врсте, док су вредности код лишћарских врста биле знатно ниже.

Удели садница убијених у првој години показују одређене разлике између појединих врста, али није могла бити потврђена њихова статистичка значајност ($p < 0,23$). Као и за претходне контролисане величине највеће вредности уочене за оморик, где је чак 47% заражених биљака убијено у првој години након инфекције. Вредности у интервалу од 39-44% уочене су за бели, црни бор и јелу, док су смрча и дуглазија имале вредности које су за 10% ниже (табела 2). У првој години није одумрла ни једна храстова садница.



Графикон 2. Морталитет двогодишњих садница 8 различитих дрвенастих врста у периоду од 18 месеци након инокулације са *A. ostoyae*

Figure 2. Mortality of two years old seedlings of 8 different tree species, 18 months after inoculation with *A. ostoyae*

После шест месеци уочено је прво одумирање садница код белог бора. После шест месеци међу четинарским врстама јавиле су се прве убијене саднице (графикон 2). Убијене саднице дуглазије регистроване су 10 месеци након извршене инокулације. Између 10. и 12. месеца уочава се нагло одумирање заражених садница, када је регистровано 32 мртве саднице. После овог периода тренд сталног одумирања се наставља, али са нешто мањим интензитетом. До краја огледа јасно се уочава груписање отпорнијих врста где спадају смрча и дуглазија од осетљивијих као што су оморика, бели и јела. Осетљивост храстова на напад *A. ostoyae* била је минимална. Прве мртве биљке јавиле су се тек у 16 месецу код лужњака и 17 месецу код китњака.

У укупном трајању огледа, од последица напада, *A. ostoyae* осушиле су се 93 биљке, док је хлороза и лоше здравствено стање уочено код 11 различитих садница четинара.

Представљени резултати показују да је испитивани изолат *A. ostoyae* јако патоген за шест испитиваних четинарских врста. Иако су уочене разлике у патогености према појединим врстама четинара и лишћара, ове разлике унутар четинарских представника нису биле статистички значајне ($p < 0,16$).

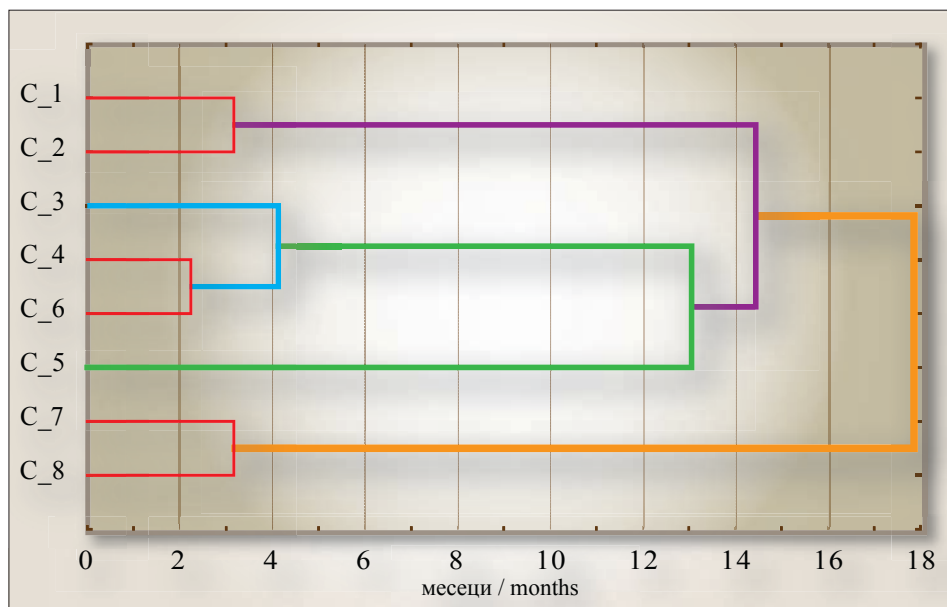
3.3. Кластер анализа груписања испитиваних врста

На основу укупног броја убијених биљака на крају експеримента (18 месеци), урађена је кластер анализа за испитиваних 8 врста (графикон 3). Уочавају се два кластера један у коме су четинарске врсте и други у коме су далеко отпорнији храстови.

Унутар кластера четинара уочавају се две, три групе: једна коју чине смрча и дуглазија, са најмање одумрлих биљака на крају огледа; други у коме су оморика, јела и бели бор - по резултатима веома осетљиве врсте; трећа у коме је смештен црни бор, као прелаз између прве и друге групе.

4. ДИСКУСИЈА

Redfern је још давне 1975. год. покушао да експериментално утврди способности појединих *Armillaria* врста да изазову болест на шумском дрвећу. Утврђено је да је патогеност за *A. mellea* и *A. ostoyae* приближно иста, док је код *A. gallica* и *A. cepistipes* далеко мања. Међутим, убрзо су се појавили и резултати који су указивали да *A. mellea* може бити знатно патогенија од *A. ostoyae* (Morrison, 1982). Mallet и Hiratsuka (1988), који су проучавајући осетљивост усуканог бора (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud.), установили да је смртност заражених садница код *A. mellea* (83,3%) вишеструко већа у односу на *A. ostoyae* (11,7%). Проучавајући агресивност у младим засадима *Pinus sylvestris* и *Picea abies*, Rishbet (1983) налази да је *A. ostoyae* далеко агресивнија од *A. mellea*. Очигледно да су постојале разлике у примењиваним



Графикон 3. Кластер анализа удаљености за 8 тестираних дрвенастих врста према уделу мртвих биљака после 18 месеци огледа (тестиране су: C₁ - *Picea abies*, C₂ - *Pseudotsuga menziesii*, C₃ - *Abies alba*, C₄ - *Picea omorika*, C₅ - *Pinus nigra*, C₆ - *Pinus sylvestris*, C₇ - *Quercus robur* и C₈ - *Quercus petraea*)

Figure 3. Cluster analysis of distance between 8 tested tree species, according to the number of dead seedlings after 18 months of experiment (labels: C₁ - *Picea abies*, C₂ - *Pseudotsuga menziesii*, C₃ - *Abies alba*, C₄ - *Picea omorika*, C₅ - *Pinus nigra*, C₆ - *Pinus sylvestris*, C₇ - *Quercus robur* and C₈ - *Quercus petraea*)

методима оцене агресивности између аутора. Међутим, не сме се изгубити из вида да се ради о изолатима исте врсте са различитих континената, па се код поређења оваквих резултата мора узети у обзир и унутарврсна специјализација гљиве.

Тестирање патогености изолата *A. mellea* и *A. ostoyae* из Србије показало је да постоји одређена разлика која није статистички значајна. Број заражених биљака као параметар патогености указује да су просечне вредности за *A. mellea* (37%) и *A. ostoyae* (40%) скоро исте. Вредности које за сличне услове огледа наводе различити аутори кретале су се од 44% код Morrison-a и Pellow-a (2002) и 45% код Muga1-a и sar. (1989), преко 52% у истраживањима Omdal-a и sar. (1995) и 62% код Gregory-a (1985). Већина ових истраживања урађена је на четинарима па уколико упоредимо просечну вредност за 6 тестираних четинарских врста добијамо нешто веће вредности од 47% за *A. ostoyae* и 42% за *A. mellea*, што слаже са резултатима осталих аутора.

Четинарске врсте су показале знатно већу осетљивост и због тога је њима у истраживањима посвећивана много већа пажња. Morrison (1982) је урадио

компаративна истраживања осетљивости на вештачке инфекције на белом бору (*Pinus sylvestris*), дуглазији (*Pseudotsuga menziesii*), ситканској смрчи (*Picea sitchensis*), *Larix eurolepis* и *Tsuga heterophylla*. Међутим, резултати нису показали јасно уочљиве разлике у осетљивости. Параметар просечне вредности оштећења кретао се у интервалу између 3,0–3,4. Овако дефинисана разлика нема већи практични значај, нарочито ако се зна да у то време још увек нису биле дефинисане биолошке врсте *Armillaria* комплекса. Omdal и сар. (1995) урадили су истраживања осетљивости на осам северноамеричких шумских врста према нападу *Armillaria ostoyae*. Према њиховим резултатима трепетљика је показала највећу отпорност. Велика отпорност према нападу *Armillaria* врста примећена је код дуглазије, која је и у овом огледу показала највећу отпорност од испитиваних четинара.

Преостале испитиване врсте нису биле предмет ових истраживања, али би се могли упоредити резултати за неке од родова. Следећа најотпорнија врста (Omdal *et al.*, 1995) била је *Abies concolor* и *Picea pungens* Engelm., а затим долази читав низ *Pinus* врста са различитом осетљивости. Слична ситуација уочена је и код 6 четинарских врста испитиваних на осетљивост према изолату *A. ostoyae* из Србије. Мора се нагласити да разлике између појединих врста нису биле толико значајне, као у огледу Omdal-а и сар. (1995). Дуглазија и смрча су се издвајале по отпорности, док је оморика показала далеко највећу осетљивост. Две испитиване врсте борова биле су у прелазној категорији. Према Omdal-у и сар. (1995), јела је била јако отпорна, међутим током ових истраживања она се показала као јако осетљива. Такви подаци прикупљени су на терену где је примећено да одрасла стабла у природним састојинама после прве појаве симптома излива смоле у наредној вегетацији одумиру (Д. Карацић, усмено саопштење). Filip и Goheen (1984) наводе да су врсте из рода *Abies* у природним условима јако осетљиве на напад *A. ostoyae*. Још мање је познатих паралелних истраживања осетљивости четинара на напад *A. mellea*. Ова истраживања су показала да је оморика јако осетљива на њен напад, док је смрча показала највећу отпорност слично као и дуглазија.

Постоје назнаке да отпорност смрче и дуглазије није заснована само на генетској основи, већ и на њиховој способности да се супротставе продору и активацији одбрамбених механизма (Entry *et al.*, 1991). Оморика коришћена у овом огледу имала је изразито бујан пораст и могуће да су ткива имала спорији процес лигнизације. Подаци о тестирању различитих провенијенција смрче указују да оне са споријим растом мање обољевају, а да је један од могућих разлога боља одрвенелост корена и приданка (Prospero *et al.*, 2004). Са друге стране, неки аутори сматрају да је разлика у отпорности шумског дрвећа није само у функцији виталности стабала и услова станишта, него генетичке конституције домаћина (Wargo, Harrington, 1991).

О осетљивости/отпорности лишћара према *Armillaria* врстама у условима вештачких инфекција постоји мало података. Француски аутори су, проучавајући осетљивост неких пољопривредних врста, извршили истраживања на *Quercus borealis* и установили да је осетљив на напад *A. mellea*. Патогеност *A. ostoyae* према овој

врсти храста није имала значаја (Guillaumin *et al.*, 2005). Чињеница примећена од стране наведених аутора потврђена је и током ових истраживања. Удео заражених садница кретао се око 25% за *A. mellea*, а просечно 50% заражених садница убијено је у посматраном периоду. Наведени резултати показују да *A. mellea* на храстовима има способност да се понаша и као патоген, али све је на старијим стаблима чешће њено опортунистичко дејство (Guillaumin *et al.*, 2005). Очигледно је да *A. mellea* има способност да убије младе биљке храстова, али би од великог значаја било проучити како се патогеност мења у функцији старости биљака, односно која је то старост када престаје угроженост. Истовремено би било значајно установити и какав је утицај дефолијације и присуства пепелнице (Josifović, 1952), као и климатских промена на однос између *Armillaria* врста у зрелим и презрелим храстовим састојинама.

5. ЗАКЉУЧЦИ

На основу приказаних резултата истраживања уочен је већи број чињеница које би се у будућности могле успешно применити за организовање мера заштите против ових опасних патогена. Можемо извести следеће закључке:

- *Armillaria mellea* и *A. ostoyae* су показала способност да нападну и убију саднице свих 8 испитиваних дрвенастих врста;
- број садница убијених од *A. mellea* у периоду од 18 месеци био је 78 (72 четинарске и 6 лишћарских), док су симптоми хлорозе уочени на још 12 четинарских садница;
- саднице које су биле изложене нападу, тј. које су имале контакт са ризоморфама, оболеле су у значајном степену (од 31-57%), а највећи удео оболелих биљака запажен је код оморике (57%) и белог бора (46%);
- удео убијених садница по оствареној зарази за *A. mellea* кретао се од 73-83% код четинарских врста и 40-60% код храстових садница;
- висока осетљивост садница на напад *A. mellea* уочена је код оморике, јеле и белог бора, код којих је 53%, 46% и 43% биљака убијено у првој години;
- *A. ostoyae* је током 18 месеци убила 93 биљке, од чега 89 четинара и 4 лишћара, а хлоротичне реакције примећене су код 11 четинарских садница;
- удео заражених садница у огледу са *A. ostoyae* кретао се у интервалу од 35% код смрче до 59% код оморике, а код лишћара биле су испод 20%;
- заражене биљке су у 71-86% случајева биле убијене, што указује на високу патогеност;
- *A. ostoyae* је током 18 месеци убила 93 биљке, од чега 89 четинара и 4 лишћара, а хлоротичне реакције примећене су код 11 четинарских садница;
- кластер анализа осетљивости врста показала је могућност груписања у три категорије: I - смрча и дуглазије, II - јела, бели и црни бор и оморика, III - лужњак и китњак;

- четинарске саднице из групе II чешће су биле заражене, како од *A. mellea* тако и од стране *A. ostoyae*;
- Duncan-тест за разлике у броју убијених биљака на крају огледа дао је следећи распоред од најосетљивије до најотпорније врсте: оморика, бели бор, црни бор, јела смрча, дуглазија, лужњак и китњак.

ЛИТЕРАТУРА

- Banković S., Medarević M., Pantić D., Petrović N., Šljukić B., Obradović S. (2009): *Šumski fond Republike Srbije - stanje i problemi*, Glasnik Šumarskog fakulteta 100, Univerzitet u Beogradu - Šumarski fakultet, Beograd (7-30)
- Wargo P. M., Harrington T.C. (1991): *Host stress and susceptibility*, „Armillaria Root Disease”, Ed. by Shaw C.G. III, Kile G.A., Agriculture Handbook № 691, Forest Service, USDA, Washington DC (88-101)
- Garrett S.D. (1970): *Pathogenic Root - Infecting Fungi*, Cambridge University Press, Cambridge (294)
- Gregory S.C. (1985): *The use of potato tuber in pathogenicity studies of Armillaria isolates*, Plant Pathology 34 (41-48)
- Guillaumin J.J., Legrand P., Lung-Escarment B., Botton B. (2005): *L'armillarie et le pourride' - agric des ve'ge'taux ligneux*, INRA, Paris (487)
- Entry J.A., Cromack K. Jr., Kelsey R.G., Martin N.E. (1991): *Response of Douglas fir to infection by Armillaria ostoyae after thinning or thinning plus fertilization*, Phytopathology 81 (682-689)
- Josifović M. (1952): *Šumska fitopatologija*, Naučna knjiga, Beograd (384)
- Keča N. (2009): *In vitro interactions between Armillaria species and potential biocontrol fungi*, Bulletin of the Faculty of Forestry 100, University of Belgrade - Faculty of Forestry, Belgrade (129-142)
- Kile G.A., Guillaumin J.J., Mohammed C., Watling R. (1994): *Biogeography and pathology of Armillaria*, Proceedings of the Eight International Conference on Root and Butt Rots. Part 2. Edited by Johansson M. and Stenlid J., Wik - Haikko (411-436)
- Korhnen K. (1978): *Interfertility and clonal size in the Armillariella mellea complex*, Karstenia 18 (31-42)
- Lung B., Taris B. (1984): *L'armillaire, parasite du Pin Maritime dans les Landes de Gascogne*, Phytoma 362 (44-47)
- Mallett K.I., Hiratsuka Y. (1988): *Inoculation studies of lodgepole pine with Alberta isolates of the Armillaria mellea complex*, Canadian Journal of Forest Research 18 (292-296)
- Mansilla J.P., Aguin O., Sain M.J. (2001): *A fast method for production of Armillaria inoculum*, Mycologia 93 (3) (612-615).
- Morrison D.J. (2004): *Rhizomorph growth habit, saprophytic ability and virulence of 15 Armillaria species*, Forest Pathology 34 (15-26)
- Morrison D.J., Pellow K.W., Norris D.J., Nemeč A.F.L. (2000): *Visible versus actual incidence of Armillaria root disease in juvenile coniferous stands in the southern interior of British Columbia*, Can. J. For. Res. 30 (405-414)

- Morrison D.J. (1982): *Variation among British isolates of Armillaria mellea*, Trans. British Mycological Society 79 (459-464)
- Mugala M.S., Blenis P.V., Hiratsuka Y., Mallett K.I. (1989): *Infection of lodgepole pine and white spruce by Alberta isolates of Armillaria*, Canadian Journal of Forest Research 19 (685-689)
- Omdal D.W., Shaw C.G. III, Jacobi W.R., Wager T.C. (1995): *Variation in pathogenicity and virulence of isolates of Armillaria ostoyae on eight tree species*, Plant Disease 79 (939-944)
- Prospero S., Holdenrieder O., Rigling D. (2004): *Comparison of the virulence of Armillaria cepistipes and Armillaria ostoyae on four Norway spruce provenances*, Forest Pathology 34 (1-14)
- Redfern D.B. (1975): *The influence of food base on rhizomorph growth and pathogenicity of Armillaria mellea isolates*, „Biology & Control of Soil - Borne Plant Pathogens”, Ed. by Brehl G.W., St. Paul M.N., The American Phytopathological Society (69-73)
- Rishbet J. (1983): *The importance of honey fungus (Armillaria) in urban forestry*, Arboricultural Journal 7 (217-225)
- Shaw C.G. III (1977): *Armillaria isolates from pine and hardwoods differ in pathogenicity to pine seedlings*, Plant Disease Reporter 61 (416-418)
- Tsopelas P. (1999): *Distribution and ecology of Armillaria species in Greece*, European Journal of Forest Pathology 29 (103-116)
- Filip G.M., Goheen D.J. (1984): *Root diseases cause severe mortality in white and grand fir stands of the Pacific Northwest*, Forest Science 30 (138-142)

Nenad Keča

CHECKING SENSITIVENESS OF EIGHT FOREST TYPES TO ARTIFICIAL FUNGAL INFECTIONS OF *ARMILLARIA MELLEA* AND *A. OSTOYAE*

Summary

In the forests of Serbia, there are five *Armillaria* species (*A. cepistipes*, *A. gallica*, *A. mellea*, *A. ostoyae* and *A. tabescens*) (Keča, 2009). Recognizing pathogenicity of the species which are present in some ecosystems has a great importance for undertaking control measures.

Testing resistance/sensitiveness of the eight species of forest trees has been done on the two years old nursery plants. Six conifer trees species (*Picea abies*, *Abies alba*, *Pinus nigra*, *P. sylvestris*, *Picea omorika*, *Pseudotsuga taxifolia*) and two oaks species (*Quercus robur*, *Q. petraea*) have been included in the research. One hundred seedlings per tree species was tested.

In each container/plastic bag contained one seedling, which was infected with one inoculum (stick of a hazel tree) with mycelium of the tested *Armillaria mellea* and *A. ostoyae*, according to the method of Mansilla *et al.* (2001). Contacts of rhizomorphs have been estimated according to the method of Prospero *et al.* (2004), whereas pathogenicity was determined according to the improved method of Morrison (2004). Analysis of the given results was done by Statistica ver. 6 (StatSoft, Inc. (2001) Tulsa, OK, USA) and Excel 2002 (Microsoft Corporation 1985-2001).

During the period of two vegetations, i.e. eighteen months, study proved that *Armillaria mellea* and *A. ostoyae* have the ability to develop infections and kill young plants. Vitality of inoculums was in the interval 92-100% even after two vegetations spent in substrate.

In the experiment with *A. mellea* the first symptoms were seen after three months, and the first dead seedlings of *Picea omorika* and *Abies alba* were observed after five months. In the period of 18 months *A. mellea* killed 80-72 coniferous and 6 deciduous seedlings. Symptoms of chlorosis and decline were observed in 12 conifer seedlings and 1 deciduous seedling.

The greatest percentage of infected trees were those of Serbian Spruce (57%) and Scots Pine (46%), and values for other conifer trees were in the interval between 31-44% (Table 1). The percentage of the infected oak trees was about 25%.

In the experiment with *A. ostoyae* the percentage of the infected seedlings was in the interval of 35% (Norway Spruce) and 59% (Serbian Spruce). Number of infected deciduous trees was less than 20%. Further examination showed that infected plants in 71 to 86% of cases were killed, and this proves a high level of fungal pathogenicity.

During the experiment, the consequences of the attack of *A. ostoyae* resulted in dyeing of 93 plants, while chlorosis and decline was observed in 11 conifers seedlings.

Based on the total number of the killed plants in the end of the experiment (18 months), there was a cluster analysis done for 8 species (graph 3). There are two clusters: one with coniferous species and the second one with oaks.

Within the conifer trees cluster, there are two - three groups: one with a Norway Spruce and Douglas Fir, with the least dead plants in the end of the experiment, the second one with a Serbian Spruce, Common Fir and a Scots Pine - according to the results, they are very sensitive species, and the third group which in between the first and second and there is only a Austrian Pine.

The shown differences in susceptibility/resistance of tested forest tree species can in the future be successfully incorporate in the protection measures against both *Armillaria* and *Heterobasidion* species.