

**ULOGA STANIŠTA U PREDISPOZICIJI CRNOGA BORA
(*Pinus nigra* Arnold) NA ZARAZU FITOPATOGENOM GLJIVOM
Sphaeropsis sapinea (Fr.) Dyko et Sutton U ISTRI**

THE ROLE OF SITE IN PREDISPOSITION OF AUSTRIAN PINE
(*Pinus nigra* Arnold) TO PATHOGENIC FUNGUS
Sphaeropsis sapinea (Fr.) Dyko et Sutton IN ISTRIA (CROATIA)

Danko DIMINIĆ*, Nenad POTOČIĆ, Ivan SELETKOVIĆ****

*SAŽETAK: Provedenim istraživanjem 2001. godine utvrđeno je različito zdravstveno stanje crnoga bora (*Pinus nigra* Arnold) u Istri, od potpuno zdravih stabala i kultura, do lokacija s izrazitim simptomima odumiranja izbojaka, grana i krošnji. Na svim istraživanim lokalitetima utvrđena je prisutnost gljive *Sphaeropsis sapinea*. Analizom zdravstvenog stanja borovih kultura utvrđena je značajna uloga staništa u predispoziciji crnoga bora na zarazu ovom gljivom u sušnim razdobljima. Utjecaj matične podloge i tipa tla kroz ishranu crnoga bora posebice dolazi do izražaja u sadržaju dušika i kalija, te njihova odnosa (N/K) kao važnog predisponirajućeg čimbenika. U takvim uvjetima uloga kalija u biljci je važna s obzirom na njegov utjecaj na opskrbljenost vodom, otpornost na sušu i patogene organizme. Najniže N/K vrijednosti utvrđene su u iglicama borova na tlima flišne matične podloge, na lokalitetima na kojima nisu zabilježeni simptomi odumiranja izbojaka i grana. Na tlima vapnenačko-dolomitne matične podloge uz ishranu (utjecanu tipom tla), posebice vidljivo s višim N/K vrijednostima, u kompleksnoj ulozi staništa dodatno važnu ulogu igraju dubina tla, stjenovitost, ekspozicija i inklinacija u predispoziciji crnoga bora na zarazu ovom gljivom.*

*Pokusom inokulacije sadnica crnoga bora potvrđena je patogenost gljive *S. sapinea* i utvrđena jednaka sposobnost da izolati dobiveni iz bolesnih i zelenih organa crnoga bora (bez vidljivih simptoma bolesti) mogu prouzročiti odumiranje kore. Prihrana borovih sadnica amonijevim sulfatom utjecala je na povećanje visine biljaka i na dužinu nekroza kore, čime je potvrđena uloga dušika u predispoziciji borova na nastanak i širenje bolesti.*

*Ključne riječi: *Pinus nigra*, kultura, zdravstveno stanje, odumiranje, *Sphaeropsis sapinea*, stanište, suša*

UVOD – Introduction

Fitopatogena gljiva *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko et Sutton važan je uzročnik bolesti različitih vrsta crnogoričnog drveća, posebice borova. U Hrvatskoj se ovoj

gljivi posvećuje posebna pozornost od 1992. godine kada su zabilježena značajna odumiranja stabala crnoga bora na području Istre (Diminić 1994). U svijetu je ona poznata kao uzročnik oboljenja različitih biljnih organa njenih domaćina. U Hrvatskoj je tijekom provedenih istraživanja u zadnjih 15-ak godina utvrđeno da se gljiva razvija u iglicama, kori izbojaka, grana i debla, na štitićima češera te u stanicama drva uzrokujući tzv. plavilo (Diminić 1999; Diminić i sur. 2004). Posebice

* Prof. dr. sc. Danko Diminić (ddimanic@sumfak.hr) Sveučilište u Zagrebu Šumarski fakultet, Svetošimunska 25, Zagreb

** Dr. sc. Nenad Potočić, znanstveni savjetnik (nenadp@sumins.hr)

** Dr. sc. Ivan Seletković, znanstveni savjetnik (ivans@sumins.hr) Hrvatski šumarski institut, Cvjetno naselje 41, Jastrebarsko

je opasna kada šireći se staničjem kore uzrokuje njeno odumiranje (nekrozu). Kao tipični pertofitni organizam svojim toksinima primarno usmrćuje stanice kore, a potom ih naseljava svojim micelijem. Kao posljedica njena širenja u oboljeloj kori, u krošnjama borova uočavaju se tipični simptomi odumiranja grana od njihova vrha od najmlađih izbojaka. Jako zaraženi borovi imaju znatno reduciranu krošnju s izrazito vidljivim odumrlim granama nepravilno raspoređenim u njoj. Nerijetko, jako zaražena stabla odumiru.

Više autora utvrdilo je izrazito važnu ulogu predispozicije borova na zarazu gljivom. Kao najčešći uzroci stresa (predisponirajući čimbenici) navode se suša i neodgovarajući stanišni uvjeti, te povišene depozicija dušika, različita oštećenja (rane) od tuče, mraza, snijega, kukaca, orezivanja grana i dr. (Swart i sur. 1987; Chou i MacKenzie 1988; Nicholls i Ostry 1990; Van Dam i sur. 1990; De Kam i sur. 1991; Stanosz 1994; Stiki 1994; Wingfield i Swart 1994; Van Dijk i sur. 1992; Cech 1994; Diminić 1994, 1999; Zwolinski i sur. 1995; Diminić i sur. 2003). Stanosz i sur. (2001) zabilježili su kako je gljiva *S. sapinea* bila najprisutnija u biljkama američkog crvenog bora (*P. resinosa* Ait.) koje su pretrpile najveći vodni stres.

U Hrvatskoj je do danas gljiva *S. sapinea* zabilježena na crnom boru (*Pinus nigra* Arnold), dalmatinskom crnom boru (*P. nigra* ssp. *dalmatica* /Vis./ Schwz.), boru munjiki (*P. leucodermis* Antoine), planinskom boru (*P. mugo* Turra.), alepskom boru (*P. halepensis* Mill.), brucijskom boru (*P. brutia* Ten.) i običnom boru (*P. sylvestris*), te običnoj tuji (*Thuja occidentalis* L.) i zelenoj duglaziji (*Pseudotsuga menziesii* /Mirb./ Franco var. *menziesii*). Najosjetljivije vrste su crni bor u kulturama i urbanim sredinama, te munjika u urbanim sredinama (Diminić 1994, 1999).

Istražujući gljivu na crnom boru u Hrvatskoj od 1992. godine, zapaženo je također da se pojedine lokacije značajno razlikuju prema njenom utjecaju na zdravstveno stanje domaćina. Na nekim lokacijama *S. sapinea* je nađena samo na češerima, te ponegdje i na otpalim iglicama (otpale grane, stelja), no bez ikakvog štetnog utjecaja na zdravstveno stanje tih borova. S druge strane zabilježeni su lokaliteti gdje je gljiva uzrokovala značajna odumiranja izbojaka, grana, dijelova krošnji, pa i stabala.

Značajan prilog u rasvijetljavanju biologije i uloge gljive *S. sapinea* su novije spoznaje nekolicine autora. Jurc i Jurc (1995), Smith i sur. (1996), Stanosz i sur. (1997) i Stanosz i sur. (2001) utvrdili su postojanje endofitske (latentne) faze u razvojnom ciklusu ove gljive. U ulozi (fazi) latentnog patogena gljiva nastanjuje zelene ("zdrave") stanice organa svojih domaćina, ne uzrokujući simptome bolesti.

Dosadašnja istraživanja u nas ukazala su na veliki utjecaj suše, a u pojedinim slučajevima i SO₂ depozicija kao predisponirajućim čimbenicima na nastanak i razvoj bolesti (Diminić 1994, 1999; Diminić i dr. 2003). Prethodnim istraživanjima ove gljive utvrđen je u Hrvatskoj, pa tako i u Istri, jedino agresivan morfotip A gljive *S. sapinea* (Diminić i sur. 2004).

Istraživanja u ovom radu bila su usmjerena na rasvijetljavanje njene patogenosti i posebice uvjeta koji povoljno utječu na razvoj bolesti. U skladu s navedenim, istraživanja su imala za cilj utvrditi sljedeće:

A) U kulturama crnog bora:

1. utvrditi pojavu i intenzitet simptoma bolesti;
2. utvrditi ulogu gljive *S. sapinea* u nastanku simptoma;
3. utvrditi ulogu staništa (matična podloga, tip tla) kroz ishranu borova po pojedinim lokacijama, te ostalih obilježja kao što su dubina tla, stjenovitost, nagib terena i ekspozicija, kao mogućih predisponirajućih čimbenika na pojavu simptoma bolesti, odnosno zarazu gljivom *S. sapinea*.

Parametri koji nisu analizirani tijekom istraživanja su dob borovih kultura (Tablica 1.), s obzirom da u prethodnim istraživanjima nisu utvrđene razlike u pojavi simptoma (Diminić 1994; Diminić i sur. 1995; Diminić i sur. 2003), te provenijencija stabala crnoga bora glede nedostatka tih podataka. U skladu s dobi borova odabrane su kulture koje se znakovito ne razlikuju, osim u slučaju kultura Lesišćina i Trošti (Tablica 1).

B) Kroz pokus inokulacije izolatima gljive *S. sapinea*:

1. utvrditi da li i kakva patogena svojstva (sposobnost da uzrokuju nekrozu stanica kore) imaju izolati gljive dobiveni iz zdravih stanica, s obzirom na utvrđenu endofitsku (latentnu) fazu ove gljive, kao i iz oboljelih borova s različitim simptomima odumiranja izbojaka i grana;
2. uz navedeno, cilj ovoga pokusa je ispitati da li različita prihrana utječe na patogenost izolata *S. sapinea*, s obzirom da su dosadašnja istraživanja nekolicine autora utvrdila da povišene koncentracije dušika utječu na veće štete kod biljaka zaraženih ovom gljivom (De Kam i sur. 1991; Van Dijk i sur. 1992; Stanosz i sur. 2004).

Tablica 1. Lokaliteti istraživanja zdravstvenog stanja crnoga bora u Istri.
 Table 1. Research localities of Austrian pine health status in Istria.

Lokalitet <i>Locality</i>	Zdrav. kateg. <i>Health categ.</i>	Pros. dob stabla <i>Aver. tree age</i>	Povr. kulture <i>Plantation area</i> (ha)	Ekspozicija <i>Site exposition</i>	Stjenovitost <i>Site rockiness</i> %	Tip tla <i>Soil type</i> (prema / according to Škorić i sur. 1987)	(%)	Matični supstrat <i>Soil sub-type</i>
Paz	I	40	2,62	W	0 - 10	Antropogeno tlo / <i>Rigosol</i> Pseudoglej / <i>Pseudogley</i> Rendzina / <i>Rendzina</i> Eutrično smeđe / <i>Eutric Cambisol</i>	40 20 20 20	fliš <i>flisch</i>
Prviž	I	30	1,98	razna <i>various</i>	0 - 10	Antropogeno tlo / <i>Rigosol</i> Pseudoglej / <i>Pseudogley</i> Rendzina / <i>Rendzina</i> Eutrično smeđe / <i>Eutric Cambisol</i>	40 20 20 20	fliš <i>flisch</i>
Lesišćina	I	20	11,77	S, SE, SW	5 - 10	Sirozem / <i>Regosol</i> Rendzina / <i>Rendzina</i> ; Antropogeno tlo / <i>Rigosol</i>	60 30 10	fliš <i>flisch</i>
Trošti	II	70	7,59	razna <i>various</i>	0 - 5	Crvenica lesivirana / <i>Terra Rossa, luvi</i> Distrično smeđe / <i>District Cambisol</i> Smeđe na vapn. i dolomitu / <i>Calcocambisol</i> Lesivirano tlo / <i>Luvisol</i>	30 30 20 20	fliš <i>flisch</i>
Kurbino brdo	II	40	9,89	razna <i>various</i>	0 - 10	Crvenica lesivirana / <i>Terra Rossa, luvi</i> Crvenica tipična / <i>Terra Rossa, typical</i> Antropogeno tlo / <i>Rigosol</i>	40 30 30	fliš <i>flisch</i>
Vozilići	III	30	9,06	SE	5 - 10	Crnica organomin. / <i>Melanosol, organomin.</i> Smeđe na vapn. i dolomitu / <i>Calcocambisol</i>	60 40	fliš <i>flisch</i>
Mali Golji	III	50	7,92	razna <i>various</i>	0 - 10	Smeđe na vapn. i dolomitu / <i>Calcocambisol</i> Antropogeno tlo / <i>Rigosol</i> Crvenica tipična / <i>Terra Rossa, typical</i>	70 20 10	fliš <i>flisch</i>
Ripenda	III	40	17,74	W, NW	10 - 25	Crnica organomin. / <i>Melanosol, organomin.</i> Rendzina na dolomitu / <i>Rendzina</i> Kamenjara / <i>Lithosol</i> Smeđe na vapn. i dolomitu / <i>Calcocambisol</i>	40 20 20 20	vapnenac- dolomit <i>limestone-</i> <i>dolomite</i>
Lovranska Draga	IV	40	44,68	S, E	10 - 50	Crvenica tipična / <i>Terra Rossa, typical</i> Crvenica lesivirana / <i>Terra Rossa, luvi</i> Smeđe na vapn. i dolomitu / <i>Calcocambisol</i>	60 20 20	fliš <i>flisch</i>
Puntera	IV	40	7,46	E, NE	10 - 25	Smeđe na vapn. i dolomitu / <i>Calcocambisol</i> Kamenjara / <i>Lithosol</i> Crvenica tipična / <i>Terra Rossa, typical</i>	50 30 20	fliš <i>flisch</i>
Sušnjeвица	IV	50	21,40	S, SW	25 - 90	Crnica organomin. / <i>Melanosol, organomin.</i> Rendzina na dolomitu / <i>Rendzina</i> Kamenjara / <i>Lithosol</i> Smeđe na vapn. i dolomitu / <i>Calcocambisol</i>	40 20 20 20	fliš <i>flisch</i>

MATERIJALI I METODE RADA – Materials and methods

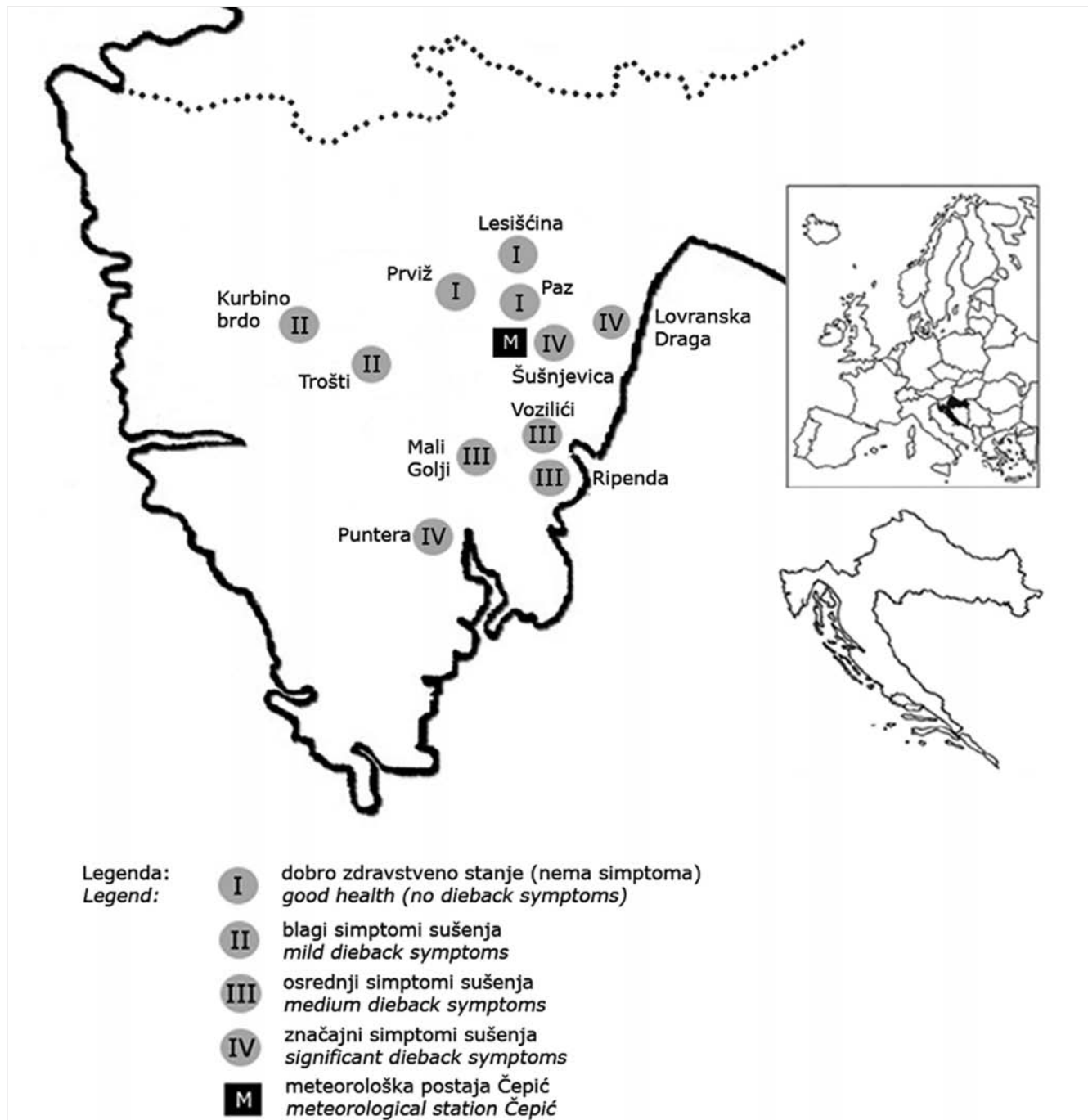
U tijeku istraživanja obavljen je zdravstveni pregled 11 lokaliteta u Istri i fitopatološka analiza sakupljenih uzoraka borova u Laboratoriju za patologiju drveća Šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Za utvrđivanje stanja ishrane borova na lokalitetima istraživanja sakupljene iglice analizirane su u Laboratoriju

za fizikalno – kemijska ispitivanja Hrvatskog šumarskog instituta u Jastrebarskom. Sve statističke analize (ANOVA, Tukey HSD Test, Fischer LSD Test) i grafički prikazi napravljeni su primjenom programa STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc. 2007).

Zdravstveni pregled kultura crnoga bora*The health status of Austrian pine plantations*

Zdravstveni pregled borovih kultura na području Istre, te sakupljanje uzoraka za patološku i kemijsku

analizu obavljani su u studenom 2001. Istraživane lokacije (Slika 1) odabrane su na dva načina. Tri kulture,



Slika 1. Lokaliteti istraživanja u Istri.

Figure 1 Research localities in Istria.

Lovranska Draga, Puntera i Šušnjeвица odabrane su s obzirom na utvrđene simptome odumiranja u prethodnim istraživanjima (Diminić 1999; Diminić i dr. 2003). Preostalih osam kultura odabrano je na temelju geografskog položaja, tla i matične podloge iz Programa gospodarenja za gospodarske jedinice UŠP Buzet: Paz, Prviž, Lesišćina (GJ Planik 1996–2005); Trošti, Kurbino brdo (GJ Motovun 1996–2005); Vozišćići, Mali Golji, Ripenda (GJ Smokovica 1994–2003);



Slika 2. Odumrli vrh grane zbog zaraze gljivom *S. sapinea*.
Figure 2 Dieback of a branch caused by fungus *S. sapinea*.

U kulturama gdje su zabilježeni simptomi odumiranja sakupljani su uzorci višegodišnjih izbojaka i grana s oboljelih borovih stabala. Ukupno je obrađeno 25 stabala crnoga bora. Sakupljeni uzorci iglica, izbojaka i grana, analizirani su standardnim laboratorijskim metodama. Uzorci za analizu pripremani su na način da su držani na vlati u petrijevim posudama kroz 48 sati. Analiza uzoraka u cilju identifikacije patogenih organizama obav-

Lovranska Draga (GJ Liburnija 1997–2006); Puntera (GJ Presika 1999–2008); Šušnjeвица (GJ Učka-Labin 1993–2002). Podaci o lokalitetima istraživanja dati su u Tablici 1.

Na temelju prisutnih simptoma bolesti: odumiranje iglica, izbojaka i grana, dijelova krošnji i cijelih stabala (Slike 2 i 3), obavljena je procjena ukupno zaraženih stabala u borovim kulturama i osutost njihovih krošnja (osutost prema ICP Forests).



Slika 3. Odumrlo stablo zbog zaraze gljivom *S. sapinea*.
Figure 3 Dieback of a tree caused by fungus *S. sapinea*.

ljena je uz korištenje svjetlosne stereolupe tip LEICA Leitz MZ8 i svjetlosnog mikroskopa tip LEICA Laborlux S, u povećanjima do 400 puta. U kulturama u kojima nisu zabilježeni simptomi odumiranja sakupljani su čišeri zbog utvrđivanja eventualne prisutnosti plodnih tijela gljive *S. sapinea*, te suhe 3 do 5 godina stare iglice sa stabala. Ukupno je obrađeno 10 stabala crnoga bora.

Uzorkovanje i kemijske analize biljnog materijala

Sampling and chemical analyses of plant materials

Na svakom istraživanom lokalitetu sa pet stabala crnoga bora po lokalitetu, sakupljeni su kompozitni uzorci ovogodišnjih i prošlogodišnjih iglica iz gornjih dijelova krošnji. Uzorci su sušeni na 105 °C do konstantne mase i izvagani na elektronskoj vazi s točnosti

od 0,01 g. U usitnjenim uzorcima određena je koncentracija ukupnog dušika (N) na elementarnom analizatoru LECO CNS 2000. Za analize ostalih elemenata usitnjeni uzorci su spaljeni mokrim postupkom koncentriranom sumpornom kiselinom uz dodatak katali-

zatora, perklorne kiseline (AOAC 1996). U uzorcima su određivani fosfor (P) kolorimetrijski na UV/VIS spektrofotometru PE-Lambda 1A, a kalij (K), kalcij

(Ca) i magnezij (Mg) izravno iz filtrata na atomskom apsorpcijskom spektrofotometru PE 3110.

Pokus inokulacije sadnica crnoga bora

Inoculation experiment of Austrian pine seedlings

U svrhu utvrđivanja patogenosti izolata gljive *S. sapinea* obavljen je pokus inokulacije kore različito prihranjenih sadnica crnoga bora amonijevim sulfatom $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Sadnice crnoga bora uzgojene su u kontejnerima u rasadniku Hrvatskog šumarskog instituta, Jastrebarsko. U uzgoju je korišten standardiziran supstrat (Tablica 2) za crni bor u kontejnerskoj proizvodnji. Korišteno je 16 kontejnera tipa "Bosnaplast". Nakon prve godine obav-

ljeno je prihranjivanje sadnica različitim koncentracijama amonijeva sulfata. Prihranjivanja su obavljanja 15. travnja, svibnja i lipnja, dvije godine uzastopno.

Formirane su 4 grupe po 4 kontejnera zdravih 3-godišnjih borovih sadnica, bez vidljivih simptoma bolesti. Kontrolu su činile sadnice koje nisu bile prihranjivane amonijevim sulfatom. Preostale 3 grupe prihranjene su amonijevim sulfatom u koncentracijama: 20, 40 i 80 g/m².

Tablica 2. Kemijski sastav supstrata za uzgoj sadnica crnog bora.

Table 2 Chemical properties of the Austrian pine seedlings substrate.

CaCO ₃ (%)	pH-H ₂ O	pH-N KCl	P ₂ O ₅ (mg/100g)	N (mg/100g)	K ₂ O (%)	Organska tvar Organic matter (%)
2,0	8,0	7,8	4,8	7,8	0,6	60,4

Korištena su tri izolata gljive *S. sapinea*. Dva izolata dobivena su iz uzoraka iglica oboljelih izbojaka istog stabla crnog bora s lokaliteta Prtlog u Istri. Izolat DP 04-1 izoliran je iz uzorka sakupljenog 1992. godine sa 20. godina starog stabla crnog bora, utvrđenog sa simptomima osutosti krošnje 40 % (osutost prema ICP Forests). Simptomi su posebice bili izraženi na jednogodišnjim izbojcima. Drugi izolat DP 06-3 izoliran je iz uzorka sakupljenog 1995. godine. Tada je to stablo bilo u fazi oporavka, sa simptomima osutosti krošnje 5 %. Zbog zaraze ranijih godina došlo je do intenzivnog prorijeđivanja krošnje, te je ona bila reducirana za 50 % u odnosu na stanje u vrijeme uzorkovanja 1992. godine. Oba izolata dobivena su iz spora plodnih tijela iz bolesnih iglica u Institute for Forestry and Nature Research (IBN-DLO), današnja Alterra, Wageningen, Nizozemska. Drugi razlog za njihov odabir je u činjenici da su u istraživanjima 20 izolata gljive (Diminić i sur. 2004) utvrđeni sa signifikantnom razlikom ($p < 0,05$) u brzini

rasta micelija na dvije temperature 20 i 25 °C, u kojima je izolat DP 06-3 pokazao sporiji rast.

Treći izolat gljive VIPAVA dobiven je iz zdrave, trogodišnje iglice (Jurc 1996). Uzorci iglica za izolaciju sakupljeni su na lokaciji Vipava (Slovenija) sa zdravog stabla crnoga bora, bez simptoma bolesti, u dobi od oko 60 godina. Izolat VIPAVA nalazi se u mikoteci Gozdarskog inštituta Slovenije pod šifrom LJUFu3: 51, i u kolekciji International Mycological Institute u Velikoj Britaniji pod šifrom IMI 368260.

U pokusu je inokulirano ukupno 208 sadnica crnog bora prema planu prikazanog u Tablici 3. Broj inokuliranih biljaka po tretmanu (TR) bio je sljedeći:

TR0 (bez prihrane): 30 + 10 biljaka kontrole (ukupno 40);

TR1 (prihrana s 20 g/m²): 42 + 14 biljaka kontrole (ukupno 56);

TR2 (prihrana s 40 g/m²): 42 + 14 biljaka kontrole (ukupno 56);

Tablica 3. Plan pokusa inokulacije sadnica crnog bora.

Table 3 Austrian pine seedlings inoculation experimental design.

T 0		T 1		T 2		T 3	
∅	D2	D2	D1	V	∅	D1	V
V	D1	∅	V	D1	D2	D2	∅

Legenda: prihrana amonijevim sulfatom T0 = 0 g/m²; T1 = 20 g/m²; T2 = 40 g/m²; T3 = 80 g/m²

S. sapinea izolati D1 = DP 04-1; D2 = DP 06-3; V = VIPAVA

∅ = kontrola

Legend: fertilization with ammonium sulphate T0 = 0 g/m²; T1 = 20 g/m²; T2 = 40 g/m²; T3 = 80 g/m²

S. sapinea isolates D1 = DP 04-1; D2 = DP 06-3; V = VIPAVA

∅ = control

TR3 (prihrana s 80 g/m²): 42 + 14 biljaka kontrole (ukupno 56). Mjesto inokulacije bilo je približno 1 cm ispod prijelaza između dvogodišnjeg i jednogodišnjeg

dijela stabljike. Zarezana je i uklonjena kora promjera 3 mm. U nastalu ranu umetani su diskovi micelija izolata gljive zajedno s hranjivom podlogom Malt Extract Agar

– MEA (Oxoid CM 59), promjera 3 mm. Nakon toga, mjesto inokulacije zatvoreno je vatom natopljenom u destiliranoj vodi te zamotano trakom Parafilm[®]M (Sigma-Aldrich, Inc.). Nakon dva dana skinuta je vata s mjesta inokulacije. Isti postupak ponovljen je na biljkama kontrole, no s razlikom da su umjesto micelija s agarom u rane umetani samo diskovi MEA agara promjera 3 mm (sterilan agar).

REZULTATI RADA – Results

Zdravstveni pregled kultura crnoga bora

The health status of Austrian pine plantations

Prilikom utvrđivanja zdravstvenog stanja zapaženo je da postoje značajne razlike među kulturama podignutim na različitim matičnim podlogama i tlima. Na temelju obavljene procjene ukupno zaraženih stabala i osutosti krošanja borove kulture svrstane su u četiri kategorije zdravstvenog stanja:

- I dobro zdravstveno stanje (nema simptoma odumiranja);
- II simptomi odumiranja u kulturi prisutni u malom intenzitetu, ukupno zaraženih stabala 5 %, osutost krošanja 5–15 %;
- III simptomi odumiranja u kulturi prisutni u osrednjem intenzitetu, ukupno zaraženih stabala 20–25 %, osutost krošanja 5–30 %;
- IV simptomi odumiranja u kulturi značajno prisutni, ukupno zaraženih stabala 40–70 %, osutost krošanja 5–100 %.

U Tablici 1 uz podatke o lokalitetima zabilježene su utvrđene kategorije zdravstvenog stanja. Najbolje zdravstveno stanje zabilježeno je u kulturama Paz, Prviž i Lesišćina (I kategorija – dobro zdravstveno stanje, nema simptoma odumiranja) (Slika 4). Primijećeno je da su krošnje borova u ovim kulturama malo prorijeđene i da su internodiji redovito kraći. Simptomi odumiranja izbojaka, grana i krošnji nisu zabilježeni, osim suhih 3 do 5 godina starih iglica na pojedinim stablima.



Slika 4. Borova kultura Prviž 2004. godine.
Figure 4 Pine plantation Prviž in 2004.

Inokulirane sadnice crnog bora, svakoga tretmana, analizirane su nakon 20 dana. Prethodno je obavljena izmjera visina sadnica (nadzemni dio). Postupak analize inokuliranih sadnica sastojao se u skidanju kore skalpelom od mjesta inokulacije prema vrhu stabljike, a zatim prema korijenu. Nakon toga mjerene su ukupne dužine nekroza.

U kulturama zdravstvenih kategorija II–IV zabilježeni su simptomi odumiranja iglica, najmlađih i višegodišnjih izbojaka, grana i cijelih stabala. Borove kulture Trošti i Kurbindo brdo (II kategorija) zabilježene su sa rijetkim simptomima odumiranja iglica i izbojaka. U obje kulture najizraženiji simptom utvrđen je u klorozu ovogodišnjih iglica, te odumiranju pojedinih najmlađih izbojaka, uglavnom u donjim dijelovima krošnji.

U kulturama Vozilići, Mali Golji i Ripenda (III kategorija) zabilježeni su simptomi osrednjeg intenziteta. U kulturi Vozilići simptomi odumiranja višegodišnjih izbojaka utvrđeni su uglavnom u donjim dijelovima krošnji. Na lokaciji Mali Golji simptomi odumiranja višegodišnjih izbojaka utvrđeni su većinom u donjim, te na manjem broju stabala i u gornjim dijelovima krošnji. U kulturi Ripenda simptomi odumiranja višegodišnjih izbojaka utvrđeni su u različitim dijelovima krošnji, od baze do vrha.

Loše zdravstveno stanje (IV kategorija) utvrđeno je u kulturama Lovranska Draga, Puntera i Šušnjeveca. Na lokaciji Lovranska Draga na oboljelim stablima zabilježeni su simptomi odumiranja različitog intenziteta izbojaka i grana, u različitim dijelovima krošanja. Na lokaciji Puntera utvrđeno je slično zdravstveno stanje, a zabilježen je i manji broj odumrlih stabala. U najlošijem zdravstvenom stanju je borova kultura Šušnjeveca (Slika 5). Zabilježen je veći broj odumrlih stabala, a većina živih stabala ima izrazite simptome odumiranja izbojaka, grana i dijelova krošnji.



Slika 5. Borova kultura Šušnjeveca 2004. godine.
Figure 5 Pine plantation Šušnjeveca in 2004.

Fitopatološka analiza uzoraka

Pathological analysis of samples

Laboratorijskom analizom oboljelih iglica istraživanih lokaliteta (kulture zdravstvenog stanja II – IV), utvrđena je dominantna prisutnost gljive *S. sapinea*, te 6 vrsta: *Hypoxylon serpens* (Pers. ex Fr.) Kickx, *Truncatella hartigii* (Tub.) Stay., *Lophodermium pinastri* (Schrad. Ex Hook.) Chév., *Lophodermium seditiosum* Minter, Staley et Millar, *Phoma* sp. i *Cyclaneusma* sp. Navedene gljive (osim *S. sapinea*) nisu utjecale na zdravstveno stanje borova, odnosno nije utvrđena njihova uloga u odumiranju borovih krošanja. U kulturama I kategorije zdravstvenog stanja na suhim 3 do 5 godina starim iglicama, utvrđene su *Cyclaneusma* sp.,

L. pinastri i *T. hartigii*. Zabilježene gljive nisu utjecale na zdravstveno stanje uzorkovanih borova.

Laboratorijskim analizama u kori oboljelih izbojaka i grana (kulture zdravstvenog stanja II – IV) utvrđena je samo gljiva *S. sapinea*, kao uzročnik odumiranja izbojaka i grana, i krošnji jako zaraženih stabala. *S. sapinea* je također nađena i na lokalitetima dobra zdravstvenog stanja, gdje je utvrđena samo na štitičima češera, ne uzrokujući simptome bolesti u borovim krošnjama (kulture Paz, Prviž i Lesišćina).

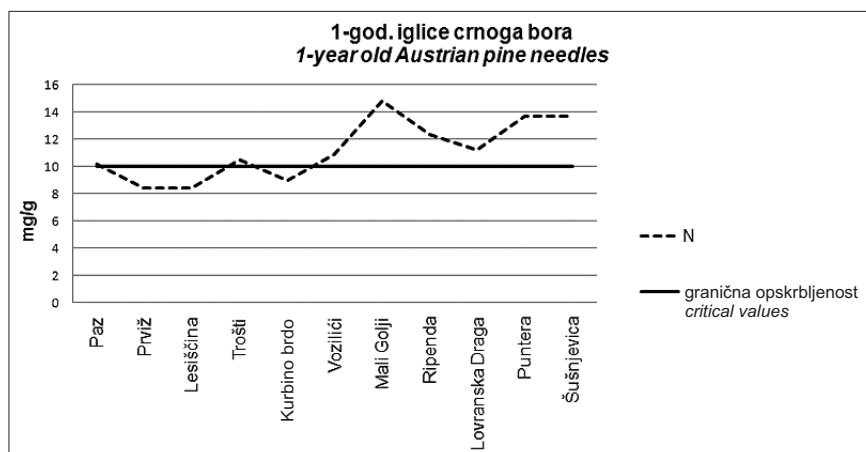
Kemijska analiza biljnog materijala

Chemical analysis of plant materials

Kemijskom analizom uzoraka iglica dobiven je uvid u stanje ishrane borova istraživanih lokaliteta. U iglicama borova koji su rasli na istom tipu tla zabilježene su očekivano slične koncentracije kemijskih elemenata. Uspoređujući lokalitete različitih tipova tala i matičnih podloga utvrđene su razlike. Najuočljivije, razlike su u koncentracijama dušika i kalija, bez obzira na starost analiziranih iglica. U koncentracijama ostalih elemenata nisu utvrđene značajnije razlike među borovim kulturama. Opskrbljenost fosforom, kalcijem i magnezijem u iglicama crnoga bora zadovoljavajuća je na svim istraživanim lokalitetima.

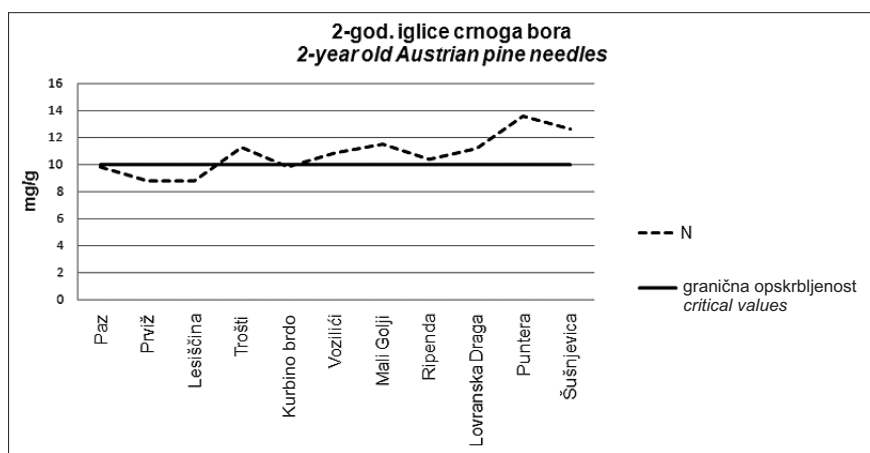
Najniže koncentracije dušika u iglicama utvrđene su na lokalitetima koji se nalaze na flišnoj matičnoj podlozi (Paz, Prviž i Lesišćina). Na lokalitetima vapnenačko-dolomitne podloge (izuzev Kurbino brdo) koncentracije dušika bile su adekvatne

do optimalne (Slike 6 i 7). Statističkom analizom uspoređene su tri grupe lokacija: A – borove kulture na flišu, I kategorije zdravstvenog stanja (Paz, Prviž i Lesišćina); B – borove kulture na vapnencu i dolomitu, III kategorije zdravstvenog stanja (Vozilići, Mali Golji i Ripenda); i C – borove kulture na vapnencu i dolomitu, IV kategorije



Slika 6. Sadržaj dušika u 1-god. iglicama crnoga bora.

Figure 6 Nitrogen concentrations in 1-year old Austrian pine needles.

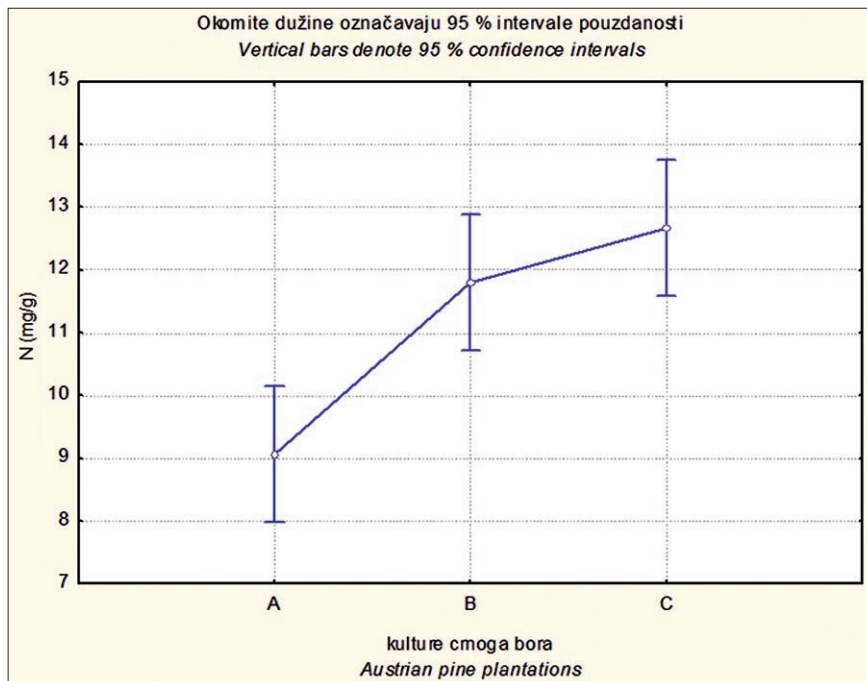


Slika 7. Sadržaj dušika u 2-god. iglicama crnoga bora.

Figure 7 Nitrogen concentrations in 2-year old Austrian pine needles.

zdravstvenog stanja (Lovranska Draga, Puntera i Šušnjeвица). U slučaju dušika utvrđeno je da se grupa A sig-nifikantno razlikuje, ima značajno niže vrijednosti od grupa B i C, dok se B i C međusobno ne razlikuju (A-B $p=0,004637$; A-C $p=0,000554$; B-C $p=0,465732$) (Slika 8).

Vrijednosti kalija u iglicama borova istraživanih lokaliteta generalno su u rasponu adekvatnih vrijednosti. U suprotnosti s dušikom, koncentracije kalija su najviše na lokalitetima flišne matične podloge i približavaju se optimalnim vrijedno-



Slika 8. Dušik u 1- i 2-god. iglicama crnoga bora u kulturama različita zdravstvenog stanja.
Figure 8 Nitrogen concentrations in 1- and 2-year old Austrian pine needles in plantations with revealed different health status.

stima (≥ 7 mg/g), osim na lokaciji Prviž. Na ostalim lokacijama vrijednosti u iglicama približavaju se rasponu nedostane opskrbljenosti kalijem (Slike 9 i 10). Statističkom analizom također su uspoređene navedene tri grupe lokacija: A, B i C. U slučaju kalija utvrđeno je da se grupe A i B međusobno značajno razlikuju, dok se grupa C ne razlikuje od A i B. (A-B $p = 0,021386$; A-C $p = 0,205791$; B-C $p = 0,445370$) (Slika 11).

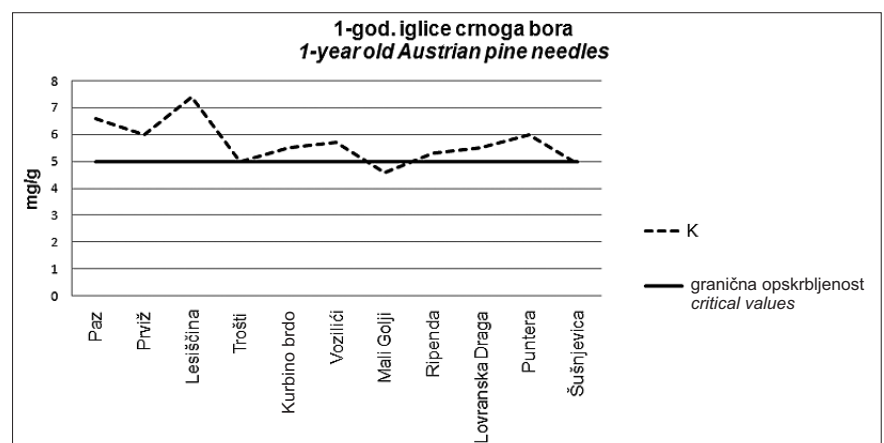
Za analizu stanja ishrane važan je također i odnos dušika i kalija. Statističkom analizom utvrđene su značajne razlike između grupe A i grupa B i C. Grupa A ima značajno niže N/K vrijednosti i razlikuje se od grupa B i C, dok se grupe B i C međusobno ne razlikuju (A-B $p = 0,002004$; A-C $p = 0,004791$; B-C $p = 0,892295$) (Slika 12). Na slici 13. vidljiv je taj odnos po pojedinim lokalitetima, kao i trend povećanja vrijednosti od borovih kultura I do IV kategorije zdravstvenog stanja. Najniže N/K vrijednosti zabilježene su u iglicama borova u Istri uzraslih na tlima flišne matične podloge.

Legenda:

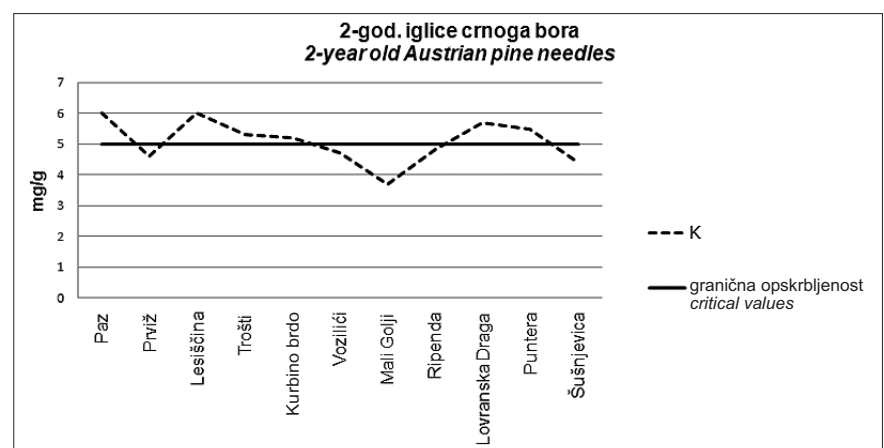
- A – borove kulture na flišu, I kategorije zdravstvenog stanja (Paz, Prviž i Lesiščina)
- B – borove kulture na vapnencu i dolomitu, III kategorije zdravstvenog stanja (Vozilići, Mali Golji i Ripenda)
- C – borove kulture na vapnencu i dolomitu, IV kategorije zdravstvenog stanja (Lovranska Draga, Puntera i Šušnjevlca)

Legend:

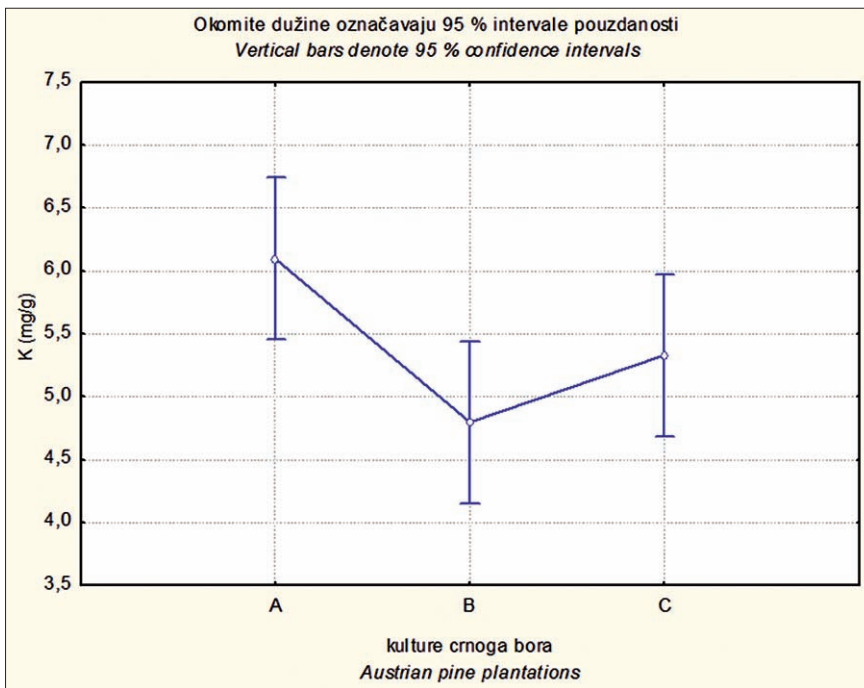
- A – pine plantations on flisch, I health category (Paz, Prviž i Lesiščina)
- B – pine plantations on limestone-dolomite, III health category (Vozilići, Mali Golji i Ripenda)
- C – pine plantations on limestone-dolomite, IV health category (Lovranska Draga, Puntera i Šušnjevlca)



Slika 9. Sadržaj kalija u 1-god. iglicama crnoga bora.
Figure 9 Potassium concentrations in 1-year old Austrian pine needles.



Slika 10. Sadržaj kalija u 2-god. iglicama crnoga bora.
Figure 10 Potassium concentrations in 2-year old Austrian pine needles.



Legenda:

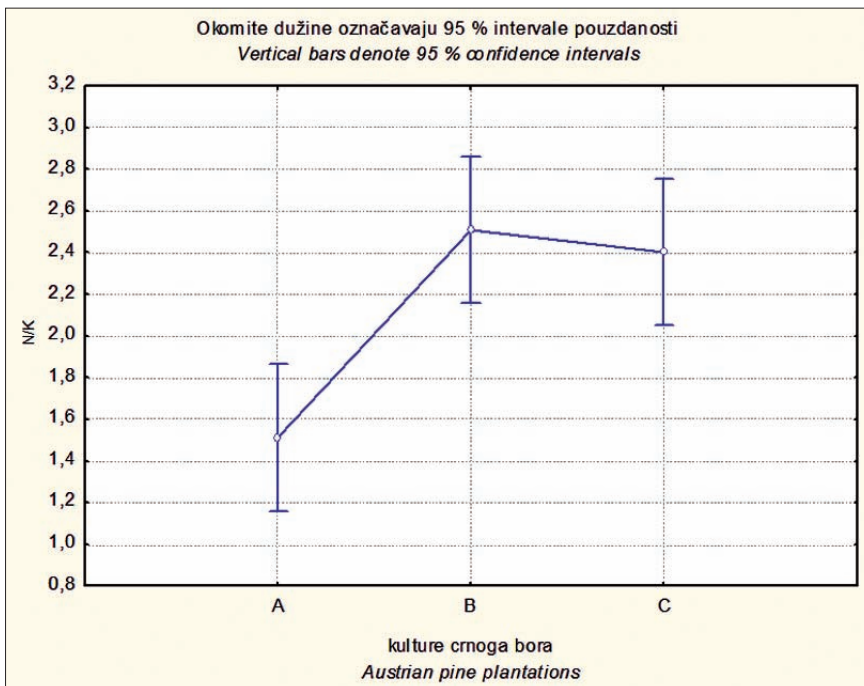
- A – borove kulture na flišu, I kategorije zdravstvenog stanja (Paz, Prviž i Lesišćina)
- B – borove kulture na vapnencu i dolomitu, III kategorije zdravstvenog stanja (Vozilići, Mali Golji i Ripenda)
- C – borove kulture na vapnencu i dolomitu, IV kategorije zdravstvenog stanja (Lovranska Draga, Puntera i Šušnjeвица)

Legend:

- A – pine plantations on flisch, I health category (Paz, Prviž i Lesišćina)
- B – pine plantations on limestone-dolomite, III health category (Vozilići, Mali Golji i Ripenda)
- C – pine plantations on limestone-dolomite, IV health category (Lovranska Draga, Puntera i Šušnjeвица)

Slika 11. Kalij u 1- i 2-god. iglicama crnoga bora u kulturama različita zdravstvenog stanja.

Figure 11 Potassium concentrations in 1- and 2-year old Austrian pine needles in plantations with revealed different health status.



Legenda:

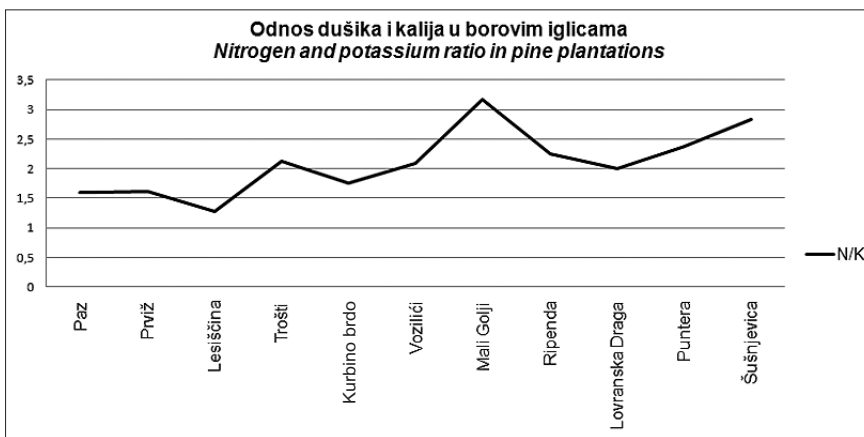
- A – borove kulture na flišu, I kategorije zdravstvenog stanja (Paz, Prviž i Lesišćina)
- B – borove kulture na vapnencu i dolomitu, III kategorije zdravstvenog stanja (Vozilići, Mali Golji i Ripenda)
- C – borove kulture na vapnencu i dolomitu, IV kategorije zdravstvenog stanja (Lovranska Draga, Puntera i Šušnjeвица)

Legend:

- A – pine plantations on flisch, I health category (Paz, Prviž i Lesišćina)
- B – pine plantations on limestone-dolomite, III health category (Vozilići, Mali Golji i Ripenda)
- C – pine plantations on limestone-dolomite, IV health category (Lovranska Draga, Puntera i Šušnjeвица)

Slika 12. Odnos dušika i kalija (N/K) u 1- i 2-god. iglicama crnoga bora u kulturama različita zdravstvenog stanja.

Figure 12 Nitrogen and potassium ratio (N/K) in 1- and 2-year old Austrian pine needles in plantations with revealed different health status.



Slika 13. Odnos dušika i kalija (N/K) u 1- i 2-god. iglicama crnoga bora po lokalitetima istraživanja.

Figure 13 Nitrogen and potassium ratio (N/K) in 1- and 2-year old Austrian pine needles according to research localities.

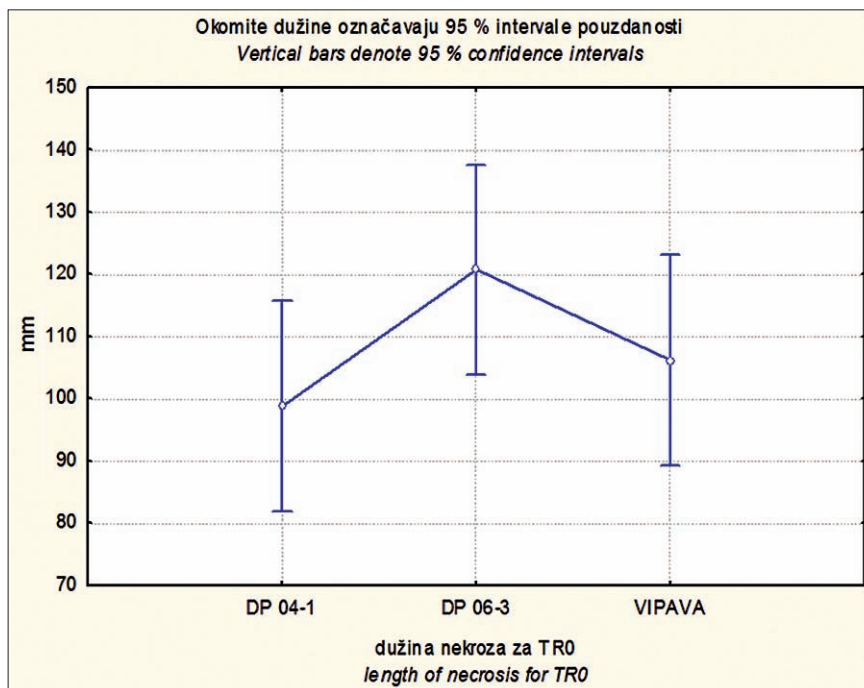
Pokus inokulacije sadnica crnoga bora

Inoculation experiment of Austrian pine seedlings

Obavljenim pokusom inokulacije zabilježena je pojava prvih simptoma u vidu kloroze iglica nakon 12 dana kod sadnica inokuliranih trima izolatima gljive. Nakon 20 dana analizom inokuliranih biljaka crnoga bora utvrđene su razvijene nekroze staničja kore, iznad i ispod mjesta inokulacije. Svaka od nekroza inokuliranih sadnica prstenovala je stabljike. U kori svih sadnica (osim jedne s izolatom VIPAVA), utvrđene su razvijene piknide gljive *S. sapinea*. Analizom biljaka kontrole nije zabilježena kloroza iglica, a ispod kore nije utvr-

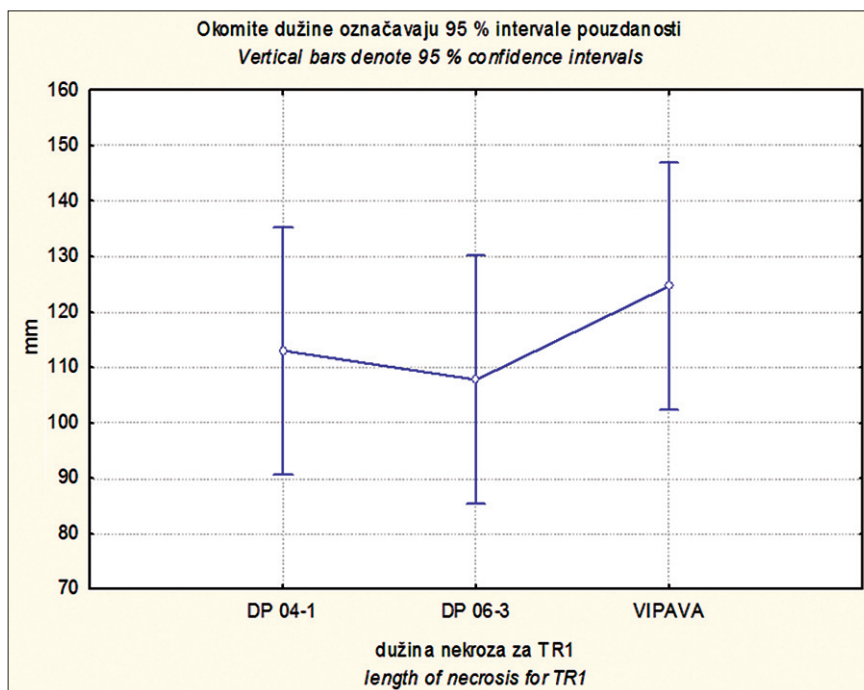
đena nekroza staničja ni u jednoj sadnici. Dužine nekroza kore koje su prouzročila tri izolata statistički su analizirane, a rezultati po tretmanima (TR) prikazani na slikama 14.–17. Utvrđeno je da nema signifikantnih razlika ($p < 0,05$) u patogenosti tri izolata za tretmane TR0, TR1 i TR3, dok je jedina razlika zabilježena kod TR2 između dužina nekroza prouzročenih izolatima DP 06-3 i VIPAVA ($p = 0,007509$).

Izmjerene visine sadnica sigifikantno se razlikuju ($p < 0,05$) s obzirom na tretman. U testovima parova



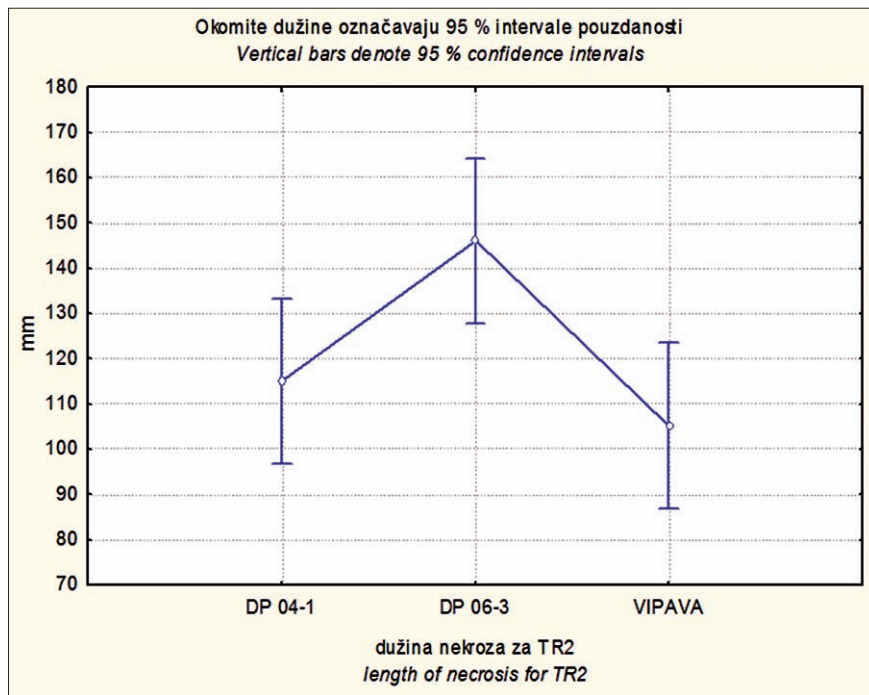
Slika 14. Dužine nekroza kore prouzrokovane izolatima gljive *S. sapinea* kod sadnica bez prihrane amonijevim sulfatom (TR0).

Figure 14 Length of bark necrosis caused by *S. sapinea* isolates in seedlings not fertilized with ammonium sulphate (TR0).



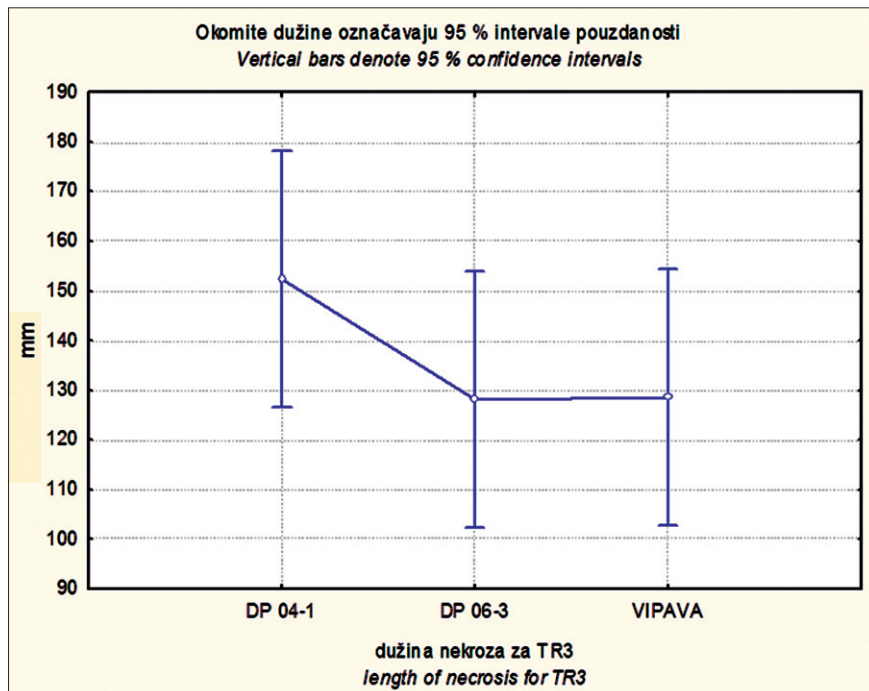
Slika 15. Dužine nekroza kore prouzrokovane izolatima gljive *S. sapinea* kod sadnica prihranjenih amonijevim sulfatom: 20 g/m² (TR1).

Figure 15 Length of bark necrosis caused by *S. sapinea* isolates in seedlings fertilized with ammonium sulphate: 20 g/m² (TR1).



Slika 16. Dužine nekroza kore prouzrokovane izolatima gljive *S. sapinea* kod sadnica prihranjenih amonijevim sulfatom: 40 g/m² (TR2).

Figure 16 Length of bark necrosis caused by *S. sapinea* isolates in seedlings fertilized with ammonium sulphate: 40 g/m² (TR2).



Slika 17. Dužine nekroza kore prouzrokovane izolatima gljive *S. sapinea* kod sadnica prihranjenih amonijevim sulfatom: 80 g/m² (TR3).

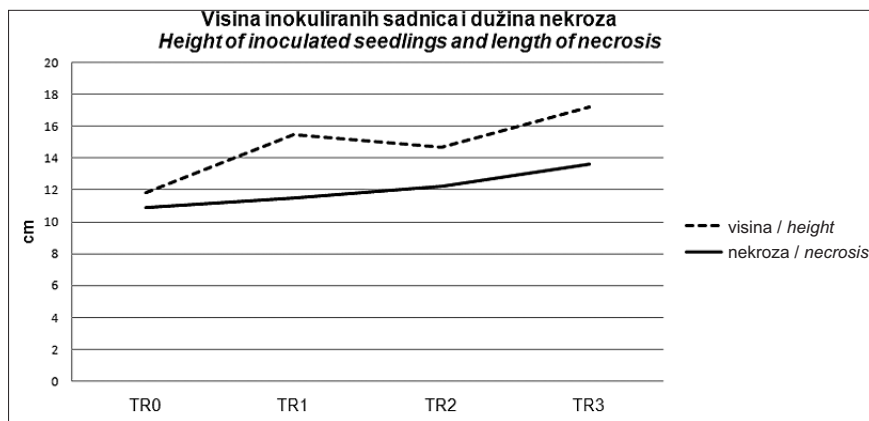
Figure 17 Length of bark necrosis caused by *S. sapinea* isolates in seedlings fertilized with ammonium sulphate: 80 g/m² (TR3).

Legenda:

- TR0 – borove sadnice bez prihrane amonijevim sulfatom;
- TR1 – borove sadnice prihranjene amonijevim sulfatom: 20 g/m²
- TR2 – borove sadnice prihranjene amonijevim sulfatom: 40 g/m²
- TR3 – borove sadnice prihranjene amonijevim sulfatom: 80 g/m²

Legend:

- TR0 – pine seedlings not fertilized with ammonium sulphate
- TR1 – pine seedlings fertilized with ammonium sulphate: 20 g/m²
- TR2 – pine seedlings fertilized with ammonium sulphate: 40 g/m²
- TR3 – pine seedlings fertilized with ammonium sulphate: 80 g/m²



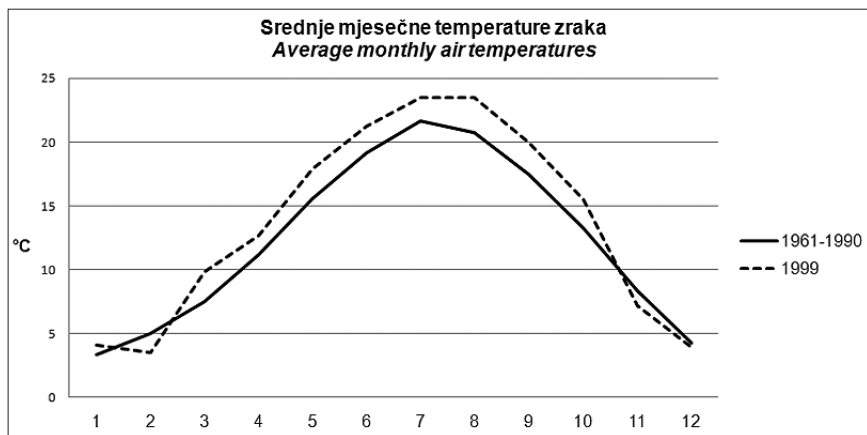
Slika 18. Prosječna visina inokuliranih sadnica i dužina nekroza po tretmanima prihrane amonijevim sulfatom.

Figure 18 Average heights of inoculated seedlings and lengths of necrosis according to treatments (fertilization) with ammonium sulphate.

tretmana TR0 ima značajno manju visinu sadnica od ostalih tretmana, TR1 i TR2 međusobno se značajno ne razlikuju, dok TR3 ima signifikantno veću visinu sadnica od ostalih tretmana. Istovremeno, nisu zabilježene razlike u visini sadnica ni ukupno, ni prema parovima izolata s obzirom na različite izolate.

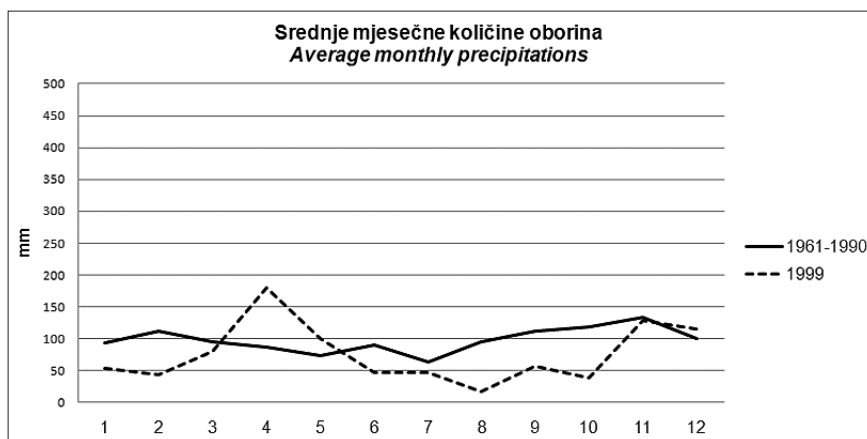
Gotovo istovjetne rezultate visinama daje analiza u kojoj se sadnice uspoređuju prema dužini nekroza, gdje

su zabilježene značajne razlike prema tretmanima, ali ne i prema izolatima. Istovremeno, visina sadnica značajno pozitivno korelira s dužinom nekroze. Ta veza nije jaka ($R = 0,2$; $p < 0,05$) ali je statistički značajna uz postojeću veličinu uzorka ($N = 156$). Na slici 18. vidljivo je navedeno, prihrana borovih sadnica utjecala je na povećanje visine biljaka, ali isto tako i na dužine nekroza prouzročenih trima izolatima gljive.



Slika 19. Srednje mjesečne temperature zraka za meteorološku postaju Čepić.

Figure 19 Average monthly air temperatures for meteorological station Čepić.



Slika 20. Srednje mjesečne količine oborina za meteorološku postaju Čepić.

Figure 20 Average monthly precipitations for meteorological station Čepić.

RASPRAVA – Discussion

U svezi ranijih istraživanja gljive *S. sapinea* u nas, njene pojave i štetnosti, analizirano je 17 izolata gljive iz Hrvatske te uspoređeno s nekoliko stajališta, a kao referenca korištena su 3 izolata iz Nizozemske (Diminić i sur. 2004). Istraživanje je provedeno u cilju utvrđivanja mogućih razloga spomenutih zapaženih razlika u pojavi i štetnosti same gljive na terenu. Nisu utvrđene signifikantne razlike u morfološkim obilježjima izolata, niti u njihovoj sporulaciji. Utvrđene su jedino signifikantne razlike u brzini rasta izolata u laboratorijskim uvjetima na 20 i 25 °C, međutim te razlike ne koreliraju s pojavom simptoma bolesti na istraživanim lokalitetima. Nadalje, analizom izolata utvrđeno je da svi pripadaju istom, patogenijem morfotipu A, koji je čest i rasprostranjen u cijelom svijetu. Time je odbačena hipoteza da je razlog pojave značajnih odumiranja borova na nekim lokalitetima, a na drugima izostanak istih, različita patoge-

nost pojedinih patotipova (grupa) gljive (Diminić i sur. 2004).

Zdravstvenim pregledom borova u Istri i laboratorijskom analizom uzoraka utvrđene su kulture dobrog zdravstvenog stanja i one u kojima je isto narušeno sa zabilježenim različitim simptomima odumiranja. Na lokacijama narušena zdravstvenog stanja utvrđeno je nekoliko različitih mikoza na iglicama, međutim jedino se *S. sapinea* dovodi u izravnu vezu s nastalim simptomima, uzrokujući odumiranje kore izbojaka i grana. Ova fitopatogena gljiva glavni je uzrok navedenih simptoma na lokalitetima: Trošći, Kurbino brdo, Vozilići, Mali Golji, Ripenda, Lovranska Draga, Puntera i Šušnjevića.

Utjecaj suše, kao predisponirajućeg čimbenika za nastanak i razvoj bolesti crnoga bora prouzročen gljivom *S. sapinea* u Hrvatskoj, zabilježen je 90-tih godina prošloga stoljeća (Diminić 1994, 1999; Diminić i

sur. 2003). U svrhu utvrđivanja mogućeg utjecaja suše na istraživano područje i predisponirajuću ulogu u nastanku simptoma, za analizu podataka temperature zraka i mjesečnih oborina, korišteni su podaci s meteorološke postaje Čepić, zbog njena geografskog položaja u odnosu na lokalitete istraživanja (Slika 1).

Prema podacima Državnog hrvatskog meteorološkog zavoda (DHMZ) za navedenu postaju, suša je (kao najizraženiji čimbenik stresa) znakovito bila prisutna krajem prošloga stoljeća na istraživanom području, te u godinama koje su neposredno prethodile ovom istraživanju. Uspoređujući tri godine prije provedenog istraživanja (1999., 2000. i 2001.) s 30-godišnjim prosjekom 1961–1990., mogu se zapaziti odstupanja u srednjim mjesečnim temperaturama zraka i srednjim mjesečnim količinama oborina. Tijekom proljetnih i ljetnih mjeseci evidentirane su više temperature zraka i manjak oborina. Temperaturna odstupanja i manjak oborina posebno je bio izražen u mjesecu svibnju 2000. i 2001., te u kolovozu 1999., 2000. i 2001. Srednja mjesečna temperatura zraka bila je viša za 2,5 i 2,6 °C u svibnju, te viša za 2,2 i 2,5 °C u kolovozu u odnosu na 30-godišnji prosjek. Mjesečna količina oborina bila je manja u svibnju za 84 % (2000) i 71 % (2001), te u kolovozu manja za 82 % (1999), 96 % (2000) i 97 % (2001) u usporedbi s 30-godišnjim prosjekom. Na slikama 19. i 20. vidljivo je navedeno na primjeru za 1999. godinu.

Simptomi bolesti u krošnjama borova nakon izraženih višegodišnjih sušnih razdoblja ili se nisu javili (kulture na flišu) ili su zabilježeni različitog intenziteta (kulture na vapnencu-dolomitu) kako je ranije navedeno.

Inokulacijom borovih sadnica, različito prihranjenih amonijevim sulfatom $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, trima izolatima *S. sapinea* utvrđeno je slijedeće. Povećanjem koncentracije amonijeva sulfata rastu vrijednosti visina sadnica i dužine nekroza kore prouzročene gljivom. Odnosno, utvrđen je utjecaj prihrane, a time i dušika, kako na rast sadnica tako i na veličinu (dužinu) odumrlog tkiva kore. S druge strane, utvrđeno je da nema razlika u patogenosti među izolatima gljive. Izolat VIPAVA, dobiven iz zelenih iglica prouzročio je podjednake dužine nekroza kore kao i dva izolata dobivena iz oboljelih iglica stabla s izraženim simptomima odumiranja izbojaka i grana crnoga bora. U tretmanu 1. (TR1) izolat VIPAVA prouzročio je prosječno i najduže nekroze (Slika 15). Ovime je potvrđena patogenost same gljive *S. sapinea*, te dokazana njena sposobnost da iz latentnog stanja (u zdravim stanicama domaćina), može prijeći u jakog patogena.

Slične rezultate dobili su De Kam i sur. (1991). Prihranjivanje inokuliranih sadnica korzičkog crnoga bora (*P. nigra* ssp. *laricio* /Poir./ Schwarz) amonijevim sulfatom također je rezultiralo višim rastom biljkama, te dužim nekrozama staničja kore prouzročenih gljivom *S. sapinea*.

Zabilježene signifikantne razlike u rastu kultura u laboratorijskim uvjetima među izolatima DP 04-1 i DP 06-3 (Diminić i sur. 2004), te u simptomima bolesti crnoga bora u trenutku sakupljanja iglica za njihovu izolaciju (kako je ranije navedeno), nisu potvrđene u pokusu inokulacije, odnosno oba izolata prouzročila su nekroze kore bez signifikantnih razlika.

Stanje ishrane borova na istraživanim lokalitetima utvrđivano je analizom uzoraka borovih iglica. U iglicama borova koji su rasli na istom tipu tla zabilježene su slične koncentracije kemijskih elemenata, dok su među borovima različitih tipova tla zabilježene razlike. Najuočljivije razlike utvrđene su među lokalitetima u koncentracijama dušika i kalija, bez obzira na starost iglica. Statističkom analizom uspoređene su tri grupe lokacija: A – borove kulture na flišu, I kategorije zdravstvenog stanja; B – borove kulture na vapnencu i dolomitu, III kategorije zdravstvenog stanja; i C – borove kulture na vapnencu i dolomitu, IV kategorije zdravstvenog stanja, i utvrđene su signifikantne razlike ($p < 0,05$) među grupama (Slike 8 i 11).

Najniže koncentracije dušika u iglicama utvrđene su na lokalitetima koji se nalaze na flišnoj matičnoj podlozi (Paz, Prviž i Lesišćina). Prema literaturnim podacima (Van den Burg 1990) dobivene vrijednosti ukazuju na nedostatnu opskrbljenost biljaka dušikom. Međutim, utvrđene niže vrijednosti nisu utjecale na pojavu vidljivih simptoma nedostatka dušika. Na drugim lokalitetima (izuzev Kurbino brdo), koncentracije dušika bile su adekvatne do optimalne.

Vrijednosti kalija u iglicama borova istraživanih lokaliteta općenito su u rasponu odgovarajućih vrijednosti. Suprotno s dušikom, koncentracije kalija su najviše na lokalitetima flišne matične podloge i približavaju se optimalnim vrijednostima (≥ 7 mg/g). Na ostalim lokalitetima vrijednosti u iglicama približavaju se rasponu nedostane opskrbljenosti kalijem. Općenito, nizak sadržaj kalija u dvogodišnjim iglicama (Slike 9 i 10) posljedica je njegove pokretljivosti u biljci, dobro poznatog svojstva premještanja kalija u mlađe dijelove biljke u slučaju njegovog nedostatka (Helmisaari 1992). Možemo zaključiti, da je zadovoljavajuća opskrbljenost jednogodišnjih iglica postignuta zbog koncentracije u dvogodišnjim iglicama. S obzirom na važnu ulogu kalija u biljci, opskrba vodom, otpornost na sušu, patogene organizme, itd. (Bergmann 1992), uočeni nedostatak kalija u starijim iglicama zabrinjavajuća je pojava.

Pojedini autori utvrdili su utjecaj ishrane na otpornost biljaka na neke patogene organizme. Gnojidba, npr. dušikom, može predisponirati drveće na zarazu patogenim organizmima kroz neravnotežu odnosa nadzemnog i podzemnog dijela kao i povećanjem osjetljivosti na vodni stres (Brown 1999). Suprotno dušiku, visoke koncentracije kalija povećavaju otpornost biljaka domaćina na zarazu patogenim organizmima (Marschner

1995). Navedeno je vidljivo iz primjera raka kore trepetljike (*Populus tremula* L.). Osjetljivost topola na rak kore, koji uzrokuju gljive iz roda *Hypoxylon*, povećala se dušičnom gnojdbom, a smanjila dodavanjem kalija (Teachman i dr. 1980, cit. Brown 1999).

Općenito, optimalne vrijednosti dušika povezuju se s povećanom osjetljivošću biljaka na gljivične bolesti, kao npr. i u slučaju istraživane gljive *S. sapinea* (Roelofs i sur. 1985). Negativan utjecaj povišenih koncentracija dušika na predispoziciju borova na napad gljive *S. sapinea* utvrdili su De Kam i sur. (1991), Van Dijk i sur. (1992) i Stanosz i sur. (2004). Huber (1980) ističe da je razvoj gljivičnih bolesti općenito favoriziran povećanjem dušika i nedostatkom kalija u biljkama.

U svezi s navedenim, za analizu stanja ishrane i njena mogućeg utjecaja na predispoziciju borova važan je odnos dušika i kalija. Statističkom analizom utvrđene su signifikantne razlike ($p < 0,05$) između grupe A (borove kulture na flišu, I kategorije zdravstvenog stanja) i grupa B i C (borove kulture na vapnencu i dolomitu, III i IV kategorije zdravstvenog stanja). Grupa A ima značajno niže N/K vrijednosti i razlikuje se od grupa B i C, dok se se grupe B i C međusobno ne razlikuju (Slika 12).

Na slici 13 vidljiv je taj odnos po pojedinim lokalitetima, kao i trend povećanja vrijednosti od borovih kultura I do IV kategorije zdravstvenog stanja. Najniže N/K vrijednosti zabilježene su u iglicama borova u Istri uzraslih na tlima flišne matične podloge. Na tim lokalitetima nisu zabilježeni simptomi odumiranja, a gljiva *S. sapinea* nije utvrđena na uzorkovanim iglicama, ali je zabilježena na otpalim češerima, što ukazuje na njenu prisutnost.

S druge strane, na lokalitetima vapnenačko-dolomitne matične podloge, gdje su utvrđene štete prouzročene ovom gljivom, pojavu simptoma možemo tek

djelomično tumačiti samo višim N/K vrijednostima u iglicama (Slike 12 i 13). Zabilježeni simptomi bolesti kretali su se od slabo prisutnih do jako izraženih. S obzirom na to, za pretpostaviti je da su uz ishranu (ponajprije utvrđen odnos dušika i kalija) i drugi stanišni čimbenici utjecali na predispoziciju borova. U Tablici 1 iskazani su neki podaci o lokalitetima istraživanja. Na temelju analize obilježja staništa kultura crnoga bora prema Škoriću i sur. (1987) može se zaključiti da uz tip tla važnu ulogu igraju i dubina tla, stjenovitost, ekspozicija i inklinacija u predispoziciji borova u sušnim razdobljima. Usporedbenom analizom rezultata istraživanja i podataka o kulturama, na primjeru pojedinih lokaliteta, može se zapaziti uloga staništa na povećanu osjetljivost borova na gljivu *S. sapinea*, a time i na pojavu i razvoj simptoma bolesti.

Na primjeru lokaliteta Mali Golji i Šušnjeвица vidljiv je navedeni utjecaj. Lokalitet Mali Golji utvrđen je s najvišim N/K vrijednostima, a Šušnjeвица s nešto nižim (Slika 13). Štetan utjecaj gljive *S. sapinea* bio je najizraženiji u kulturi Šušnjeвица (IV kategorija), dok su u Malim Goljima zabilježeni simptomi odumiranja srednjeg intenziteta (III kategorija). Samo temeljem usporedbe dušika i kalija bilo bi za očekivati da će najlošija situacija biti u kulturi Mali Golji, što nije bio slučaj. Međutim, analizom ostalih podataka o staništu, vidljivo je da je stjenovitost najizraženija u ŠušnjeVICI (25–90 %), da je tlo plitko i drukčijeg sastava od kulture Mali Golji. S druge strane kultura Mali Golji ima vrlo nisku stjenovitost (0–10 %) i tlo je uglavnom srednje duboko. Kultura Šušnjeвица nalazi se u podnožju Čičarije (južna, jugozapadna ekspozicija), dok je kultura Mali Golji na ravnom dijelu platoa zapadne Labinštine. Iz ovih podataka može se zaključiti da je borovima u sušnim razdobljima problem dostupnosti vode izraženiji u kulturi Šušnjeвица s obzirom na konfiguraciju tla i matične podloge.

ZAKLJUČCI – Conclusions

Na temelju dobivenih rezultata možemo zaključiti sljedeće. Gljiva *S. sapinea* prisutna je na svim istraživanim lokalitetima u Istri. Utvrđena je na češerima borova flišne matične podloge, čime se pretpostavlja njena prisutnost i u zdravim organima (latentna faza u iglicama i izbojcima), te kao uzrok odumiranja borova na tlima vapnenačko-dolomitne podloge. Patogenost *S. sapinea* dokazana je u pokusu inokulacije, a sposobnost izolata gljive dobivenih iz zdravih i oboljelih biljnih organa jednaka je u smislu nastanka i širenja zaraze, uzrokujući nekrozu kore.

Analizom zdravstvenog stanja borovih kultura utvrđena je značajna uloga staništa u predispoziciji crnoga bora na zarazu gljivom *S. sapinea* u sušnim razdobljima. Utjecaj matične podloge i tipa tla kroz ishranu crnoga bora posebice dolazi do izražaja u sadržaju dušika i kalija, te njihova odnosa kao važnog predisponiraju-

ćeg čimbenika. U takvim uvjetima uloga kalija u biljci je važna s obzirom na njegov utjecaj na učinkovito gospodarenje vodom, otpornosti na sušu i patogene organizme. Najniže N/K vrijednosti utvrđene su u iglicama borova na tlima flišne matične podloge, na lokalitetima na kojima nisu zabilježeni simptomi odumiranja. Na tlima vapnenačko-dolomitne matične podloge uz ishranu (utjecanu tipom tla), posebice vidljivo u višim N/K vrijednostima, u kompleksnoj ulozi staništa dodatno važnu ulogu igraju dubina tla, stjenovitost, ekspozicija i inklinacija u predispoziciji crnoga bora na zarazu gljivom.

U svezi sa svime navedenim, možemo zaključiti da gljiva *S. sapinea* može biti prisutna u borovim organima (latentna faza) ne uzrokujući patološke promjene. U razdobljima kada dolazi do promjena u metabolizmu borova uzrokovanih različitim čimbenicima stresa, po-

najprije sušom, može doći do aktivacije gljive, prelaska iz latentnog u aktivno (patogeno) stanje. U takvim uvjetima uloga staništa igra važnu ulogu u predispoziciji borova, posredno utječući na izostanak ili pojavu simptoma bolesti različita intenziteta.

Ovi rezultati potvrđuju važnost cjelovitog i komplektnog istraživanja šumskih ekosustava i interaktivnog utjecaja abiotičkih i biotičkih čimbenika na njihovu stabilnost.

ZAHVALA – Acknowledgment

Istraživanje je provedeno uz potporu Hrvatskih šuma d.o.o. Izražavamo svoju veliku zahvalnost Maji Gršković, dipl. ing. šum., Hrvatske šume d.o.o., na svesrdnoj pomoći u istraživanju zdravstvenog stanja borovih kultura u Istri. Zahvalnost također upućujemo prof. dr. sc. Maji Jurc, Biotehniška fakulteta, Univerza v

Ljubljani, na ljubaznosti kojom nam je ustupila izolat VIPAVA. Prof. dr. sc. Anja Mariji Jazbec, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i doc. dr. sc. Olegu Antoniću, višem znanstvenom suradniku, Institut Ruđer Bošković, zahvaljujemo na pomoći pri statističkoj analizi podataka.

LITERATURA – References

- AOAC, 1996: Official methods of analysis of AOAC International, Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA.
- Bergmann, W. (ed.), 1992: Nutritional Disorders of Plants: Development, Visual and Analytical Diagnosis. Gustav Fischer Verlag, Jena, 741 str.
- Brown, K. R., 1999: Mineral Nutrition and Fertilization of Deciduous Broadleaved Tree Species in British Columbia. Ministry of Forests Research Program, British Columbia, Victoria, Working Paper 42, 52 str.
- Cech, T. L., 1994: Epidemic occurrence of *Sphaeropsis sapinea* in Eastern Austria. U: P. Capretti, U. Heiniger, R. Stephan (ur.), Shoot and Foliage Diseases in Forest Trees, Proceedings of IUFRO WP S2.06.02 and S2.06.04, Italy, June 6–11, 1994, Università degli Studi di Firenze, Istituto di Patologia e Zoologia Forestale e Agraria, Valombrosa, Firenze, 263–269.
- Chou, C. K. S., M. MacKenzie, 1988: Effect of pruning and season on *Diplodia pinea* infection of *Pinus radiata* stem through pruning wounds. Eur. J. Forest Pathol. 18: 437–444.
- De Kam, M., C. M. Versteegen, J. Van den Burg, D. C. Van der Werf, 1991: Effects of fertilization with ammonium sulphate and potassium sulphate on the development of *Sphaeropsis spinea* in Corsican pine. Neth. J. Plant Pathol. 97: 265–274.
- Diminić, D., 1994: Prilog poznavanju mikoza borovih kultura u Istri. [Mycoses in the pine plantations of Istria (Croatia)]. Glas. šum. pokuse 30: 21–60.
- Diminić, D., 1999: The presence of fungus *Sphaeropsis sapinea* on pines in Croatia. U: B. Forster, M. Knížek, W. Grodzki (ur.), Methodology of Forest Insect and Disease Survey in Central Europe, Proceedings of 2nd Workshop IUFRO WP 7.03.10, Switzerland, April, 20–23, 1999, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research, Birmensdorf, Sion-Château-neuf, 189–193.
- Diminić, D., B. C. Van Dam, B. Hrašovec, 2004: *Sphaeropsis sapinea*: The cultural characteristics of isolates in relation to various impacts on pines in Croatia. Acta Phytopathol. Entomol. Hun. 39: 383–397.
- Diminić, D., B. Hrašovec, N. Potočić, 2003: The contributing role of SO₂ and drought in forest decline of Austrian pine in coastal Croatia. Ekol. Bratislava 22 (Suppl. 1): 80–83.
- Diminić, D., M. Glavaš, B. Hrašovec, 1995: Mikoze i štetni insekti u kulturama crnog bora na Crikveničko-vinodolskom području u 1993. [Mycoses and insect pests in Austria pine plantations of Crikvenica-Vinodol area in 1993]. Šumarski list 119 (7–8): 245–252.
- Helmisaari, H-S., 1992: Nutrient retranslocation within foliage of *Pinus sylvestris*. Tree physiol. 10: 45–58.
- Huber, D. M., 1980: The role of nutrition in defense. U: J. G. Horsfall, E. B. Cowling (ur.), How Plants Defend Themselves, Plant Disease, An Advance Treatise, Vol. 5, Academic Press, New York, 381–406.
- ICP Forests, 2010: Manual on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests, Part IV, Visual Assessment of Crown Condition and Damaging Agents, Hamburg, 49 str.
- Jurc, M., 1996: Endofitne gljive in njihove značilnosti v iglicah črnega bora (*Pinus nigra* Arn.). [Endophytic fungi and their characteristics in the needles of Austrian pine (*Pinus nigra* Arn.)]. Disertacija, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, 198 str.

- Jurc, M., D. Jurc, 1995: Endophytic fungi in the needles of healthy-looking Austrian pine (*Pinus nigra* Arn.). *Acta Pharm.* 45: 341–345.
- Marschner, H., 1995: Mineral nutrition of higher plants. 2nd edition. Academic Press, New York, 889 str.
- Nicholls, T. H., M. E. Ostry, 1990: *Sphaeropsis sapinea* cankers on stressed red and jack pines in Minnesota and Wisconsin. *Plant Dis.* 74: 54–56.
- Roelofs, J. G. M., A. J. Kempers, A. L. F. M. Houdijk, J. Jansen, 1985: The effect of air-borne ammonium sulphate on *Pinus nigra* var. *maritima* in the Netherlands. *Plant Soil* 84: 45–56.
- Smith, H., M. J. Wingfield, P. W. Crous, T. A. Coutinho, 1996: *Sphaeropsis sapinea* and *Botryosphaeria dothidea* endophytic in *Pinus* spp. and *Eucalyptus* spp. in South Africa. *S. Afr. J. Bot.* 62: 86–88.
- Stanosz, G. R., D. R. Smith, M. A. Guthmiller, J. C. Stanosz, 1997: Persistence of *Sphaeropsis sapinea* on or in asymptomatic shoots of red and jack pines. *Mycologia* 89: 525–530.
- Stanosz, G. R., J. T. Blodgett, D. R. Smith, E. L. Kruger, 2001: Water stress and *Sphaeropsis sapinea* as a latent pathogen of red pine seedlings. *New Phytol.* 149: 531–538.
- Stanosz, G. R., J. Trobaugh, M. A. Guthmiller, J. C. Stanosz, 2004: *Sphaeropsis* shoot blight and altered nutrition in red pine plantations treated with paper mill waste sludge. *Forest Pathol.* 34: 245–253.
- Stanosz, G. R., 1994: Factors influencing *Sphaeropsis* shoot blight and canker epidemics in central Wisconsin, USA. U: P. Capretti, U. Heiniger, R. Stephan (ur.), *Shoot and Foliage Diseases in Forest Trees*, Proceedings of IUFRO WP S2.06.02 and S2.06.04, Italy, June 6–11, 1994, Università degli Studi di Firenze, Istituto di Patologia e Zoologia Forestale e Agraria, Vallombrosa, Firenze, 254–262.
- StatSoft, Inc., 2007: STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com.
- Stiki, A., 1994: Crown wilt of *Pinus* associated to *Sphaeropsis sapinea* infection of woody stems. U: P. Capretti, U. Heiniger, R. Stephan (ur.), *Shoot and Foliage Diseases in Forest Trees*, Proceedings of IUFRO WP S2.06.02 and S2.06.04, Italy, June 6–11, 1994, Università degli Studi di Firenze, Istituto di Patologia e Zoologia Forestale e Agraria, Vallombrosa, Firenze, 271–272.
- Swart, W. J., M. J. Wingfield, P. S. Knox-Davies, 1987: Factors associated with *Sphaeropsis sapinea* infection of pine trees in South Africa. *Phytophylactica* 19: 505–510.
- Škorić, A., M. Adam, F. Bašić, M. Bogunović, D. Cestar, J. Martinović, B. Mayer, B. Miloš, Ž. Vidaček, 1987: Pedosfera Istre. [Pedosphere of Istria]. Projektni savjet pedološke karte Hrvatske, Posebna izdanja, Knjiga 2., Zagreb, 192 str.
- Van Dam, B. C., H. Blok, C. M. Versteegen, 1990: De mogelijke invloed van de denneschorswants (*Aradus cinnamomeus*) op het optreden van bastnecrosen, veroorzaakt door *Sphaeropsis sapinea* bij Corsicaanse den. U: M. De Kam (ur.), *De epidemische ontwikkeling van Sphaeropsis sapinea*, oorzak van scheutsterfte en bastnecrose bij *Pinus*-soorten in Nederland, De Dorschkamp Instituut voor Bosbouw en Groenbeheer, Wageningen, Rapport nr. 598, 47–59.
- Van den Burg, J., 1990: Foliar analysis for determination of tree nutrient status – a compilation of literature data. Literature 1985–1989. “De Dorschkamp”, Institute for Forestry and Urban Ecology. Wageningen, 220 str.
- Van Dijk, H. F. G., M. Van der Gaag, P. J. M. Perik, J. G. M. Roelofs, 1992: Nutrient availability in Corsican pine stands in the Netherlands and the occurrence of *Sphaeropsis sapinea*: a field study. *Can. J. Bot.* 70: 870–875.
- Wingfield, M. J., W. J. Swart, 1994: Integrated management of forest tree diseases in South Africa. *Forest Ecol. Manag.* 65: 11–16.
- Zwolinski, J. B., W. J. Swart, M. J. Wingfield, 1995: Association of *Sphaeropsis sapinea* with insect infestation following hail damage of *Pinus radiata*. *Forest Ecol. Manag.* 72: 293–298.
- * Programi gospodarenja za gospodarske jedinice Uprave šuma podružnice Buzet: GJ Liburnija 1997–2006, GJ Motovun 1996–2005, GJ Planik 1996–2005, GJ Presika 1999–2008, GJ Smokovica 1994–2003, GJ Učka-Labin 1993–2002.

SUMMARY: Austrian pine (Pinus nigra Arnold) was commonly planted during the last century in Croatia. Afforestation took place on various sites to prevent land from erosion and, or to restore forest vegetation, mainly in karst areas. Since 1992 the study on health status of Austrian pine plantations in

Croatia revealed significant dieback symptoms in some areas as the consequence of *Sphaeropsis sapinea* occurrence.

Research carried out in November 2001 found the fungus presence with different impact to *P. nigra* in Istria, healthy sites and also ones with various disease symptoms were observed (Figure 1, Table 1). In plantations which revealed good health status *S. sapinea* was found only on cones, but in plantations with dieback symptoms its presence was found in needles, shoots and branches, causing in some cases dieback of trees. According to dieback symptoms observed, research localities were categorised in four health categories as shown in Figure 1.

It was revealed that along the drought (Figures 19 and 20, an example for period 1961–1990 vs. 1999), the site conditions also played an important role in pines' predisposition to fungus attack during last years. This conclusion was supported by analyses of nutrition status in pines and site conditions (soil sub-types, soil types and depth, site rockiness, exposition and inclination, Table 1). Analyses of nutrition status obtained clear difference among sites comparing the nitrogen (N) and potassium (K) concentrations in pine needles (Figures 6–11). In sites with lower N/K ratio the disease symptoms were not observed, but in sites with increased N/K ratio the dieback symptoms were revealed, following nitrogen and potassium relation in general (Figures 12 and 13). According to Brown (1999) fertilization only by nitrogen can increase the susceptibility of broadleaved trees to pathogenic organisms due to the influence of nitrogen on growth of aboveground plant biomass, and imbalance of above- and belowground plant parts biomass can lead to the increased susceptibility of trees to water stress. Higher nitrogen concentrations as pines' predisposition to *S. sapinea* were confirmed by De Kam et al. (1991), Van Dijk et al. (1992) and Stanosz et al. (2004). Opposite to nitrogen, potassium play important role in plant resistance to drought and pathogenic organisms (Bergmann 1992, Marschner 1995).

Inoculation experiment in Austrian pine seedlings confirmed the *S. sapinea* pathogenicity and also the same capability of isolates obtained from healthy needles (VIPAVA, IMI 368260) and ones with symptoms (DP 04-1 and DP 06-3, described in Diminić et al. 2004) to cause bark necrosis. Previous fertilization with ammonium sulphate caused increased seedlings growth according to treatments: 0, 20, 40 and 80 g/m², and also increased length of bark necrosis in inoculated pines (Tables 2 and 3, Figures 14–18), which supported the nitrogen role in disease development.

According to up-to-day worldwide knowledge and results of our research, it can be concluded that *S. sapinea* can live (latent phase) in healthy looking pines in Istria. And, in drought periods it can turn to serious pathogen, causing dieback in predisposed trees. In this circumstances, site play an important role in pines' resistance to disease, indirectly influencing appearance (or not) of various dieback symptoms.

Key words: *Pinus nigra*, plantations, health status, dieback, *Sphaeropsis sapinea*, site conditions, drought