

SMANJUJU LI EKTOMIKORIZNE GLJIVE OSJETLJIVOST CRNOG BORA (*Pinus nigra* J. F. Arnold) NA ZARAZU VRSTOM *Sphaeropsis sapinea* (FR.) Dyko et Sutton?

DO ECTOMYCORRHIZAL FUNGI REDUCE AUSTRIAN PINE (*Pinus nigra* J. F. Arnold) SUSCEPTIBILITY TO *Sphaeropsis sapinea* (FR.) Dyko et Sutton INFECTION?

Željko ZGRABLIĆ¹, Zdenko TKALČEC², Armin MEŠIĆ², Hrvoje MARJANOVIĆ³, Danko DIMINIĆ⁴

Sažetak

Mikorizne makrogljive iznimno su značajne za fiziološko stanje biljnog simbionta te ga u određenoj mjeri štite od biotskih i abiotskih uzročnika stresa, ali i patogenih organizama. Na području istraživanja u Istri, patogena gljiva *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko et Sutton uzrokovala je značajna sušenja kultura crnog bora (*Pinus nigra* J. F. Arnold) tijekom posljednjih 25 godina, a odnos ektomikoriznih gljiva i *S. sapinea* do sada nije istraživani. Ovo se istraživanje nastavlja na prijašnja istraživanja predispozicije crnog bora na zarazu gljivom *S. sapinea*, prilikom kojih je utvrđen utjecaj staništa i stresa na zarazu. Cilj ovog istraživanja je bio analizirati mikocenozu kultura crnog bora, kako bi se odredila ovisnost pojavljivanja različitih ektomikoriznih vrsta i njihovih plodišta u odnosu na prisutnost *S. sapinea* na iglicama. Uzorci gljiva sakupljeni su tijekom tri godine (2011–2013.) na tri trajne plohe od 36. do 50. tjedna u godini. Određeni su udjeli ektomikoriznih vrsta i njihovih plodišta u ukupnom broju vrsta i plodišta te su izdvojene vrste koje imaju indikativnu vrijednost za zdravstveno stanje borovih kultura. Rezultati pokazuju jasnu ovisnost pojavljivanja *S. sapinea* o udjelu ektomikoriznih vrsta i njihovih plodišta. Povećanjem udjela ektomikoriznih vrsta i plodišta na 60 % ili više, značajno se smanjuje prisutnost patogena na iglicama. Također, mikocenoze zdravih i oštećenih kultura značajno su se razlikovale po sastavu vrsta.

KLJUČNE RIJEČI: ektomikoriza, makrogljive, bioindikator, mikocenoza, kultura crnog bora

¹ Dr. sc. Željko Zgrablić, Hrvatski šumarski institut, Centar za općekorisne funkcije šuma "Josip Ressel", 154. brigade Hrvatske vojske bb, HR-52000 Pazin, Hrvatska, zeljkoz@sumins.hr,

² Dr. sc. Zdenko Tkalčec, Institut Ruđer Bošković, Bijenička 54, HR-10000 Zagreb, Hrvatska, ztkalcec@irb.hr, Dr. sc. Armin Mešić, Institut Ruđer Bošković, Bijenička 54, HR-10000 Zagreb, Hrvatska, amesic@irb.hr,

³ Dr. sc. Hrvoje Marjanović, Hrvatski šumarski institut, Odjel za uređivanje šuma i šumarsku ekonomiku, Trnjanska cesta 35, HR-10000 Zagreb, Hrvatska, hrvojem@sumins.hr,

⁴ Prof. dr. sc. Danko Diminić, Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, Zavod za zaštitu šuma i lovno gospodarenje, Svetošimunska 25, HR-10000 Zagreb, ddiminic@sumfak.hr.

UVOD INTRODUCTION

Tijekom proteklih 25 godina u kulturama crnog bora (*Pinus nigra* J. F. Arnold) u Istri dolazilo je do značajnijih obojenja i sušenja stabala i/ili čitavih sastojina uzrokovanih patogenom gljivom *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko et Sutton (Diminić 1994, Diminić i Jurc 1999, Diminić et al. 2012). Gljiva napada iglice te koru izbojaka i grana, prouzrokujući njihovo odumiranje, a posljedica je sušenje dijelova krošnji te u konačnici cijelih stabala. Ovaj oportuni patogen prvi je puta opisan još 1823. godine (kao *Sphaeria sapinea* Fr.; Fries 1823), no u Europi se intenzivno istražuje tek od 1980-ih (Swart i Wingfield 1991). Istraživanja *S. sapinea* u nas ukazala su na velik utjecaj suše, a u pojedinim slučajevima i SO₂ depozicija kao predisponirajućim čimbenicima na nastanak i razvoj bolesti (Diminić 1994, 1999; Diminić et al. 2003). Analizama ovog patogena u Hrvatskoj je utvrđen jedino agresivan morfotip A ove gljive (Diminić et al. 2004). Istražujući odumiranje stabala u Istri uzrokovano gljivom *S. sapinea*, Diminić et al. (2012) utvrđuju predispoziciju crnog bora na zarazu ovim patogenom, ovisno o matičnoj podlozi i tipu tla na kojemu se kultura nalazi, odnosno utvrđena je značajna uloga staništa u predispoziciji crnoga bora na zarazu gljivom *S. sapinea* u sušnim razdobljima. Tijekom navedenog istraživanja zapažena je razlika u mikocenozi borovih kultura. U sjevernoj Dalmaciji je također suša opisana kao predisponirajući čimbenik pri sušenju borova napadnutih od različitih patogena (Pernek et al. 2012).

Vodeći se načelima integrirane zaštite šuma kao održivijeg i ekološki manje štetnog načina zaštite od konvencionalnih metoda zaštite šuma (Feldmann et al. 2003; Repáč 2011), ovo istraživanje usmjereno je na mikorizne makrogljive. Prema Arnoldsu (1992) makrogljivama smatramo sve one gljive čija su plodišta vidljiva golim okom, odnosno veća su od 1 mm. Gljive su vrlo važan čimbenik ukupne stabilnosti šume djelujući kao saprotrofi, simbionti (mutualisti) ili paraziti. U šumskim ekosustavima posebno su važne mikorizne gljive s kojima oko 90–95 % viših biljaka ulazi u mikoriznu vezu (Carlile et al. 2001; Kendrick 2000; Pešková 2005). Većina drvenastih biljaka razvija ektomikorizu (ECM), gdje hife gljive stvaraju karakteristični zadebljali omotač oko biljnog korjenčića i prodiru u međustanične prostore ovojnice korijena (Molina 1994; Kendrick 2000). Oko 8000 biljnih vrsta tvori ECM, a među njima i većina najvažnijih gospodarskih vrsta drveća (Dahlberg 2001). Borovi su obligatni simbionti, što znači da ne mogu ostvariti svoj fiziološki razvoj bez ECM (Harley i Harley 1987; Wang i Qiu 2006).

Interes za korištenje i istraživanje mikorize intenzivno raste posljednjih desetljeća zbog mogućnosti njene pozitivne primjene u poljoprivredi, šumarstvu i sanaciji područja deva-

stiranih antropogenim djelovanjem. Mikorizirane biljke bolje podnose šok presadnje, otpornije su na napade patogena u tlu, podnose više temperature tla, viši salinitet te ekstremnije pH uvjete u tlu (Palermo et al. 2003; Das i Varma 2009). Šumska staništa najbogatija su gljivama, a one su jedna od najslabije istraženih skupina organizama (Tkalčec et al. 2008). Prema raznim autorima, u zdravom šumskom ekosustavu broj vrsta i plodišta epigejnih mikoriznih gljiva čini od 40–60 % ukupnog broja vrsta i plodišta (Fellner 1989, 1993; Arnolds 1991; Fellner i Pešková 1995; Egli 2011).

Na temelju dosadašnjih spoznaja o pozitivnom djelovanju mikorize na šumske ekosustave, postavljena je hipoteza da su kulture crnoga bora s većim udjelom mikoriznih vrsta i njihovih plodišta manje osjetljive na zarazu fitopatogenom gljivom *S. sapinea*, te imaju udio ECM vrsta redovito veći od 40 %. Po prvi je puta provedeno istraživanje s ciljem određivanja odnosa broja mikoriznih i saprotrofnih vrsta gljiva i njihovih plodišta te prisutnosti vrste *S. sapinea*, odnosno prosječnog broja njezinih piknida na iglici. Tako će uz već poznate parametre biti moguće odrediti predispoziciju staništa i kultura crnog bora prema zarazi sa *S. sapinea*, te koje mikorizne gljive indiciraju razliku između zdravih i jače zaraženih borovih kultura. Rezultat će poslužiti kao temelj za daljnja proučavanja problematike ekoloških odnosa u istraživanom staništu, te razvoj novih metoda integrirane zaštite kultura crnoga bora.

MATERIJALI I METODE RADA MATERIALS AND METHODS

Prikupljanje uzoraka makrogljiva na terenu obavljeno je tijekom 2011., 2012. i 2013. godine na području Istre, UŠP Buzet, u državnim šumama na području sljedećih šumarija: Pazin, GJ Planik (ploha Previž); Labin, GJ Smokovica (ploha Mali Golji); te Buzet, GJ Kras (ploha Trstenik). Postavljene su tri trajne plohe u kulturama crnog bora pomoću kojih je dobiven uvid u postojeće stanje mikocenoza. Plohe su smještene na različitim tlima, matičnim podlogama, nagibima, ekspozicijama, nadmorskim visinama i u području različitih klimazonalnih zajednica. Lokacije ploha Previž i Mali Golji odabrane su približno na istim mjestima, gdje su istraživanje provodili Diminić et al. (2012). Broj stabala po plohama se kretao od 18 (Mali Golji), 19 (Trstenik) do 50 (Previž). U središtu svake plohe zabilježene su GPS koordinate uređajem Ashtech MobileMapper 10.

Zbog specifičnosti terena i mozaičkog rasporeda sastojina crnog bora u Istri, veličina ploha u ovom istraživanju prilagođena je tome na način da su postavljene manje, neograđene plohe, površine 400 m² (20x20 m). Kako bi se nadoknadio taj nedostatak, povećana je frekvencija uzorkovanja plodišta gljiva. Tijekom prve dvije godine, plohe su pregledavane od 20. do 50. tjedna u godini, svakih 14 dana, a da bi se smanjio eventualni negativni utjecaj sakupljača jestivih

gljiva, uzorkovanje je obavljano uglavnom tijekom srijede, četvrtka i/ili petka (prema Martínez de Aragón 2007). U 2013. godini uzorkovanje je počelo u 36-om tjednu budući da je nakon prethodne dvije godine ustanovljeno da rani dio sezone gljiva nije značajan za ovo istraživanje, te ti podaci nisu dio prikazanih rezultata.

Prilikom uzorkovanja plodišta gljiva, svaki je uzorak fotografiran digitalnim fotoaparatom, pohranjen u voštanu papirnatu vrećicu te obilježen kako bi se mogao dalje obrađivati u laboratoriju. Jedan uzorak su činila sva plodišta iste vrste gljiva pronađena na pojedinoj plohi istoga dana, ako je vrsta mogla biti određena na terenu. Za ostale vrste koje su morale biti određene kasnije u laboratoriju, uzorak je činilo pojedinačno plodište ili skupina plodišta za koja je procijenjeno da pripadaju istoj vrsti. U laboratoriju su brojana plodišta svakog uzorka, te su zabilježene njihove karakteristike koje se neće vidjeti na fotografijama, a potrebne su za identifikaciju (dimenzije plodišta, miris, okus, guljivost kožice klobuka i dr.). Uzorci su potom sušeni tijekom 48 sati u sušioniku na temperaturi od 35–40 °C, nakon čega su pohranjeni u Hrvatski nacionalni fungarij (CNF). Uzorci koje nije bilo moguće identificirati samo na osnovi makroskopskih karakteristika, određivani su uz pomoć svjetlosnog mikroskopa Olympus BX51 povećanja do 1500× i suvremene taksonomske literature (Breitenbach i Kränzlin 1986, 2000; Kuyper 1986; Kytövuori 1989; Bas et al. 1990, 1995, 1999; Sarnari 1998, 2005; Antonin i Noordeloos 2004, 2010; Knudsen i Vesterholt 2012;). Korištene su standardne metode mikroskopiranja (Mešić i Tkalčec 2009) na suhom materijalu (eksikati plodišta). Podaci o svim uzorcima pohranjeni su u bazu podataka Hrvatskog mikološkog društva (HMD). Trofički status gljivljih vrsta određivan je prema Brundrett (2008), Rinaldi et al. (2008) i Comandini et al. (2012). Nomenklatura gljivljih vrsta preuzeta je iz MycoBank (2015).

Na svim su plohama otvoreni pedološki profili te je obavljena analiza tla u Odjelu za laboratorijska ispitivanja Hrvatskog šumarskog instituta u Jastrebarskom. Na svakoj je plohi oboreno jedno stablo s kojega je izdvojeno pet uzoraka grana s vidljivim simptomima zaraze sa *S. sapinea*. Kada nije bilo grana sa simptomima, uzorak je izabran nasumično. Potom je obavljena analiza zaraženosti borovih iglica i izbojaka gljivom *S. sapinea* u Laboratoriju za patologiju drveća Šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Sa svakog je uzorka uzeto 20 suhih iglica, te njihov izbojak. U slučaju kada nije bilo suhih iglica, nasumično su odabrane ostale iglice. Ukupno je sa svakog stabla analizirano 100 iglica, ukoliko su bile prisutne. Iglice i izbojci ostavljani su na vlaženje tijekom 48 sati na sobnoj temperaturi u Petrijeve posude s navlaženim filter papirom. Svaka je iglica i izbojak potom pregledana pomoću stereolupe (Leica Leitz MZ8). Na iglicama je bilježen ukupan broj vidljivih piknida *S. sapinea* te eventualni simptomi ostalih bolesti. Kako bi

se potvrdilo da piknide pripadaju *S. sapinea*, iz svakog je uzorka nasumično odabrano pet iglica na kojima su detaljno pregledani presjeci kroz piknide svjetlosnim mikroskopom (Olympus BX53) povećanja do 400× opremljenim digitalnom kamerom Motic MoticamPro 252A. Detaljno su kontrolirane i mjerene spore te izgled i veličina piknida na prerezu.

Na temelju odnosa između broja mikoriznih i saprotrofnih vrsta gljiva i njihovih plodišta određivan je zdravstveni stadij u kojemu se pojedina sastojina nalazi (latentni, akutni ili letalni) (prema Fellner i Pešková 1995). Teoretski dobiveno stanje uspoređeno je s prisutnošću patogene gljive *S. sapinea* u krošnjama stabala, odnosno prosječnim brojem piknida na iglici. Vrste iz sljedećih rodova korištene su kao osjetljivi bioindikatori staništa: *Hydnum* L., *Sarcodon* Qué. ex P. Karst., *Phellodon* P. Karst., *Hydnellum* P. Karst., *Boletopsis* Fayod, *Cantharellus* Juss., *Suillus* Gray, *Cortinarius* (Pers.) Gray i *Tricholoma* (Fr.) Staude (Taylor 1995; Matočec et al. 2000; Kraigher et al. 2007). Kao osjetljivi mikobioidikator za središnju Europu navedena je *Russula mustelina* Fr. (Fellner i Pešková 1995). Za statističku obradu podataka (Kruskal-Wallis test, korelacija, regresija) korišten je softverski paket Statistica 10 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA, 2010). Ovisnost prosječnog broja piknida na iglici i udjela ECM vrsta i plodišta interpretirana je regresijskom analizom. Grafički prikazi izrađeni su pomoću MS Excel programa (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA, 2010). Za testiranje statističke signifikantnosti prilikom svih analiza korišten je stupanj značajnosti od 0,05.

REZULTATI RADA RESULTS

Na temelju otvorenih pedoloških profila i kemijske analize uzoraka utvrđeni su sljedeći tipovi tala: crvenica lesivirana (Mali Golji), smeđe na vapnencu (Trstenik) i eutrično smeđe na flišu (Previž). Rezultati kemijske analize prikazani su u Tablici 1.

Tijekom tri godine istraživanja evidentirano je ukupno 2841 plodište te 88 gljivljih vrsta iz 37 rodova. Na ECM makrogljive otpada 2288 plodišta i 47 vrsta, dok je 41 vrsta i 553 plodišta bilo saprotrofno. Ploha Previž statistički se značajno razlikovala od ostale dvije s obzirom na broj plodišta gljivljih vrsta (Kruskal-Wallis test; $H = 9,38$, $df = 2$, $p = 0,0092$). Najviše vrsta zabilježeno je na plohi Trstenik, ukupno 44 (22 ECM), 39 na plohi Previž (25 ECM), a najmanje na plohi Mali Golji, ukupno 30 (13 ECM) (Slika 1.). Najviše plodišta pojavilo se tijekom 2013., a najmanje tijekom 2011. godine (Slika 2). Podaci Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ) za promatrano razdoblje pokazuju da je 2011. bila izrazito sušna i nepovoljna za gljive, dok je 2013. zabilježena iznadprosječna količina oborina na tri relevantne meteorološke postaje (Tablica 2.).

Tablica 1. Rezultati kemijske analize profila tla na plohama**Table 1** Results of soil profiles chemical analyses

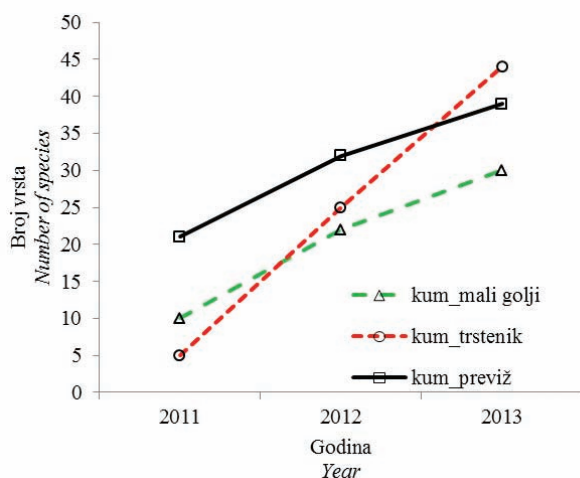
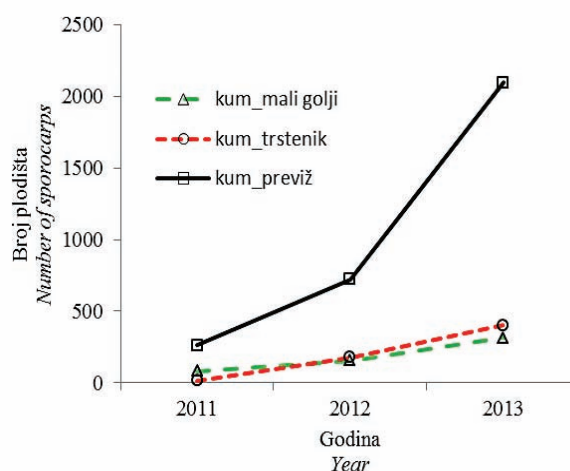
Profil / ploha Profile / plot	Dubina Depth	pH		mg/100g tla mg/100g soil		N	Humus Humus	C	C/N	CaCO ₃
	Cm Cm	H ₂ O	1M KCl	P ₂ O ₅	K ₂ O	%	%	%		%
Mali Golji	0–1	5,59	4,84	2,65	14,32	0,97	19,25	11,19	11,54	–
	5–35	5,69	4,13	3,93	21,20	0,16	3,59	2,09	13,06	–
Trstenik	0–5	5,31	4,48	1,59	28,31	1,37	28,76	16,72	12,20	–
	8–35	7,26	6,07	3,61	14,10	0,25	4,76	2,77	11,03	0,82
Previž	0–1	5,62	4,57	10,76	57,60	0,99	35,00	20,35	20,56	–
	5–20	7,37	6,04	2,79	11,61	0,08	1,56	0,91	11,38	3,30
	40–60	7,90	6,78	4,76	12,87	0,04	0,82	0,48	12,00	3,33

Tablica 2. Oborine, temperatura i period praćenja klimatoloških podataka za postaje Abrami, Letaj – brana i Pazin**Table 2** Precipitation, temperatures and monitoring period of meteorological data for stations Abrami, Letaj – brana and Pazin

Meteorološka postaja Meteorological station	Oborine (mm) Precipitation (mm)				Temperatura (°C) Temperature (°C)				Period praćenja Monitoring period
	2011	2012	2013	Prosjeak Average	2011	2012	2013	Prosjeak Average	
Abrami	798,8	959,7	1406,6	1111,0	12,7	13,0	12,3	12,4	1981–2013
Letaj – brana	731,5	1145,7	1653,0	1149,1	12,6	12,8	12,8	12,3	1995–2013
Pazin	838,8	942,3	1309,8	1042,5	12,1	12,5	12,2	11,6	1981–2013

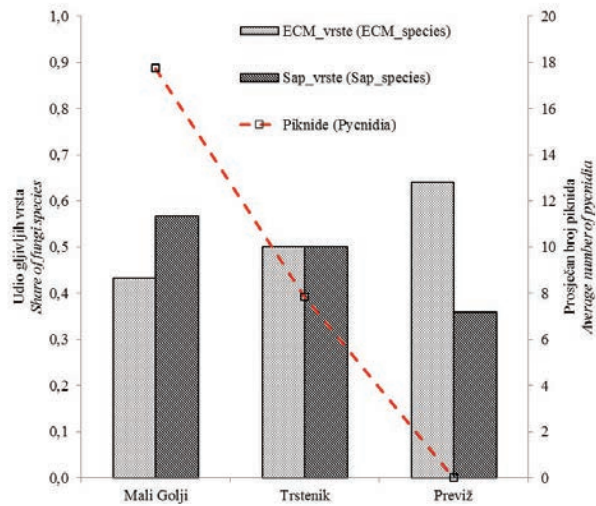
Izvor: Državni hidrometeorološki zavod (2015)

Source: Meteorological and Hydrological Service (2015)

**Slika 1.** Kumulativni broj evidentiranih vrsta na plohama tijekom istraživanog razdoblja**Figure 1** Cumulative number of recorded species on plots through research period**Slika 2.** Kumulativni broj plodišta na plohama tijekom istraživanog razdoblja**Figure 2** Cumulative number of sporocarps on plots through research period

Najveći udio ECM vrsta makrogljiva za sve godine istraživanja ukupno zabilježen je na plohi Previž (64,10%), a najmanji na plohi Mali Golji (43,33%) (Slika 3.). Na plohi Previž udio plodišta ECM makrogljiva u ukupnom broju plodišta iznosio je čak 96,42%, dok je najmanji udio ECM plodišta zabilježen na plohi Mali Golji i iznosio je 23,49%. Navedene vrijednosti prate i trendovi prosječnog broja pi-

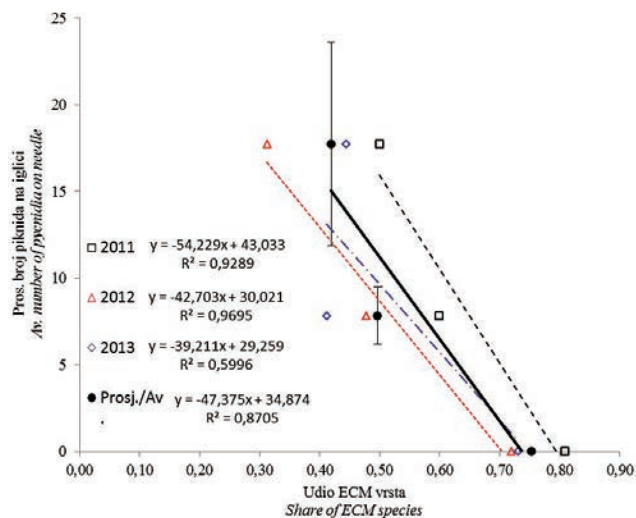
knida *S. sapinea* na iglicama crnog bora. Piknide *S. sapinea* nisu pronađene na plohi Previž, dok je njihov prosječan broj po iglici na plohi Mali Golji bio 17,73, odnosno 7,82 na plohi Trstenik. Sve plohe se statistički značajno razlikuju s obzirom na broj piknida po iglici (Kruskal-Wallis test; $H = 121,5206$, $df = 2$, $p = 0,0000$). Uz *S. sapinea*, na iglicama je pronađena i vrsta *Truncatella hartigii* (Tubeuf) Steyaert.



Slika 3. Udio ECM i saprotrofnih vrsta u ukupnom broju vrsta i prosječan broj piknida na iglici

Figure 3. Share of ECM and saprotrophic species in total count of species and average number of pycnidia on needle

Udio ECM vrsta pokazuje visoki stupanj negativne korelacije s prosječnim brojem piknida *S. sapinea* na iglici ($r = -0,9632$, $p = 0,173$), ali regresijski model nije statistički značajan ($p < 0,05$). Promatramo li ovisnost prosječnog broja piknida na iglicama s obzirom na udio ECM vrsta gljiva, vidljiv je trend koji ukazuje da povećanje udjela ECM vrsta dovodi do brzog pada prosječnog broja piknida na iglici (Slika 4.). S druge strane, u uvjetima destruirane ECM zajednice očekivani prosječni broj piknida prelazi vrijednost od 34 piknide po iglici. Kulture s više od 60% udjela ECM vrsta pokazuju mnogo manji broj piknida na pojedinoj iglici. Nadalje, regresijska analiza pokazuje da u slučaju kada



Slika 4. Prosječan broj piknida na iglici s obzirom na udio ECM vrsta (po godinama i prosjek za cijelo razdoblje uz 95 %-tni interval pouzdanosti)

Figure 4 Average number of pycnidia on needle in ratio to ECM species (by years and average for survey period with 95% confidence interval)

udio ECM vrsta prelazi 75%, možemo očekivati nezaražene iglice sa *S. sapinea*.

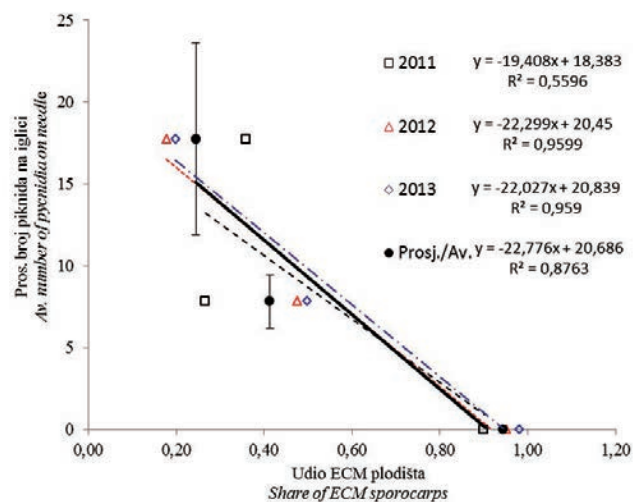
Slični trendovi vrijede i s obzirom na udio ECM plodišta koja ipak manje utječu na prosječan broj piknida na iglici. Prosječan broj piknida *S. sapinea* na iglici pokazuje visoki stupanj negativne korelacije s obzirom na udio ECM plodišta ($r = -0,9676$, $p = 0,162$), ali regresijski model kao i kod udjela vrsta nije statistički značajan ($p < 0,05$). Rezultati pokazuju da u kulturama koje imaju udio ECM plodišta manji od 15% možemo očekivati jaku zarazu s 15 ili više piknida na pojedinoj iglici (Slika 5.). Prema regresijskom modelu, tek kada udio ECM plodišta dostigne 90% ili više možemo očekivati izostanak piknida s iglica. Korelacije prosječnog broja piknida na iglici, udjela ECM vrsta i plodišta prema sadržaju kalija (K_2O), dušika (N), ugljika (C), odnosa C:N i humusa u organskom horizontu tla prikazane su u Tablici 3.

Na plohi Previž pojavilo se više osjetljivih ECM vrsta, po čemu se ova ploha značajno razlikovala od preostale dvije.

Tablica 3. Korelacije prosječnog broj piknida, udjela ECM vrsta i ECM plodišta naspram sadržaja kalija (K), dušika (N), ugljika (C), odnosa C:N i humusa u organskom horizontu tla. * – statistički značajan.

Table 3. Correlation of average pycnidia number, ECM species share and ECM sporocarp share towards the content of potassium (K), nitrogen (N), carbon (C), C:N ratio and humus in organic soil layer. * – statistically significant.

Korelacije su značajne pri $p < 0,05$ N=3					
Correlations are significant at $p < 0,05$ N=3					
	K ₂ O	N%	C%	C:N	Humus%
piknide	-0,9639	-0,1125	-0,9987*	-0,8647	-0,9987*
%ECM_vrst	1,0000*	-0,1588	0,9483	0,9679	0,9482
%ECM_pl	0,9999*	-0,1419	0,9536	0,9635	0,9535



Slika 5. Prosječan broj piknida na iglici s obzirom na udio ECM plodišta (po godina i prosjek za cijelo razdoblje uz 95 %-tni interval pouzdanosti)

Figure 5 Average number of pycnidia on needle in ratio to ECM sporocarps (by years and average for survey period with 95% confidence interval)

Evidentirano je po pet vrsta roda *Tricholoma* i roda *Suillus* među kojima ćemo izdvojiti rjeđe vrste, *T. caligatum* (Viv.) Ricken (Slika 6.) i *S. mediterraneensis* Jacquet. & J. Blum Redeuilh (Slika 7.). Od hidnoidnih vrsta zabilježene su *Hydnum albidum* Peck, *Hydnellum ferrugineum* (Fr.) P. Karst. i *Phellodon niger* (Fr.) P. Karst. (Slika 8.). Vrsta *Cantharellus lutescens* (Pers.) Fr. (Slika 9.) ujedno je bila vrsta s najviše plodišta tijekom ovog istraživanja. ECM vrste svojstvene za plohu Trstenik su *Clavulina cinerea* (Bull.) J. Schröt., *C. coralloides* (L.) J. Schröt., *C. rugosa* (Bull.) J. Schröt., *Inocybe bongardii* (Weinm.) Quél., *I. geophylla* (Sowerby) P. Kumm., *Ramaria gracilis* (Pers.) Quél. i *Russula chloroides* (Krombh.) Bres. Kultura najlošijeg zdravstvenog stanja, Mali Golji, razlikovala se po ECM vrstama *Chroogomphus rutilus* (Schaeff.) O.K. Mill., *Lactarius atlanticus* Bon, *L. aurantiacus* (Pers.) Gray i *Russula delica* Fr. ECM vrsta *Suillus granulatus* (L.) Roussel evidentirana je na svim plohama, zbog čega smatramo da nema indikatorska svojstva u smislu ovoga rada.

Najčešće saprotrofne vrste bile su *Mycena galopus* (Pers.) P. Kumm., *M. pura* (Pers.) P. Kumm. i *Baeospora myosura* (Fr.) Singer, te lignikolna vrsta *Gymnopilus penetrans* (Fr.) Murrill koja je bila najbrojnija i česta vrsta na plohi Mali Golji.

S obzirom na prikazane rezultate, istraživane borove kulture možemo svrstati u zdravstvene kategorije – stadije. Ploha Previž udjelom ECM vrsta i plodišta pokazuje dobro zdravstveno stanje bez simptoma odumiranja. *S. sapinea* nije prisutna na istraživanoj lokaciji i moguće je očekivati nesmetan daljnji razvoj zdrave borove kulture. Ploha Trstenik imala je jednak udio ECM vrsta kao i onih saprotrofnih, te tek nešto manji udio ECM plodišta (48,02 %). *S. sapinea* je prisutna u kulturi, ali nisu zabilježene veće štete. Ukoliko se udio ECM plodišta i vrsta ne bi smanjivao, moguće je očekivati normalan razvoj kulture. Iako je ploha Mali Golji također imala udio ECM vrsta iznad kritične granice od 40 %, udio ECM plodišta od 23,49 % te veći prosječan broj piknida na iglici otkriva jače narušeno zdravstveno stanje te je stoga kultura svrstana u latentni stadij.



Slika 6. *Tricholoma caligatum* (Viv.) Ricken
Figure 6 *Tricholoma caligatum* (Viv.) Ricken



Slika 8. *Phellodon niger* (Fr.) P. Karst.
Figure 8 *Phellodon niger* (Fr.) P. Karst.



Slika 7. *Suillus mediterraneensis* (Jacquet. & J. Blum) Redeuilh
Figure 7 *Suillus mediterraneensis* (Jacquet. & J. Blum) Redeuilh



Slika 9. *Cantharellus lutescens* (Pers.) Fr.
Figure 9 *Cantharellus lutescens* (Pers.) Fr.

RASPRAVA DISCUSSION

Mnoga dosadašnja istraživanja potvrdila su višestruki značaj ektomikorize u šumskim ekosustavima, a pojedina gladišta poput utjecaja zračnog onečišćenja na ECM ili pozitivnog djelovanja mikoriznog inokuluma na sadnice su detaljno istražena (González-Ochoa et al. 2003; Kraigher et al. 2007). Sama plodišta makrogljiva pokazuju veliku varijaciju u pojavljivanju i brojnosti, zahtijevaju duže razdoblje praćenja te veće iskustvo prilikom identifikacije plodišta, što često otežava nedostatna ili konfuzna taksonomska literatura i nedostatak profesionalnih mikologa (Arnolds 1999, 2001). Gotovo redovito su nova istraživanja ovog tipa praćena primjenom modernih molekularnih metoda, no niti pomoću njih nije moguće dobiti sve odgovore na postavljena pitanja. Suprotno tomu, plodišta gljiva u povoljnim uvjetima lako su dostupna, te je pomoću unaprijed određenih metoda moguće brzo i učinkovito snimiti i predvidjeti razvoj događaja u ciljanim šumskim ekosustavima (Matočec et al. 2000). Jedna od glavnih prednosti proučavanja plodišta umjesto morfotipova ili DNA sekvenci je popis vrsta koji se dobije takvim istraživanjima (za većinu gljivljih vrsta još uvijek ne postoje podaci o njihovim DNA sekvencama). Generalno, takva su istraživanja i mnogo jeftinija od molekularnih (Schmit i Lodge 2005). Našim je istraživanjem istovremeno povećano znanje o raznolikosti i rasprostranjenosti gljivljih vrsta u Hrvatskoj. Do sada je ektomikoriza vrlo rijetko povezivana s pojavom specifičnog patogena na biljnom domaćinu. Takvo je eksperimentalno istraživanje provedeno na duglaziji napadnutoj patogenom gljivom *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petr. (eng. *Swiss Needle Cast* – SNC). Rezultati su pokazali povezanost mikorize i patogena, no nije bilo moguće razlučiti utjecaj patogena i gospodarskih zahvata na ECM (Luoma i Eberhart 2006; 2009).

Dobivene rezultate našeg istraživanja nije moguće izravno usporediti s dostupnom literaturom, ali je potvrđena očekivana pojavnost patogena u odnosu na ECM makrogljive. Kako bi se trendovi potvrdili, u budućim istraživanjima trebat će procijeniti osutost krošanja da bi se taj parametar mogao usporediti s postojećim podacima i potvrditi postoji li pravilnost između stupnja osutosti krošanja i istraživanog patogena. Rezultati također ukazuju da vjerojatno postoji značajna uloga staništa, poglavito organskog sloja tla, kao predinšponirajućeg čimbenika za pojavu patogena, kao i razvijenosti (raznolikosti) ECM zajednice. Promatrajući plohu Mali Golji vidljivo je da, ukoliko se nastavi negativan trend smanjivanja ECM vrsta i plodišta, može se očekivati prelazak kulture u akutni stadij kada dolazi do pada udjela ECM vrsta ispod 40 %. Tada se može očekivati jače propadanje i zaraze sa *S. sapinea*, posebno ukoliko se dogodi stresni poremećaj uzrokovan pojedinim abiotskim ili biotskim čimbenicima, ponajprije sušom (Diminić et al. 2012). Stoga

je takvu borovu kulturu poželjno dalje pratiti, kako bi se mogao predvidjeti i eventualno prevenirati neželjeni scenarij.

Prema rezultatima Diminića et al. (2012), u ishrani borova ključan je odnos kalija i dušika u iglicama gdje je povećana opskrba dušikom odražavala lošije zdravstveno stanje borove kulture. Suprotno tomu, viša razina kalija ustanovljena je u iglicama borova u vizualno zdravim kulturama. Obavljena kemijska analiza tla ukazuje na sličan trend koji se manifestira u tlu. Ploha Previž, na kojoj nije bio prisutan istraživani patogen, imala je višu razinu kalija i fosfora te viši postotak humusa i karbonata od ostale dvije plohe. To ukazuje na kompleksnost odnosa u šumskom ekosustavu, pa će se veza između opskrbljenosti tla kalijem i prisutnosti *S. sapinea* trebati potvrditi daljnjim istraživanjima. Jedna od mogućnosti je provođenje pokusa gnojidbe kalijem na staništima koja imaju nisku razinu opskrbljenosti ovim elementom (ispod 40 mg K₂O na 100 g tla).

Iako Egli (2011) navodi da mikorizne gljive zasigurno imaju iznimno značenje u održavanju stabilnosti šumskih ekosustava, istovremeno ističe kako dosadašnja istraživanja unatoč svim naporima nisu dala jasnu potvrdu da ECM gljive mogu poslužiti kao bioindikator zdravstvenog stanja ili ih se barem kao takve ne može generalizirati. Ipak, naše je istraživanje pokazalo pozitivnu korelaciju između vrsta iz mikobioindikatorskih rodova i zdravih kultura crnog bora, te jaku negativnu korelaciju između ECM vrsta i plodišta prema prosječnom broju piknida na pojedinoj iglici. Trenutno se procijenjeno zdravstveno stanje borovih kultura bitno ne razlikuje od rezultata koje su objavili Diminić et al. (2012). Međutim, mikobioindikator u različitim tipovima staništa potrebno je specificirati, jer su ECM vrste često specijalizirane po pitanju svog fitobionta i ne predstavljaju jednako dobro svako šumsko stanište.

ZAKLJUČCI CONCLUSIONS

Na temelju dobivenih rezultata praćenja mikocenoze kultura crnog bora u Istri i prisutnosti *S. sapinea* na iglicama u ovisnosti o udjelu ECM vrsta i plodišta, navodimo sljedeće zaključke:

- 1) Istraživane kulture crnog bora razlikuju se po brojnosti ECM vrsta i plodišta, udjelu trofičkih grupa te prosječnom broju piknida *S. sapinea* na iglici. Ploha Previž imala je najveći udio ECM vrsta i plodišta (64,10/96,42%), a piknide *S. sapinea* nisu pronađene. Ploha Mali Golji imala je najmanji udio ECM vrsta i plodišta (43,33/23,49%), a istovremeno najviši prosječni broj piknida po iglici (17,73).
- 2) Prosječan broj piknida na iglici snažno je povezan s udjelom ECM vrsta i plodišta, ali statistička značajnost nije

potvrđena. Prema regresijskom modelu, ukoliko bi došlo do povećanja prosječnog broja piknida na iglici iznad 34, mogla bi se očekivati destrukcija ECM zajednice. Ukoliko udio ECM vrsta prelazi 75%, možemo očekivati iglice koje nisu zaražene sa *S. sapinea*. Sličan trend vriedi i za udio ECM plodišta.

- 3) Na plohi Previš pojavila se većina predviđenih osjetljivih mikobioindikatora, što uz odsutnost *S. sapinea* ukazuje na dobro zdravstveno stanje i očekivani pozitivan daljnji razvoj kulture.
- 4) Ploha Mali Golji u latentnom je stadiju i pokazuje trend gubitka ECM plodišta. Ukoliko se takav trend nastavi, predviđa se ulazak u akutni stadij oštećenosti kada se mogu očekivati veće štete i sušenja.
- 5) Unatoč rezultatima koji potvrđuju postavljenu hipotezu istraživanja, još uvijek nije moguće sa sigurnošću odgovoriti na osnovna ekološka pitanja o funkcionalnoj ulozi pojedine ECM vrste u otpornosti crnog bora prema zarazi sa *S. sapinea*, ali i drugim stresnim biotskim i abiotiskim čimbenicima. Stoga je potrebno provoditi kompleksnija istraživanja ove tematike u budućnosti, uz detaljnu analizu stanišnih uvjeta i uključivanje modernih molekularnih metoda te povećanje uzorka, što bi pružilo preciznije i pouzdanije rezultate koji bi omogućili razvoj novih učinkovitih metoda integrirane zaštite šuma.

ZAHVALA

ACKNOWLEDGMENT

Ovo istraživanje djelomično je financiralo Ministarstvo znanosti, obrazovanja i sporta u sklopu projekata *Rast i razvoj šuma u različitim ekološkim i gospodarskim uvjetima* (024-0242049-2106) i *Biotski čimbenici propadanja šumskog drveća na kršu Hrvatske* (068-0681966-2775), te Upravni odjel za poljoprivredu, šumarstvo, lovstvo, ribarstvo i vodoprivredu Istarske županije. Hvala djelatnicima Hrvatskog šumarskog instituta, Centra za općekorisne funkcije šuma "Josip Ressel" na pomoći prilikom sakupljanja i obrade uzoraka gljiva. Za pomoć prilikom obrade uzoraka *Sphaeropsis sapinea* zahvaljujemo Marnu Milotiću i Jeleni Kranjec. Također, veliko hvala djelatnicima Šumarije Labin na pomoći prilikom postavljanja istraživačkih ploha. Posebno se zahvaljujemo Državnom hidrometeorološkom zavodu na ustupljenim klimatološkim podacima.

LITERATURA

REFERENCES

- Antonín, V., M. E. Noordeloos, 2004: A monograph of the genera Hemimycena, Delicatula, Fayodia, Gamundia, Myxomphalia, Resinomycena, Rickenella and Xeromphalina (Tribus Mycenae sensu Singer, Mycena excluded) in Europe. IHW Verlag, Eching, 1–279.
- Antonín, V., M. E. Noordeloos, 2010: A monograph of marasmioid and collybioid fungi in Europe. IHW-Verlag, Eching, 1–478.
- Arnolds, E., 1991: Decline of ectomycorrhizal fungi in Europe. *Agr Ecosyst Environ*, 35: 209–244.
- Arnolds, E., 1992: The analysis and classification of fungal communities with special reference to macrofungi. U: Winterhoff, W., (ur.), *Fungi in vegetation science*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, str. 7–47.
- Arnolds, E., 1999: Conservation and management of fungi in Europe. U: Synges, H. i Akeroyd, J., (ur.), *Planta Europa, Proceedings of the second European conference on the conservation of wild plants*. Uppsala, str. 129–139.
- Arnolds, E., 2001: The future of fungi in Europe: treats, conservation and management. U: Moore, D., Nauta, M. M., Evans, S. E. i Rotheroe, M., (ur.), *Fungal conservation – issues and solutions*. Cambridge University Press, Cambridge, str. 64–80.
- Bas, C., T. W. Kuyper, M. E. Noordeloos, E. C. Vellinga, (ur.), 1990: *Flora agaricina neerlandica*. 2. A. A. Balkema, Rotterdam, Brookfield, str. 1–137.
- Bas, C., T. W. Kuyper, M. E. Noordeloos, E. C. Vellinga, (ur.), 1995: *Flora agaricina neerlandica*. 3. A. A. Balkema, Rotterdam, Brookfield, str. 1–183.
- Bas, C., T. W. Kuyper, M. E. Noordeloos, E. C. Vellinga, (ur.), 1999: *Flora agaricina neerlandica*. 4. A. A. Balkema, Rotterdam – Brookfield, str. 1–191.
- Breitenbach, J., F. Kränzlin, 1986: *Fungi of Switzerland*. Volume 2: Non-Gilled Fungi. Luzern, Switzerland, Verlag Mykologia, str. 1–412.
- Breitenbach, J., F. Kränzlin, 2000: *Fungi of Switzerland*. 5. Mykologia Luzern, Luzern, str. 1–338
- Brundrett, M. C., 2008: Ectomycorrhizas. U: *Mycorrhizal Associations: The Web Resource*. Version 2.0. Pristupljeno: 23. 03. 2015. <http://mycorrhizas.info/ecm.html>.
- Carlile, M. J., S. C. Watkinson, G. W. Gooday, 2001: *The Fungi*. 2nd Ed. Academic Press, London, str. 1–588.
- Comandini, O., A. C. Rinaldi, T. W. Kuyper, 2012: Measuring and estimating ectomycorrhizal fungal diversity: a continuous challenge. U: Pagano, M., (ur.), *Mycorrhiza: occurrence in natural and restored environments*. Nova Science Publishers. Nueva York, str. 165–200.
- Dahlberg, A., 2001: Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytol*, 150(3): 555–562.
- Das, A., A. Varma, 2009: *Symbiosis: The Art of Living*. U: Varma, A. i Kharkwal, A. C., (ur.), *Symbiotic Fungi, Principles and Practice*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, str. 1–46.
- DHMZ – Državni hidrometeorološki zavod
- Diminić, D., 1994: Prilog poznavanju mikoza borovih kultura u Istri. *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-Châteauneuf, str. 189–193.
- Diminić, D., M. Jurc, 1999: Some aspects of *Sphaeropsis sapinea* presence on Austrian pine in Croatia and Slovenia. *Phyton*, 39(3): 231–234.

- 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., B. C. Van Dam, B. Hrašovec, 2004: *Sphaeropsis sapinea*: The cultural characteristics of isolates in relation to vari- ous impacts on pines in Croatia. *Acta Phytopathol Entomol Hun* 39:383–397.
- Diminić, D., N. Potočić, I. Seletković, 2012: Uloga staništa u predispoziciji crnoga bora (*Pinus nigra* Arnold) na zarazu fitopatogenom gljivom *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko et Sutton u Istri. *Sumar list*, 136 (1–2): 19–36.
- Egli, S., 2011: Mycorrhizal mushrooms diversity and productivity – an indicator of forest health? *Ann For Sci*, 68: 81–88.
- Feldmann, F., I. Hutter, C. Grotkass, 2003: Mycorrhizal fungi as factors of integrated plant protection in urban horticulture: the state of the art. *Mitt. d. Biol. Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, 394: 205–211.
- Fellner, R., 1989: Mycorrhiza-forming fungi as bioindicators of air pollution. *Agaric Ecosystems Environ*, 28: 115–120.
- Fellner, R., V. Pešková, 1995: Effects of industrial pollutants on ectomycorrhizal relationships in temperate forests. *Can J Bot*, 73(Suppl. 1): 1310–1315.
- Fries, E. M., 1823: *Systema Mycologicum*. II. *Gryphiswaldiae*, str. 1–621.
- González-Ochoa, A. I., J. De Las Heras, P. Torres, E. Sánchez-Gómez, 2003: Mycorrhization of *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinaster* Aiton seedlings in two commercial nurseries. *Ann For Sci*, 60(1): 43–48.
- Harley, J. L., E. L. Harley, 1987: A check-list of mycorrhiza in the British flora. *New Phytol*, 105(Suppl.): 1–102.
- Kendrick, B., 2000: *The fifth kingdom*, Third edition. Focus Publishing, R. Pullins Co., Newburyport, str. 1–373.
- Knudsen, H., J. Vesterholt, 2012: *Funga Nordica: agaricoid, bo- letoid and cyphelloid genera*. Nordsvamp, Copenhagen, Den- mark, str. 1–1083.
- Kraigher, H., S. A. S. Petkovšek, T. Grebenc, P. Simončič, 2007: Types of ectomycorrhiza as pollution stress indicators: case studies in Slovenia. *Environ monit assess*, 128(1–3): 31–45.
- Kuyper, T. W., 1986: A revision of the genus *Inocybe* in Eu- rope. I. Subgenus *Inosperma* and the smooth-spored species of subgenus *Inocybe*. – *Persoonia*, Suppl. 3. Rijksherbarium, Leiden, str. 1–247.
- Luoma, D. L., J. L. Eberhart, 2006: Are differences in the ecto- mycorrhiza community correlated with swiss needle cast sever- ity? U: Shaw, D., (ur.), *Swiss needle cast cooperative*, Annual report, Oregon State University, Corvallis, str. 60–64.
- Luoma, D., J. Eberhart, 2009: Second-year Response of Ectomy- corrhizae to Soil Nutritional Amendments Across a Gradient of SNC Disease. U: Shaw, D. i Wooley, T., (ur.), *Annual Report 2009*, Swiss Needle Cast Cooperative, College of Forestry, Or- egon State University, Corvallis, str. 85–98.
- Martínez de Aragón, J., J. A. Bonet, C. R. Fischer, C. Colinas, 2007: Productivity of ectomycorrhizal and selected edible sapro- trophic fungi in pine forests of the pre Pyrenees Mountains, Spain: Predictive equations for forest management of mycolog- ical resources. *For Ecol Manag*, 252: 239–256.
- Matočec, N., O. Antonić, D. Mrvoš, A. Piltaver, D. Hatić, D. Bu- kovec, 2000: An estimate of fir forest health based on mycobio- indication: the Križ stream catchment area, Gorski Kotar, Croatia, a case study. *Nat. Croat*, 9(1) :15–33.
- Mešić, A., Z. Tkalčec, 2009: Studies on Croatian Basidiomycota 1: *Gerhardtia piperata* (Agaricales). *Mycotaxon* 110: 413–421.
- Molina, R., 1994: The role of mycorrhizal symbioses in the health of Giant Redwoods and other forest ecosystems. *USDA Forest Service Gen. Tech. Rep. PSW-151*, str. 78–81.
- MycoBank, 2015: *International Mycological Association*. Pris- tupljeno: 30. 03. 2015. <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Link=T&TableKey=1468261600000067&Rec=25932&Fields=All>
- Palermo, B. L., K. M. Clancy, G. W. Koch, 2003: The potential role of ectomycorrhizal fungi in determining Douglas-fir resist- ance to defoliation by the Western Spruce Budworm (Lepidop- tera: Tortricidae). *J Econ Entomol*, 96(3):783–791.
- Pernek, M., S. Novak Agbaba, N. Lacković, N. Đod, I. Lukić, S. Wirth, 2012: Uloga biotičkih čimbenika u sušenju borova (*Pi- nus* spp.) na području sjeverne Dalmacije. *Sumar list*, 136(5–6): 343–354.
- Pešková, V., 2005: Dynamics of oak mycorrhizas. *J For Sci*, 51: 259–267.
- Repáč, I., 2011: *Ectomycorrhizal Inoculum and Inoculation Tech- niques*. U: Rai, M. i Varma, A. (ur.), *Diversity and Biotechnology of Ectomycorrhizae*, *Soil Biology* 25, Springer-Verlag, Berlin Hei- delberg, str. 43–66, DOI 10.1007/978-3-642-15196-5_3
- Rinaldi, A. C., O. Comandini, T. W. Kuyper, 2008: Ectomycor- rhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. *Fun- gal Divers*, 33: 1–45.
- Sarnari, M., 1998: *Monografia illustrata del Genere Russula in Europa*. Tomo Primo. A.M.B., Trento – Vicenza, str. 1–799.
- Sarnari, M., 2005: *Monografia illustrata del Genere Russula in Europa*. Tomo Secondo. A.M.B., Trento – Vicenza, str. 1–768.
- Schmit, J. P., D. J. Lodge, 2005: Classical methods and modern analysis for studying fungal diversity. U: Dighton, J., White, J. F. i Oudemans, P., (ur.), *The Fungal Community: its organization and role in the ecosystem*, 3rd Edition, CRC Press, str. 193–214.
- Swart W. J., M. J. Wingfield 1991: Biology and control of *Sphaer- oopsis sapinea* on *Pinus* species in South Africa. *Plant Dis*, 75: 761–766.
- Taylor, A. F. S., 1995: Ectomycorrhizal response to environmen- tal perturbation. U: *Proceedings of the BIOFOSP Slovenian For- estry Institute & BF Ljubljana*, str. 173–180.
- Tkalčec, Z., A. Mešić, N. Matočec, I. Kušan, 2008: *Crvena kn- jiga gljiva Hrvatske*. Ministarstvo kulture, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, str. 1–428.
- Wang, B., Y. L. Qiu, 2006: Phylogenetic distribution and evolu- tion of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16: 299–363.

Summary

Mycorrhizal macrofungi play an important role in plant physiological condition and help protecting their hosts from biotic and abiotic stress and pathogens. At the research area in Istria, western Croatia, pathogenic fungus *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko et Sutton has caused substantial damage in Austrian pine (*Pinus nigra* J. F. Arnold) plantations through the last 25 years. During the previous research activities on predisposition to *S. sapinea* infections, site and stress conditions are determined as key factors. Back then, existing differences in fungal communities at disturbed and healthy Austrian pine plantations were observed. We hypothesized that Austrian pine plantations with higher ratio of ECM species and their sporocarps (minimum 40% of ECM species) are less susceptible to *S. sapinea* infection. It is the first research on linkage between ECM species and *S. sapinea* infection rate on Austrian pine needles.

Fungal samples were collected on three different permanent research plots of 400 m² each, for three consecutive years (2011–2013) from week 36 to week 50, every fortnight. All samples were recorded with digital camera. Each fungal species and all its sporocarps on the plot represented one sample. They were collected in a wax paper bags, assigned and processed in laboratory on the same day. Sporocarps were counted and dried for 48 hours at 35–40 °C. Afterwards, they were packed in plastic bags and deposited to Croatian National Fungarium (CNF) for further identification. For all plots we analyzed soil samples and recorded soil profiles. Symptomatic branches and needles were taken from one tree per plot to analyze *S. sapinea* presence and number of pycnidia. Plantations were assigned, according to ECM fungi share, to different degrees of disturbance (latent, acute or lethal).

Soil analyses defined three different soil types: Tera Rossa (plot Mali Golji), Calcocambisol (plot Trstenik) and Eutric Cambisol on flysch (plot Previž) (Table 1.). In total, 2814 sporocarps (2288 ECM) and 88 species (47 ECM) were recorded, belonging to 37 genera. The maximum species richness was found at plot Trstenik (44 species) (Figure 1.), while the highest sporocarp richness was recorded at plot Previž (Figure 2.). Kruskal-Wallis test showed statistically significant difference between plot Previž and two other plots based on sporocarp number ($H = 9,38$, $df = 2$, $p = 0,0092$). Share of ECM species at plot Previž was 64,10% and 96,42% of sporocarps, respectively. Plot Mali Golji had the least share of ECM species (43,33%) and sporocarps (23,49%) (Figure 3.). *S. sapinea* pycnidia were not found at plot Previž, while at plot Mali Golji an average of 17,73 pycnidia per needle were recorded. On analyzed needles, together with *S. sapinea*, we found present *Truncatella hartigii* (Tubefu) Steyaert. Kruskal-Wallis test showed statistically significant differences between all plots in term of pycnidia presence on pine needles ($H = 121,5206$, $df = 2$, $p = 0,0000$). Shares of ECM species and sporocarps were strongly related to an average number of *S. sapinea* pycnidia on a single needle. Regression trend indicate that in case when number of pycnidia on needles reaches 34 and more, we could expect an absence of ECM community (Figure 4.). An opposite scenario indicates that in case when share of ECM species reaches 74% or more, we could expect complete absence of pycnidia from needles. Similar trends were observed for sporocarps-pycnidia dependence (Figure 5.). Nevertheless, regression trends were not statistically significant ($p < 0,05$). Correlations between average pycnidia number, share of ECM species and sporocarps in relation to potassium, nitrogen, carbon, C : N ratio and humus in organic soil layer are shown in Table 3.

Several ECM species with assumed mycobioidication value were recorded at plot Previž only, e. g. *Tricholoma caligatum* (Viv.) Ricken (Figure 6.), *Suillus mediterraneensis* Jacquet. & J. Blum) Redeuilh (Figure 7.), *Hydnum albidum* Peck, *Hydnum ferrugineum* (Fr.) P. Karst., *Phellodon niger* (Fr.) P. Karst. (Figure 8.) and *Cantharellus lutescens* (Pers.) Fr. (Figure 9.) Characteristic ECM species at plot Trstenik were *Clavulina cinerea* (Bull.) J. Schröt., *C. coralloides* (L.) J. Schröt., *C. rugosa* (Bull.) J. Schröt., *Inocybe bongardii* (Weinm.) Quél., *I. geophylla* (Sowerby) P. Kumm., *Ramaria gracilis* (Pers.) Quél. and *Russula chloroides* (Krombh.) Bres. At plot Mali Golji, characteristic ECM species were *Chroogomphus rutilus* (Schaeff.) O.K. Mill., *Lactarius atlanticus* Bon, *L. aurantiacus* (Pers.) Gray and *Russula delica* Fr.

According to obtained results, plots Previž and Trstenik were characterized as not disturbed, while plot Mali Golji was at latent stage of disturbance. Considering a very low share of ECM sporocarps at plot Mali Golji, we predict a possible scenario of its transition to a more severe (acute) stage of disturbance. This research continues on previous research at the same Austrian pine plots on predisposition to *S. sapinea* infections, where site and stress conditions are determined as key factors. Our results confirm the assumption that stands with higher *S. sapinea* infection rate have impoverished mycorrhizal community and reveal potential indicator species of more resistant and healthy habitats. Since this research was focused on correlation between only two factors (share of ECM species and number of *S. sapinea* pycnidia on needles), we must interpret obtained results with precaution. To gain more reliable and precise results, further research based on higher number of plots and more detailed analysis of habitat factors is needed.

KEY WORDS: ectomycorrhiza, macrofungi, bioindicators, mycocoenosis, Austrian pine plantation