Istraživanje uzročnika crvene pjegavosti borovih iglica (Dothistroma spp.) na području šumarije Đurđevac

Kolar, Antonija

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Forestry / Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:108:864265

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

University of Zagreb Faculty of Forestry and Wood Technology

ŠUMARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

ŠUMARSKI ODSJEK

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

URBANO ŠUMARSTVO, ZAŠTITA PRIRODE I OKOLIŠA

ANTONIJA KOLAR

Istraživanje uzročnika crvene pjegavosti borovih iglica (*Dothistroma* spp.) na području šumarije Đurđevac

DIPLOMSKI RAD

ZAGREB, 2016.

ŠUMARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU ŠUMARSKI ODSJEK

Istraživanje uzročnika crvene pjegavosti borovih iglica (*Dothistroma* spp.) na području šumarije Đurđevac

DIPLOMSKI RAD

Diplomski studij: Urbano šumarstvo, zaštita prirode i okoliša

Predmet: Integrirana zaštita šuma u zaštićenim područjima

Ispitno povjerenstvo: 1. prof. dr. sc. Danko Diminić
2. doc. dr. sc. Milivoj Franjević
3. Jelena Kranjec, mag. ing. silv.

Student: Antonija Kolar

JMBAG: 0068205418

Broj indeksa: 508/14

Datum odobrenja teme: 11.4.2016.

Datum predaje rada: 19.9.2016.

Datum obrane rada: 23.9.2016.

Zagreb, rujan, 2016.

Dokumentacijska kartica

Naslov	Istraživanje uzročnika crvene pjegavosti borovih iglica (*Dothistroma* spp.) na području šumarije Đurđevac
Title	Research on causal agent of red band needle blight of pine (*Dothistroma* spp.) in the area of Đurđevac forestry office
Autor	Antonija Kolar
Adresa autora	Ivana Đurševića 47, Đurđevac
Mjesto izrade	Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Vrsta objave	Diplomski rad
Mentor	prof. dr. sc. Danko Diminić
Izradu rada pomogao	Jelena Kranjec, mag. ing. silv.
Godina objave	2016.
Obujam	52 stranice, 16 slika, 10 grafikona, 23 tablice, 80 navoda literature
Ključne riječi	*Dothistroma* spp., obični bor, crni bor, Đurđevački pijesci
Key words	*Dothistroma* spp., Scots pine, Austrian pine, Đurđevački pijesci
Sažetak	Crvena pjegavost borovih iglica je u Hrvatskoj najštetnija za crni bor na kojem su napadi najčešći, iako je utvrđena i na drugim vrstama iz roda *Pinus.* Kako se bolest na zaraženim borovima javlja svake godine, zaraza se širi, te osim prijevremenog osipanja iglica i smanjenja prirasta može uzrokovati i potpuno sušenje. U radu će se analizirati broj i zrelost plodišta *Dothistroma* spp. na simptomatičnim iglicama uzorkovanih borova s područja kojim upravlja šumarija Đurđevac, te bilježiti prisutnost drugih vrsta gljiva za jesenski i proljetni period godine. Također će se opisati morfologija spora (boja, oblik i veličina) te izmjeriti rast različitih izolata na hranjivim podlogama. Na ovaj će se način odrediti intenzitet zaraze na borovima istraživanog područja te dobiti uvid u širenje bolesti i potrebu za njenim suzbijanjem

SADRŽAJ

POPIS SLIKA

POPIS GRAFIKONA

POPIS TABLICA

1. UVOD 1

1.1 Opis patogena *Dothistroma* spp. 2

1.2 Domaćini 4

1.3 Geografska rasprostranjenost 5

1.4 Biologija 7

1.5 Morfologija 8

1.6 Simptomi 9

1.7 Štetnost 10

2. MATERIJALI I METODE RADA 11

2.1 Područje istraživanja 11

2.2 Prirodne značajke 13

2.3 Klimatska obilježja 13

2.4 Opis istraživanih lokaliteta 17

2.4.1 Opis odjela 1 (odsjek 1g) 18

2.4.2 Opis odjela 5 (odsjek 5e) 20

2.5 Metoda sakupljanja, čuvanja i obrade uzoraka 22

2.5.1 Identifikacija i brojanje plodišta *Dothistroma* spp. 22

2.5.2. Priprema medija za rast i izolacija iz plodišta 23

2.5.3 Mjerenje dimenzija spora 25

3. REZULTATI 26

3.1 Deskriptivna statistika i usporedba proljetnih i jesenskih uzoraka običnog bora (*Pinus sylvestris*) 26

3.2 Deskriptivna statistika i usporedba proljetnih uzoraka crnog *(Pinus nigra)* i običnog bora (*Pinus sylvestris*) 30

3.3 Analiza dimenzija spora 34

3.4 Rast izolata *Dothistroma* spp. 35
3.5 Brojnost ostalih patogena....36
4. RASPRAVA 37
4.1 Uloga klimatskih čimbenika na razvoj bolesti 38
4.2 Preferencija patogena i osjetljivost pojedinih vrsta borova (*Pinus nigra* i *Pinus sylvestris*) 40
4.3 Morfološka obilježja *Dothistroma* spp....42
4.3.1 Dimenzije konidija 42
4.3.2 Rast izolata 42
4.4 Brojnost ostalih patogena....43
5. ZAKLJUČAK....45
LITERATURA....47

POPIS SLIKA

Slika 1. Povijest nomenklature anamorfnog i telemorfnog stadija *Dothistroma* spp.
Slika 2. Geografska rasprostranjenost (Izvor:http://www.forestry.gov.uk/pdf/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf/$FILE/DIAROD_052_012_DNB_Brown.pdf)
Slika 3. Rasprostranjenost u Europi (Izvor:http://www.forestry.gov.uk/pdf/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf/$FILE/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf)
Slika 4. Presjek plodišta na iglici (Foto: J. Kranjec 2015)
Slika 5. Područje istraživanja (GJ Đurđevački Peski) s označenim odjelima 1 i 5 iz kojih su sakupljeni uzorci (Izvor: http://javni-podaci-karta.hrsume.hr/)
Slika 6. Lokacije (odjeli 1 i 5) u kojima su sakupljeni uzorci (Izvor: http://javni-podaci-karta.hrsume.hr/, foto: A. Kolar 2016)
Slika 7. Obični bor u proljeće (lijevo); simptomi na iglicama u jesen (gore desno); simptomi na iglicama u proljeće (dolje desno) (Foto: A. Kolar i J. Kranjec 2015, 2016)
Slika 8. Izgled mladih stabala u proljeće (lijevo); iglice crnog bora u proljeće (gore desno); simptomi na iglicama običnog bora u proljeće (dolje desno) (Foto: A. Kolar 2016)
Slika 9. Izbojak crnog bora (lijevo) i namočene iglice (desno) (Foto: Jelena Kranjec)
Slika 10. Izmjera spora (Foto: A. Kolar 2016)
Slika 11. Izgled plodišta na običnom boru u jesen (lijevo) i u proljeće (desno) (Foto: A. Kolar 2015, 2016)
Slika 12. Izgled plodišta na crnom (lijevo) i običnom (desno) boru u proljeće (Foto: A. Kolar 2016)
Slika 13. Izgled konidija *Dothistroma* spp.(Foto: A. Kolar 2016)
Slika 14. Izgled jesenskog izolata nakon dva tjedna rasta (Foto: J. Kranjec 2016)
Slika 15. Piknide *L. pinastri* (lijevo) i plodna tijela *C. niveum* (desno) ujesen (Foto: A. Kolar 2015)
Slika 16. Karta globalne ekoklimatske pogodnosti za razvoj *Dothistroma* spp. (Izvor:CLIMEX, klimatsko razdoblje: 1961-1990; prikazao Watt i dr. 2009)

POPIS GRAFIKONA

Graf 1. Srednja temperatura (°C) po mjesecima
Graf 2. Apsolutna minimalna temperatura (℃)
Graf 3. Apsolutna maksimalna temperatura (℃)
Graf 4. Prosječna količina oborina (mm) po mjesecima
Graf 5. Histogram distribucije broja plodišta *Dothistroma* spp. po iglicama i krivulja normalne distribucije za jesenske i proljetne uzorke iglica običnog bora

Graf 6. Usporedba broja plodišta po iglici između proljetnih i jesenskih uzoraka iglica običnog bora
Graf 7. Histogrami broja plodišta po iglici običnog bora za proljetne i jesenske uzorke
Graf 8. Histogram distribucije broja plodišta *Dothistroma* spp. po iglicama i krivulja normalne distribucije za proljetne uzorke iglica običnog i crnog bora
Graf 9. Usporedba broja plodišta po iglici između crnog i običnog bora
Graf 10. Histogrami broja plodišta po iglici crnog i običnog bora

POPIS TABLICA

Tablica 1. Geografska rasprostranjenost *Dothistroma* spp.
Tablica 2. Osnovni podaci o šumi GJ Đurđevački Peski, godina izmjere: 2007.
(Izvor: http://javni-podaci.hrsume.hr/o4o5.asp?gj=181)
Tablica 3. Stanje površina, 2007. godina
(Izvor: http://javni-podaci-karta.hrsume.hr/podaci/gj/181/Opis%20sastojine.pdf)
Tablica 4. Srednja minimalna temperatura (℃)
Tablica 5. Srednja maksimalna temperatura (℃)
Tablica 6. Broj dana s mrazom
Tablica 7: Šumskouzgojni podaci za odsjek 1g
Tablica 8: Šumskouzgojni podaci za odsjek 5e
Tablica 9. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za jesenske i proljetne uzorke običnog bora
Tablica 10. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za jesenske uzorke običnog bora
Tablica 11. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za proljetne uzorke običnog bora
Tablica 12. Usporedba jesenskih i proljetnih uzoraka iglica običnog bora Mann-Whitney U testom
Tablica 13. Rezultati Mann-Whitney U testa za usporedbu proljetnih i jesenskih uzoraka prema broju plodišta različitih stadija zrelosti
Tablica 14. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za proljetne uzorke crnog i običnog bora
Tablica 15. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za

proljetne uzorke običnog bora
Tablica 16. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za proljetne uzorke crnog bora
Tablica 17. Usporedba proljetnih uzoraka iglica crnog i običnog bora Mann-Whitney U testom
Tablica 18. Rezultati Mann-Whitney U testa za usporedbu uzoraka crnog i običnog bora prema broju plodišta različitih stadija zrelosti
Tablica 19. Deskriptivna statistika dimenzija spora
Tablica 20. Rast jesenskih izolata
Tablica 21. Rast proljetnih izolata
Tablica 22. Prikaz brojnosti *Cyclaneusma niveum* i *Lophodermium pinastri* na jesenskim i proljetnim uzorcima običnog i crnog bora
Tablica 23. Usporedba klimatskih prilika u jesen i u proljeće

1. UVOD

Dothistroma spp. je patogen koji uzrokuje osipanje iglica i uzrokuje najviše štete na borovima sjeverne hemisfere. Uglavnom napada vrste iz roda *Pinus* – borovi (86 vrsta), ali i ostale četinjače poput duglazije (*Pseudotsuga menziesii*), ariša (*Larix decidua*), kao i vrste iz roda *Picea* – smreke. Ukoliko *Picea abies* raste blizu zaraženih borova, može biti inficirana anamorfnim (konidijskim) stadijem *Dothistroma septosporum* (Lang, 1987).

Prstenasta pjegavost borovih iglica poznata je od početka 20. stoljeća. Zabilježena je u Rusiji 1912. godine, a u SAD-u 1914. godine. Uzrokovala je više lokalnih epifitocija u SAD-u, istočnoj Africi, Južnoj Americi i na Novom Zelandu na različitim vrstama borova (Uščuplić, 1996). Najosjetljiviji su se pokazali *Pinus nigra* Arn. (crni bor), *P. ponderosa* Laws. (žuti bor), *P. contorta* Dougl. ex Loud. (usukani bor) i *P. radiata* Don. (kalifornijski bor). U Europi je ova bolest također vrlo rasprostranjena, a utvrđena je na crnom, običnom, planinskom i alepskom boru, te na hibridima i nekim stranim vrstama borova (Uščuplić, 1996).

U Hrvatskoj je utvrđena 1963. godine (Kišpatić, 1991) i česta je na crnom, planinskom boru i na hibridima. Za nju se može reći da uzrokuje glavnu bolest iglica crnog bora jer je na njemu napad najjači. Zaraza ovom gljivom najveća je na mladim borovim sadnicama u rasadnicima, na borovima u dobi do približno 20 godina u kulturama, nasadima, parkovima, na pojedinačnim i u grupama rastućih stabala (Glavaš, 1999).

Objekt ovog istraživanja je parazitska gljiva iz reda *Mycosphaerellales* (Nannf.) P.F.Cannon (2001). Red *Mycosphaerellales* obuhvaća jednu porodicu, deset rodova i 584 vrste. Plodno tijelo je peritecij, malen, utisnut u tkivo te često izbija (eruptira) na površinu. Askospore su uglavnom hijaline, te poprečno septirane, bez ovoja. Pridolaze kao paraziti, nekrofiti ili saprofiti na različitim biljkama. Gljiva *Dothistroma* spp. koja je predmet ovog istraživanja nalazi se u porodici *Mycosphaerellaceae* (Lindau, 1897). Također i ostale gljive iz roda *Mycosphaerella* uzrokuju bolesti i velike štete na iglicama mnogih vrsta borova.

Cilj istraživanja je bio analizirati broj i stupanj zrelosti plodišta *Dothistroma* spp. na simptomatičnim iglicama borova s područja Borika, kojim upravlja šumarija Đurđevac, za jesenski i proljetni period godine, a bilježila se i prisutnost drugih vrsta gljiva. Također se opisala morfologija spora (boja, oblik i veličina) i izmjerio rast različitih izolata na hranjivim podlogama. Na taj način se odredio intenzitet zaraze na borovima istraživanog područja, te dobio uvid u širenje bolesti i potrebu za njenim suzbijanjem.

1.1 Opis patogena *Dothistroma* spp.

Taksonomska pozicija gljive *Mycosphaerella pini* Rostrup ap. Munk (1957) prema sistematici:

Carstvo: *Fungi*
Odjel: *Ascomycota*
Razred: *Dothideomycetes*
Podrazred: *Dothideomycetidae*
Red: *Capnodiales*
Porodica: *Mycosphaerellaceae*
Rod: *Dothistroma*
Vrsta: *Dothistroma* spp.

Hrvatski naziv bolesti:
crvena pjegavost borovih iglica

Engleski nazivi:
pine needle blight, dothistroma needle blight, needle fungus, red band needle blight

Sinonimi za telemorfni (savršeni) stadij:
Eruptio pini (Rostr. ex Munk) M.E. Barr (1996)
Scirrhia pini A. Funk & A.K. Parker (1966)
Scirrhia pini var. *galliensis* M. Morelet (1968)
Scirrhia pini var. *pini* A. Funk & A.K. Parker (1966)

Konidijski stadiji:

Dothistroma septosporum (Dorogin) M. Morelet (1968) i *Dothistroma pini* (Dorogin) Morelet

Sinonimi za anamorfni (konidijski) stadij:

Cytosporina septospora Dorogin (1911)

Actinothyrium marginatum Sacc. (1920)

Septoriella septospora (Dorogin) Sacc. (1931)

Septoria septospora (Dorogin) Arx (1983)

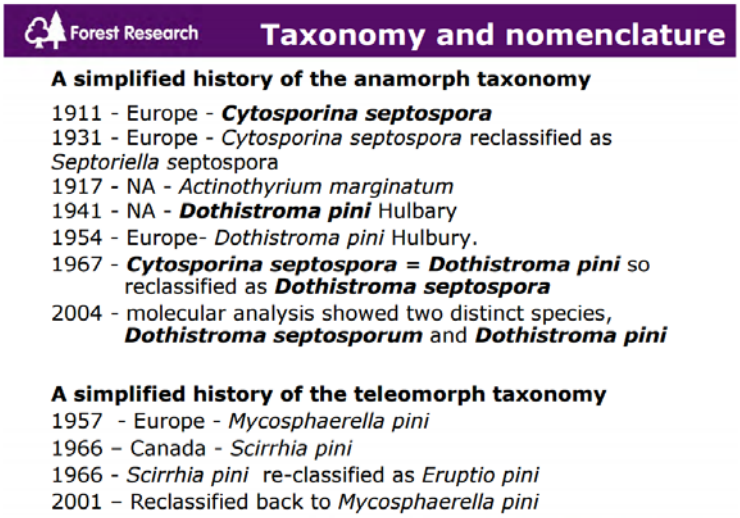
Dothistroma pini var. *keniens*e M.H. Ivory (1967)

Dothistroma pini var. *lineare* Thyr & C.G. Shaw (1964)

Dothistroma septosporum var. *keniense* (M.H. Ivory) B. Sutton (1980)

Dothistroma septosporum var. *lineare* (Thyr & C.G. Shaw) B. Sutton (1980)

Dothistroma septosporum var. *septosporum* (Dorogin) M. Morelet (1968)



Slika 1. Povijest nomenklature anamorfnog i telemorfnog stadija *Dothistroma* spp.

(Izvor:http://www.forestry.gov.uk/pdf/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf/$FILE/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf)

Gljiva *Dothistroma* spp. razvija nesavršeni (konidijski – anamorfni) i savršeni (telemorfni) stadij. Oba se stadija razvijaju u tkivu zaraženih iglica, u istim stromama. Strome su u iglicama smještene subepidermalno, a razvijaju se na crvenkasto-smeđim pjegama prošlogodišnjih, a rjeđe ovogodišnjih iglica.

Kad su acervuli (pseudopiknide) zreli, stroma nabubri i vrši pritisak na epidermu koja se nadigne i raspuca. Tada su na iglicama vidljive tamnosmeđe ili crne nepravilne izbočine. Strome i crvenkaste pjege najvažniji su dijagnostički znaci. Periteciji se razvijaju u istim stromama gdje i acervuli (pseudopiknide). Taj savršeni oblik se po izgledu teško razlikuje od nesavršenog. Periteciji su subepidermalni, u zrelosti nabubre i izbijaju na površinu iglice, te sadrže askospore.

Mycosphaerella pini je 2004. godine na temelju molekularnih i morfoloških istraživanja anamorfnog stadija razdvojena na dvije posebne vrste. *M. pini* s anamorfnim stadijem *Dothistroma septosporum* se pojavljuje po cijelom svijetu, a *Dothistroma pini* je nađena na sjeveru i u centralnom SAD-u, a nedavno i u Rusiji i Europi. (Barnes, 2004). Kratka povijest nomenklature, odnosno promjena naziva gljive kroz prošlost, navedena je na slici 1.

1.2 Domaćini

Primarni domaćini su borovi (*Pinus* spp.).

Najosjetljivije su sljedeće vrste borova: *P. attenuata*, *P. x attenuradiata*, *P. brutia*, *P. canariensis*, *P. cembroides*, *P. contorta* var. *latifolia*, *P. engelmannii*, *P. halepensis*, *P. jeffreyi*, *P. muricata*, *P. nigra* subsp. *laricio*, *P. nigra* subsp. *nigra*, *P. pinea*, *P. ponderosa*, *P. radiata*, *P. sabineana*, *P. sylvestris*, *P. thunbergii*.

Umjereno osjetljive vrste borova su: *P. bungeana*, *P. canariensis*, *P. caribaea*, *P. coulteri*, *P. cubensis*, *P. densiflora*, *P. echinata*, *P. echinata* x *taeda*, *P. elliottii*, *P. flexilis*, *P. jeffreyi*, *P. kesiya*, *P. lambertiana*, *P. massoniana*, *P. monticola*, *P. mugo* subsp. *mugo*, *P. muricata*, *P. occidentalis*, *P. palustris*, *P. pinaster*, *P. pungens*, *P. radiata* var. *binata*, *P. resinosa*, *P. roxburghii*, *P. strobiformis*, *P. strobus*, *P. taeda*, *P. thunbergii*.

Neznatno osjetljive vrste borova su: *P. aristata*, *P. ayacahuite*, *P. contorta*, *P. coulteri*, *P. devoniana*, *P. elliottii*, *P. elliottii* var. *densa*, *P. hartwegii*, *P. heldreichii*, *P. koraiensis*, *P. merkusii*, *P. montezumae*, *P. monticola*, *P. nigra* subsp. *nigra*, *P. oocarpa*, *P. patula*, *P. pseudostrobus*, *P. rigida*, *P. sabineana*, *P. serotina*, *P. sibirica*, *P. strobus*, *P. strobus* var. *chiapensis*, *P. sylvestris*, *P. tabuliformis*, *P.*

taeda, *P. torreyana*, *P. wallichiana*.

Osjetljivost je nepoznata kod sljedećih vrsta borova: *P. albicaulis*, *P. arizonica* var. *cooperi*, *P. banksiana*, *P. cembra*, *P. clausa*, *P. contorta* x *banksiana*, *P. contorta* var. *contorta*, *P. kesiya* var. *kesiya*, *P. maximinoi*, *P. mugo* subsp. *rotundata*, *P. mugo* subsp. *uncinata*, *P. peuce*, *P. sylvestris* . var *mongolica*, *P.tecunumanii*.

Ostale vrste koje su također podložne zarazama su: *Pseudotsuga* spp. (*Pseudotsuga menziesii*), *Larix* spp. (*Larix decidua*), *Picea* spp. (*Picea abies*, *Picea omorika*, *Picea pungens*, *Picea sitchensis* i *Picea shrenkiana*).

U Hrvatskoj je česta na crnom - *P. nigra* i planinskom boru - *P. mugo* (Tomiczek i dr. 2008).

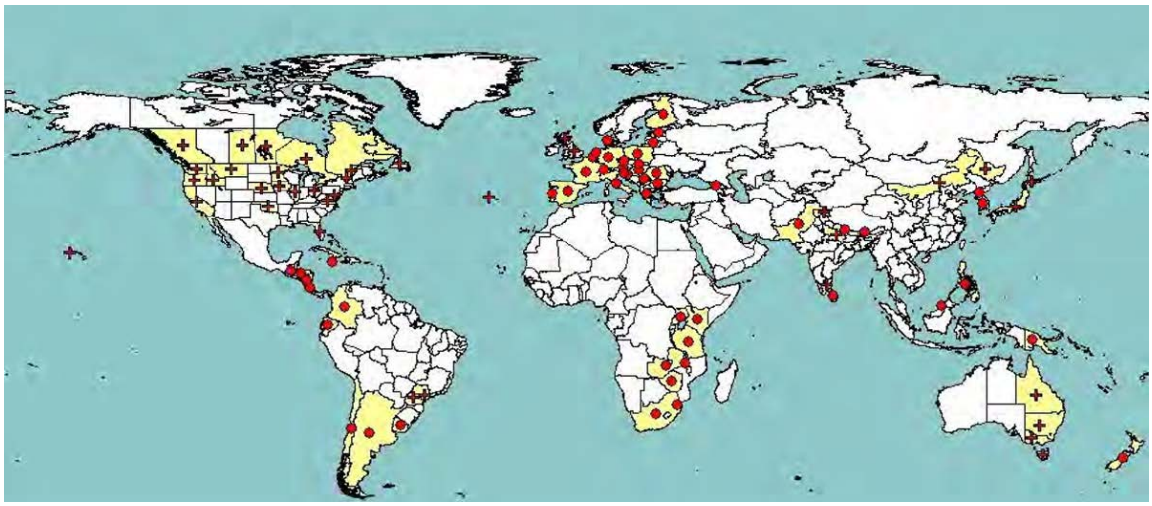
1.3 Geografska rasprostranjenost

Patogena gljiva koja je predmet ovog istraživanja je široko geografski rasprostranjena, što je vidljivo iz sljedećih tablica i slika (tablica 1, slika 2, slika 3).

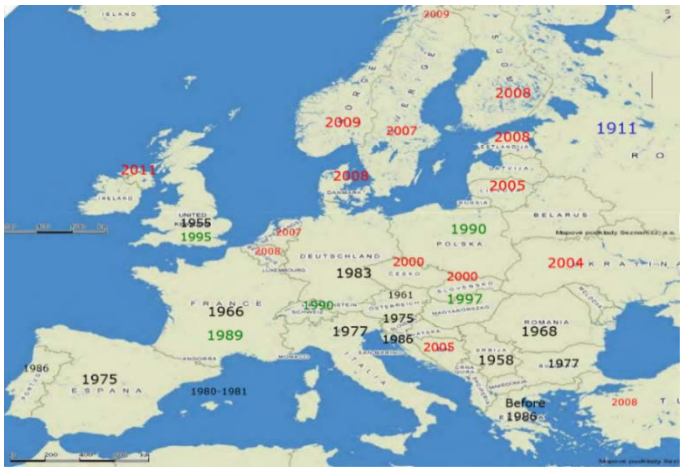
Tablica 1. Geografska rasprostranjenost *Dothistroma* spp.

Kontinenti	Države
Afrika	Južna Afrika, Kenija, Malawi, Tanzanija, Uganda, Zambija, Zimbabwe
Amerika (Južna)	Argentina, Brazil, Čile, Ekvador, Kolumbija, Urugvaj
Amerika (Sjeverna)	Kanada, SAD – Florida, Hawaii, Iowa, Idaho, Illinois, Kalifornija, Maryland, Minnesota, Montana, Nebraska, Ohio, Oklahoma, Oregon, Virginia, Washington
Amerika (Srednja)	Gvatemala, Honduras, Jamajka, Karibi, Kostarika, Nikaragva
Azija	Bruneji, Filipini, Gruzija, Indija, Japan, Koreja, Nepal, Pakistan, Šri Lanka

Europa	Austrija, Belgija, Bugarska, Češka, Danska, Estonija, Finska, Francuska, Grčka, Gruzija, Hrvatska, Italija, Latvija, Litva, Mađarska, Nizozemska, Norveška, Njemačka, Poljska, Portugal, Rumunjska, Slovačka, Slovenija, Srbija, Španjolska, Švicarska, Ujedinjeno Kraljevstvo
Oceanija	Australija, Novi Zeland, Papua Nova Gvineja



Slika 2. Geografska rasprostranjenost (Izvor:http://www.forestry.gov.uk/pdf/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf/$FILE/DIAROD_052_012_DNB_Brown.pdf)



Slika 3. Rasprostranjenost u Europi (Izvor:http://www.forestry.gov.uk/pdf/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf/$FILE/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf)

1.4 Biologija

Dothistroma spp. ima jednogodišnji razvojni ciklus. Većina zaraza se ostvaruje konidijama od ožujka do početka lipnja. Ako se zaraza odvija askosporama, to se događa u lipnju. Bez obzira na to koje su spore zarazile, u zaraženim iglicama se razvijaju strome s acervulima (pseudopiknidama), a to traje sve do idućeg proljeća, odnosno godinu dana. Iz toga je vidljivo da patogen prezimi u zaraženim iglicama na stablu ili u otpalim iglicama.

U tkivu zaraženih dijelova iglica razvijaju se strome. U tim stromama, dok su iglice na stablu, razvijaju se acervuli (pseudopiknide) s konidijama, a periteciji kada iglice opadnu. Važno je naglasiti da konidije primarno vrše zarazu, a da askospore nemaju veliko značenje, iako i one šire zarazu (Gibson, 1974). U našoj praksi savršeni stadij nismo utvrdili i ne dajemo mu veliko značenje. Butin (1983) je izvjestio da se savršeni stadij često razvija na jednogodišnjim i dvogodišnjim iglicama crnog bora u Njemačkoj, te smatra da je gljiva vjerojatno unesena iz susjednih zemalja zaraženim crnim borom.

Konidije sazrijevaju u ožujku i to je vrijeme početka njihova oslobađanja, širenja i inficiranja. Oslobađanje i rasijavanje konidija traje sve do listopada, a glavno vrijeme novih infekcija je u travnju i svibnju (Uščuplić, 1996). Oslobođene konidije vjetar prenosi na male udaljenosti, odnosno na iglice na istom stablu i stabla u neposrednoj blizini (Punithalingam i Gibson, 1973). Na Novom Zelandu konidije mogu biti prenesene vjetrom i do 150 km udaljenosti (Gibson, 1973). Ako su konidije prenesene na tu udaljenost, njihov broj je malen i bez velikog značaja za širenje bolesti. Bolest se na male i velike udaljenosti prenosi i zaraženim sadnicama, a opasnost od zaraze predstavljaju i otpale zaražene iglice, jer u njima gljiva može preživjeti 2 – 6 mjeseci u povoljnim uvjetima.

Kada konidije dospiju na borove iglice, trebaju postojati povoljni uvjeti za njihovo klijanje i zarazu. Za klijanje konidija potrebna je visoka vlažnost (magla i kiša) i visoka temperatura zraka. Ako je prosječna temperatura ispod 7°C, nema zaraze. Spore kliju na 5 – 25°C, a optimum je 18°C (Punithalingam i Gibson, 1973). Takvi uvjeti su česti u našim krajevima što pogoduje zarazi i širenju bolesti. Kada su ostvareni idealni uvjeti, konidija klije, a nastala hifa ulazi kroz puči u iglicu.

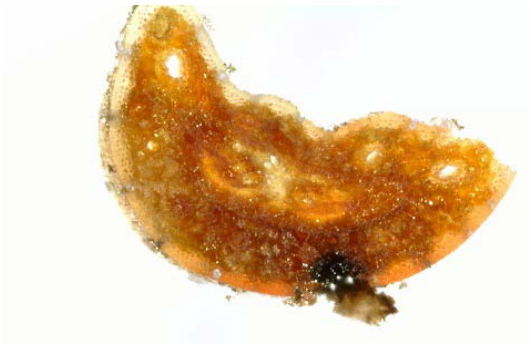
Otpornost različitih borova istražuje se kroz građu puči jer o njima ovisi mogućnosti zaraze. Nakon zaraze slijedi cjelogodišnji ciklus patogeneze.

1.5 Morfologija

Strome su tamnosmeđe, duge 0,2 – 0,6 mm, a široke 0,3 mm. U stromama se nalazi 5 – 10 svijetlih acervula (pseudopiknida). Oni su smješteni u centru nekrotične zone u mezofilu (Peterson i Walla 1978)(slika 4). Razvijaju se po jedan ili u grupama, obično između žila, s jedne i druge strane iglice (Punithalingam i Gibson, 1973; Edwards i Walker, 1978). Dugački su 125–1500 µm, široki 50–450 µm i visoki do 600 µm (Punithalingam i Gibson, 1973; Funk, 1985).

U acervulima (pseudopiknidama) su brojne, bezbojne, ravne ili blago povijene konidije, a izlučuju se u bijeloj, blago ružičastoj ili bezbojnoj viskoznoj masi (Sinclair i dr. 1987; Evans, 1984; Brown i Webber, 2008). Konidije mogu biti 1-5-stanične, ali su obično dvostanične ili trostranične. Duljina im može biti od 12 do 48 µm (čak i do 64), a širina od 2 do 3 µm (Funk, 1985; EPPO, 2008), cilindričnog su oblika, sužavaju se prema vrhovima i vrhovi su tupi (Edwards i Walker, 1978; EPPO 2008). Nastaju na konidiogenim stanicama tipa holoblastik (Butin, 1989).

Periteciji su širine 600 µm. Askusi su cilindrični, izmiješani između lanaca polukuglastih bezbojnih stanica (pseudoparafiza). Oni imaju dvostruku stijenku, veliki su 35 – 50 x 7 – 10 µm i sadrže 8 askospora poredanih u dva niza. Askospore su bezbojne, vretenaste do eliptične i dvostanične. Veličina im je 11 – 16 x 3 – 4 µm (Punithalingam i Gibson 1973).



Slika 4. Presjek plodišta na iglici
(Foto: J. Kranjec 2015)

1.6 Simptomi

Inkubacija ove bolesti koleba, pa tako u pojedinim dijelovima svijeta traje u rasponu od 32 do 114 dana, odnosno od 6 do 12 tjedana. U našim uvjetima prve simptome primjećujemo tijekom ljeta i početkom jeseni. Vjerojatno je da to ovisi o stanišnim prilikama, vrstama borova i njihovoj varijabilnosti u populaciji (genetski uvjetovano), klimatskim uvjetima i razlikama u patogenosti gljive.

Oboljeti mogu iglice različite dobi, a prvi simptomi obično se javljaju na ovogodišnjim i lanjskim iglicama (Gadgil, 1984; Timmerman, 2011). To se generalno prvo primjećuje na bazi krošnje (Peterson, 1982; Gadgil, 1984; Bulman, 1993; Timmerman, 2011), no kako bolest napreduje, zaraza se širi i na mlađe iglice (Gadgil, 1984; Hunt i dr., 2011). Na zaraženim iglicama vidljivo je odumiranje gornje polovice iglica, dok donji dio ostaje zelen. U daljnjem tijeku bolesti, dok su iglice još na stablu, slijedi smeđenje i odumiranje donjeg dijela iglice. Kada otpadnu stare iglice, ostaju samo zaražene ovogodišnje iglice, najčešće na vrhu stabla i izbojaka zbog čega stablo ima reduciranu krošnju (Gadgil 1984). Izbojci na sebi često nose samo jednogodišnje iglice (Tomiczek i dr. 2008). Takav izgled je uniforman, no neka stabla pokazuju veću otpornost od drugih (Bulman 1993).

Na razini iglice, rani simptomi koji se javljaju su tamnozeleni prstenovi ili lezije natopljene vodom s klorotičnim žutim pjegama (Hulbary, 1941; Edwards i Walker, 1978; Timmerman, 2011; Peterson, 1982; Brown i Webber, 2008) koji se generalno razvijaju tijekom ljeta do rane jeseni. Takvi simptomi su kratkog trajanja, pa klorotične pjege posmeđe i oblikuju crvenosmeđe prstenove širine 1 – 2 mm. (Peterson, 1982; Gadgil, 1984; Bulman, 1993). Prstenovi postaju istaknutiji kada su izloženi suncu, a zahvaljujući fitotoksičnom efektu dotistromina koji gljiva proizvodi, mogu biti vidljivi i nakon što iglica otpadne sa stabla (Murray i Batko, 1962). Rubovi crvenih prstenova mogu biti okruženi žutim nekrotičnim tkivom pokraj kojeg je tamnozeleno tkivo koje sadrži lignificirane stanice (Franich i dr. 1986). U kasnu zimu i rano proljeće, vrh iglice iznad lezije odumire i postaje crvenosmeđi, dok donji dio ostaje zelen (Karadžić, 1994; Flynn, 1998). Taj simptom je najizraženiji na dvogodišnjim i trogodišnjim iglicama u proljeće i ljeto (Brown i Webber, 2008).

Jones i dr. (1995) utvrdili su dotistromin u meristemskim stanicama bolesnih iglica i u zrelom embriju sjemena. Crvena boja je važan dijagnostički znak ove bolesti, no ponekad može izostati ako gljiva proizvodi malo ili ne proizvodi dotistromin. Na mjestima pjega u proljeće na površini iglica izbijaju acervuli (pseudopiknide) noseći na sebi uske trake ispucane epiderme.

Simptomi, kada se pojave, slični su ostalim patogenima iglica (npr. *Mycosphaerella dearnessii*, *Cercoseptoria pini-densiflorae*), štetnim utjecajima iz okoliša ili manjku hranjiva (bora i sumpora) (Pehl i Wulf, 2001). Postoji mogućnost zamjene za štete od kukaca koji sišu sok na iglicama – npr. vrste iz roda *Lecanosticta* (Tomiczek i dr., 2008).

1.7 Štetnost

Prstenasta pjegavost borovih iglica je bolest kroničnog karaktera, a to znači da se borovi svake godine nanovo zaraze. Oni svake godine gube sve više starih iglica, tako da na izbojcima ostaju samo ovogodišnje iglice koje su također zaražene. Iz tih zaraženih iglica na vrhu izbojka širi se zaraza mladih iglica istog izbojka u stadiju njihovog proljetnog rasta. Do sljedećeg proljeća stare iglice otpadnu, a novonastale iglice, koje su sad jednogodišnje nose zarazu kao što su nosile iglice godinu dana ranije. Zbog takvih napada krošnja je svijetla i prozračna, te se iz daljine vidi crvena boja oboljelih iglica. Bor zbog iscrpljenosti svake godine stvara manji broj iglica, te su iglice sve kraće, pa na kraju stablo odumre.

Kod nas je općenito štetna za crni bor, a zaražene mogu biti iglice različite dobi što u konačnici ovisi o duljini trajanja bolesti. Kod jakog napada mogu biti zaražene sve iglice bolesnog stabla. Zbog bolesti se prijevremeno osipaju iglice, a posljedica toga je slabiji razvoj biljke, odnosno smanjen visinski i debljinski prirast. Jače i kronično oboljeli borovi osuše se nakon nekoliko godina trajanja bolesti.
Razvoju bolesti, kao što je već navedeno, pogoduje visok sadržaj zračne vlage, pa se pojačano razvija na vlažnim mjestima kao što su uvale, donji dijelovi padina, te u gustom sklopu. Broj zaraza po jednoj iglici može biti različit, a o tome ovisi i vrijeme osipanja iglica – što je broj zaraza veći, iglice brže ugibaju i prije otpadaju.

Jače zaražene iglice otpadaju već zimi, ali masovno osipanje iglica je u proljeće, no zna se produžiti sve do jeseni. Bolest stvara dobre preduvjete za napad drugih bolesti i štetnika.

Neki su borovi na ovu bolest osobito osjetljivi u mladosti (*P. radiata*, *P. canariensis*), a poslije su otporniji, dok su drugi osjetljivi cijeloga života (*P. ponderosa*, *P. nigra*). Kod crnog bora trebaju se uzeti u obzir razlike u otpornosti pojedinih varijanti i provenijencija (Glavaš 1999).

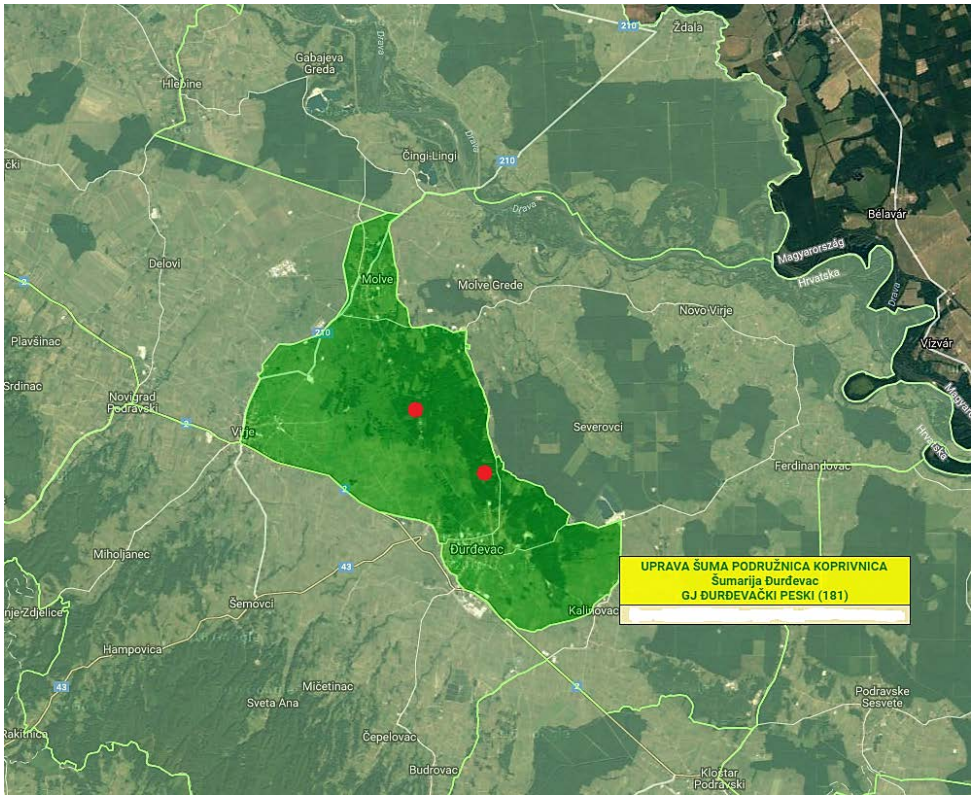
2. MATERIJALI I METODE RADA

Sakupljane su iglice s izbojaka običnog i crnog bora kako bi se utvrdila plodna tijela istraživane vrste gljive *Dothistroma* spp.. U sljedećim poglavljima opisano je područje istraživanja, vremensko razdoblje istraživanja, metode sakupljanja uzoraka i njihova daljna obrada.

2.1 Područje istraživanja

Istraživanjem je obuhvaćen šumski predio park šume Borik, Uprava šuma podružnica Koprivnica, Šumarija Đurđevac, GJ Đurđevački Peski (slika 5). Ukupna površina gospodarske jedinice iznosi 746,42 ha. Razdijeljena je na 20 odjela sa ukupnom zalihom od 93139 m^3 i godišnjim tečajnim prirastom 2681 m^3 (tablica 2). Borik se nalazi na sjevernom dijelu Đurđevca, te je veći dio prekriven umjetno podignutim srednjedobnim i starim sastojinama crnog i običnog bora. Na znatno manjim površinama nalazi se nekoliko vrsta listopadnog drveća (hrast lužnjak, lipa, dud, gledičija), uključujući i bagremove sastojine s gustim prizemnim rašćem (kupinom).

Šume gospodarske jedinice „Đurđevački Peski“ prema namjeni su svrstane u zaštitne šume i šume s posebnom namjenom koje čini Park šuma „Borik“ i Posebni rezervat.



Slika 5. Područje istraživanja (GJ Đurđevački Peski) s označenim odjelima 1 i 5 iz kojih su sakupljeni uzorci (Izvor: http://javni-podaci-karta.hrsume.hr/)

Tablica 2. Osnovni podaci o šumi GJ Đurđevački Peski, godina izmjere: 2007. (Izvor: http://javni-podaci.hrsume.hr/o4o5.asp?gj=181)

[m^3]

Vrsta drveća	Dobni razred													UKUPNO	
	I	II		III		IV		V		VI		VII			
		Zaliha	Prirast	Zaliha	Prirast	Zaliha	Prirast	Zaliha	Prirast	Zaliha	Prirast	Zaliha	Prirast	Zaliha	Prirast
LUŽNJAK		64	3	17	0	149	2	426	7	79	1	7	0	742	13
O.GRAB		17	1	0	0	0	0	42	2	74	4	0	0	133	7
BAGREM		1814	70	1831	135	3224	125	8572	328	1762	67	5118	182	22321	907
OTB		0	0	2	0	160	7	93	4	7	0	3	0	265	11
LIPA sp.		0	0	1	0	57	5	23	1	0	0	0	0	81	6
C.JOHA		795	22	1119	27	173	4	0	0	0	0	36	1	2123	54
O.VRBA		8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	1
B.TOPOLA		0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	10	0	22	0
OMB		11	0	19	0	0	0	3	0	1	0	3	0	37	0
SMREKA		101	7	596	38	42	3	0	0	0	0	0	0	739	48
B.BOR		4985	309	5518	227	4306	107	14457	260	6603	112	59	3	35928	1018
C.BOR		1317	62	1065	21	8832	176	13962	239	2646	45	303	10	28125	553
BOROVAC		62	4	41	2	2503	57	9	0	0	0	0	0	2615	63
UKUPNO		9174	479	10209	450	19446	486	37599	841	11172	229	5539	196	93139	2681
Površina	126,48	55,98		67,04		98,64		158,69		38,4		24,66		569,89	
Ukupna površina bez I dobnog razreda														443,41	
m3/ha		163,88	8,56	152,28	6,71	197,14	4,93	236,93	5,30	290,94	5,96	224,61	7,95	210,05	6,05

2.2 Prirodne značajke

Reljef gospodarske jedinice "Đurđevački Peski" je blago valovit s razlikom u nadmorskoj visini od 17 m. Najniža kota nalazi se u odjelu 19 i iznosi 115 m, a najviša u odjelu 9, na 132 m. Geografski je ovo područje smješteno između 46º01´ i 46º06´ sjeverne širine te 17º01´ i 17º06´ istočne dužine.

Na sjeveru je omeđena cestom Medvedička-Molve, zapadnom i južnom stranom cestom Molve-Virje-Đurđevac-Kalinovac izuzev odsjeka 11a koji je južnije od ceste Đurđevac-Kalinovac. Čitav posjed gospodarske jedinice se nalazi u okviru Koprivničko-križevačke županije. Većina površine je obrasla šumom (tablica 3). Gospodarska jedinica nema značajnijih prirodnih vodotoka osim kanala Čivićevac, ali je nivo podzemne vode pod značajnim utjecajem rijeke Drave i kolebanja njezinog vodostaja. Površinske vode nižeg dijela gospodarske jedinice odvedene su umjetno prokopanim kanalima. (Izvor: javni-podaci.hrsume.hr/doc/181.doc)

Tablica 3. Stanje površina, 2007. godina
(Izvor: http://javni-podaci-karta.hrsume.hr/podaci/gj/181/Opis%20sastojine.pdf)

Godina inventarizacije	Obraslo	Neobraslo		Neplodno	UKUPNO
		Proizvodno	Neproizvodno		
	ha				
2006.	569,89	150,46	9,37	16,70	746,62

2.3 Klimatska obilježja

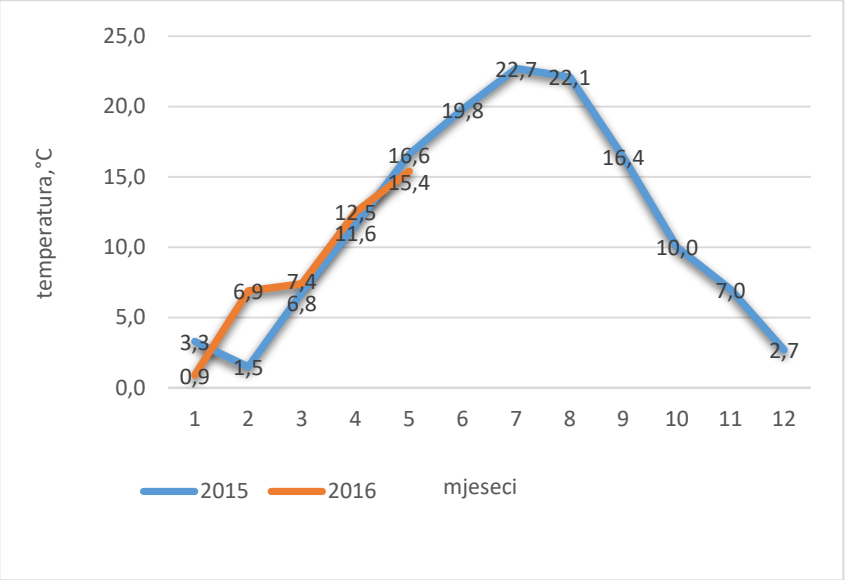
Đurđevac, kao dio kontinentalne Hrvatske, ima umjerenu kontinentalnu klimu i cijele se godine nalazi u cirkulacijskom pojasu umjerenih širina, gdje je stanje atmosfere vrlo promjenjivo i obilježeno raznolikošću vremenskih situacija uz česte i intenzivne promjene tijekom godine. Prema Köppenovoj klasifikaciji klime, nizinski kontinentalni dio Hrvatske ima klimu Cfwbx". Temperaturne karakteristike (oznake C i b) označavaju srednju mjesečnu temperaturu najhladnijeg mjeseca višom od -3°C i nižom od 18°C (oznaka C), a najtopliji mjesec u godini ima srednju temperaturu nižu od 22°C (oznaka b). Tijekom godine nema izrazito suhih

mjeseci, a mjesec s najmanje oborine u hladnom je dijelu godine (oznaka fw). U godišnjem hodu oborine javljaju se dva maksimuma (oznaka x").

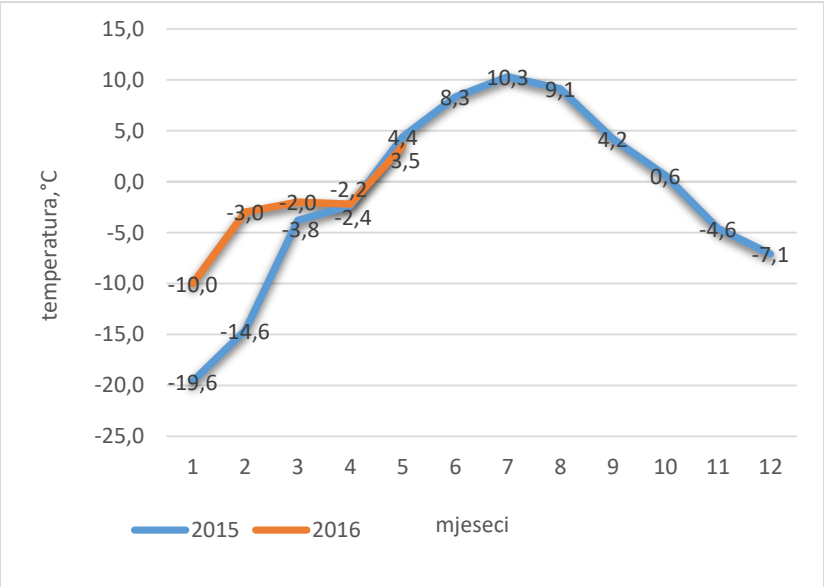
Thornthwaitova klasifikacija klime je bazirana na odnosu količine vode potrebne za potencijalnu evapotranspiraciju i oborinske vode, te prema njoj u najvećem dijelu nizinskog kontinentalnog dijela Hrvatske prevladava humidna klima.
(Izvor: http://klima.hr/klima.php?id=k1#pog1)

Prosječne i apsolutne vrijednosti temperature po mjesecima za područje Đurđevca (2015. i 2016. godina) prikazane su grafikonima 1, 2 i 3, te tablicama 4 i 5. Prikazani su i podaci o prosječnim mjesečnim količinama oborina (graf 4) te o broju dana s mrazom po mjesecima (tablica 6).

Graf 1. Srednja temperatura (°C) po mjesecima



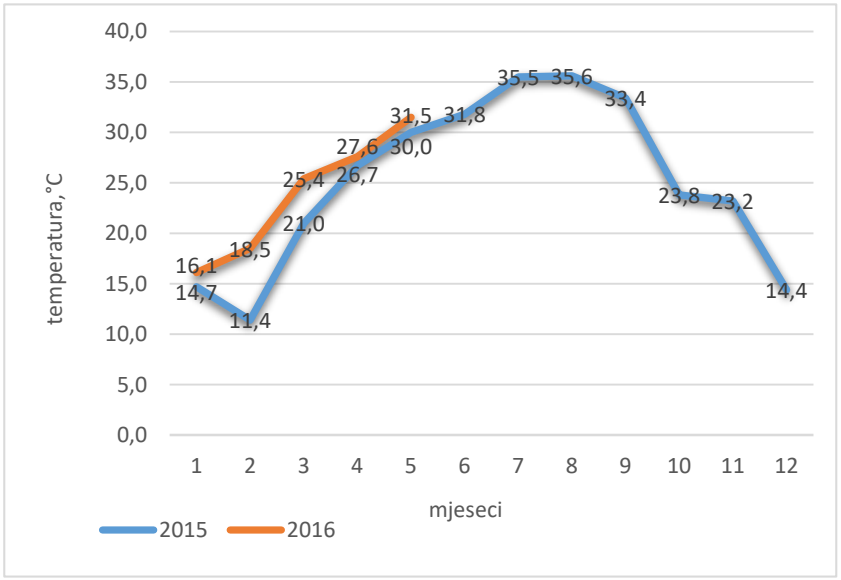
Graf 2. Apsolutna minimalna temperatura (°C)



Tablica 4. Srednja minimalna temperatura (°C)

mjeseci												
god.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2015	-0,2	-2,6	1,4	4,7	11,0	13,2	16,2	15,5	11,1	5,7	1,8	-0,2
2016	-3,1	3,0	3,1	6,3	10,3							

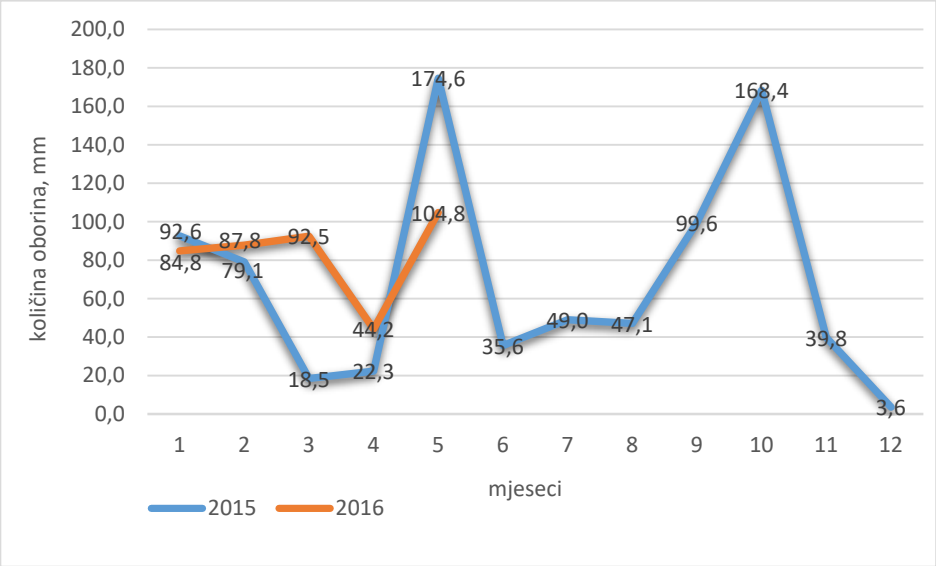
Graf 3. Apsolutna maksimalna temperatura (°C)



Tablica 5. Srednja maksimalna temperatura (°C)

mjeseci												
god.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2015	6,4	5,8	12,6	18,3	22,4	26,3	29,6	29,7	22,6	15,2	14,7	6,9
2016	5,6	11,4	12,7	19,6	21,7							

Graf 4. Prosječna količina oborina (mm) po mjesecima



Tablica 6. Broj dana s mrazom

mjeseci												
god.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2015	5	9	9	0	0	0	0	0	0	0	8	13
2016	18	7	5	1	0							

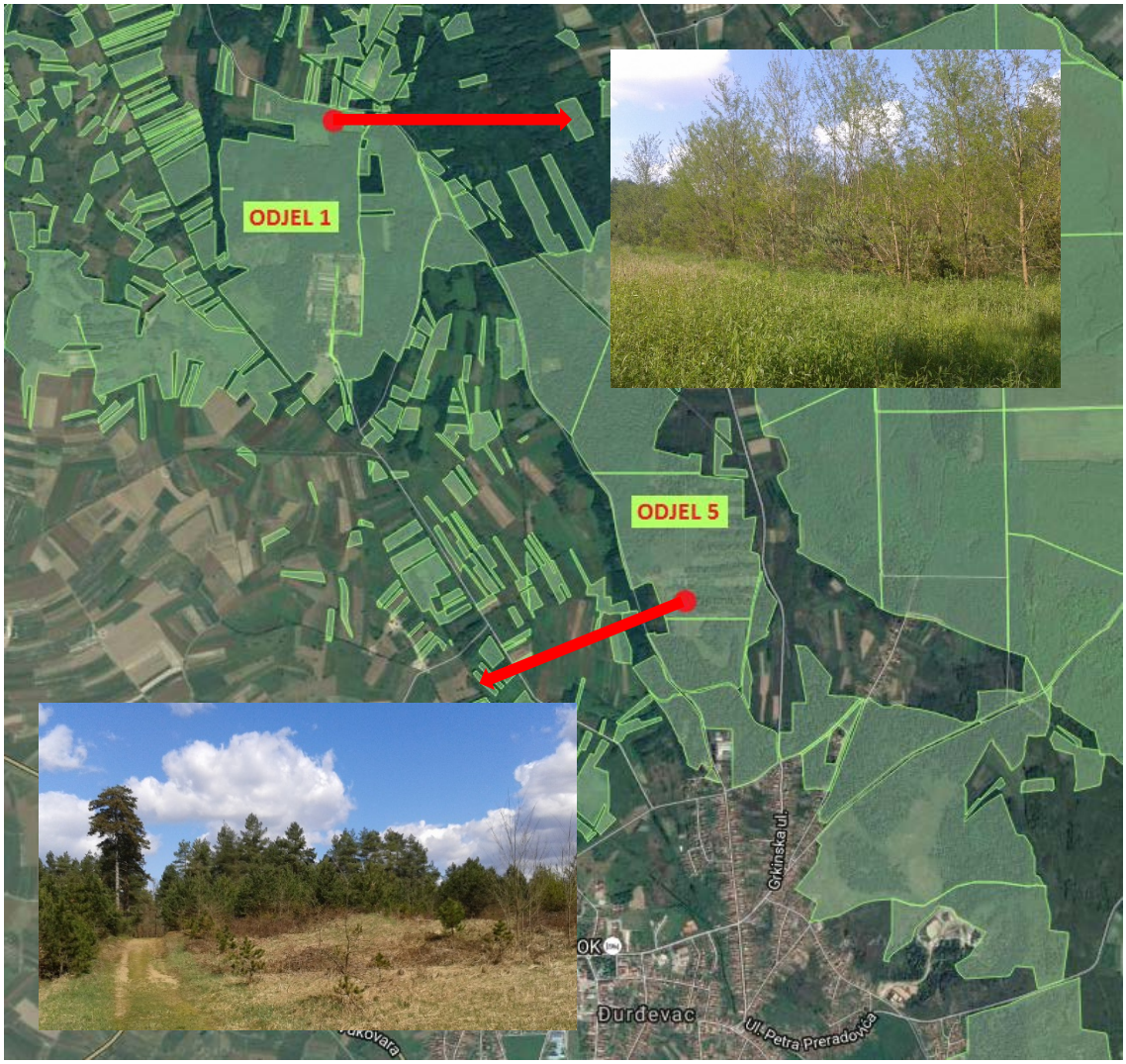
2.4 Opis istraživanih lokaliteta

Ujesen 2015. izvršeno je uzorkovanje na tri različite lokacije (odsjeka).

Lokacija 1 (odsjek 3g) je sastojina crnog i običnog bora, grupimičnog rasporeda stabala. Grupe stabala običnog bora su iz prirodnog pomlatka, dok je crni bor sađen. Na dijelu odsjeka je u tijeku bila sječa. Simptomatične iglice su sakupljane sa srušenih starijih i dubećih mlađih stabala. Na ovoj su lokaciji sakupljena ukupno četiri uzorka.

Lokacija 2 (odsjek 1h) je prethodno bila kultura američkog borovca, nakon sanitarne sječe je unesen hrast lužnjak, čije je pomlađivanje djelomično uspjelo, dok se u grupama prirodno podigao obični bor. Sakupljen je jedan uzorak.
Na lokaciji 3 (odsjek 1g) su sakupljena tri uzorka s mlađih stabala običnog bora.
Na istraživanom području optimalnom lokacijom s najreprezentativnijim iglicama, odnosno simptomima, se pokazala lokacija 3 (odsjek 1g). Sakupljeni su uzorci na rubu sastojine s mladih do srednjodobnih stabala u gustom sklopu. Uzorci s te lokacije su dalje obrađivani.

Terensko sakupljanje simptomatičnih iglica u proljeće 2016. obuhvatilo je već spomenutu lokaciju 3 iz jesenskog sakupljanja uzoraka (odjel 1), jednu lokaciju između koja je nazvana lokacija 2, te lokaciju 3 koja se nalazila u odjelu 5. U odjelu 5 uočeni su jasno vidljivi simptomi na mladim stablima crnog i običnog bora, te je s njih sakupljeno nekoliko uzoraka. Zbog usporedbe intenziteta zaraze, u proljetnom periodu su se uzele u obzir dvije lokacije – odjel 1 s običnim borom i odjel 5 s crnim i običnim borom (slika 6).



Slika 6. Lokacije (odjeli 1 i 5) u kojima su sakupljeni uzorci
(Izvor: http://javni-podaci-karta.hrsume.hr/, foto: A. Kolar 2016)

2.4.1 Opis odjela 1 (odsjek 1g)

Opisi dvije lokacije (odsjeci 1g i 5e) preuzeti su iz Osnove gospodarenja G.J. Đurđevački Peski.

- Odjel 1 (odsjek 1g) - mlada kultura običnog bora gusto sklopljena, s grupom tanjeg bagrema na jugu odsjeka, sađena u redove. Na tlu ima kupine i bazge u sloju grmlja. Stabla običnog bora su malih visina, poneka oštećena uslijed snijega i vjetra.
  Lokacija se nalazi u šumskom predjelu Peski i spada u 2. bonitetni razred. Površina odsjeka iznosi 1,91 ha, a nalazi se na istočnoj ekspoziciji. Tip tla je ranker, nagib je 0% i nalazi se na nadmorskoj visini od 121 metra.

Obrast je 0,76, sklop je nepotpun, a starost sastojine je 34 godine. Propisana ophodnja je 80 godina. Uređajni razred u koji spada odsjek je zaštitna šuma, koju čini kultura običnog bora. Ostali podaci o strukturi sastojine nalaze se u tablici 7.

Tablica 7: Šumskouzgojni podaci za odsjek 1g

Vrsta	Tarifa	Broj stabala N/ha	Temeljnica m2/ha	Sr.ploš.stab. d-cm	Sred.sast.vis. h-m	Drvna zaliha			God.tečaj.prirast		
						m3/ha	m3 u ods	smjesa %	m3/ha	m3 u ods	%
BAGREM	6	410	8,06	16	18	56,54	108	36	2,62	5	4,63
B.BOR	13	375	12,71	21	17	99,48	190	64	6,28	12	6,32
Ukupno		785	20,77	18,39		156,02	298	100	8,90	17	5,70

Prema smjernicama gospodarenja, u budućnosti je potrebno izvršiti prorjedu u korist kvalitetnijih stabala, vadeći prvenstveno bagrem, te loša i bolesna stabla bora. Vrsta šumskouzgojnih radova i zaštite šuma koji se provodi je jednostavna reprodukcija, odnosno prorjeđivanje sastojina.



Slika 7. Obični bor u proljeće (lijevo); simptomi na iglicama u jesen (gore desno); simptomi na iglicama u proljeće (dolje desno)
(Foto: A. Kolar i J. Kranjec 2015, 2016)

S lokacije su sakupljeni uzorci u jesen i u proljeće s običnog bora koji se nalazi u podstojnoj etaži, ispod bagrema. Borovi su okrenuti prema istočnoj strani i u sjeni su što pogoduje razvoju bolesti, pa tako i pojavi simptoma (slika 7).

2.4.2 Opis odjela 5 (odsjek 5e)

- Odjel 5 (odsjek 5e) - Stara kultura crnog bora uz grupe običnog, te dosta bagrema u progaljenom dijelu sastojine. Pojedinačno ima autohtone bjelogorice (lužnjaka, graba, lipe, gloga, vrbe i sl.). U odsjeku je započeta obnova sastojine na pruge, širine jedne visine stabla. Na većem dijelu površine izvršena je priprema staniša, te sadnja sadnicama crnog bora, ali i autohtone bjelogorice (lužnjak i lipa), koja pokazuje dobre rezultate vitalnosti. Kod mladih biljaka crnog bora često u ljetnim mjesecima dolazi do sušenja pa je potrebno popuniti takva mjesta novim biljkama.

  Lokacija se nalazi u šumskom predjelu Peski i spada u 2. bonitetni razred. Površina odsjeka iznosi 23,81 ha, a nalazi se na južnoj ekspoziciji. Tip tla je ranker, nagib je 0% i nalazi se na nadmorskoj visini od 123 metra. Obrast je 0,27, sklop je rijedak, a starost sastojine je 90 godina.

  Propisana ophodnja je 80 godina. Uređajni razred u koji spada odsjek je zaštitna šuma, koju čini kultura crnog bora. Ostali podaci o strukturi sastojine su prikazani u tablici 8.

Vrsta	Tarifa	Broj stabala N/ha	Temeljnica m2/ha	Sr.ploš.stab. d-cm	Sred.sast.vis. h-m	Drvna zaliha			God.tečaj.prirast		
						m3/ha	m3 u ods	smjesa %	m3/ha	m3 u ods	%
LUŽNJAK	2	3	0,13	24	17	1,18	28	1	0,00	0	0,00
O.GRAB	4	3	0,06	16	14	0,34	8	0	0,00	0	0,00
BAGREM	5	32	0,87	19	16	6,76	161	7	0,25	6	3,73
B.BOR	17	13	1,25	35	26	14,28	340	14	0,25	6	1,76
C.BOR	20	55	6,46	39	25	79,00	1881	78	1,34	32	1,70
Ukupno		106	8,77	31,40		101,55	2418	100	1,85	44	1,82

Tablica 8: Šumskouzgojni podaci za odsjek 5e

Prema smjernicama gospodarenja, u I/1 polurazdoblju započetu obnovu sastojine je potrebno završiti sječom preostalih stabala. Pripremne radove (čišćenje tla od korova i uređenje donje etaže) treba obaviti na 17,81 ha površine, te sadnju biljaka na 10,00 ha i popunjavanje sadnicama na 4,00 ha. Potrebno je vršiti njegu pomlatka na 17,81 ha, a njegu mladika na 6,00 ha površine.

Vrste šumskouzgojnih radova i zaštite šuma koji se provode (u razdoblju od 2007. do 2014.): jednostavna reprodukcija – uređenje donje etaže, čišćenje tla od korova, sadnja na čistim površinama, popunjavanje sadnjom sadnica, njega pomlatka, njega mladika, doznaka-glavni prihod, doznaka-slučajni prihod. Najviše se vrši sadnja na čistim površinama, popunjavanje, te sjetva sjemena crnog bora.

S lokacije odsjeka 5e sakupljeni su uzorci s mladih stabala crnog i običnog bora (slika 8). Većinom su sakupljeni uzorci crnog bora zbog usporedbe intenziteta zaraze na crnom i običnom boru. Lokacija je na južnoj ekspoziciji i jako je osunčana, ali na mladim stablima su jako vidljivi simptomi napada bolesti. Sloj prizemnog rašća je dosta visok što vjerojatno pogoduje zadržavanju veće količine vlage pri tlu, a s tim i razvoju bolesti.



Slika 8. Izgled mladih stabala u proljeće (lijevo); iglice crnog bora u proljeće (gore desno); simptomi na iglicama običnog bora u proljeće (dolje desno) (Foto: A. Kolar 2016)

2.5 Metoda sakupljanja, čuvanja i obrade uzoraka

Istraživanje je provedeno u razdoblju od jeseni 2015. do proljeća 2016. Obavljena su dva terenska sakupljanja uzoraka s već navedenih lokacija. Uzorci koji su se sakupljali u papirnate vrećice činili su simptomatične izbojke i iglice, te su čuvani u laboratoriju na sobnoj temperaturi.

U laboratoriju su provedene daljnje makroskopske i mikroskopske analize. Makroskopskom analizom (golim okom i lupom) utvrđena je prisutnost patogena, vidljive crvene pjege i prstenovi na iglicama.

2.5.1 Identifikacija i brojanje plodišta *Dothistroma* spp.

Nasumičnim odabirom, iglice su se stavljale na destiliranom vodom poprskan okrugli filter papir u staklene Petrijeve posude kako bi se potaknulo bubrenje plodišta radi lakše analize. Iglice su stajale u tim vlažnim uvjetima jedan do maksimalno dva dana kako se nebi razvila plijesan (slika 9). Namočene iglice su se zatim promatrale pod mikroskopom i bilježio se broj plodnih tijela u različitim stupnjevima razvoja. Kako bi se sa sigurnošću mogla utvrditi prisutnost gljive *Dothistroma* spp., napravljena je i mikroskopska analiza plodišta zaraženih iglica.

Plodna tijela su se, s obzirom na stupanj razvoja, dijelila na:

- nerazvijena (ne vide se spore niti konidiogene stanice)
- polurazvijena (vidljive spore u razvoju i konidiogene stanice)
- razvijena (u plodnom tijelu vidljive zrele spore)
- prazna plodna tijela (bez spora)

Za jesenski period obrađeno je 100 iglica običnog bora (*P. sylvestris*), a za proljetni 200 iglica – 113 iglica običnog bora (*P. sylvestris*) i 87 iglica crnog bora (*P. nigra*). Za sve uzorke izrađena je Excel tablica s upisanim lokacijama, vremenom sakupljanja (jesen i proljeće), rednim brojem iglice, brojem plodišta *Dothistroma* spp., te prisutnost ostalih patogena - *Sphaeropsis sapinea*, *Cyclaneusma niveum*, *Truncatella hartigii* i *Lophodermium pinastri*. Iz reprezentativnih uzoraka napravljena je izolacija.



Slika 9. Izbojak crnog bora (lijevo) i namočene iglice (desno) (Foto: Jelena Kranjec)

2.5.2. Priprema medija za rast i izolacija iz plodišta

Kod izolacije i rasta *Dothistroma* spp. mogu se koristiti različiti mediji, a najpoznatiji su: MA (Malt Agar), MEA (Malt Extract Agar), DM (Dothistroma Medium), DSM (Dothistroma Sporulating Medium), WA (Water Agar), PNA (Pine Needle Agar), PMMG (Pine Needle Minimal Medium with Glucose), PDA (Potato Dextrose Agar). U njih se može ili ne mora staviti antibiotik. Najčešće korišten antibiotik je streptomicin. Najviše korišteni mediji za inicijalnu izolaciju su: MA, MEA, DM i PNA i sadrže streptomicin. Tijekom inicijalne izolacije preporuča se dodavanje antibiotika zbog mogućnosti kontaminacije medija bakterijama. Jednom kad se postigne čista kultura, antibiotik više nije potreban (Mullett i Barnes, 2012).

Protokol pripreme hranjivih podloga:

1. Izvagati masu kupovnog i već priremljenog praha za pripremu hranjive podloge prema uputama na ambalaži (PDA – potato dextrose agar 39g u 1l vode; MEA - malt extract agar 50g praška u 1l vode).

2. U Erlenmayerovu tikvicu ulijati 1 litru destilirane vode i umetnuti magnet (vodu je prije toga moguće zagrijati u kuhalu kako bi se prah što prije otopio).

3. U tikvicu s vodom dodati odvaganu masu praha te staviti na magnetsku mješalicu, namjestiti broj okretaja (vrtnju) na 700 okretaja u minuti te temperaturu na 250 °C.

4. Pričekati dok se prah potpuno ne otopi, odnosno da otopina proključa (zapjeni se).

5. Sterilizirati otopinu u prijenosnom parnom sterilizatoru prema uputama na ambalaži (uobičajeno 15 minuta na 121 °C).

6. Kad se hranjiva podloga ohladi na približno 50 – 55 °C, dodati 20 ml 1%-tne otopine (1 g antibiotika na 100 ml vode) streptomicina u 1 litru hranjive podloge.
Prije svega potrebno je sterilizirati podlogu i pribor s kojim se radi 70%-tnim alkoholom etanolom. Ako se radi u besprašnoj komori (laminarni mikrobiološki kabinet), pribor se može ostaviti da alkohol ispari s njega, a može se i zagrijati plamenom. Izvan laminarnog mikrobiološkog kabineta pribor se umoči u 70%-tni alkohol etanol i zagrije plamenom kako bi što prije ishlapio. Vrućim priborom ne smije se vršiti izolacija jer se mogu uništiti konidije. Pribor i podlogu treba sterilizirati između svakog uzorka.

Prije izolacije, moraju se očistiti i iglice. Intenzivna i gruba sterilizacija iglica može prouzročiti prodiranje sterilizanata u iglicu i uništavanje spora, pa se preporuča da se iglice nježno steriliziraju papirnatim ručnikom koji je prethodno navlažen alkoholom (70% etanol).

Tehnike izoliranja:

1. Kotrljanje plodnih tijela

Na Petrijevoj zdjelici, s prethodno pripremljenom hranjivom podlogom, se markerom označe dvije ili tri pruge i napišu informacije o izolatu. Koristeći binokular (stereo mikroskop) izvadi se plodište iz iglice uz pomoć skalpela pokušajući zahvatiti čim manje epiderme. Plodišta se stave sterilnom laboratorijskom iglom na početak crte i kotrljaju se do kraja crte. U Petrijevu zdjelicu se stavi onoliko plodišta koliko ima crta. Između svakog kotrljanja, odnosno plodišta, treba se paziti na sterilnost pribora. Acervuli smješteni na agar, apsorbirati će vlagu i otpuštati spore. Cilj ove tehnike je da se na kraju crte dobiju što čišće spore. Kada je vidljiv razvoj micelija, pomoću skalpela ili igle, izrežu se 2-3 mm^2 velike sekcije agara na rubu crte i postave se naopako u novu, čistu staklenu Petrijevu zdjelicu (promjera 90 mm). Mala kocka agara može se povući preko površine agara u Petrijevoj zdjelici da se spore raširе.

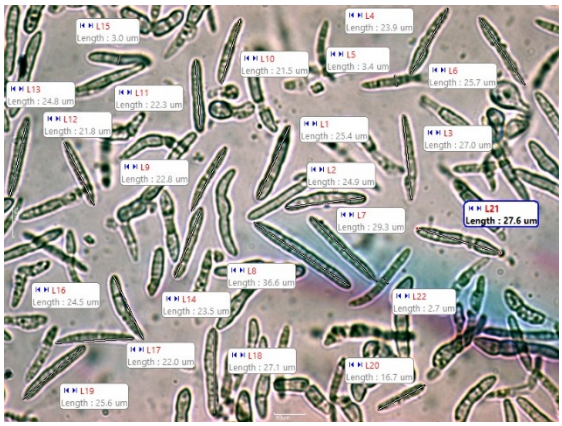
2. Premazivanje hranjive podloge otopinom spora

Prebriše se površina iglice etanolom i stavi se pod stereo mikroskop. Izvadi se zrelo plodište uz pomoć sterilizirane pincete, skalpela ili igle i stavi se na predmetno stakalce na kojem je kap sterilne destilirane vode. Poklopi se pokrovnim stakalcem i lagano se pritisne kako bi se oslobodile spore. Provjeri se na mikroskopu prisutnost spora. Ako su spore prisutne, makne se pokrovno stakalce, doda se još malo destilirane vode i pomoću eze se pokupe spore, te se njima prođe preko agara u velikoj Petrijevoj zdjelici (promjera 90 mm) ostavljajući tragove. Postupak se ponavlja dok ne nestane vode. Hranjiva podloga na koju se stavlja suspenzija spora mora sadržavati streptomicin (antibiotik).

Postoje još dvije tehnike izoliranja: izolacija tkiva (nije preporučljiva zbog velike kontaminacije) i inkubacija i rast (Petrijeve zdjelice se zagriju na 20°C i na njih se stave kolonije koje kliju) (Mullett i Barnes, 2012).

2.5.3 Mjerenje dimenzija spora

Zadnji segment laboratorijskog istraživanja bila je izmjera dužina i širina spora. Iglice su stavljene na močenje kao i kod identifikacije i brojanja plodišta. Iz reprezentativnih iglica, izvađena su zrela plodna tijela, stavljena na predmetno stakalce s destiliranom vodom i pokrovnim stakalcem, te promatrana pod mikroskopom na povećanju od 400x. Fotografskom digitalnom kamerom za mikroskop (Moticam Pro 252A) su zabilježene fotografije spora i u programskom paketu Motic Images Plus 2.0 ML su izmjerene širine i dužine 100 spora.



Slika 10. Izmjera spora
(Foto: A. Kolar 2016)

3. REZULTATI

Podaci o broju i stupnju razvoja plodnih tijela na iglicama običnog i crnog bora, koji su bilježeni u excel tablice, statistički su obrađeni u programskom paketu StaSoft. Inc. (2011) STATISTICA version 10. Za usporedbu grupa uzoraka koristio se neparametrijski Mann Whitney U test, Box i Whisker grafikoni, te histogrami. Statistički su se obradile i dimenzije spora.

3.1 Deskriptivna statistika i usporedba proljetnih i jesenskih uzoraka običnog bora (*Pinus sylvestris*)

U tablicama 9, 10 i 11, nalaze se mjere deskriptivne statistike za skupove podataka broja plodišta po iglici svih uzoraka običnog bora, te zasebno za jesenske i proljetne uzorke.

Tablica 9. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za jesenske i proljetne uzorke običnog bora

Varijabla	Broj (N)	Prosjek	Med.	Min.	Max.	Varijanca	Std. dev.	Koef. var.
Broj plodišta *Dothistroma* spp.	212	4,54	2	0	54	61,46	7,84	172,59

Tablica 10. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za jesenske uzorke običnog bora

Varijabla	Broj (N)	Prosjek	Med.	Min.	Max.	Varijanca	Std. dev.	Koef. var.
Broj plodišta *Dothistroma* spp.	99	5,46	1	0	54	102,31	10,11	185,10

Tablica 11. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za proljetne uzorke običnog bora

Varijabla	Broj (N)	Prosjek	Med.	Min.	Max.	Varijanca	Std. dev.	Koef. var.
Broj plodišta *Dothistroma* spp.	113	3,73	2	0	30	24,86	4,99	133,50

Na običnom boru su u jesen uočeni tipični simptomi i većinom nerazvijena i polurazvijena plodna tijela (slika 11, lijevo). U proljeće su se na iglicama nalazili različiti simptomi – većinom polurazvijena plodišta i nekroze okruglog oblika (slika 11, desno).

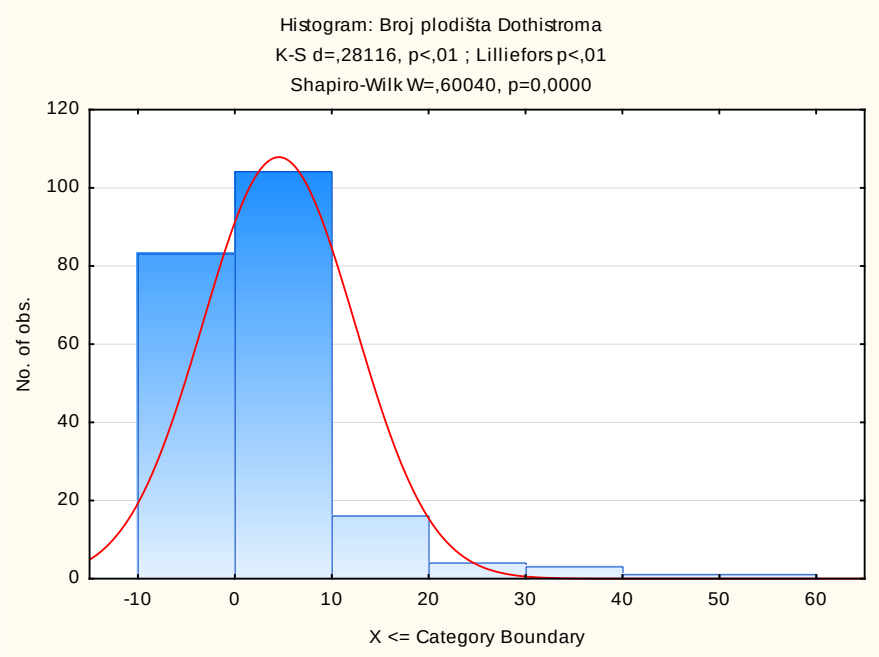


Slika 11. Izgled plodišta na običnom boru u jesen (lijevo) i u proljeće (desno) (Foto: A. Kolar 2015, 2016)

Usporedba proljetnih i jesenskih uzoraka običnog bora

Kako bi se odredio tip statističkog testa koji će se koristiti, izvršena je provjera normalnosti distribucije broja plodišta po iglicama.

Graf 5. Histogram distribucije broja plodišta *Dothistroma* spp. po iglicama i krivulja normalne distribucije za jesenske i proljetne uzorke iglica običnog bora



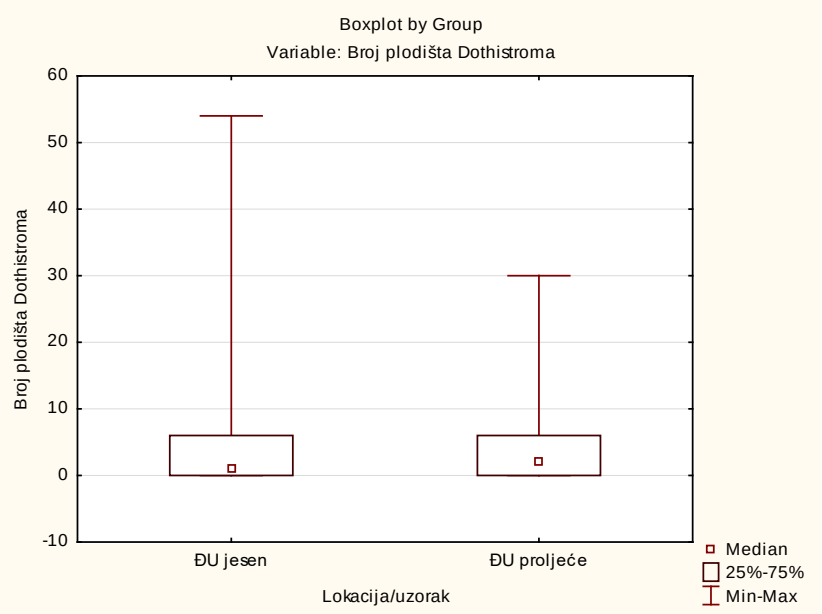
Opažena distribucija broja plodišta po iglici se statistički značajno razlikuje od normalne distribucije (graf 5) zbog čega se za usporedbu grupa uzoraka koristio neparametrijski Mann Whitney U test za usporedbu jesenskih i proljetnih uzoraka iglica običnog bora.

Tablica 12. Usporedba jesenskih i proljetnih uzoraka iglica običnog bora Mann-Whitney U testom

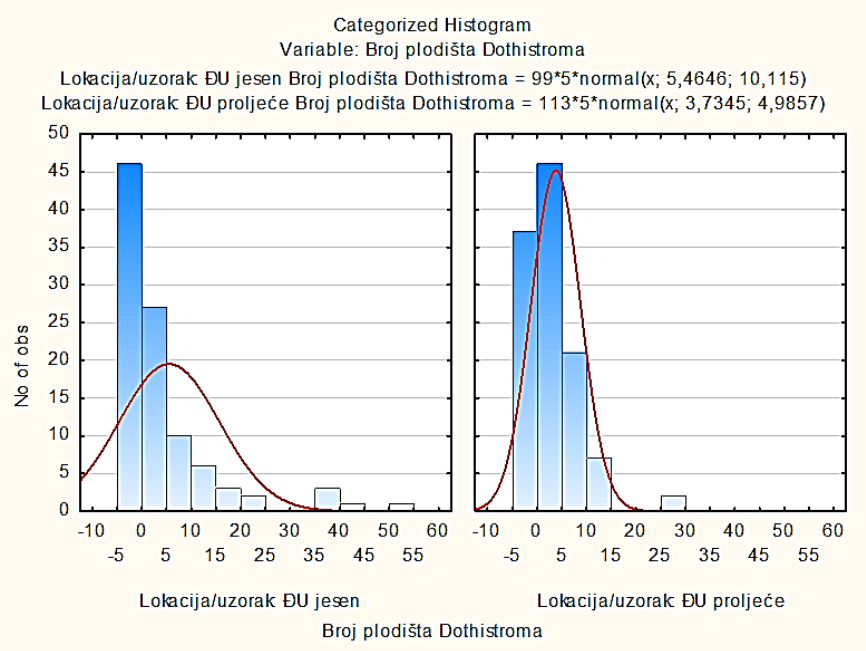
	Mann-Whitney U Test (Spreadsheet216 in Workbook2) By variable Lokacija/uzorak Marked tests are significant at p <,05000								
variable	Rank Sum ĐU jesen	Rank Sum ĐU proljeće	U	Z	p-value	Z adjusted	p-value	Valid N ĐU jesen	Valid N ĐU proljeće
Broj plodišta Dothistroma	10185,00	12393,00	5235,000	-0,803391	0,421749	-0,829598	0,406767	99	113

P vrijednost je veća od 0,05 (p = 0,406767), stoga je zaključak kako ne postoji statistički značajna razlika u broju plodišta po iglici običnoga bora između proljetnih i jesenskih uzoraka, a to se vidi i iz Box and Whisker grafikona te histograma (graf 6, graf 7).

Graf 6. Usporedba broja plodišta po iglici između proljetnih i jesenskih uzoraka iglica običnog bora



Graf 7. Histogrami broja plodišta po iglici običnog bora za proljetne i jesenske uzorke



Usporedbom proljetnih i jesenskih uzoraka iglica običnog bora po broju plodišta u različitim stadijima zrelosti, uočava se kako postoji statistički značajna razlika u broju nerazvijenih, razvijenih te praznih plodišta (tablica 13).

Tablica 13. Rezultati Mann-Whitney U testa za usporedbu proljetnih i jesenskih uzoraka prema broju plodišta različitih stadija zrelosti

variable	Mann-Whitney U Test (Spreadsheet216 in Workbook2) By variable Lokacija/uzorak Marked tests are significant at p <,05000 Rank Sum ĐU jesen	Rank Sum ĐU proljeće	U	Z	p-value	Z adjusted	p-value	Valid N ĐU jesen	Valid N ĐU proljeće
nerazvijena	11943,00	10635,00	4194,000	3,13951	0,001692	3,99902	0,000064	99	113
polurazvijena	9801,00	12777,00	4851,000	-1,66513	0,095888	-1,84744	0,064684	99	113
razvijena	9214,50	13363,50	4264,500	-2,98130	0,002870	-4,37299	0,000012	99	113
prazna	9913,00	12665,00	4963,000	-1,41379	0,157425	-3,18190	0,001463	99	113

3.2 Deskriptivna statistika i usporedba proljetnih uzoraka crnog *(Pinus nigra)* i običnog bora (*Pinus sylvestris*)

U tablicama 14, 15 i 16, nalaze se mjere deskriptivne statistike za skup podataka broja plodišta po iglici za proljetne uzorke crnog i običnog bora zajedno, te za proljetne uzorke svakog bora zasebno.

Tablica 14. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za proljetne uzorke crnog i običnog bora

Varijabla	Broj (N)	Prosjek	Med.	Min.	Max.	Varijanca	Std. dev.	Koef. var.
Broj plodišta *Dothistroma* spp.	200	6,64	5	0	38	45,67	6,76	101,70

Tablica 15. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za proljetne uzorke običnog bora

Varijabla	Broj (N)	Prosjek	Med.	Min.	Max.	Varijanca	Std. dev.	Koef. var.
Broj plodišta *Dothistroma* spp.	113	3,73	2	0	30	24,86	4,99	133,50

Tablica 16. Deskriptivna statistika (broj, prosjek, medijan, minimum, maksimum, varijanca, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti) za broj plodišta po iglici za proljetne uzorke crnog bora

Varijabla	Broj (N)	Prosjek	Med.	Min.	Max.	Varijanca	Std. dev.	Koef. var.
Broj plodišta *Dothistroma* spp.	87	10,42	9	0	38	47,71	6,91	66,26

Kod pregledavanja iglica, uočena je razlika u veličini i broju plodišta između crnog i običnog bora. Na običnom boru je zamijećeno puno malih plodišta koja su uglavnom bila polurazvijena. Kod crnog bora su također zamijećena većinom polurazvijena plodišta, ali je njihov broj veći i većih su dimenzija (slika 12).

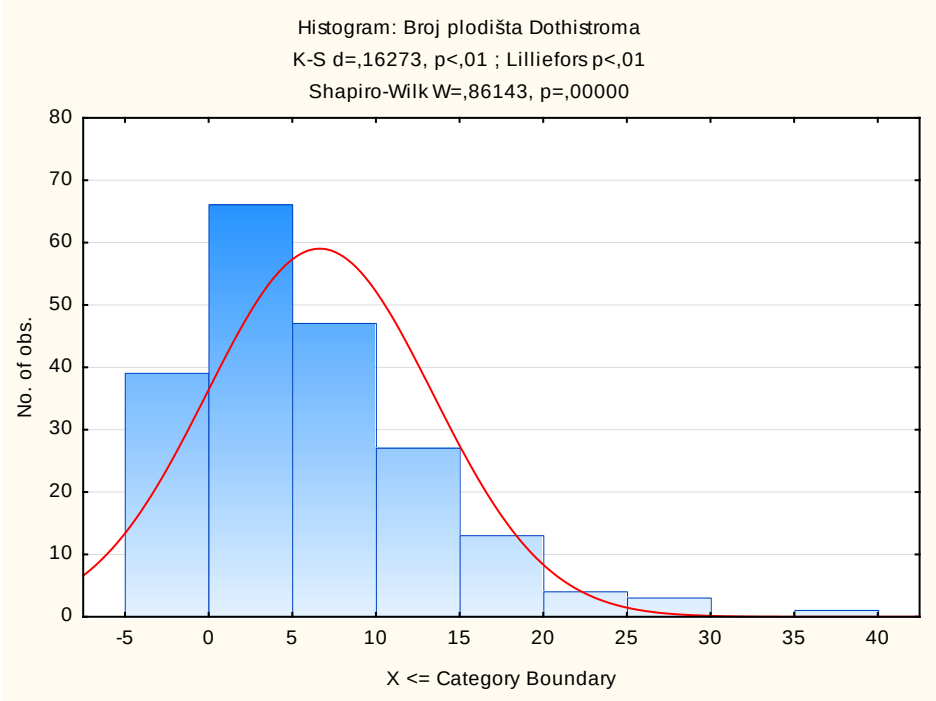


Slika 12. Izgled plodišta na crnom (lijevo) i običnom (desno) boru u proljeće (Foto: A. Kolar 2016)

Usporedba proljetnih uzoraka iglica crnog i običnog bora

Kako bi se odredio tip statističkog testa koji će se koristiti, izvršena je provjera normalnosti distribucije broja plodišta po iglicama za proljetne uzorke iglica crnog (*Pinus nigra*) i običnog bora (*Pinus sylvestris*).

Graf 8. Histogram distribucije broja plodišta *Dothistroma* spp. po iglicama i krivulja normalne distribucije za proljetne uzorke iglica običnog i crnog bora



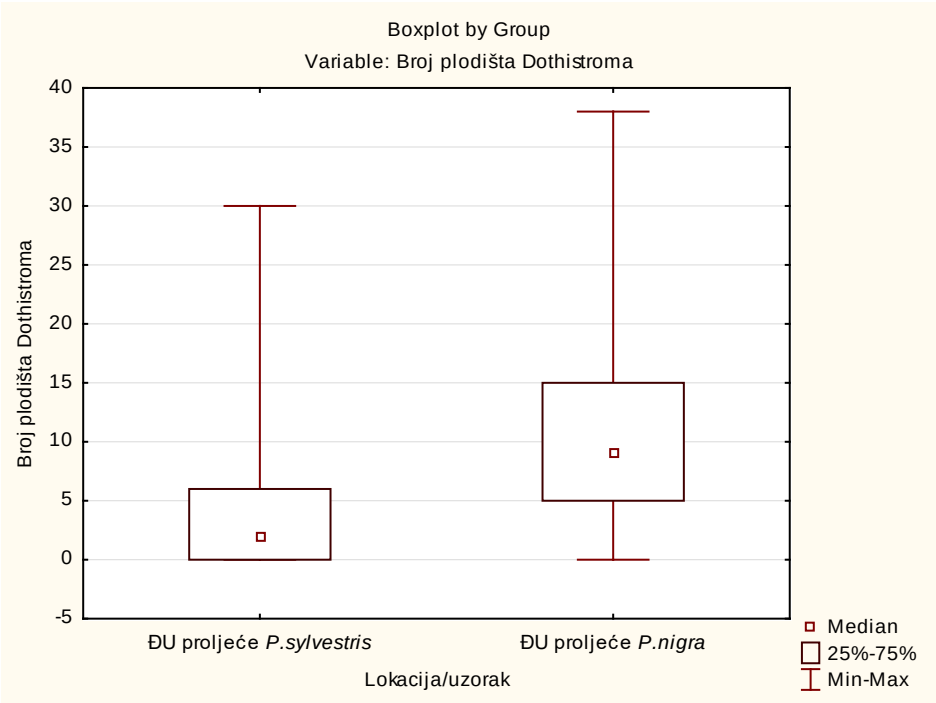
Opažena distribucija broja plodišta po iglici se statistički značajno razlikuje od normalne distribucije (graf 8) zbog čega će se za usporedbu grupa uzoraka koristiti neparametrijski Mann Whitney U test za usporedbu proljetnih uzoraka iglica crnog i običnog bora.

Tablica 17. Usporedba proljetnih uzoraka iglica crnog i običnog bora Mann-Whitney U testom

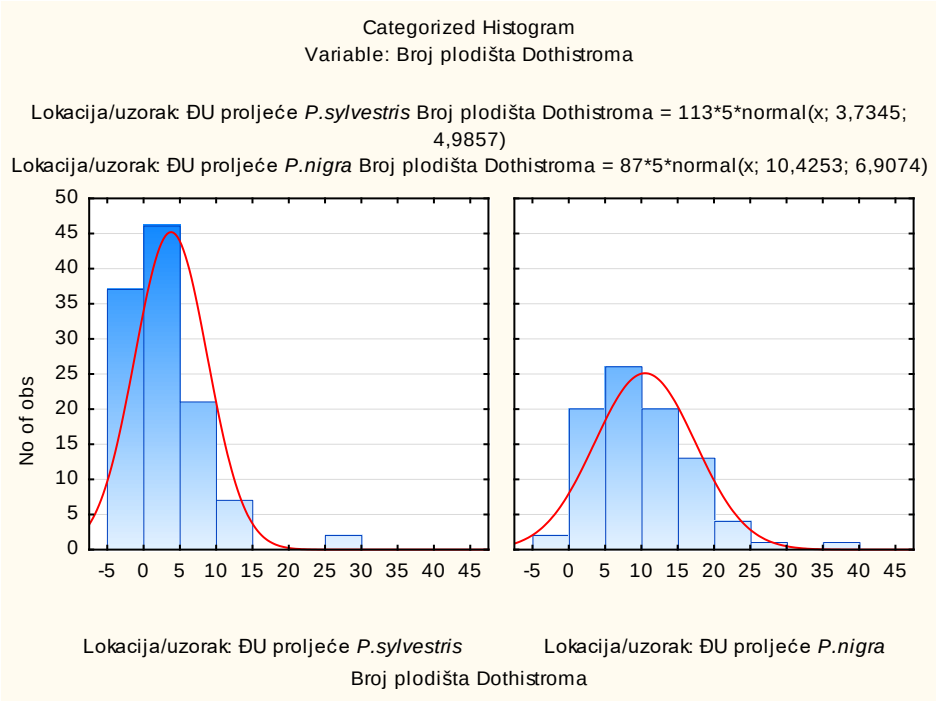
	Mann-Whitney U Test (Spreadsheet233) By variable Lokacija/uzorak Marked tests are significant at p <,05000								
variable	Rank Sum ĐU proljeće *P.sylvestris*	Rank Sum ĐU proljeće *P.nigra*	U	Z	p-value	Z adjusted	p-value	Valid N ĐU proljeće *P.sylvestris*	Valid N ĐU proljeće *P.nigra*
Broj plodišta Dothistroma	8240,000	11860,00	1799,000	-7,67876	0,000000	-7,71831	0,000000	113	87

Test je pokazao da je p vrijednost manja od 0,05 što znači da postoji statistički značajna razlika u broju plodišta *Dothistroma* spp. po iglici između crnog i običnog bora, što se vidi i iz priloženih grafikona (graf 9, graf 10).

Graf 9. Usporedba broja plodišta po iglici između crnog i običnog bora



Graf 10. Histogrami broja plodišta po iglici crnog i običnog bora



Tablica 18. Rezultati Mann-Whitney U testa za usporedbu uzoraka crnog i običnog bora prema broju plodišta različitih stadija zrelosti

variable	Mann-Whitney U Test (Spreadsheet233) By variable Lokacija/uzorak Marked tests are significant at p <,05000 Rank Sum ĐU proljeće *P.sylvestris*	Rank Sum ĐU proljeće *P.nigra*	U	Z	p-value	Z adjusted	p-value	Valid N ĐU proljeće *P.sylvestris*	Valid N ĐU proljeće *P.nigra*	2*1sided exact p
nerazvijena	609,000	1806,000	419,000	-0,74554	0,455944	-0,75629	0,449474	19	50	0,459193
polurazvijena	3078,500	5567,500	1538,500	-2,56961	0,010182	-2,58532	0,009729	55	76	0,009785
razvijena	1204,000	3167,000	609,000	-3,13911	0,001695	-3,23903	0,001199	34	59	0,001471
prazna			0,000	0,00000	1,000000	0,00000	1,000000	14	1	0,000000

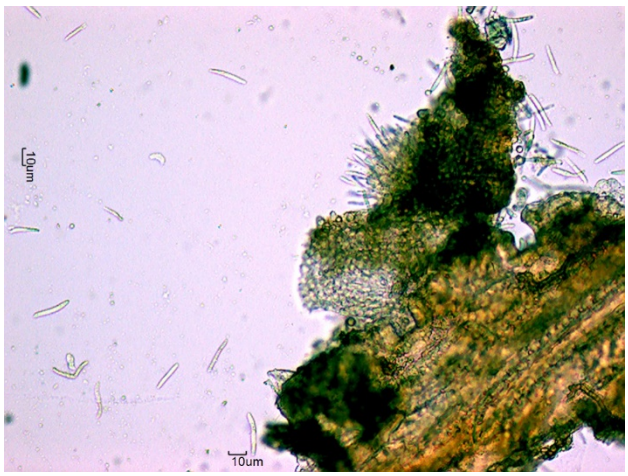
Usporedbom proljetnih uzoraka iglica običnog i crnog bora po broju plodišta u različitim stadijima zrelosti, uočava se kako postoji statistički značajna razlika u broju polurazvijenih, razvijenih te praznih plodišta (tablica 18).

3.3 Analiza dimenzija spora

Za potrebe istraživanja su izmjerene širine i duljine 100 spora (konidija), a mjere centralne tendencije te minimalne i maksimalne dimenzije su prikazane u tablici 19. Konidije su hijaline, duguljaste te se sužavaju prema krajevima (slika 13).

Tablica 19. Deskriptivna statistika dimenzija spora

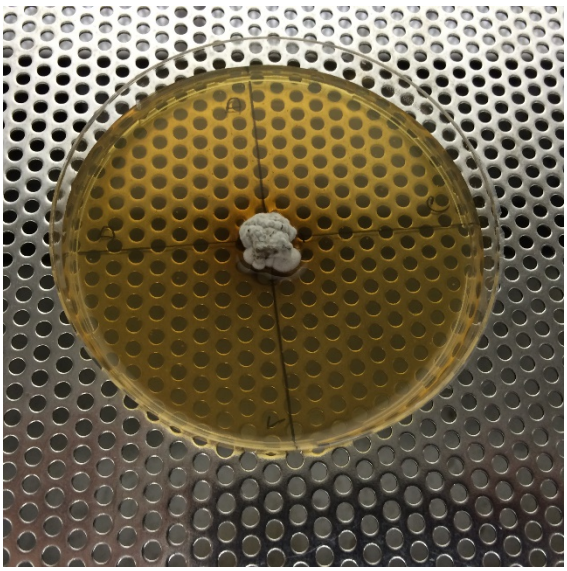
Varijabla	Prosjek	Medijan	Mod	Minimum	Maksimum
Duljina spora	23,584	23,45	22,0	14,3	36,6
Širina spora	2,618	2,6	2,2	1,4	4,2



Slika 13. Izgled konidija *Dothistroma* spp.
(Foto: A. Kolar 2016)

3.4 Rast izolata *Dothistroma* spp.

Mjerio se rast jesenskih i proljetnih izolata na hranjivim podlogama MEA (malt extract agar) koje su držane u zatvorenim plastičnim posudama na sobnoj temperaturi te prirodnom režimu svjetlosti. Na poleđini Petrijevih zdjelica su iscrtane dvije međusobno okomite linije, kako bi se mjerenje rasta moglo vršiti u 4 smjera (gore, dolje, lijevo, desno) za svaki izolat (slika 14). Ravnalom se mjerio ukupni raspon micelija u smjerovima svaka 2 tjedna s točnošću na 0,5 mm. Prosječan rast je računat kao aritmetička sredina razlika u zabilježenim rasponima te prikazan u tablicama 20 i 21.



Slika 14. Izgled jesenskog izolata nakon dva tjedna rasta (Foto: J. Kranjec 2016)

Tablica 20. Rast jesenskih izolata

IZOLATI	PROSJEČAN RAST
1	4,96 mm
2	4,92 mm
3	4,46 mm
4	4,75 mm
5	5,33 mm

Tablica 21. Rast proljetnih izolata

IZOLATI	PROSJEČAN RAST
1	2,06 mm
2	2,50 mm
3	1,42 mm
4	1,33 mm
5	kontaminiran

3.5 Brojnost ostalih patogena

Prilikom brojanja plodišta *Dothistroma* spp., bilježila se i pojava ostalih patogena - *Cyclaneusma niveum*, *Lophodermium pinastri*, *Sphaeropsis sapinea* i *Truncatella hartigii*. Na uzorcima su pronađene *Cyclaneusma niveum* i *Lophodermium pinastri* (tablica 22). Ujesen je uočeno najviše plodišta *Lophodermium pinastri*, a također je zabilježena i *Cyclaneusma niveum* (slika 15).

Tablica 22. Prikaz brojnosti *Cyclaneusma niveum* i *Lophodermium pinastri* na jesenskim i proljetnim uzorcima običnog i crnog bora

	Cyclaneusma niveum	*Lophodermium pinastri*
JESEN		
Pinus sylvestris	2	12
PROLJEĆE		
Pinus sylvestris	2	
Pinus nigra		1



Slika 15. Piknide *L. pinastri* (lijevo) i plodna tijela *C. niveum* (desno) ujesen (Foto: A. Kolar 2015)

4. RASPRAVA

Podrijetlo *Dothistroma* spp. je još uvijek nepoznato. Evans (1984) je pretpostavio da je autohtona u tropskim vlažnim šumama Srednje Amerike jer je našao i anamorfni i telemorfni stadij, te spore velikog raspona što se tiče veličine. S druge strane, Ivory (1990, 1994) tvdi da je podrijetlo patogena Himalaja jer se tamo nalaze zaražene šume himalajskog bora koje su kilometrima udaljene od drugog mjesta zaraze. No, nije pronašao telemorfni stadij, pa je stoga smanjena mogućnost da je patogen autohton na tom području. Bez obzira na podrijetlo, *Dothistroma* spp. je danas rasprostranjena po cijelom svijetu, osim Antarktika. Njezin raspon rasprostranjenosti je od razine mora do velikih nadmorskih visina, te od tropskih i subtropskih do područja umjerene klime. U Hrvatskoj je prisutna od 1986. godine.

Osim toga, u izolatima različitih zemalja Europe, nađene su razlike u klijanju spora, rastu micelija i produkciji dotistromina (Karadžić 1987; Bradshaw i dr.2000). Genetska varijabilnost je visoka (Archibald 2009; Barnes i dr. 2011), ali je nepoznata razlika u virulentnosti između izolata.

Glavni period zaraze *Dothistroma* spp. je između svibnja i kolovoza na sjevernoj hemisferi i između studenog i veljače na južnoj hemisferi (Gilmour, 1981). U Češkoj je kritično vrijeme zaraze *P. nigra* i *P. mugo* od svibnja do kraja lipnja, a simptomi zaraze od tekuće godine vidljivi su u kolovozu (Jankovský i dr. 2004). U Srbiji period zaraze traje od sredine travnja do kraja kolovoza s kritičnim razdobljem od sredine svibnja do kraja srpnja, a većina zaraze je u svibnju i lipnju (Karadžić i Milijašević, 2008). Brown i Webber (2008) su ustanovili da je u Britaniji kritični period zaraze u proljeće i ljeto kad su plodna tijela formirana na iglicama koje će ranije otpasti. Nasuprot tome, u Estoniji se obilan broj plodnih tijela može naći od kasnog listopada do sredine prosinca (Drenkhan i Hanso, 2009).

D. septosporum ima dugi inkubacijski period (vrijeme između zaraze i razvoja simptoma), što ovisi o okolišnim uvjetima i vrstama domaćinima, a može trajati između 4 i 38 tjedana (Peterson, 1973; Ivory, 1977; Gilmour, 1981; Jankovský i dr., 2004; Karadžić i Milijašević, 2008).

4.1 Uloga klimatskih čimbenika na razvoj bolesti

Dothistroma spp. je kozmopolitski patogen sa širokim rasponom rasprostranjenosti – subarktičkog, kontinentalnog, umjerenog, mediteranskog, subtropskog i tropskog podneblja (Watt i dr., 2009).

Pronađena je u područjima austrijskih i bavarskih Alpa koje su pokrivene snijegom značajan dio godine (Maschning i Pehl, 1994), kao i u Sloveniji na visini između 850 i 1200 metara nadmorske visine, u području pokrivenim snijegom od listopada do ožujka (Kirisits i Cech, 2007). S druge strane, Karadžić i Milijašević (2008) su objavili da se bolest u Srbiji ne pojavljuje iznad 900 metara.

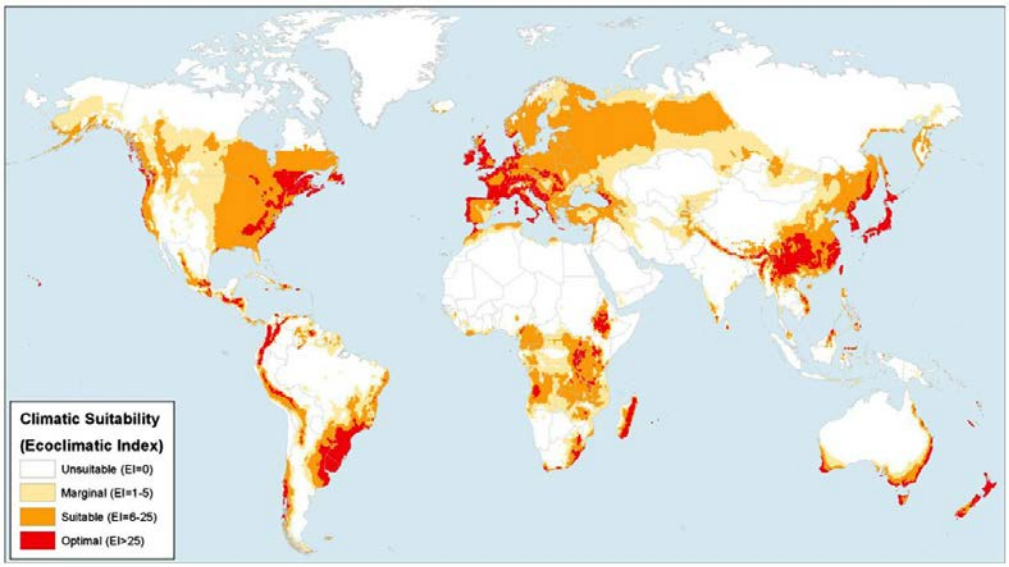
U vanjskim uvjetima, učestalost i intenzitet pojave bolesti ovisi o kombinaciji više faktora, a to su temperatura, prisutnost i zadržavanje vlage na iglicama, razina inokuluma i intenzitet svjetla (Bulman, 1993).

Dothistroma spp. je prilagođena toplom, vlažnom okolišu bez temperaturnih ekstrema. Najpogodniji uvjeti za zarazu su na temperaturi između 16 i 20 °C i vlažnosti iglica preko 10 sati (Gadgil, 1974; Gilmour, 1981). Istraživanja u kontroliranim uvjetima su pokazala da se zaraza može javiti i pri temperaturi od 4.4 °C, no najniža temperatura zaraze u prirodnim uvjetima je oko 7 °C, s tim da razvoj teče vrlo sporo (Gadgil, 1968; Gilmour, 1981; Bulman i dr, 2008). Parker (1972) je otkrio da je kod *P. radiata* zaraza veća na nižim temperaturama i visokom zračnom vlagom.

Kako je za zarazu važno klijanje konidija, zaključeno je da okolišni uvjeti koji pogoduju klijanju konidija, također pogoduju i infekciji. Zabilježeno je da konidije kliju na temperaturi između 5 i 26 °C, s optimumom 18–20 °C (Gibson i dr., 1964; Ivory 1967, 1972; Gibson, 1971; Bulman, 2008). Istraživanja Karadžića (1994) i Sheridan i Yen (1970) pokazuju da se klijanje odvija na temperaturi između 5 i 30 °C s optimumom 17–18 °C.

Studije su također pokazale da konidije mogu opstati do tri dana bez vlage i između 6 i 15 sati bez vode nakon 15 sati natopljenosti vodom, te da mogu izdržati izloženost suncu u trajanju do 4 sata (Gibson i dr., 1964; Peterson i Walla, 1978).

Na temelju istraživanja, može se zaključiti da je neophodna određena količina vlage u zraku ili kiša kako bi se ostvarila zaraza. Na karti je prikazana pogodnost klimatskih uvjeta za razvoj bolesti (slika 16).



Slika 16. Karta globalne ekoklimatske pogodnosti za razvoj *Dothistroma* spp. (Izvor:CLIMEX, klimatsko razdoblje: 1961-1990; prikazao Watt i dr. 2009)

Usporedbom proljetnih i jesenskih uzoraka iglica običnog bora po broju plodišta u različitim stadijima zrelosti, uočava se kako postoji statistički značajna razlika u broju nerazvijenih, razvijenih te praznih plodišta (tablica 13). U jesenskom periodu je značajno veći broj nerazvijenih plodišta, a u proljetnom periodu je značajno veći broj razvijenih i praznih plodišta. Što se tiče broja polurazvijenih plodišta, kod njih ne postoji statistički značajna razlika između jesenskih i proljetnih uzoraka. Uspoređujući klimatske prilike u jesenskom i proljetnom periodu, možemo zaključiti da je u proljeće, za razvoj plodišta, pogodovala veća temperatura i dovoljna količina oborina, iako manja nego u jesen (tablica 23).

Tablica 23. Usporedba klimatskih prilika u jesen i u proljeće

KLIMA	JESEN (26.10.)	PROLJEĆE (26.5.)
Prosječna temperatura	10°C	15,4°C
Apsolutna minimalna t.	0,6°C	3,5°C
Srednja min. temp.	5,7°C	10,3°C
Apsolutna maksimalna t.	23,8°C	31,5°C
Srednja max. temp.	15,2°C	21,7°C
Količina oborina	168,4 mm	104,8 mm
Dani s mrazom	0	0

4.2 Preferencija patogena i osjetljivost pojedinih vrsta borova (*Pinus nigra* i *Pinus sylvestris*)

Testovi su pokazali da postoji statistički značajna razlika u broju plodišta *Dothistroma* spp. po iglici između crnog i običnog bora, što se vidi i iz grafikona (graf 9, graf 10). Kod crnog bora, sveukupni broj plodišta je puno veći nego kod običnog bora. To govori o preferencijama patogena, odnosno o otpornosti i osjetljivosti pojedinih vrsta borova – u ovom slučaju *Pinus sylvestris* i *Pinus nigra.*

Usporedbom proljetnih uzoraka iglica običnog i crnog bora po broju plodišta u različitim stadijima zrelosti, uočava se kako postoji statistički značajna razlika u broju polurazvijenih, razvijenih te praznih plodišta (tablica 16). Svi stadiji zrelosti, osim praznih plodišta, su značajno brojniji kod crnog bora, nego kod običnog bora. Kod običnog bora su brojnija prazna plodišta, ali to ne daje statistički značajan rezultat.

Istraživanjem i uspoređivanjem voštane prevlake, koja otežava ulazak patogena, na iglicama mladih stabala osjetljivog crnog bora i otpornog bijelog bora, otkrilo se da su sadržavali istu količinu voska (Walla i Peterson, 1976). Za razliku od *P. radiata*, koja razvija povećanu otpornost s godinama (Bulman i dr., 2008), kod *P. nigra* i *P. sylvestris* jednako su pogođena stabla svih starosti (Brown, 2012).

Testovi osjetljivosti (Fraser, Woodward, Brown 2015) u Britaniji su pokazali da su *P. contorta* i *P. sylvestris* najmanje osjetljive vrste.

Istraživanjem u Češkoj, *Dothistroma* spp. je pronađena na 13 vrsta borova, a *P. nigra* i *P. mugo* su se pokazali najučestalijim domaćinima. Među ostalim domaćinima su: *Pinus ponderosa*, *Pinus jeffreyi*, *Pinus banksiana*, *Pinus contorta*, *Pinus rotundata*, *Pinus leucodermis* i *Pinus sylvestris*. Kod napada *P. nigra*, zaraza se brzo širi i ako se ne poduzimaju adekvatne mjere, moguće je odumiranje nasada. *P. sylvestris* je ugrožen samo pod uvjetima jake zaraze susjednih stabala. U usporedbi s ostalim borovima, napad je manje očit, a napadnuta su pojedinačna stabla u nasadima s *P. nigra* (Bednářová i dr., 2005). Po Gadgilu (1984), *P. sylvestris* je jako osjetljiva vrsta, a po Petersonu, Velika Britanija (1982), napadi su vrlo rijetki.

Karadžić navodi da se bolest u Srbiji pojavila 1955. godine (Krstić, 1958), te su provedena istraživanja na crnom i običnom boru kao glavnim vrstama za pošumljavanje golih terena. Intenzivni napadi pojavili su se na pijescima Deliblato i Subotica-Horgoš. Bolest je zabilježena na pedeset vrsta borova, arišu, duglaziji i smreki. U Jugoslaviji je zabilježena velika šteta na nasadima crnog bora, a zabilježena je još na *P. mugo*, *P. halepensis*, *P. sylvestris*, *P. ponderosa*, *P. jeffreyi*, *P. contorta* i *P. radiata*. *P. sylvestris* se pokazao kao otporna vrsta, no 1986., na Deliblato pješčari, je zabilježena zaraza.

Veća razina zaraze na *P. radiata* u Australiji pojavila se na siromašnom tlu (bazaltu s manjkom sumpora) i topografskim faktorima (Eldridge i dr., 1981), te područjima tretiranima dušičnim gnojivima (Lambert, 1986).

Iz navedenih istraživanja, povezujući s edafskim čimbenicima i vrstama koje dolaze u Boriku, može se zaključiti da je moguća veća osjetljivost crnog bora i manja osjetljivost običnog bora. Na zarazu pojedinih vrsta utječu stanišni uvjeti, u ovom slučaju pijesak, te ekspozicija, gustoća stabala i raspored vrsta (crnog i običnog bora).

4.3 Morfološka obilježja *Dothistroma* spp.

4.3.1 Dimenzije konidija

Duljina konidija iznosi od 12 do 48 µm (čak i do 64), a širina od 2 do 3 µm (Funk, 1985; EPPO, 2008), cilindričnog su oblika, sužavaju se prema vrhovima i vrhovi su tupi (Edwards i Walker, 1978; EPPO, 2008). Izmjerene dimenzije spora u ovome istraživanju (tablica 18) su pokazale da se ne razlikuju u dimenzijama spora navedenih autora i EPPO standarda. Prosječna duljina iznosi 23,6 µm, a širina 2,6 µm. Maksimalna duljina je 36,6 µm, a širina 4,2 µm, što je nešto više od poznatih vrijednosti prema drugim autorima. Minimalna duljina je 14,3 µm, a širina 1,4 µm. Konidije zabilježene ovim istraživanjem su bezbojne, ravne ili blago povijene, što se slaže s morfološkim opisima drugih autora, odnosno EPPO standardima.

4.3.2 Rast izolata

Iz zabilježenog jesenskog i proljetnog prosječnog rasta izolata (tablica 19 i 20), može se uočiti veća tendencija rasta jesenskih izolata. To se može objasniti korištenom tehnikom izolacije. Naime, jesenski izolati čiji se rast pratio su dobiveni presađivanjem kockica agara s micelijem iz već postojećih izolata, dok su oni proljetni dobiveni direktnom izolacijom iz acervula (izolacija premazivanjem suspenzije spora po hranjivoj podlozi).

U prirodi rast započinje tako što se konidije pasivno šire kapljicama vode koje padaju na iglice. Spore formiraju hife – po jednu iz svake stanice. Rubne stanice prve produciraju hife i one su snažnije nego hife iz centralnih stanica (Ivory, 1972). Micelij raste na površini iglice u rasponu temperature od 3 do 29°C i pH između 2 i 7 (Ivory, 1967; Karadžić, 1994). Raspon temperature kod rasta u kulturi je također velik, 5-27,5°C (Archibald, 2009). Čak i kod optimalne temperature od 20°C, rast iznosi samo 1 mm po danu iz spora (Karadžić, 1994) i otprilike 3,4 mm na tjedan iz micelija (Barnes i dr., 2004), što je u suprotnosti sa rezultatima dobivenim ovim istraživanjem. Ovaj bi se nesrazmjer mogao objasniti koncentracijom, odnosno brojem spora između različitih tehnika dobivanja micelija čiji se rast pratio. Moguće je da su presađene kockice agara s micelijem koji je u starim kulturama već

sporulirao sadržavale veće količine spora od suspenzije dobivene drobljenjem acervula s iglica koja se premazivala po hranjivim podlogama.
U uzorcima korištenim u ovom istraživanju najveći prosječni rast u dva tjedna iznosio je 5,33 mm (jesenski uzorci), a najmanji 1,33 mm (proljetni uzorci).

4.4 Brojnost ostalih patogena

Prilikom brojanja plodišta *Dothistroma* spp., na uzorcima su pronađene *Cyclaneusma niveum* i *Lophodermium pinastri*. Najviše je bilo plodišta *Lophodermium pinastri* i to na običnom boru u jesenskom periodu.

***Lophodermium pinastri* (Schrad. ex Hook.) Chév.**

Kod nas je *L. pinastri* česta i rasprostranjena gljiva na mladim borovima, a pojedinih godina napadi su vrlo jaki. Ova je gljiva utvrđena na crnom, alepskom, primorskom boru i piniji u cijelom našem sredozemnom području. Na jednoj iglici može biti velik broj apotecija, pa takva brže ugiba i otpada.

L. pinastri je parazit slabosti koji naseljava starije i sekundarne iglice. Prema tome, to je gljiva slabih parazitskih svojstava i ne uzrokuje sušenje biljke. Do sušenja može doći ako su jako napadnuti tek posađeni borovi, kojima se još nije dovoljno razvio korijenov sustav, pa su slabo opskrbljena vodom. Gljiva se nalazi na unutrašnjim iglicama donjih grana starijih borova (Glavaš i Diminić 2011). Uščuplić (1996) smatra da širenje gljive u tkivu počinje tek kada iglica fiziološki oslabi i kad joj se smanje obrambene reakcije.

Prvi znakovi bolesti su klorotične pjege koje se javljaju tijekom ljeta. U jesen i zimi na takvim iglicama nastaju piknide (subepidermalne, sivkaste, eliptične s uzdužnom pukotinom) (slika 15, lijevo). U vrijeme stvaranja piknida iglice su već izumrle.

***Cylaneusma niveum* (Pers.) DiCosmo, Peredo et Minter**

Po Minteru i Millaru (1980), a na temelju Butinovih (1973) istraživanja (sve cit. Diminić 1994), ta gljiva dolazi na više vrsta borova, a najčešći domaćini su alepski bor, crni i primorski bor.

Kod nas je ova gljiva prvi put utvrđena na iglicama alepskoga bora 1977. godine kod Makarske (Glavaš 1981), a poslije i na drugim domaćinima.

O gljivi *C. niveum* postoje različita mišljenja o njezinoj patogenosti. Pojedini autori je smatraju parazitom koji uzrokuje klorozu i osip borovih iglica (Butin 1973; Minter i Millar 1980; Glavaš 1981; Fonseca 1981, cit. Diminić 1994), a drugi saprofitom. Prema istraživanju koje je vršio Diminić (1994) na području Istre, plodna tijela gljive *C. niveum* nađena su na iglicama alepskog i crnog bora u krošnji, no mnogo više na otpalim iglicama s tla. Danas prevladava mišljenje da je *C. niveum* sekundarni patogen koji se javlja na iglicama starije dobi, a nikada na jednogodišnjim.

Kako navodi Glavaš (1999), čvrstih dokaza o patogenosti ove gljive u literaturi nema. Napada iglice sama ili se na iglici nalazi s drugim gljivama - *Lophodermium pinastri* i *Sphaeropsis sapinea.* Osori i Rack su (1980) analizirali spektar domaćina. Pokazalo se da se vrste borova koji su napadnuti u prvom redu gljivom *M. pini* rijetko ili nikako ne spominju kao domaćini C. *niveum.* Autori smatraju da se radi o specifičnim otpomostima domaćina i antagonizmu između samih gljiva. Laboratorijskim je pokusom potvrđeno da je *M. pini* inhibirala rast C. *niveum* i *L. pinastri.* Nalazi analiza zajedničkih infekcija C. *niveum, L. pinastri* i S. *sapinea* ne ukazuju na njihov međusoban antagonizam (Glavaš i Diminić 2011).

Gljiva razvija piknide i apotecije. Sazrijevanje apotecija i oslobađanje askospora događa se od travnja do lipnja. Moguće je da se to događa i u jesen jer su otvoreni apotecije nađeni i u jesenskim mjesecima (slika 15, desno). Askospore prenosi vjetar za vlažna i topla vremena. Kako se piknide u prirodi rijetko primjećuju, nema podataka o vremenu njihova nastanka, inače konidije nemaju značenja za zarazu.

5. ZAKLJUČAK

Šumske kulture u Boriku, lokaciji istraživanja, sve više poprimaju izgled prirodnih sastojina, a najstarije dosežu i stotinjak godina. Koliko je poznato, to je jedinstven primjer podizanja i oblikovanja šumskih sastojina i biocenoza na najvećim pješčanim tlima u Hrvatskoj. Zato ove sastojine, pored gospodarskog značaja, imaju veliku vrijednost i za šumarsku i ekološku znanost.

Poseban problem za znanost, osobito šumarsku znanost i praksu, predstavlja problem obnove šuma na ovim staništima nakon ovih crnogoričnih sastojina prve generacije koje su nastale u cijelosti antropogenom djelatnošću. Pokazuje se mogućnost samoreprodukcije prirodnim putem jer se dio borovih sastojina obnavlja sjemenom, a s druge strane unošenjem i uzgojem listopadnih vrsta kao što su hrast lužnjak, lipa, bagrem, dud, jasen, grab i dr. čije korijenje prodire ispod pijesaka. Premda je gornji sloj rastresit, u zadnje vrijeme se sve više humificira.
Problem kod podizanja kultura crnog bora javlja se i zbog patogenih gljiva s naglaskom na *Dothistroma* spp. koja većinom prevladava na zaraženim stablima, stoga su vrlo važne mjere zaštite.

U zaraženim područjima, patogen se kontrolira šumskouzgojnim postupcima (npr. prorjeđivanjem i orezivanjem zaraženih grana, uklanjanjem zaraženih stabala, skupljanjem otpalih iglica i odumrlih grana), fungicidima na bazi bakra (Peterson, 1981; Rack, 1986; Karadžić, 1987; Marks i Smith, 1987; Kershaw i dr., 1988; Carson i dr., 1991; Koltay, 2001; Bulman i dr., 2008). Navedene mjere smanjuju zarazu, ali ne uklanjaju patogena, osobito u latentno inficiranom biljnom materijalu.

Ostale moguće mjere zaštite su kao i kod vrste *Mycosphaerella dearnesii*. Zaštita se provodi uklanjanjem donjih zaraženih grana i uklanjanjem suvišnih stabala (proreda). Na taj način je postignuto bolje strujanje zraka i uklonjen je povoljan čimbenik za zarazu tj. suvišna vlaga na površini iglica. U literaturi se daje naglasak na kulturalne mjere – posječeni materijal treba ukloniti iz šume da bi se smanjio infekcijski potencijal gljive. U početku masovnih zaraza preporučuje se tretiranje fungicidima. Upućuje se i na uzgoj otpornih vrsta borova (Glavaš i Diminić, 2011).

Za učinkovito provođenje svih navedenih mjera je potrebno poznavati biologiju gljive u ciljanom području, s obzirom na stanišne i klimatske prilike te potencijalne vrste domaćina. Ovim se istraživanjem nastojalo barem djelomično doprinijeti boljem poznavanju patogena kao važnog utjecajnog čimbenika u šumama od velikog općekorisnog značaja.

LITERATURA

1. Archibald, S., 2009: Red band needle blight of Conifers in Britain, Imperial College London.

2. Barnes, I., P.W. Crous, B.D. Wingfield, M.J. Wingfield, 2004: Multigene phylogenies reveal that red band needle blight of *Pinus* is caused by two distinct species of *Dothistroma*, *D*. *septosporum* and *D*. *pini*. Studies in Mycology, 50, str. 551–565.

3. Barnes, I., T. Kirisits, M.J. Wingfield, B.D. Wingfield, 2011: Needle blight of pine caused by two species of *Dothistroma* in Hungary. Forest Pathology, 41, str. 361–369.

4. Bednářová, M., D .Palovčíková and L. Jankovský, 2006: The host spectrum of *Dothistroma* needle blight *Mycosphaerella pini* E. Rostrup—new hosts of *Dothistroma* needle blight observed in the Czech Republic. Journal of Forest Science (Prague), 52(1), str. 30–36

5. Bradshaw, R.E., R.J. Ganley, W.T. Jones, P.S. Dyer, 2000: High levels of dothistromin toxin produced by the forest pathogen *Dothistroma pini*. Mycological Research, 104, str. 325–332.

6. Brown, A.V., J.F. Webber, 2008: Red band needle blight of Cconifers in Britain. Forestry Commission Research Note 002. Forestry Commission, Edinburgh.

7. Brown, A., H. Clayden, 2012: Time for action. *Dothistroma* (red band) needle blight in Scotland. Forestry Journal 2/12.

8. Bulman, L.S., 1993: *Cyclaneusma* needle cast and *Dothistroma* needle blight in NZ pine plantations. New Zealand Forestry, 38, str. 21–24.

9. Bulman, L.S., 2008: *Dothistroma* needle blight. Forest Pathology in New Zealand No 5. New Zealand Farm Forestry Association.

10. Bulman, L., R. Ganley, M. Dick, 2008: Needle diseases of radiata pine in New Zealand Scion, Client report no 13010.

11. Butin, H., J. Richter, 1983: *Dothistroma* needle blight: a new pine disease in the German Federal Republic. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 35, str. 129–131.

12. CABI, 2004: Forestry Compendium. CABI Publishing, Wallingford, UK.

13. Carson, S.D., A.M.P. Dick, G.G. West, 1991: Benefits of the *Dothistroma*-resistant breed of radiata pine. New Directions in Forestry Costs and Benefits of Change. JC Allen and AGD Whyte (eds). Australian and New Zealand Institute of Forestry, Christchurch, New Zealand, str. 251-262.

14. Diminić, D., 1994: Prilog poznavanju mikoza borovih kultura u Istri, Glasnik za šumske pokuse 30: 21-60.
15. Drenkhan, R., M. Hanso, 2009: Recent invasion of foliage fungi of pines (*Pinus* spp.) to the Northern Baltics. Forestry Studies/Metsanduslikud Uurimused, 51, str. 49–64.
16. Edwards, D.W., J. Walker, 1978: *Dothistroma* needle blight in Australia. Australian Forest Research, 8, str. 125–137.
17. Eldridge, R.H., J. Turner , M.J. Lambertb 1981: Dothistroma needle blight in a New South Wales *Pinus radiata* plantation in relation to soil types. Australian Forestry. 44 (1), str. 42–45.
18. EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2008: EPPO Standards PM 7/46 (2) Diagnostics *Mycosphaerella dearnessii* and *Mycosphaerella pini*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 38, str. 349–362.
19. Evans, H.C., 1984: The genus *Mycosphaerella* and its anamophs *Cercoseptoria*, *Dothistroma*, and *Lecanosticta* on pines. Commonwealth Mycological Institute. Mycological Papers, 153, str. 1–102.
20. Flynn, P., 1998: *Dothistroma* Needle Blight. Horticulture and Home Pest News, Iowa State University, 481, 19 str.
21. Fonseca, N., 1980: *Dothistroma septospora* in Portugal. Boletim da Sociedade Broteriana. 54217–224.
22. Franich, R.A., M.J. Carson, S.D. Carson, 1986: Synthesis and accumulation of benzoic acid in *Pinus radiata* needles in response to tissue injury by dothistromin, and correlation with resistance of *P. radiata* families to *Dothistroma pini*. Physiology and Molecular Plant Pathology, 28, str. 267–286.
23. Funk, A., 1985. Foliar fungi of western trees. Agriculture Canada, Ministry of State for Forestry, Pacific Forest Research Centre, Victoria, BC. Information Report BC-X-265. 159 str.
24. Gadgil, P.D., 1968: Artificial inoculation of Douglas fir with *Dothistroma pini*. New Zealand Journal of Forestry, 13, str. 123–124.
25. Gadgil, P.D., 1974: Effect of temperature and leaf wetness period on infection of *Pinus radiata* by *Dothistroma pini*. New Zealand Journal of Forestry Science, 4, str. 495–501.
26. Gadgil, P.D., 1984: *Dothistroma* needle blight. Forest Pathology in New Zealand,

Forest Research Institute, New Zealand, No. 5.
27. Gibson, I.A.S., 1974: Impact and control of *Dothistroma* blight of pines. European Journal of Forest Pathology, 4, str. 89–100.
28. Gibson, I.A.S., P.S. Christensen, M.F. Munga, 1964: First observations in Kenya of a foliage disease of pines caused by *Dothistroma pini* Hulbary. Commonwealth Forestry Review, 43, str. 31–48.
29. Gilmour, J.W., 1981: The effect of season on infection of *Pinus radiata* by *Dothistroma pini*. European Journal of Forest Pathology, 11, str. 265–269.
30. Glavaš, M., 1979: O suzbijanju Schirria accicola Siggers u Crvenoj Luci, Šumarski list 103, 429-431.
31. Glavaš, M., 1999 : Gljivične bolesti šumskoga drveća, Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, 281 str.
32. Hanso, M. R. Drenkhan, 2008: First observations of *Mycosphaerella pini* in Estonia. Plant Pathology, 57, 1177 str.
33. Hulbary, R.L., 1941: A needle blight of Austrian pines: Illinois Natural History Survey Bulletin, 21, str. 231–236.
34. Hunt, R.S., G. Roke, M. Cleary, M. Carlson V. Berger, 2011: *Dothistroma* needle blight on western white pine in British Columbia. Canadian Plant Disease Survey, 91, str. 158-167.
35. Ivory, M.H., 1967: A new variety of *Dothistroma pini* in Kenya. Transactions of the British Mycological Society, 50, str. 289–297.
36. Ivory, M.H., 1972a: Infection of Pinus radiata foliage by *Scirrhia pini*. Transactions of the British Mycological Society, 59, str. 365–375.
37. Ivory, M.H., 1972b: Resistance to *Dothistroma* needle blight induced in *Pinus radiata* by maturity and shade. Transactions of the British Mycological Society, 59, str. 205–212.
38. Ivory, M.H., 1977: Preliminary investigations of the pests of exotic forest trees in Zambia. Commonwealth Forestry Review, 56, str. 47-56.
39. Ivory, M.H., 1990: Needle diseases of pines in Nepal. Banko Janakari, 2, str. 209–212.
40. Ivory, M.H., 1994: Records of foliage pathogens of Pinus species in tropical countries. Plant Pathology, 43, str. 511–518.
41. Jankovský, L., M. Bednářová, D. Palovčíková, 2004: *Dothistroma* needle blight

Mycosphaerella pini E. Rostrup, a new quarantine pathogen of pines in the Chech Republic. Journal of Forest Science, 50, str. 319–326.

42. Jones, W.T., D. Harvey, S.D. Jones, P.W. Sutherland, M.J. Nicol, N. Sergejew, P.M. Debnam, N. Cranshaw, P.H. Reynolds, 1995: Interaction between the phytotoxin dothistromin and *Pinus radiata* embryos. Phytopathology, 85, str. 1099–1104.

43. Karadžić, D., 1987: Effectiveness of some fungicides in the control of *Dothistroma pini* Hulbary in *Pinus nigra* plantations. Zastita Bilja, 38(1), str. 15–31.

44. Karadžić, D., 1994: *Picea omorika*—a new host of *Dothistroma septospora*. European Journal of Forest Pathology 24, str. 300–303.

45. Karadžić, D., 1996: The control of the pathogenic fungus *Mycosphaerella pini* in Austrian pine plantations. Biljni Lekar, 24, str. 258-262.

46. Karadžić, D., T. Milijašević, 2008: The most important parasitic and saprophytic fungi in Austrian pine and scots pine plantations in Serbia. Bulletin of the Faculty of Forestry, 97, str. 147–170.

47. Kershaw, D.J., P.D. Gadgil, J.W. Ray, J.B. van der Pas, R.G. Blair, 1988: Assessment and control of *Dothistroma* needle blight. New Zealand Ministry of Forestry FRI Bulletin, 18, str. 1–38.

48. Kirisits, T., T.L. Cech, 2007: Remarkable occurrence of *Dothistroma* needle blight on Swiss stone pine trees in the upper Mur valley. Forstschutz Aktuell, 41, str. 13–15.

49. Kišpatić, J., 1991: Šumarska fitopatologija. Sveučilišna naklada Zagreb, 356 str.

50. Koltay, A., 2001: Incidence of *Dothistroma septospora* (Dorog.) Morlet in the Austrian pine (*Pinus nigra* Arn) stands in Hungary and results of chemical control trials. Novenyvedelem, 37, str. 231–235.

51. Krstić, M., 1958: Nezabeležene fitopatološke pojave u rasadnicima i šumama Srbije. Zaštita bilja, 45, str. 75–79.

52. Lambert, M.J., 1986: Sulphur and nitrogen and their interactive effects on *Dothistroma* infection in *Pinus radiata*. Canadian Journal of Forest Research, 16, str. 1055–1062

53. Lang, K.J., 1987: *Dothistroma pini* on young Norway spruce (*Picea abies*). European Journal of Forest Pathology, 17, str. 316–317.

54. Marks, G.C., I.W. Smith, 1987: Effect of canopy closure and pruning on *Dothistroma septospora* needle blight of *Pinus radiata* D. Don. Australian Forest Research. 17 (2), str. 145–150.

55. Maschning, E., L. Pehl, 1994: Threat to native *Pinus mugo* by *Dothistroma* Allgemeine Forst Zeitschrift, 49, str. 249–252.
56. Murray, J.S., S. Batko, 1962: *Dothistroma pini* Hulbary: a new disease of pines in Britain. Forestry, 35, str. 5–65.
57. Parker, A., 1972: Artificial inoculation of *Pinus radiata* with *Scirrhia Dothistroma pini*: effect of relative humidity and temperature on incubation. Phytopathology, 62, str. 1160–1164.
58. Pehl, L., A. Wulf, 2001: *Mycosphaerella*-needle fungi on pines—symptoms, biology and differential diagnosis. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 53, str. 217– 222.
59. Peterson, G.W., 1973: Infection of Austrian and ponderosa pines by *Dothistroma pini* in Eastern Nebraska. Phytopathology. 63 (8), str. 1060–1063.
60. Peterson, G.W., 1981: Research in the United States on Dothistroma needle blight of pines. Current research on conifer needle diseases, str. 25–36.
61. Peterson, G.W., 1982: *Dothistroma* needle blight of pines. Forest insect and disease leaflet 143.US Department of Agriculture, Forest Service, Washington, DC, 6 str.
62. Peterson, G.W., J.A. Walla, 1978: Development of *Dothistroma pini* upon and within needles of Austrian and ponderosa pines in eastern Nebraska. Phytopathology. 68 (10), str. 1422–1430.
63. Punithalingam, E., I.A.S. Gibson, 1973: *Scirrhia pini*. In: CMI description of pathogenic fungi and bacteria. London, CMI, 368, str. 1–2.
64. Rack, K., 1986: On the seasonal release of *Dothistroma pini* conidia in *Pinus radiata* plantations in southern Chile. European Journal of Forest Pathology, 16, str. 6–10.
65. Sheridan, J.E., C.C. Yen, 1970: A note on the effect of temperature and relative humidity on the germination of conidia of a New Zealand isolate of *Dothistroma pini* Hulbary. New Zealand Journal of Botany, 8, str. 658–660.
66. Sinclair, W.A., H.H. Lyon, W.T. Johnson, 1987: Diseases of Trees and Shrubs. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA. 574 str.
67. Timmerman, A.D., 2011: *Dothistroma* needle blight of pine. Department of Plant Pathology, University of Nebraska-Lincoln.
68. Tomiczek, C., D. Diminić, T. Cech, B. Hrašovec, H. Krehan, M. Pernek, B. Perny,

2008: Bolesti i štetnici urbanog drveća, 382 str.

69. Uščuplić, M., 1996: Patologija šumskog i ukrasnog drveća. Šumarski fakultet Sarajevo, 366 str.

70. Walla, J., G.W. Peterson, 1976: *Dothistroma pini* and *Diplodia pinea* not affected by surface wax of pine needles. Plant Disease Reporter, 60, str. 1042–1046.

71. Watt, M.S., D.J. Kriticos, S. Alcaraz, A.V. Brow, A. Leriche, 2009: The hosts and potential geographic range of *Dothistroma* needle blight. Forest Ecology and Management, 257, str. 1505–1519.

72. http://www.speciesfungorum.org/GSD/GSDspecies.asp?RecordID=121392

73.http://www.forestry.gov.uk/pdf/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf/$FILE/DIAROD_052012_DNB_Brown.pdf

74. http://www.fao.org/forestry/13580-0d2b7a2db3a11b0c364f80bf48ccf8a1c.pdf

75. http://javni-podaci.hrsume.hr/o4o5.asp?gj=181

76. http://javni-podaci-karta.hrsume.hr/podaci/gj/181/Opis%20sastojine.pdf

77. http://javni-podaci-karta.hrsume.hr/

78. http://klima.hr/klima.php?id=k1#pog1

79.www.forestry.gov.uk/pdf/DIAROD_052012_Isolation_and_indentification.pdf/$FILE/DIAROD_052012_Isolation_and_indentification.pdf.

80. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/efp.12217/abstract