

Драган Караџић
Тања Милијашевић
Ненад Кеча

UDK: 630*443
Оригинални научни рад

ПРИЛОГ ПРОУЧАВАЊУ ПАРАЗИТСКЕ ГЉИВЕ *Botryosphaeria dothidea* УЗРОЧНИКА РАКА И СУШЕЊА СТАБАЛА

Извод: *Botryosphaeria dothidea* (Mong. ex Fr.) Cesat & Notaris је веома раширена гљива у свету. Према домаћинима не показује специфичност и до сада је забележена на биљкама које припадају у 100 различитих родова. У Србији је први пут констатована на гигантској секвоји, тополи, храсту и белој имели. Симптоми обољења варирају од врсте биљке, али такође и од дела биљке који је нападнут. Избојци и тање гране обично се суше, а на дебљим гранама и стаблу формирају се рак ране. У раду су дате основне морфолошке и биоэколошке карактеристике паразита.

Кључне речи: *Botryosphaeria dothidea*, сушење, „dieback“, рак-ране

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE FUNGUS *Botryosphaeria dothidea* AGENT OF CANCER AND TREE DYING

Abstract: *Botryosphaeria dothidea* (Mong. ex Fr.) Cesat & Notaris is a fungus widespread throughout the world. It is not specific regarding the hosts and so far it has been recorded on the plants falling into 100 different genera. In Serbia it was first recorded on giant sequoia, poplar, oak and common mistletoe. The disease symptoms depend on plant species, but also on the infested plant part. Shoots and thinner branches are usually killed, cancer forms on thicker branches and stems. This paper presents the main morphological and bioecological characteristics of the parasite.

Key words: *Botryosphaeria dothidea*, dying, dieback, cancer

1. УВОД

Има више штетних фактора абиотичке и биотичке природе који угрожавају нормалан раст четинарских и лишћарских врста дрвећа. Међу штетним биотичким

др Драган Караџић, редовни професор, Шумарски факултет Универзитета у Београду
др Тања Милијашевић, доцент, Шумарски факултет Универзитета у Београду
ин.ж. Ненад Кеча, асистент приправник, Шумарски факултет Универзитета у Београду

факторима посебно место заузимају патогене гљиве. Последњих 20 година у шумама Србије појавиле су се неке нове опасне паразитне гљиве које раније нису забележене. Неке од њих, као нпр. *Gremmeniella abietina*, *Phacidium infestans* и *Lophodermella sulcigena*, налазиле су се дуго година на списку карантинских болести наше земље. Може се претпоставити да су ове гљиве и раније биле присутне, али због сличности са симптомима обољења неких познатих гљива често су са овим мешане. Тако се нпр. *G. abietina*, на први поглед, по спољним симптомима оболења може заменити са гљивом *Cenangium ferruginosum*, а *L. sulcigena* са гљивама из рода *Lophodermium*. Међутим, детаљне анализе (пре свега микроскопске) показују врло велике морфолошке разлике између ових гљива.

Пре 10 година, на стаблима секвоје на Авали примећено је једно ново обољење, до тада незабележено. Детаљним прегледом оболелих стабала, а затим изолацијом паразита из некротираних места на стаблу, утврђено је да је болест изазвала паразитна гљива *B. dothidea*. Нешто касније иста гљива је забележена на младим тополама (клон I-214) у околини Шапца, а затим на више локалитета на китњаку и церу. Пре неколико година констатована је и на жбуновима беле имеле (*Viscum album*) која је расла на *Acer dasycarpum*. Како је ово релативно нова паразитна гљива у нашим шумама у овом раду је дат опис морфолошких карактеристика гљиве, симптома оболења, циклуса развића и начина сузбијања.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

Материјал за ова истраживање је сакупљен на Авали (секвоја), Обреновцу (секвоја), Великом Јастребцу (секвоја - расадник), Кањижи (клон I-214, расадник), Горњем Милановцу (клон I-214, расадник), Гочу (китњак), Дебелом лугу (китњак), Цетињу (цер), Ловћену - Иваново корито (буква), Вирпазару (чемпрес) и Родосу (алепски бор).

На секвоји се гљива понаша као агресиван паразит и напада стабла која претходно нису физиолошки ослабела. На осталим врстама развија се као факултативни паразит.

Из некротираних делова на секвоји, *B. dothidea* је изолована на хранљивим подлогама PDA (кромпир-декстроза-агар) и MEA (малц-екстракт-агар). Гљива се особито лако изолује из рубне зоне некрозе и здравог ткива домаћина, док је изолација из старих рак-рана доста тешка јер је ометају сапрофитски организми који покривају старе рак-ране.

Идентификација ове паразитне гљиве је извршена на основу изгледа плодноносних тела и органа за репродукцију и изгледа изоловане чисте културе гљиве на хранљивим подлогама.

3. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

BOTRYOSPHERA DOTHIDEA (Mang. ex Fr.) Cesat & Notaris
(syn. *B. berengeriana* de Not et *B. ribis* Grosseb. et Dugg.)

B. dothidea је неспецијализован патоген, широко распрострањен у умереној и тропској зони. Сматрало се да првенствено напада биљке претходно оштећене од неког примарног узročника. Нарочито су осетљиве биљке које су доживеле стрес од суше, мрза или дефолијације узроковане од неких инсеката и других гљива. У градовима веома често колонизира стабла која су оштећена резивањем грана.

Једна група истраживача, имајући у виду да се гљива јавља на стаблима умањене виталности, сматра да је ова гљива факултативни паразит (паразит слабости). Међутим, друга група аутора (Morelet M. *et al.*, 1993, Gibson I.A.S., 1979) сматра да је ова гљива врло опасан паразит који доводи до суховрховитости („die-back“) и сушења стабала.

У току наших истраживања забележили смо је на: *Cupressus sempervirens*, *Populus* (клон I-214), *Pinus halepensis*, *Quercus cerris*, *Q. petrea*, *Sequoiadendron giganteum* и *Viscum album*. Такође, типични симптоми заразе овом гљивом забележени су на *Platanus acerifolia* и *Aesculus hypocastani*. Међутим, из ових домаћина гљиву нисмо успели да изолујемо, а плодносна тела нису била зрела, тако да идентификација није потврђена.

На секвоји и алепском бору констатована су оба стадијума у развоју гљиве (teleomorph и anamorph); на храстовима, клону I-214 и на чемпресу само савршени стадијум, а на белој имели само несавршени, конидијски стадијум (anamorph).

Табела 1. *B. dothidea* - величина плодносних тела и спора (teleomorph и anamorph) на различитим домаћинима (наша мерења)

Table 1. *B. dothidea* - sizes of fruiting bodies and spores (teleomorph and anamorph) in different hosts (our measurements)

Домаћин Host	Псеудотеције	Аскуси	Аскоспоре	Пикниди	Конидије
	Pseudothecia	Asci	Ascospores	Pycnidia	Conidia
	дуж.×шир. (length×width)				
	μm	μm	μm	μm	μm
<i>Cupressus sempervirens</i>	170-250×143-190	100-110×16-20	19,4-30,1×6-9	-	-
<i>Pinus halepensis</i>	-	-	17,5-24×9-11	-	17-26×6-7,7
<i>Sequoiadendron giganteum</i>	205-341×191-278	60-168×15-20	21-32×6,7-11	150 – 250 (300)	18,4-25,5×5-6,7
<i>Populus</i> клон I-214	224-333×197-270	100-145×20-27	22-32×6,7-8,5	-	-
<i>Quercus</i> spp.	250-400×220-350	220-250×30-40	40-54×13,5-17,5	-	-
<i>Viscum album</i>	-	-	-	130-280×108-280	17,3-30×4,8-9,5

3.1. Опис гљиве

Аскостроме су најчешће образоване на гранама или стабљици, уметнуте су у кортикалном ткиву, када су зреле избијају на површину (еруптивне), полу-јастучасте или округласте, разбацане, појединачне, црне, широке од 1,5-2 mm, вишелокларне. Псеудотеције су врло бројне, црне, лоптасте, уметнуте у смеђе ткиво строме и избијају на површину својим папиластим остиолама. Аскуси су цилиндрично батинасти, са кратком дршком, дебелозидни, „bitunicate“, 8-спори, са спорама распоређеним у 2 неправилна реда. Аскоспоре су елиптичне, (према крајевима благо сужене), 1-ћелијске, хијалинске или бледо-жућкасте. (слика 2-г).

Величина псеудотеција, аскус и аскоспра дата је у табели 1.

Несавршени, тј. пикнидски, стадијум се образује на стабљици, на лишћу или на плодовима. Пикниди су лоптасти, појединачни или у групама, црни, отварају се остиолом. Зид пикнида је дебео и састоји се од два слоја ћелија: спољни део је састављен од склеротинизираних црних ћелија, а унутрашњи од танкозидних, скоро хијалинских ћелија. Конидиогене ћелије „holoblastic“, хијалинске и избијају из унутрашњег зида пикнида. Макрокониције вретенасте, хијалинске, гранулозног садржаја и 1-ћелијске (слика 2ц). Према Morelet-у и сар. (1993) у старости постају тамније и септиране.

Величине пикнида и пикноспора (конидија) дају се у табели 1.

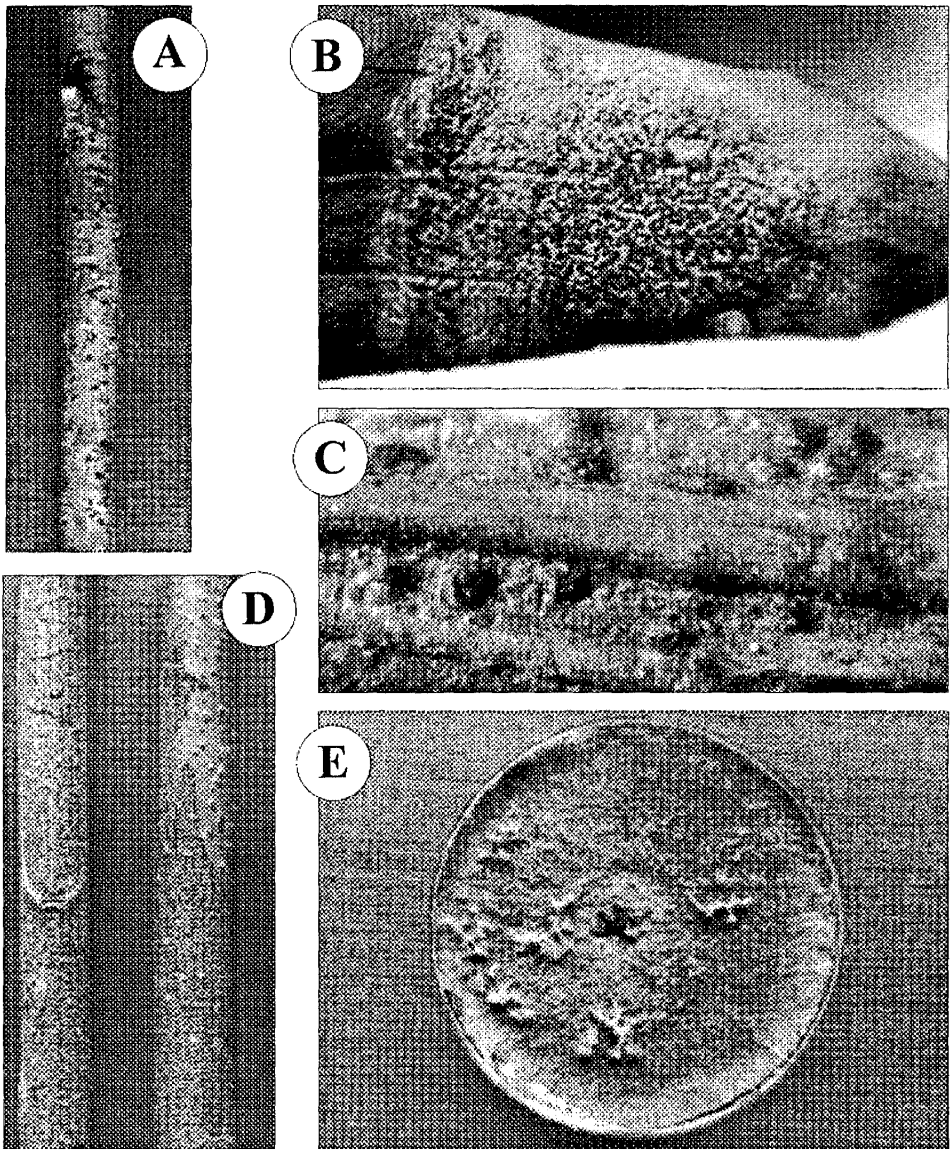
Несавршени стадијум (anamorph) је описан под различитим називима. Morelet и сарадници (1983) га наводе под називом *Fusicoccum aesculi* Cda, Gibson (1979) даје назив *Fusicoccum tingens* Doig., Frisullo и сар. (1994) *Fusicoccum* sp., Quaroni и сар. (1988) *Dothiorella platani*, Lanier и сар. (1978) *Dothiorella mali*, а Sinclair и сар. (1987) и Караџић и сарадници (1996) *Dothiorella* sp.

Конидијски стадијум се на секвоји много чешће образује од савршеног стадијума. Такође, на имели је овај стадијум једино и забележен. На храсту и тополи констатован је савршени стадијум.

Из табеле 1. се види да су величине плодноносних тела и органа за репродукцију приближно исте. Једино су одступања изражена код гљиве на храсту. Ова гљива би више одговарала (према величини аскоспора) гљиви *B. quercuum* (Schweintz) Sacc., која се јавља на храстовима у топлијем климату.

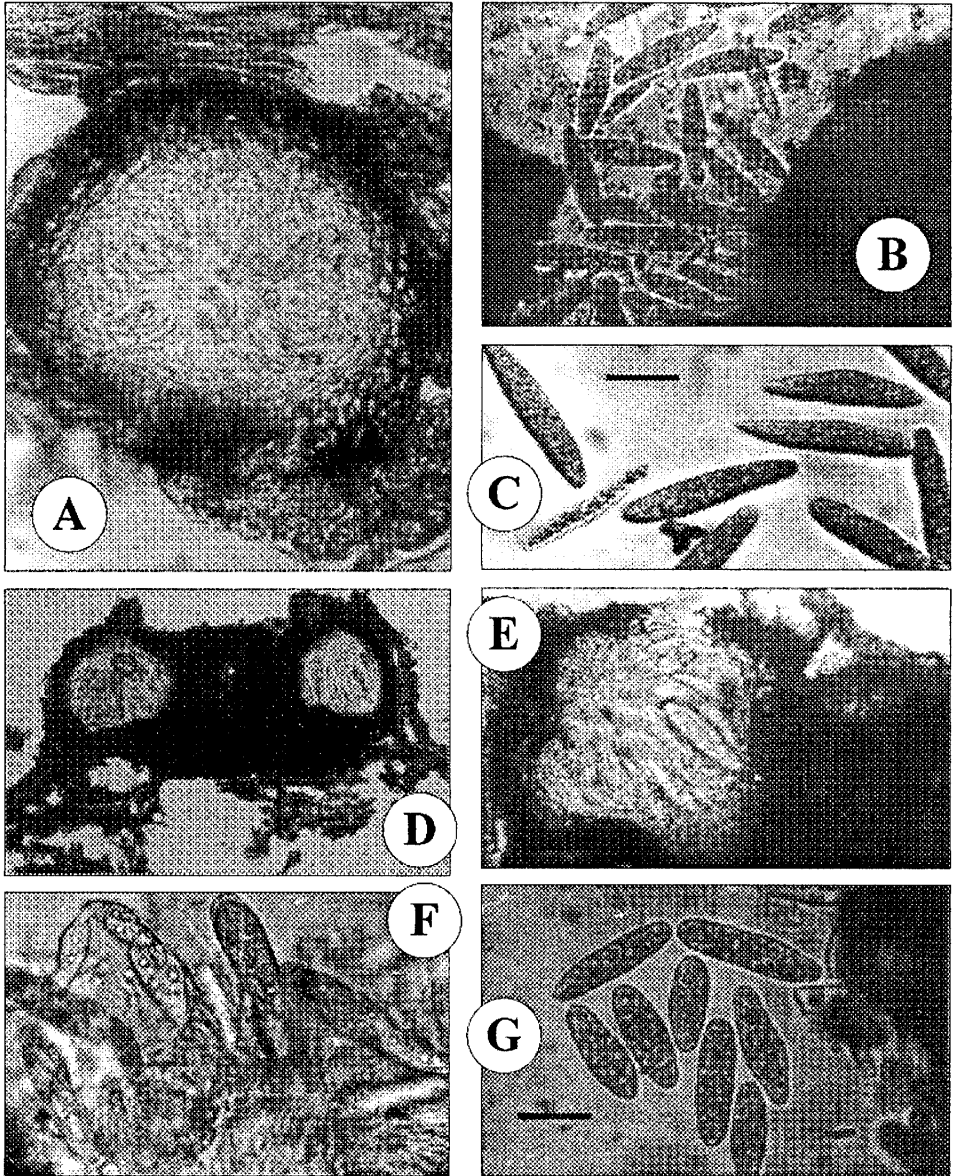
У току наших истраживања на китњаку смо констатовали и гљиву *Botryosphaeria melanops*, која се од гљиве *B. dothidea* разликује по конидијском стадијуму. Код *B. melanops* конидије су дуго-цилиндричне, са постепено суженим крајевима, праве, глатке, хијалинске, танкозидне, фино гранулозне, величине 41-53×9-11 μm (Shoemaker R.A., 1964).

Гљиву *B. dothidea* смо изоловали из свежих некроза на гранама секвоје и из шишарица алепског бора. Добијена чиста култура врло брзо расте (80 mm за 6 дана), у почетку је бела, а затим постаје сива или маслинаста (осим самог руба који је



Слика 1. *Botryosphaeria dothidea*: А - аскостроме на грани храста, Б - бројни пикниди на листу имеле, Ц - плодносна тела на четини циновске секвоје, Д - бројне аскостроме на мртвој кори тополе, Е - чиста култура гљиве на подлози МЕА (после једног месеца раста на 20°C). (фото Д. Караџић)

Figure 1. *Botryosphaeria dothidea*: А - ascostromata on oak branch, Б - numerous pycnidia on a mistletoe leaf, Ц - fruiting bodies on a giant sequoia needle, Д - numerous ascostromata on dead bark of poplar, Е - culture of the fungus on MEA (after one month at 20°C)



Слика 2. *Botryosphaeria dothidea*: А - попречни пресек кроз пикнид, Б - део зида пикнида и конидије, Ц - конидије (црта 9,5 μm), Д - попречни пресек кроз аскострому, Е - део аскостроме са локулом, Ф - аскуси, Г - аскоспоре (црта 14,5 μm) (фото Д. Караџић)

Figure 2. *Botryosphaeria dothidea*: А - pycnidium - cross section, В - part of pycnidial wall and conidia, С - conidia (bar 9.5 μm), Д - ascostroma - cross section, Е - part of ascostroma with locule, F - asci, G - ascospores (bar 14.5 μm)

беличаст), ваздушна је и већ после 10 дана у њој се образују пикниди. Према нашим мерењима, величина конидија образованих у овим пикнидима је $17-30 \times 4,7-7,7 \mu m$. У култури добијеној из алепског бора образовала су се оба стадијума гљиве.

3.2. Симптоми и животни циклус

Од свих домаћина на којима смо констатовали гљиву највеће штете су забележене на гигантској секвоји (*S. gigantea*). Праћење симптома и развоја болести је зато и вршено на овој врсти.

Развој болести почиње од места инфекције, а то су обично ситне повреде на кори или паразит продире преко лентицела и других природних отвора на кори. Од места инфекције почиње да се шири једна некроза која је смеђе боје и врло често је праћена појавом капљица смоле на површини коре. Ивица ових некроза је јасно ограничена у односу на здраво ткиво домаћина. Уколико је биљка претрпела стрес (нпр. од суше), некроза се врло брзо шири и то у свим правцима и брзо прстенује тање гране, а део изнад места инфекције се суши. Пошто се заразе остварују на већем броју места у круни, то се на стаблима секвоје уочавају разбацане суве (наранџасте боје) гране. Четине на сувим гранама су круте и оштре као трнови и на њима се формира конидијски стадијум у развоју гљиве (пикнидске строме). Из грана се затим некроза постепено шири према главној стабљици, а брзина ширења зависи од сезоне (сушна фаворизује брзину ширења гљиве, док је кишна успорава). На самом стаблу се образује један типичан рак који је елиптичног облика и шири се и у кори и у дрвету испод коре. Образовање рака је праћено јаким лучењем смоле, која на ваздуху оксидише и црни. Уколико гљива својом мицелијом обухвати цео обим стабла, оно се суши и то сушење почиње од врха (суховрхост).

На сувим четинама и некротираној кори одмах после појаве симптома заразе, појављују се пикниди гљиве. Највећи број зараза остварују конидије (пикноспоре) које се за време влажног времена разносе кишним капима. Критични период за инфекције је друга половина пролећа и прва половина лета. Савршени стадијум (аскостроне) се јавља много ређе и то најчешће годину дана по сушењу грана, односно целих биљака, и то у време када је мртва кора већ колонизирана и другим сапрофитским гљивама. Дужина трајања периода инкубације је различита (зависи и од биљке домаћина и од временских услова) и траје од 3-13 месеци. Ова гљива показује оптимални развој на температурама између $25-35^{\circ}C$. Релативно висока оптимална температура указује да је болест фаворизирана високим температурама које су изнад оптималних за развој биљке.

4. ДИСКУСИЈА

Гљива *B. dothidea* је један полифагни паразит који се јавља на великом броју дрвенастих врста биљака. Неки истраживачи сматрају да је то паразит слабости и

да би дошло до заразе потребно је да биљке претходно доживе неки стрес, било од неког штетног фактора абиотичке природе (мраз, суша) или од неког штетног фактора биотичке природе (примарни патогени и инсекти).

B. dothidea напада дрвенасте биљке из преко 100 родова, који припадају биолошки удаљеним фамилијама. Може представљати озбиљан проблем на шумским врстама, стаблима у дрворедима, воћкама, као и неким украсним врстама (нпр. ружама, рододендрону и сл.).

Честа је на врстама које припадају следећим родовима: *Acer*, *Aesculus*, *Alnus*, *Amygdalis*, *Araucaria*, *Betula*, *Buxus*, *Catalpa*, *Chamaecyparis*, *Crataegus*, *Cupressus*, *Eucalyptus*, *Fraxinus*, *Fuchsia*, *Juglans*, *Juniperus*, *Ligustrum*, *Liquidambar*, *Liriodendron*, *Magnolia*, *Malus*, *Metasequoia*, *Morus*, *Olea*, *Pinus*, *Pistacia*, *Platanus*, *Plumeria*, *Populus*, *Prunus*, *Pseudotsuga*, *Pyrus*, *Quercus*, *Rhododendron*, *Ribis*, *Robinia*, *Rosa*, *Salix*, *Sambucus*, *Sequoiadendron*, *Solanum*, *Sorbus*, *Taxus*, *Thuja*, *Ulmus*, *Vaccinium*, *Viscum* и *Vitis*.

Morelet и сарадници (1993) констатовали су јаке заразе на *S. giganteum* у Француској и наводе да су мраз (1985. год.) и суша (1989. год.) довели до тога. Они сматрају да је мраз ослабио биљке, тако да су уочљиве заразе већ примећене у току 1987. год, а суша у 1989. год. је редуковала раст биљака, ослабила их и знатно убрзала ширење паразита. Ови истраживачи такође сматрају да интензитет заразе зависи и од провенијенције секвоје, као и да је отпорност вероватно генетичког порекла.

Sinclair и сарадници (1987) наводе да је значај конидијског стадијума у развоју болести већи, а да се аскостроме развијају тек после једне или више година по инфекцији. Ови аутори истичу да се савршени стадијум може формирати у истим стромама где се раније развијао конидијски стадијум или у новоформираним. Ово је, такође, констатовано и у нашим истраживањима. На секвоји, савршени стадијум, за разлику од конидијског, никада није забележен на убијеним избојцима из текуће вегетације или свеже образованим рак ранама. Он се образује на старим рак ранама, када се на истим већ јављају и друге сапрофитске гљиве што јасно говори да су прве инфекције остварене са конидијама. Ово се односи само на секвоју, али не и за тополу (I-214), где је изгледа значај савршеног стадијума, тј. аскоспора у инфекцији већи.

Тakoђе, Sinclair и сар. (1987) наводе да је ова гљива довела до сушења борова који су претходно доживели стрес од суше. Интересантно је да су је констатовали и на корену борова. Gibson (1979) истиче да је *B. dothidea* изазвала изумирање петнаестогодишњих стабала *Pinus radiata* и то такође повезује са сушом. Овај аутор наводи и озбиљна оштећења на једногодишњим и двогодишњим садницама разних врста борова у Уганди и Кенији. Према Goidanich-у (1937), ова гљива изазива и обојеност белке трупаца бора.

За време паразитске фазе, а исто тако и касније када настави да се шири сапрофитски (на убијеним биљкама), *B. dothidea* колонизира и кору и белуку. Она у почетку производи омикшавајуће ензиме који доводе до смрти ћелије. Белука испод

места инфекције брзо изумире, а као последица тога је увенуће биљке и „die-back“. Са друге стране, код отпорних врста, многе почетне инфекције у кори заустављају се одбрамбеним реакцијама домаћина и јављају се само блага задебљања око лентицела. Такође, констатовано је да су биљке које нису доживеле стрес отпорне јер спречавају развој патогена својим биохемијским реакцијама које инхибирају његов раст. Међутим, оне биљке које су биле изложене стресу немају инхибиторну способност.

Што се тиче сузбијања овог паразита, литературни подаци су оскудни. Сви се слажу да је контрола јако тешка. Примећено је да се гљива спорије развија на стаблима у сенци, него на стаблима која су изложена сунцу. Због тога, ако подижемо културе четинара, треба у почетку ићи са гушћом садњом. Међутим, ово је неповољно зато што фаворизује развој гљиве *Armillariella mellea* која може довести до сушења стабала.

У дрворедима треба избегавати јако резивање стабала (платана, липе, дивљег кестена), како се не би фаворизовао развој болести. Осетљиве украсне жбунасте биљке (нпр. рододендрон, руже) за време сушног времена треба заливати.

О ефикасности фунгицида у сузбијању ове гљиве нема података. Препоручују се, међутим, да се одмах након резивања стабала у дрворедима сви свежи пресеци истретирају неким од фунгицида или премажу камбисаном. На овај начин умањиће се опасности од заразе.

5. ЗАКЉУЧАК

На основу спроведених истраживања могу се извести следећи закључци:

‣ *Botryosphaeria dothidea* је први пут забележена на неким дрвенастим биљкама у Србији;

‣ гљива је констатована на клону I-214, гигантској секвоји, церу, китњаку, чепресу и белој имели;

‣ штете су особито изражене на стаблима секвоје код споменика Незнаком јунаку на Авали;

‣ гљива на секвоји образује оба стадијума, али је за сам процес инфекције значајнији пикнидски стадијум;

‣ критични период за инфекције је друга половина пролећа и прва половина лета;

‣ инфекције се остварују преко озледа на кори, преко лентицела или преко стома на четинама;

‣ период инкубације траје од 3-13 месеци (на дужину инкубације поред биљке домаћина велики утицај имају и временски услови);

‣ гљива се развија у широком температурном дијапазону, а нарочито је брз развој на температурама између 25-35°C;

‣ интензитет инфекције је фаворизован неповољним спољним условима који доводе до физиолошког слабљења биљке (нпр. велика суша);

► ефикасних мера борбе против ове гљиве за сада нема, али се препоручује да се приликом орезивања стабала (нпр. платана, липе, дивљег кестена) у дрвореди-ма, обавезно после тога свежи пресеци истретирају неким од фунгицида.

ЛИТЕРАТУРА

- Frisullo S., Lops F., Sisto D., Trombetta N.M. (1994): *Parasiti fungini delle piante dell'Italia meridionale*, X. *Botryosphaeria ribis* Grossenb. et Dugar. *Su Noce*, *Informatore fitopatologico* 2 (61-64)
- Gibson I.A.S. (1979): *Diseases of Forest trees widely planted as exotics in the tropics and southern Hemisphaere*, Part II, The Genus Pinus, Commonwealth Mycological Institute, Kew
- Goidanich G. (1937): *Le alterazioni cromatiche parassitarie del legname in Italia*, IV In parassiti del legno di conifere, *Bolletino della stazione di patologia vegetale di roma* 16 (225-270)
- Караџић Д., Милијашевић Т., Миленковић М. (1996): *Прилог познавању патогене гљиве Botryosphaeria dothidea на шумском дрвећу*, X Југословенски симпозијум о заштити биља, зборник резимеа, Будва (89)
- Lanier L., Joly P., Bondoux P., Bellemere A. (1978): *Mycologie et Pathologie Forestieres*, Tome 1 - Mycologie Forestiere, Masson-Paris
- Morelet M., Andoreoli C., Chandler P., Menard J.E. (1993): *Botryosphaeria dothidea agent de chancre sur Sequoiadendron giganteum*, *Rev. For. Fr.* XLV-1 (37-42)
- Quaroni S., Minervini G., Bisiach M. (1988): *Botryosphaeria dothidea associata a cancri del platano*, *Sintomatologia e indagini micologiche*, *Informatore fitopatologico*, anno XXXVIII - n. 6 (41-44)
- Shoemaker R.A. (1964): *Conidial states of some Botryosphaeria species on Vitis and Quercus*, *Canadian Journal of Botany*, Volume 42 (1297-1301)
- Sinclair W.A., Lyon H., Johnson W.T. (1987): *Diseases of trees and shrubs*, Cornell University Press, Ithaca & London

Dragan Karadžić
Tanja Milijašević
Nenad Keča

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE FUNGUS BOTRYOSPHERIA DOTHIDEA AGENT OF CANCER AND TREE DYING

Summary

B. dothidea is a nonspecific pathogen, widely distributed in the temperate and tropical zones. It attacks woody plants in more than 100 genera. It is a serious problem to forest tree species, trees in tree rows, fruit trees and some ornamental shrub species. In Serbia it was reported from poplar (clone I-214), Turkey oak, sessile oak, cypress, giant sequoia and mistletoe. The damage to *Sequoiadendron giganteum* is especially significant. The symptoms of the disease depend on the plant species, but also on the attacked plant part. The shoots and thinner branches are usually killed, and canker forms on the thicker branches and on stems. The researchers do not agree on the parasitic properties of this fungus: some of them classify it as a parasite of weakness (favoured by

drought or frost), while others classify it as a very dangerous parasite which also attacks the undamaged plants.

The fungus forms two stages in its development. The pycnidial stage belongs to the genus *Dothiorella* sp., and it can be found throughout the year. Usually the first pycnidia form a few days after the occurrence of the first symptoms of infection. Incubation period (depending on the host plant and external weather conditions) lasts 3 to 13 months. The highest percentage of infections is caused by pycnosporos (conidia), which are disseminated by rain drops during rainy weather. The critical period of infection is the second half of spring and the first half of summer. The perfect stage (teleomorph) occurs more rarely, that is at the time when the plants are dead and when the bark is also colonized by other saprophytic fungi. Infection penetrates through bark injuries but also through lenticels and other natural openings. On the plants where the fungus develops on the leaves, infection develops through the stomata. The optimum temperature for the development of this fungus is between 25-35°C. Control measures are very difficult. It is recommended that during the pruning of branches in tree rows the cuts should be treated with a fungicide or with cambisane.