

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

ШУМАРСКИ ФАКУЛТЕТ

Иван Љ. Миленковић

**ДИВЕРЗИТЕТ ВРСТА РОДА  
*RHUTORHYNORA* И ЊИХОВА УЛОГА  
У ПРОПАДАЊУ СТАБАЛА У  
ЛИШЋАРСКИМ ШУМАМА У СРБИЈИ**

докторска дисертација

Београд, 2015

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF FORESTRY

Ivan Lj. Milenković

**DIVERSITY OF SPECIES FROM THE  
*PHYTOPHTHORA* GENUS AND THEIR  
ROLE IN THE DECLINE OF  
BROADLEAVED FOREST TREES  
IN SERBIA**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
ШУМАРСКИ ФАКУЛТЕТ

МЕНТОР:

др Ненад Кеча, ванредни професор  
Универзитет у Београду-Шумарски факултет

МЕНТОР:

Dr. Tomasz Oszako, ванредни професор  
Białystok University of Technology, Faculty of  
Forestry in Hajnówka

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

др Драган Карацић, редовни професор  
Универзитет у Београду-Шумарски факултет

др Слободан Милановић, доцент  
Универзитет у Београду-Шумарски факултет

др Весна Голубовић Ђургуз, доцент  
Универзитет у Београду-Шумарски факултет

ДАТУМ ОДБРАНЕ:

## Захвалница

Велику захвалност на свесрдној помоћи приликом израде дисертације дугујем ментору, др Ненаду Кечи, ванредном професору, који ме је стрпљиво и пажљиво усмеравао у професионалном развоју и понашао се према мени као прави педагог и професор. Такође, огромну захвалност дугујем и др Драгану Карацићу, редовном професору на стрпљењу, издвојеном времену и вољи да ме усмери и уведе у свет фитопатологије и микологије и томе што ме је научио већини ствари које знам о узрочницима болести шумског дрвећа и украсног биља. Професор Карацић и професор Кеча су ми поред свог знања и искуства пружили велико разумевање, огромну моралну и пријатељску подршку, као и огромну материјалну подршку и то у најтежим тренуцима.

Захваљујем се и члановима комисије др Весни Голубовић Ђургуз, доценту и др Слободану Милановићу, доценту на стрпљењу, издвојеном времену и корисним сугестијама које су ми пружили током коначног обликовања тезе.

Огромну захвалност дугујем декану Универзитета у Београду-Шумарског факултета, др Милану Медаревићу, редовном професору на разумевању, материјалној подршци, вољи и спремности да изађе у сусрет при реализацији овог рада. Захвалан сам свим професорима и сарадницима на разумевању и подршци, а посебно професорима и колегама са Катедре заштите шума на Универзитету у Београду-Шумарском факултету, који су ми помагали, излазили у сусрет и учинили да мој вишегодишњи боравак на овој катедри буде што кориснији.

Захваљујем се др Љубинку Ракоњцу, директору Института за шумарство и свим колегама са Института, посебно колегама са одељења за Заштиту шума на стрпљењу, вољи и спремности да изађу у сусрет при реализацији овог рада.

Захваљујем се Dr. Leszeku Orlikowskom, редовном професору у пензији и његовој сарадници Msc Magdaleni Ptaszek са „Institute of Floriculture and Pomology“, Skierniewice, Пољска, на гостопримству, искреном пријатељству и уступљеним стандардним културама за потребе морфолошке идентификације.



Неизмерну захвалност дугујем Dr. Thomasu Jungu, *Phytophthora* Research and Consultancy, Nussdorf, Germany, на стрпљењу и издвојеном времену и несебичној помоћи и вољи за рад са мном и томе што ме је увео у свет *Phytophthora* врста и научио великом броју ствари које знам о овим организмима.

Огромну захвалност дугујем др Љубомиру Летићу, редовном професору и његовој сарадници дипл. инж. Весни Николић на несебичној помоћи и стрпљењу приликом теренских истраживања и сакупљања узорака у различитим шумама на подручју Срема.

Неизмерну захвалност дугујем Јавном Предузећу „Војводинашуме“, а посебно колегама из шумских управа Кленак, Купиново, Моровић и Вишњићево на издвојеном времену и несебичној помоћи приликом теренских истраживања и сакупљања узорака.

Захваљујем се и колегама из Јавног Предузећа „Србијашуме“ на помоћи приликом обиласка терена и сакупљања узорака, као и колегама из Националних Паркова „Ђердап“ и „Тара“, а посебно из НП „Фрушка Гора“ на несебичној помоћи и излажењу у сусрет приликом обиласка терена и сакупљања узорака.

Доценту др Слободану Милановићу дугујем захвалност и на несебичној помоћи, одвојеном времену и стрпљењу приликом статистичке обраде података.

Такође, велику захвалност дугујем и свом коментору Dr. Tomaszu Oszaku на помоћи приликом израде дисертације, корисним саветима и огромној материјалној помоћи коју ми је пружио приликом извођења компликованих и скувих експеримената у његовим лабораторијама на Институту за шумарство- „Forest Research Institute-IBL“, Sekocin Stary, Пољска. Велику захвалност дугујем Dr. Justyni A. Nowakowskoj, ванредном професору на издвојеном времену и материјалној помоћи коју ми је пружила приликом молекуларне идентификације изолата, а њеним сарадницима Msc Małgorzati Bogys и Dr. Anni Terebi на помоћи и великом стрпљењу приликом рада на молекуларним анализама. Захваљујем се и Msc Ewi Anisko и госпођи Jolanti Bieniek на издвојеном времену и помоћи око пријема семена храста и букве из Србије и узгоја младих биљака за потребе тестова патогености. Захваљујем се Dr. Katarzyni Kubiak на корисним саветима и сугестијама, а Msc Miłoszu Tkaczyku

на несебичној помоћи при извођењу тестова патогености и обраде података. Посебну захвалност дугујем Dr. Katarzynie Sikori на стрпљењу, издвојеном времену и несебичној и свесрдној помоћи око различитих експеримената које сам изводио у „IBL“- у, а њој, њеном мужу Adamu Sikori, Katarzynie Kubiak, Miłoszu Tkaczyku, Małgorzati Bogys и Pawełu Jadackom на искреном пријатељству и томе што су ми боравак у Пољској учинили краћим, испуњенијим и занимљивијим. Велику захвалност дугујем директору „IBL“ института и свом особљу, а посебно одељењима Заштите шума и Генетике на топлом гостопримству, предусретљивости и помоћи око свих ствари и томе што су заједно са професором Oszакom омогућили да су ми врата „IBL“ института увек отворена и да ми он постане друга кућа.

Захваљујем се и колегама мр Ивану Бјелановићу, магст. Милану Милентијевићу, дипл. инж. Милану Бићанину, дипл. инж. Милицы Златковић, др Катарини Младеновић и дипл. инж. Марку Ивковићу на великој помоћи приликом сакупљања узорака.

Такође, захваљујем се и Dr. Sabine Werres са „Julius Kuhn“ института, Braunschweig, Germany на уступљеним идентификованим тестер изолатима за потребе одређивања типа спаривања хетероталичних врста.

Захваљујем се и пројекту „Одрживо газдовање укупним потенцијалима шума у Републици Србији“, ЕВБ: ТР 37008, финансираном од стране Министарства Просвете и Науке, Републике Србије, у оквиру кога је урађен већи део ове тезе.

Такође, на материјалној подршци се захваљујем и FP7 пројекту: „PHYSEE ERA NET + 138/1“, у оквиру кога је прикупљена већина узорака за потребе ове дисертације, као и пројекту: „Улога патогена у пропадању храстових шума на подручју ЈП „Војводинашуме“, финансираном од стране ЈП „Војводинашуме“.

Захваљујем се и Министарству Пољопривреде и Екологије-Управи за шуме, на материјалној подршци у оквиру више различитих пројеката.

Хтео бих да се захвалим и FPS COST Акцијама: FP 0801-*Phytophthora*, FP 1103-FRAXBACK и FP 1002-PERMIT, подржаним од стране Европске Уније у оквиру FP7 програма, због тога што су ми омогућили истраживачке посете (STSM) лабораторијама у иностранству и завршетак више различитих експеримената.

Захваљујем се својим пријатељма и колегама на стрпљењу и разумевању и на томе што ме нису напустили када сам их највише запостављао због обавеза око тезе.

Највећу захвалност дугујем својој породици на стрпљењу и подршци коју су ми пружали свих ових година и на разумевању због мог одсуства услед обавеза и посла. Посебно хвала дугујем баби и деди на свему што су урадили за мене током мог целокупног школовања.

*Аутор*

**Универзитет у Београду-Шумарски факултет**  
**Кључна документациона информација**

Тип документа (ТД)	Монографска публикација
Тип записа (ТЗ)	Текстуални штампани материјал
Врста рада (ВР)	Докторска дисертација
Аутор (А)	дипл. инж. Иван Миленковић
Ментор (МН)	др <b>Ненад Кеча</b> , ванредни професор
Ментор (МН)	Dr. <b>Tomasz Oszako</b> , ванредни професор
Наслов (НА)	<b>Диверзитет врста рода <i>Phytophthora</i> и њихова улога у пропадању стабала у лишћарским шумама у Србији</b>
Језик публикације (ЈП)	Српски
Земља издавања	Србија
Географско подручје (ГП)	Србија
Година издавања (ГИ)	2015
Издавач (И)	Ауторски репринт
Место издавања (МИ)	11030 Београд, Кнеза Вишеслава бр 1, Србија
Физички опис (ФО) (бр. поглавља/страна/литературних јединица/табела/слика/графикона/карата/илустрација)	Рад има 240 страна, 9 поглавља и литературу, 40 табела, 83 слике, 7 илустрација, 200 литературних извора и 4 прилога
Научна област	Биотехничке науке
Научна грана	Шумарство
Научна дисциплина	Заштита шума и украсних биљака
Ужа научна дисциплина	Шумска фитопатологија
Кључне речи (КР)	Болести корена, <i>Phytophthora</i> врсте, букове шуме, храстови, идентификација, морфологија, PCR, ITS секвенцирање, патогеност, екологија
UDK	630*443(497.11)(043.3)
GDK	443:172.8 <i>Phytophthora</i> spp.(497.11)(043.3)
Чува се (ЧУ)	Библиотека Шумарског факултета; Кнеза Вишеслава 1; 11030 Београд, Србија
Примедбе (П)	Нема
Извод (ИЗ)	У тексту који следи
Датум и број прихватања теме (ДБПТ)	Одлуком Наставно Научног Већа Шумарског факултета број: 01-4607/1, од дана 29.05.2013. године
Датум и број прихватања израђене дисертације (ДБПД)	Одлуком Наставно Научног Већа Шумарског факултета број: 01-5063/1, од дана 24.06.2015. године
Чланови комисије (КО)	др <b>Ненад Кеча</b> , ванредни професор, Универзитет у Београду-Шумарски факултет Dr. <b>Tomasz Oszako</b> , associate professor, Białystok University of Technology, Faculty of Forestry in Hajnówka др <b>Драган Караџић</b> , редовни професор, Универзитет у Београду-Шумарски факултет др <b>Слободан Милановић</b> , доцент, Универзитет у Београду-Шумарски факултет др <b>Весна Голубовић Ђургуз</b> , доцент, Универзитет у Београду-Шумарски факултет
Датум одбране (ДО)	

## ИЗВОД:

*Phytophthora* врсте су гљивама слични организми у оквиру царства *Chromista* (Stramenopiles) и SAR супер групе (BEAKES *et al.* 2015). У својим дебелозидним, трајним спорама могу да преживе неповољне услове средине (високе и ниске температуре, сушу, одсуство осетљивог домаћина) дужи период. Мултициклична природа, постојаност трајних спора и висока агресивност, чине *Phytophthora* врсте једним од најпрепознатљивијих биљних патогена. Тренутно је позната 141 врста у оквиру овог рода (АВАД 2014). *Phytophthora* врсте инфицирају различита ткива, укључујући фино корење, кору и камбијум одрвенелог корења и стабала, избојке и лишће и то широког спектра домаћина у расадницима, парковима и украсним засадима и у шумским екосистемима (ERWIN and RIBEIRO 1996).

Узимајући у обзир еколошке и економске ризике по шумарство и биодиверзитет које присуство *Phytophthora* врста носи, спроведено је истраживање са циљевима да се: (i) утврди присуство; (ii) изолују, морфолошки и молекуларно идентификују главне врсте; (iii) одреди распрострањење, главни домаћини, и неке еколошке карактеристике изолованих *Phytophthora* врста; и да се (iv) кроз тестове патогености и синтезу свих добијених резултата провери потенцијална улога најчешће изолованих врста у сушењу и пропадању стабала у различитим лишћарским шумама у Србији.

Истраживање је спроведено у различитим шумским састојинама, плантажама и вештачки подигнутим састојинама, као и на биљкама у парковима и украсним засадима и расадницима у Србији. Узоркована стабла су показивала различите симптоме, који могу бити узроковани инфекцијама са врстама из рода *Phytophthora*, укључујући некрозе на кореновом врату и на стаблима уз цурење тамног ексудата, хлороза, атрофија и увенуће лишћа, повећана прозирност крошње, одумирање стабала од врха, одумирање избојака, грана и делова круна, некрозе и озледе на матичном корењу и трулеж и губитак финог корења. Сакупљање узорака и изолација су изведени пратећи методологију JUNG (2009) и JUNG *et al.* (1996, 2000). Узорци су сакупљани испод симптоматичних, али и испод стабала без видљивих симптома.

Укупно је сакупљено 432 узорка на 33 локалитета, на којима су узорковане шумске састојине (319 узорака на 32 локалитета), вештачки подигнуте састојине и плантаже (49 узорака на пет локалитета), расадници (17 узорака на пет локалитета) и паркови и зелене површине (47 узорака на једном локалитету). Узорковано је 49 различитих домаћина, укључујући *Quercus robur*, *Q. petraea*, *Q. cerris*, *Fagus sylvatica*, *Fraxinus angustifolia*, *Acer pseudoplatanus*, *A. platanoides*, *A. heldreichii*, *Populus* spp., *Juglans regia*, *Betula pendula*, *Magnolia* spp., *Forsythia* spp., *Corylus colurna* и остале домаћине.

После изведених тестова изолације, укупно 240 узорака (56%) је било позитивно, при чему су *Phytophthora* врсте биле присутне на 24 различита домаћина, на 30 локалитета. После морфолошке идентификације, потврђено је присуство 15 различитих врста, укључујући *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. europaea*, *P. cryptogea*, *P. plurivora*, *P. pini*, *P. polonica*, *P. quercina*, *P. syringae*, *P. lacustris*, *P. gonapodyides*, *P. taxon 'Pg chlamydo'* и *P. ×serendipita*. Такође, извршена је и екстракција DNK, PCR и ITS секвенцирање репрезентативних изолата, при чему су потврђени налази морфолошких анализа. Једанаест од 15 идентификованих врста су први налази у различитим екосистемима у Србији.

Најчешће изолована врста је била *P. plurivora* и изолована је са 19 различитих домаћина, а иза ње долазе *P. cactorum*, *P. gonapodyides*, *P. lacustris*, *P. quercina*, *P. pini* и остале врсте. Домаћини са највећим бројем изолованих врста су били хрсатови лужњак и китњак са по осам различитих врста *Phytophthora*, а иза њих долазе буква, пољски јасен и тополе са по шест врста, док је са осталих домаћина изоловано мање врста. Приликом ових истраживања, на различитим стаништима у Србији су забележене и неке ретко изоловане врсте овог рода, као на пример *P. europaea*, *P. polonica*, *P. pini* и *P. ×serendipita*. Такође, забележене су и нове домаћин-патоген комбинације, као на пример *P. polonica* на храсту лужњаку, *P. pini* на тополама и *P. ×serendipita* на китњаку, сладуну и дивљој крушци.

Истраживање на пет локалитета у алувијуму реке Саве је спроведено са циљем да се утврди присуство *Phytophthora* врста кроз земљишни профил. Највећа

дубина са које су изоловане *Phytophthora* врсте је била 1,5 m, где је изолована *P. plurivora*, док су остале врсте изоловане из површинских делова профила.

За сврхе провере патогености и испуњавања Koch-ових постулата, изведена су три различита теста: (i) у тесту са инокулацијама под кору на избојцима букве и китњака (JUNG and NECHWATAL 2008) коришћено је шест врста и то: *P. cambivora*, *P. citricola*, *P. europaea*, *P. cryptogea*, *P. plurivora* и *P. taxon 'Pg chlamydo'*. Највеће некрозе на избојцима оба тестирана домаћина је изазвала *P. plurivora*, при чему је на основу Duncan теста била статистички значајно различита од контролне групе и од осталих тестираних врста; (ii) у тесту са инокулацијама под кору на једногодишњим садницама храста лужњака (BALCI *et al.* 2008), коришћене су три врсте и то: *P. plurivora*, *P. polonica* и *P. europaea*, при чему је коришћено пет изолата *P. plurivora* добијених са пет различитих домаћина. На основу добијених резултата и статистичке обраде помоћу Duncan теста, најагресивнију хомогену групу су чинили изолати *P. plurivora*, добијени са китњака и лужњака, док је најмање некрозе изазвала хомогена група, сачињена од *P. polonica* и *P. europaea*; (iii) у тесту инфекције кореновог система китњака и лужњака у контролисаним условима влажења (JUNG *et al.* 1996), коришћено је пет врста *Phytophthora*, укључујући *P. ×serendipita*, *P. cambivora*, *P. plurivora*, *P. polonica* и *P. quercina*. После завршетка теста, извршена је анализа кореновог система помоћу софтвера WinRhizo<sup>®</sup>, прерачунавање одабраних параметара и тестирање статистички значајних разлика помоћу Duncan теста у програму STATISTICA<sup>®</sup>. У случају храста лужњака најагресивније врсте су биле *P. cambivora* и *P. quercina*, а иза њих долазе *P. plurivora* и *P. ×serendipita*. Дужина финог корена храста лужњака, инфицираног са *P. cambivora* је била 3,8 пута мања, а са *P. quercina* је била 2,8 пута мања у поређењу са контролном групом биљака. У случају храста китњака, најагресивније врсте су биле *P. quercina* и *P. ×serendipita*, а за њима долазе *P. cambivora* и *P. plurivora*. Дужина финог корена храста китњака, инфицираног са *P. quercina* и *P. ×serendipita* је била 3 пута мања у поређењу са контролном групом биљака. Најмање агресивна врста према биљкама храста лужњака и китњака је била *P. polonica* и није се статистички разликовала у више посматраних параметара у односу на контролне групе.

**КЉУЧНЕ РЕЧИ:** Болести корена, *Phytophthora* врсте, букове шуме, храстови, идентификација, морфологија, PCR, ITS секвенцирање, патогеност, екологија

**УДК:** 630\*443(497.11)(043.3)



## University of Belgrade-Faculty of Forestry

### Key Word Documentation

Document type (DT)	Monographic publications
Type of record (TR)	Textual printed article
Contains code (CC)	Doctoral Dissertation
Autor (AU)	Ivan Milenković, dipl. ing.
Mentor (MN)	Dr. <b>Nenad Keča</b> , associate professor
Mentor (MN)	Dr. <b>Tomasz Oszako</b> , associate professor
Title (TI)	<b>Diversity of species from the <i>Phytophthora</i> genus and their role in the decline of broadleaved forest trees in Serbia</b>
Language of Text (LT)	Serbian
Country of Publications (CP)	Serbia
Locality of Publications (LP)	Serbia
Publication Year (PY)	2015
Publisher (PB)	Author s reprint
Publication Place (PL)	11030 Belgrade, Kneza Višeslava 1, Serbia
Physical description (PD) (no.of chapter/pages/citations/tables/images/charts/maps/Illustrations)	Thesis has 240 pages, 9 chapters and literature, 40 tables, 83 pictures, 7 illustrations, 200 literature sources and 4 appendixes
Scientific area (SA)	Biotechnical Sciences
Scientific fields (SF)	Forestry
Scientific discipline (SD)	Protection of forest and ornamental plants
Field of scientific discipline (FSD)	Forest pathology
Key words (KW)	Root diseases, <i>Phytophthora</i> species, beech forests, oaks, identification, morphology, PCR, ITS sequencing, pathogenicity, ecology
UDC	630*443(497.11)(043.3)
GDC	443:172.8 Phytophthora spp.(497.11)(043.3)
Holding Data (HD)	Library of Faculty of Forestry; Kneza Višeslava 1; 11030 Belgrade, Serbia
Note (N)	None
Abstract (AB)	In the following text
Date and number of title acceptance (DN TA)	Teaching and Scientific Council of the Faculty of Forestry, decision number: 01-4607/1, from 29.05.2013
Date and number of disertation acceptance (DN DA)	Teaching and Scientific Council of the Faculty of Forestry, decision number: 01-5063/1, from 24.06.2015
Thesis Defend Board (DB)	Dr. <b>Nenad Keča</b> , associate professor, University of Belgrade-Faculty of Forestry Dr. <b>Tomasz Oszako</b> , associate professor, Białystok University of Technology, Faculty of Forestry in Hajnówka Dr. <b>Dragan Karadžić</b> , Full professor, University of Belgrade-Faculty of Forestry Dr. <b>Slobodan Milanović</b> , docent, University of Belgrade-Faculty of Forestry Dr. <b>Vesna Golubović Čurguz</b> , docent, University of Belgrade-Faculty of Forestry
Defended (DE)	

## ABSTRACT:

*Phytophthora* species are fungi-like organisms within the kingdom *Chromista* (Stramenopiles) and SAR supergroup (BEAKES *et al.* 2015). In their thick-walled and long resting structures they can survive unfavourable environment conditions (such as low or high temperatures, droughts, absence of susceptible host) for a long time. Their multicyclic nature, the persistence of the resting spores and the high aggressiveness, makes *Phytophthora* species the most notorious plant pathogens in general. Currently, 141 species within this genus are known (ABAD 2014). *Phytophthora* species infect different tissues, eg. fine roots, bark and cambium of woody roots and stems, shoots and leaves, of a very wide range of host species, in nurseries, ornamental and amenity plantings, and forest ecosystems (ERWIN and RIBEIRO 1996).

Due to ecological and economic threat posed by the presence of *Phytophthora* species to forestry and biodiversity, a study was conducted with aims to: (i) determine the presence; (ii) isolate, morphologically and molecularly identify the main species; (iii) determine distribution, main hosts and some ecological characteristics of isolated species; and to (iv) determine potential role of the most common isolated species in decline of trees in different broadleaved forests in Serbia, through the pathogenicity tests and synthesis of all obtained results.

The survey was performed in different forest stands, planted forests and plantations, as well as on ornamental trees in parks, amenity plantings and nurseries in Serbia. Sample trees showed various symptoms indicative for *Phytophthora* infections, including the presence of collar rots or stem cankers with dark exudates, leaf atrophy, chlorosis and wilting, increased crown transparency, dieback, dying of shoots, branches or parts of the crown, cankers and wounds on mother roots and decay and loss of fine roots. Sampling and isolation methods were performed according to JUNG (2009) and JUNG *et al.* (1996, 2000). Both, symptomatic and healthy trees were sampled.

In total, 432 samples at 33 localities were taken, including samples from forest stands (319 samples at 32 localities), planted forests and plantations (49 samples at five localities), nurseries (17 samples at five localities), and parks and green areas (47 samples on one locality). Also, 49 different host species were sampled, including *Quercus robur*, *Q.*

*petraea*, *Q. cerris*, *Fagus sylvatica*, *Fraxinus angustifolia*, *Acer pseudoplatanus*, *A. platanoides*, *A. heldreichii*, *Populus* spp., *Juglans regia*, *Betula pendula*, *Magnolia* spp., *Forsythia* spp., *Corylus colurna* and other host species.

After isolation tests, 240 samples (56%) were positive, and *Phytophthora* species were present on 24 different host species, at 30 localities. After detailed morphological identification, presence of 15 different species was confirmed, including *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. europaea*, *P. cryptogea*, *P. plurivora*, *P. pini*, *P. polonica*, *P. quercina*, *P. syringae*, *P. lacustris*, *P. gonapodyides*, *P. taxon 'Pg chlamydo'* and *P. ×serendipita*. Also, DNA extraction, PCR and ITS sequencing of representative isolates has been done, and morphological identification was confirmed. Eleven out of 15 identified species are the first records in different ecosystems in Serbia.

The most common isolated species was *P. plurivora*, occurring on 19 different hosts, followed by *P. cactorum*, *P. gonapodyides*, *P. lacustris*, *P. quercina*, *P. pini* and other species. Hosts with the highest number of isolated species were *Quercus robur* and *Quercus petraea*, that hosted 8 different species, followed by *Fagus sylvatica*, *Fraxinus angustifolia*, and poplars which hosted 6 different species each, respectively, while from other hosts less isolates and species were obtained. Some rarely isolated species from this genus are recorded in different stands in Serbia, i.e. *P. europaea*, *P. polonica*, *P. pini* and *P. ×serendipita*. Also, some new host-pathogen combinations for the first time are recorded, such as *P. polonica* on pedunculate oak, *P. pini* on poplars and *P. ×serendipita* on sessile oak, Hungarian oak and wild pear.

Study at five localities in alluvium of Sava river was performed with aim to determine the presence of *Phytophthora* species through the soil profile. The deepest level where *Phytophthora* species were isolated was 1,5 m, where only *P. plurivora* was obtained, while other species were obtained from the surface layers of the profiles.

In order to check pathogenicity and to fulfill Koch's postulates, three different pathogenicity tests were performed: (i) in shoot inoculation test with beech and sessile oak shoots (JUNG and NECHWATAL 2008), six *Phytophthora* species were used, including *P. cambivora*, *P. citricola*, *P. europaea*, *P. cryptogea*, *P. plurivora* and *P. taxon 'Pg chlamydo'*. The biggest necrosis on both tested hosts were caused by *P. plurivora*, and

based on Duncan test, this species was significantly different from control group and the other tested species; (ii) in stem inoculation test on living, potted, one-year-old pedunculate oak plants (BALCI *et al.* 2008), three species were used, including *P. europaea*, *P. polonica* and *P. plurivora*. Also, five different *P. plurivora* isolates, from five different hosts were used in this test. Based on obtained results and statistical analyses with Duncan test, the most aggressive homogenous group was made from *P. plurivora* isolates, obtained from sessile and pedunculate oaks, while the smallest necrosis were made from homogenous group, made from *P. europaea* and *P. polonica*. (iii) in soil infestation test with pedunculate and sessile oak young plants (JUNG *et al.* 1996), five different *Phytophthora* species were used, including *P. ×serendipita*, *P. cambivora*, *P. plurivora*, *P. polonica* and *P. quercina*. After finishing of test, analyses of root system of infected plants with WinRhizo® Software, counting of main parameters, and testing of statistically significant differences with Duncan test, were done. In the case of pedunculate oak, the most aggressive species were *P. cambivora* and *P. quercina*, and after them *P. plurivora* and *P. ×serendipita*. Fine root length of pedunculate oaks, infected with *P. cambivora*, was 3,8 times smaller, and with *P. quercina* 2,8 times smaller in compare with control group of plants. In the case of sessile oaks, the most aggressive species were *P. quercina* and *P. ×serendipita*, and after them *P. cambivora* and *P. plurivora*. Fine root length of sessile oaks, infected with *P. quercina* and *P. ×serendipita* were 3 times smaller in compare with control group of plants. The least aggressive species towards pedunculate and sessile oak plants was *P. polonica*, and in several observed parameters was not significantly different from control groups.

**KEY WORDS:** Root diseases, *Phytophthora* species, beech forests, oaks, identification, morphology, PCR, ITS sequencing, pathogenicity, ecology

**UDC:** 630\*443(497.11)(043.3)

## Предговор

Прошло је скоро 170 година од једне од највећих епидемија биљних болести која је задесила човечанство и узроковала историјске и демографске промене, таквог обима и последица да наликују на последице великих ратова и природних катастрофа. Наиме, ради се о болести која је средином XIX века узроковала пропадање кромпира, велику глад и масовно расељавање становништва у Ирској (Irish feminy), а о њој се и дан данас говори са великом стрепњом и уз мисли на милионе људи који су изгубили животе услед глади. После неколико непотпуних студија, чувени немачки миколог и један од оснивача науке о биљним болестима Heinrich Anton de Bary је 1876. године описао узрочника ове болести, назвао га *Phytophthora infestans* и преко тестова патогености доказао његово негативно дејство на кромпир. Биоекологија и контрола овог патогеног организма су и данас, у ери модерних технологија, веома компликовани и представљају велики изазов за науку и праксу. Поред великих штета у пољопривреди, установљено је да представници рода *Phytophthora* проузрокују огромне штете у расадничкој производњи, производњи цвећа и украсног биља, парковима, дрворедима и другим вештачким екосистемима. Такође, што је за нас шумаре битно и интересантно, огромне штете су забележене и у природним шумским екосистемима, заштићеним природним добрима и у веома вредним састојинама различитих шумских врста. Неки од представника овог рода су изазвали огромне економске штете и довели на ивицу опстанка поједине биљне врсте, као на пример *P. ramorum*, *P. lateralis*, *P. multivora*, *P. cambivora*, *P. quercina*, *P. citricola*, *P. plurivora* и друге, а неки су својим дејством направили праву пустош и истребили поједине биљне врсте, чак и читаве биљне родове, као на пример *P. cinnamomi*.

Битно је напоменути да је истраживањима у последњих 15 година већи број ових патогених организама изолован и описан у шумама и природним екосистемима у поређењу са бројем описаних врста на различитим пољопривредним културама.

Узимајући у обзир да су шуме Србије веома слабо или скоро уопште нису истражене на присуство ових организама, на предлог и у договору са својим

ментором, др Ненадом Кечом, ванредним професором, са задовољством сам прихватио ову изазовну и инспиративну тему.

## Садржај:

<b>1. Увод.....</b>	<b>1</b>
<i>1.1. Карактеристике врста из рода <i>Phytophthora</i>.....</i>	<i>1</i>
<i>1.2. Таксономија и филогенетика врста из рода <i>Phytophthora</i>.....</i>	<i>3</i>
<i>1.3. Историјат проучавања врста из рода <i>Phytophthora</i>.....</i>	<i>8</i>
<b>2. Досадашња истраживања.....</b>	<b>11</b>
<b>3. Циљеви и хипотезе.....</b>	<b>14</b>
<b>4. Сакупљање узорака, изолација и морфолошка идентификација.....</b>	<b>16</b>
<i>4.1. Материјал и методе.....</i>	<i>16</i>
4.1.1. Локалитети истраживања.....	16
4.1.2. Сакупљање узорака и изолација.....	18
4.1.2.1. Припремање подлоге за изолацију и чување култура и лабораторијске пробе метода за изолацију.....	18
4.1.2.2. Сакупљање, припрема узорака и изолација <i>Phytophthora</i> врста.....	19
4.1.2.3. Пречишћавање и чување култура.....	24
4.1.3. Морфолошка идентификација и анализе пораста изолата.....	24
4.1.3.1. Развијање, посматрање и мерење полних и бесполних структура.....	24
4.1.3.2. Одређивање карактеристика колонија.....	26
4.1.3.3. Анализе пораста изолата.....	26
4.1.3.4. Тестови спаривања са познатим А1 и А2 тестер изолатима.....	27
<i>4.2. Резултати.....</i>	<i>29</i>
4.2.1. Локалитети истраживања.....	29
4.2.2. Сакупљање узорака и изолација <i>Phytophthora</i> врста.....	30
4.2.3. Морфолошка идентификација.....	33
<i>4.3. Закључци.....</i>	<i>64</i>
<b>5. Молекуларна идентификација.....</b>	<b>66</b>
<i>5.1. Материјал и метод.....</i>	<i>66</i>
5.1.1. Екстракција и провера квалитета ДНК.....	69

5.1.2. Извођење PCR реакција, пречишћавање продуката и провера квалитета PCR продуката.....	70
5.1.3. Секвенцирање.....	71
5.1.4. Извођење директног PCR-а, провера квалитета и секвенцирање.....	72
5.1.5. Анализа секвенци и поређење са идентификованим врстама.....	73
5.1.6. Филогенетске анализе.....	75
<b>5.2. Резултати.....</b>	<b>77</b>
5.2.1. Екстракција и провера квалитета ДНК.....	77
5.2.2. Извођење PCR реакција и провера квалитета PCR продуката.....	78
5.2.3. Секвенцирање.....	78
5.2.4. Резултати филогенетских анализа.....	81
<b>5.3. Закључци.....</b>	<b>92</b>
<b>6. Неке еколошке карактеристике изолованих <i>Phytophthora</i> врста.....</b>	<b>94</b>
<b>6.1. Материјал и метод.....</b>	<b>94</b>
6.1.1. Локалитети, домаћини и изолати <i>Phytophthora</i> врста у Србији.....	94
6.1.2. Регистровани симптоми.....	95
6.1.3. Диверзитет врста.....	95
6.1.4. Квантитативна заступљеност.....	97
6.1.5. Присуство <i>Phytophthora</i> врста кроз земљишни профил на одабраним локалитетима на подручју Доњег Срема.....	98
6.1.6. Статистичка обрада података.....	99
<b>6.2. Резултати.....</b>	<b>101</b>
6.2.1. Распрострањење <i>Phytophthora</i> врста према истраживаним локалитетима.....	101
6.2.2. Регистровани симптоми.....	109
6.2.3. Домаћини изолованих врста.....	116
6.2.4. Појава <i>Phytophthora</i> врста у различитим објектима истраживања.....	122
<b>6.3. Присуство <i>Phytophthora</i> врста кроз земљишни профил на одабраним локалитетима на подручју Доњег Срема.....</b>	<b>127</b>
<b>6.4. Најниже и највише надморске висине на којима су изоловане поједине <i>Phytophthora</i> врсте.....</b>	<b>129</b>



<b>6.5. Закључци.....</b>	<b>130</b>
<b>7. Патогеност.....</b>	<b>133</b>
<b>7.1. Материјал и метод.....</b>	<b>133</b>
7.1.1. Провера патогености под кору на избојцима.....	133
7.1.2. Провера патогености инокулацијом под кору на живим биљкама у контролисаним условима.....	135
7.1.3. Провера патогености инфекцијом кореновог система преко земљишта у условима контролисаног влажења.....	137
7.1.4. Анализа губитка кореновог система помоћу софтвера WinRhizo®.....	142
7.1.5. Статистичке анализе.....	143
<b>7.2. Резултати.....</b>	<b>144</b>
7.2.1. Резултати теста патогености на избојцима.....	144
7.2.2. Резултати теста патогености под кору на живим биљкама.....	146
7.2.3. Резултати теста патогености инфекцијом кореновог преко земљишта у условима контролисаног влажења.....	147
<b>7.3. Закључци.....</b>	<b>160</b>
<b>8. Дискусија.....</b>	<b>163</b>
<b>9. Општи закључци.....</b>	<b>196</b>
<b>10. Литература.....</b>	<b>205</b>
<b>Прилози.....</b>	<b>226</b>

## 1. УВОД

### 1.1. Карактеристике врста из рода *Phytophthora*

*Phytophthora* врсте су гљивама слични организми и припадају царству *Chromista* (*Stramenopiles*) (KIRK *et al.* 2008; ADL *et al.* 2012; BEAKES *et al.* 2015) у оквиру систематизоване „Sar“ (*Stramenopiles*, *Alveolata* и *Rhizaria*) супергрупе (BURKI *et al.* 2007, 2008; ADL *et al.* 2012). Према CAVALIER-SMITH (1999) представници царства *Chromista* су се развили из пластида црвених алги у секундарним симбиогенетским процесима са различитим двоцилијским домаћинима, а могуће и са чак два или три различита домаћина. Због великих сличности по питању животног циклуса, патогености и морфолошко-физиолошких карактеристика у прошлости у микологији није прављена разлика у односу на остале „праве“ гљиве. Од правих гљива (царство *Fungi*) се разликују у одсуству хитина и учешћу целулозе и  $\beta$  глукана у грађи ћелијског зида, затим по образовању диплоидних, несептираних (једноћелијских) хифа (LATJNHOUWERS *et al.* 2003), као и по формирању посебних полних спора-ооспора. Молекуларним и филогенетским истраживањима су ове разлике доказане и ови организми су дефинитивно издвојени из царства *Fungi* (BALDAUF *et al.* 2000; ADL *et al.* 2005; 2012; KIRK *et al.* 2008). Међутим, поред бројних разлика ови организми деле одређене карактеристике са правим гљивама, посебно по питању морфолошко-физиолошке сличности и развијању различитих стратегија колонизације и напада на биљке домаћине (LATJNHOUWERS *et al.* 2003).

Због својих дебелозидних трајних спора (полне ооспоре и бесполне хламидоспоре), врсте из рода *Phytophthora* имају способност преживљавања неповољних услова као што су високе и ниске температуре, суша и недостатак осетљивог домаћина и то веома дуг период (ERWIN and RIBEIRO 1996). Осим помоћу наведених спора, преживљавање се често одвија и у украсима и задебљањима хифа, константним самообнављањем у воденој средини и на различите друге начине (ERWIN and RIBEIRO 1996). На примеру *P. cinnamomi* Rands, приказано је да су главне пропагуле за дугорочно преживљавање током екстремно сушних лета у Западној Аустралији самообразоване ооспоре унутар убијеног ткива, образовање агрегација хифа које наликују на строме и задебљале

интерцелуларне хифе и везикуле унутар инфицираног ткива корена (JUNG *et al.* 2013 а).

Наступањем повољних услова, укључујући температуре изнад 10°C и повишену влагу земљишта, органи за преживљавање клијају формирајући на крају карактеристичне спороносне органе различитог облика, зооспорангије, које ослобађају зооспоре у влажно земљиште. Ове, око 10 µm велике и захваљујући присуству два бича покретне споре, хемотаксијски привлачи здраво фино корење за које се оне прилепе својим трбушним делом, пређу у стадијум цисте (преображај зооспоре после отпадања бичева и контакта са ткивом домаћина) и инфицирају као примарни патогени (ERWIN and RIBEIRO 1996). Неколико сати после инфекције долази до формирања великог броја спорангија на површини зараженог корења, које ослобађају нове зооспоре у земљиште (ERWIN and RIBEIRO 1996). Ова њихова мултициклична природа, перзистентност трајних спора, висока агресивност и широка дистрибуција (ERWIN and RIBEIRO 1996; RIBEIRO 2013; JUNG *et al.* 2013 b; SCOTT *et al.* 2013), чине *Phytophthora* врсте једним од најопаснијих биљних патогена уопште. Неке врсте су уско специјализоване за одређеног домаћина и остварују инфекције искључиво на њему, док су према другим врстама инфериорне, као на пример *Phytophthora quercina* Jung, паразит везан за храстове (*Quercus* spp.) (JUNG *et al.* 1999). Друге су пак полифагне и јављају се на великом броју домаћина из више различитих родова и фамилија, као што су *Phytophthora citricola* Sawada, *P. plurivora* Jung and Burgess, *P. cactorum* (Lebert and Cohn) Schröter, *P. cinnamomi*, *P. ramorum* Werres, de Cock and Man in't Veld (ERWIN and RIBEIRO 1996; JUNG and BURGESS 2009).

Према типу паразитизма, ови патогени организми припадају групи хемибиотрофа (LATJNHOUWERS *et al.* 2003; THINES 2013), што значи да у почетној фази инфекције колонизују жива биљна ткива, а касније, после одумирања ових ткива настављају да се развијају и у убијеном ткиву где спорулишу и образују трајне структуре за преживљавање (AGRIOS 2005; WEBSTER and WEBER 2007; КАРАЦИЋ 2010). Ово је једна од битнијих разлика у односу на морфолошки сличне врсте из рода *Pythium* spp., који претежно колонизују већ одумрло биљно ткиво, мада један одређен број њихових представника има способност колонизације живих биљних ткива (LATJNHOUWERS *et al.* 2003). На пример *Py. anandrum*

Drechsler је забележен на китњаку у Турској (AKILLI *et al.* 2013 b), а инфекције *Pu. aphanidermatum* (Edson) Fitzp.) су осим код биљака забележене чак и код човека после повреде (CALVANO *et al.* 2011).

У свом животном циклусу јављају се и у полној и у бесполној фази, а један одређен број представника је стерилан или тежи стерилитету. Код одређеног броја представника полна фаза (присуство ооспора) се ретко јавља, као на пример код *Phytophthora citrophthora* (R.E. Smith and E.H. Smith) Leonian (ERWIN and RIBEIRO 1996). Такође, ове врсте се могу јавити као хомоталичне или као хетероталичне. Код првих се полни елементи (антеридије и оогоније) образују на истом талусу-мицелији, а код других на два различита талуса која поседују компатибилне хифе A1 и A2 (Mating types A1 & A2) (ERWIN and RIBEIRO 1996). Хетероталичне врсте могу да се одржавају и остварују инфекције и без парења са својим компатибилним паром (A1 или A2), при чему преживљавају у трајним бесполним спорама (хламидоспоре), у украсима и задебљањима хифа (hyphal swellings) или самообнављањем, тј. честим формирањем нових зооспорангија са зооспорама (ово последње везано је за влажне и акватичне екосистеме) (ERWIN and RIBEIRO 1996). Међутим, у овом случају су могућност рекомбинације гена и хибридизација ређе појаве, а природно индукована хибридизација ових организама је раније забележена (BRASIER *et al.* 2004; MAN IN'T VELD *et al.* 2007, 2012; IOOS *et al.* 2007; ÉRSEK and NAGY 2008; ÉRSEK and MAN IN'T VELD *et al.* 2013; NAGEL *et al.* 2013; YANG *et al.* 2014 c). Такође, код одређених хетероталичних врста под различитим утицајима спољашње средине долази до самообразовања ооспора иако је присутан само један компатибилни пар (A1 или A2), као што је на примеру врста из рода *Trichoderma*, као стимулатора образовања полних елемената код врста из рода *Phytophthora*, приказао BRASIER (1975). Самообразовање ооспора *P. cinnamomi* у инфицираном ткиву домаћина су приказали JUNG *et al.* (2013 a).

## **1.2. Таксономија и филогенетика врста из рода *Phytophthora***

После издвајања из царства гљива, врсте из рода *Phytophthora* су заједно са другим гљивама сличним организмима сврстани у ново формирано царство

„*Chromista*“ (*regnum novum*) са тада позната два подцарства Cryptophyta и Chromophyta (CAVALIER-SMITH 1981). Овај термин је од тада прихваћен и нормално се користи у литератури када се говори о класификацији *Phytophthora* врста, као што је на пример приказано у последњем издању речника гљива (KIRK *et al.* 2008). Представници царства *Chromista* су заједно са представницима сестринског подцарства *Alveolata* и различитим еукариотама са присуством пластида црвених алги и фотосинтетичког апарата сврстани у супер групу или суперцарство Chromalveolate (CAVALIER-SMITH 1999). Блиска повезаност *Phytophthora* врста (класа *Oomycetes*) са другим гљивама сличним организмима, једноћелијским и смеђим алгама и протистама у оквиру суперцарства Chromalveolate је приказана од стране BEAKES *et al.* (2012).

Овде је потребно истаћи да се у литератури срећу и називи који се сматрају синонимима за врсте које припадају царству *Chromista* и то „Heterokonta“ (CAVALIER-SMITH 1986) и „stramenopiles“ (PATTERSON 1989, 1994, цит. PATTERSON 1999) и који уносе додатну забуну при сврставању врста из рода *Phytophthora* и других гљивама сличних организама у више систематске категорије. Наиме, Heterokonta је подцарство у царству *Chromista* (CAVALIER-SMITH 1995 а, б; цит. CAVALIER-SMITH and CHAO 2006), а као његов најранији синоним се појавио назив „stramenopiles“. Многи аутори су овај назив прихватили као синоним за читаво царство *Chromista*, што је према CAVALIER-SMITH and CHAO (2006) било погрешно, јер се он могао повезати само са припадницима подцарства Heterokonta а не читавих *Chromista*. Према PATTERSON-у (1999), термин „stramenopiles“ је уведен ради лакшег груписања и као пробни пример за обухватање Protista које деле сличне или исте карактеристике са својим најближим заједничким прецима (synapomorphic definitions). Њихови припадници су предходно сврставани у „Heterokont algae“, „Chromophyta“, „Chrysophyta“ или „Chromista“ (PATTERSON 1989, цит. PATTERSON 1999). Према истом аутору (PATTERSON 1999) термин „stramenopiles“ првобитно није уведен као таксономска категорија и представљао је неформални назив али је убрзо прихваћен и коришћен од стране многих аутора, често и у погрешном контексту, а неки су га чак окарактерисали као таксономску категорију и као посебно краљевство. Такође, сличан назив „Stramenipila“ (DICK 2001, цит. CAVALIER-SMITH and CHAO 2006) је непотребно уведен и додатно

збуњујући синоним за царство *Chromista* (CAVALIER-SMITH and CHAO 2006). У новијој литератури овај термин је уз мање или веће промене задржан и означава велику групу хетероконтних организама, на пример „Stramenopiles“ (ADL *et al.* 2012).

Према истраживању BURKI *et al.* (2007), детаљним молекуларним анализама великог броја секвенци и филогенетским реконструкцијама, утврђено је да представници подцарства Rhizaria (CAVALIER-SMITH 2002) деле исто порекло са представницима предходно дефинисаног суперцарства Chromalveolate (CAVALIER-SMITH 1999) и исти аутори су предложили прелиминарно сврставање ових организама у једну супергрупу коју су назвали „SAR“ (скраћеница сачињена од првих слова Stramenopiles (Chromista, Heterokonta), Alveolata и Rhizaria) (BURKI *et al.* 2007). Ширим молекуларним истраживањима и укључивањем већег броја врста, репрезентативних гена и аминокиселина, „SAR“ груписање је дефинитивно доказано и потврђено (BURKI *et al.* 2008). Такође, „Sar“ група је и формално препозната и укључена у последњој ревизији класификације еукариота (ADL *et al.* 2012).

Такође, када се говори о нижим систематским позицијама и ту је дошло до одређених промена, пре свега захваљујући детаљним молекуларним истраживањима. Више аутора је током прошлог века и без молекуларних истраживања указивало да сврставање *Phytophthora* врста заједно са морфолошки донекле сличним *Pythium* врстама у фамилију *Pythiaceae*, ред *Pythiales* није природна класификација ових организама (THINES 2013). Истраживањима COOKE *et al.* (2000), HUDSPETH *et al.* (2000, 2003), RIETHMÜLLER *et al.* (2002) (цит. THINES 2013), доказано је да су *Phytophthora* врсте много ближе пламењачама него *Pythium* врстама, иако пламењаче спадају у изразите битрофе. Још једна битна промена која се одиграла у реду *Peronosporales* је и издвајање фамилије *Albuginace* из овог реда и прерастање у посебан ред *Albuginales*, због веома великих разлика рода *Albugo* у односу на остале пламењаче у које је раније спадао (RIETHMÜLLER *et al.* 2002; THINES and SPRING 2005) (цит. THINES 2013). Ови налази и повезаност *Phytophthora* врста са пламењачама су доказани у више филогенетских студија (THINES 2013).

Фамилија *Peronosporaceae* обухвата пламењаче, род *Phytophthora*, род *Halophytophthora* и род *Phytopythium* (HULVEY *et al.* 2010 b; THINES 2013). Њој блиске фамилије су *Pythiaceae* са родом *Pythium* и нова фамилија *Salisapiliaceae* са родом *Salisapilia* (HULVEY *et al.* 2010 b; THINES 2013) у оквиру реда *Peronosporales*.

Према САБИ бази података на сајту „speciesfungorum“ (<http://www.speciesfungorum.org/>, приступљеном 29.08.2014. године), уз додатак горе наведене групе „SAR“ (BURKI *et al.* 2008; ADL *et al.* 2012) и према таксономији „Straminipila“ (BEAKES *et al.* 2015), систематика у овом тренутку би изгледала овако:

- супергрупа „SAR“
- царство *Chromista* (*Stramenopiles*)
- phylum *Oomycota*
- класа *Peronosporomycetes* (предходно *Oomycetes*)
- подкласа *Peronosporidae*
- ред *Peronosporales*
- фамилија *Peronosporaceae*
- род *Phytophthora*

Сам род *Phytophthora* је такође у почетку претрпео одређене промене у свом називу док није коначно описан под именом *Phytophthora* (DE BARY 1876) (цит. RIBEIRO 2013), па је тако *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary, прва врста описана из овог рода, првобитно окарактерисана као *Botrytis* (MONTAGNE 1845), затим као *Peronospora* (UNGER 1847), све док је чувени немачки миколог Heinrich Anton de Bary није сврстао у род *Phytophthora* (DE BARY 1876) (цит. RIBEIRO 2013).

Обзиром на пораст врста у оквиру овог рода, који је у последњој деценији попримио, слободно речено, експоненцијални раст (BRASIER 2009), као и на примећене изразите морфолошко-физиолошке разлике, указала се потреба за груписањем припадника овог рода у мање или више сличне морфолошке јединице, пре свега ради лакше идентификације. Морфолошки кључ за одређивање врста на основу изгледа спорангија, талуса и положаја антеридије, уведен од стране WATERHOUSE (1963), знатно је помогао у истраживању различитих аспеката везаних за врсте из рода *Phytophthora* (RIBEIRO 2013). Овај

кључ је у наредним годинама претрпео одређене ревизије у односу на пораст броја врста и њихове забележене карактеристике (WATERHOUSE 1970; NEWHOOK *et al.* 1978; STAMPS *et al.* 1990; ERWIN and RIBEIRO 1996) (цитирао RIBEIRO 2013), али је и даље задржан као основа од које се полази при идентификацији добијених изолата.

Прве молекуларне анализе су указале на одређене разлике међу врстама које припадају поједеним групама, а посебно су указале на постојање комплекса врста које су морфолошки сличне, а молекуларно, еколошки и по агресивности веома различите (RIBEIRO 2013). Детаљније молекуларне и филогенетске анализе су указале да предходна подела на морфолошке групе уведене од стране WATERHOUSE (1963) није природна и не представља праву поделу и праве везе међу врстама овог рода (COOKE *et al.* 2000; KROON *et al.* 2004, 2012; BLAIR *et al.* 2008; MARTIN *et al.* 2014). Истраживањима секвенци ITS региона великог броја изолата већине до тада познатих врста у циљу одређивања филогенетских односа међу њима, род *Phytophthora* је подељен на 8 различитих примарних група „clades“ (1-8), са још две додатне групе (COOKE *et al.* 2000). Следеће обимније истраживање које је спровео KROON *et al.* (2004) укључивало је два нуклеарна и два митохондријална гена, а резултати су уз веће или мање измене у расподели врста у одређене „clade“-ове потврдили истраживања COOKE *et al.* (2000) и постојање 10 индивидуалних група у оквиру рода *Phytophthora*. Такође, осврт на слична истраживања мањег обима и са непотпуним резултатима је приказан у BLAIR *et al.* (2008). Постојање ових 10 различитих група у оквиру рода *Phytophthora* је потврђено и у врло обимном истраживању BLAIR *et al.* (2008), који су анализирали седам једарних гена (28S rDNA, 60S rProtein L10, Beta-tubulin, Elongation factor 1 alpha, Enolase, Heat shock protein 90, TigA gene fusion protein) 82 врсте. KROON (2010) и KROON *et al.* (2012) су направили одличан осврт на већину до тада познатих врста и разврстали нове врсте у постојеће „clade“-ове. Такође, KROON (2010) је покушао и да окарактерише припаднике појединих група према њиховим главним еколошким карактеристикама и предложио модел разврставања који би поред филогенетских укључивао и еколошке особине.

Најобухватније мултилокус филогенетско истраживање до сада са укупно 11 коришћених гена су спровели MARTIN *et al.* (2014). Ова обимна студија је



укључивала укупно 166 изолата 92 различите врсте и 17 неформално описаних таксона и у овом истраживању су користили седам нуклеарних гена описаних код BLAIR *et al.* (2008) и додатна четири митохондријална гена (*cox2*, *nad9*, *rps10* *secY*) (MARTIN *et al.* 2014). Према добијеним резултатима у овом истраживању присуство 10 предходно издвојених група (*clades*) је потврђено уз издвајање додатне групе која је била блиска групи 1, али ипак значајно различита од постојећих група и која за сада садржи две врсте и то *P. quercina* и *P. sp. ohioensis* (MARTIN *et al.* 2014). Такође, YANG *et al.* (2014 а) описују две нове врсте од којих је *P. stricta* sp. nov. Yang, Copes and Hong образовала нови „clade“ у основи „clade“-ова 1-8, а *P. macilentosa* sp. nov. Yang, Copes and Hong је образовала кластер врста отпорних на високе температуре у оквиру у оквиру „clade“- а 9. Добијеним резултатима је дефинитивно доказано да филогенетски односи међу наведеним групама унутар рода *Phytophthora* немају никаквог поклапања са предходно дефинисаним морфолошким групама, на шта су указала и предходна истраживања (MARTIN *et al.* 2014).

### **1.3. Историјат проучавања врста из рода *Phytophthora***

Род *Phytophthora* је познат од 1845. године (формално описан 1876. године), када је описана прва врста *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary, узрочник пламењаче кромпира, која је изазвала велику глад 1844–1846. године и масовно расељавање становништва у Ирској (Irish feminy). Према RIBEIRO-у (2013), прве врсте после *P. infestans* које су описане у оквиру овог рода су биле *P. cactorum*, описана 1870. године, *P. phaseoli* Thaxter која је описана у Америци 1889. године, *P. nicotianae* Breda de Haarn (= *P. parasitica* Dastur) која је описана 1896. године и на крају *P. colocasiae* Raciborski, описана 1900. године и ово су биле све званично описане врсте у XIX веку. Такође, поред њих било је познато још неколико неформално описаних врста, подврста, варијетета и форми који су или касније званично описани или прикључени другим врстама, као што је приказано у ERWIN and RIBEIRO (1996). Према RIBEIRO-у (2013) до 2000. године је било познато око 60 врста, укључујући 58 врста наведених у капиталном делу о врстама из рода *Phytophthora*, објављеном 1996. године („*Phytophthora* Diseases

Worldwide“ by ERWIN and RIBEIRO, 1996), као и још две описане врсте до 2000. године и то *P. multivesiculata* Ilieva, Man in't Veld, Veenbaas-Rijks and Pieters и *P. quercina* Jung (ILIEVA *et al.* 1998; JUNG *et al.* 1999). Највећи скок у броју новооткривених врста се одиграо у последњих 14 година када је број свих познатих врста, укључујући и неформално описане таксоне практично више него дуплиран и износи преко 130 (ABAD *et al.* 2008; BRASIER 2009; NELSON and ABAD 2010; KROON 2010; JUNG *et al.* 2011; KROON *et al.* 2012; MARTIN 2013; YANG *et al.* 2014 a, b; MARTIN *et al.* 2014). Према ABAD (2014), род *Phytophthora* садржи 141 врсту. Узимајући у обзир велики раст новоописаних врста последњих година (60 врста до 2000. и преко 80 нових врста и таксона после 2000. године), претпоставља се да укупан број врста у оквиру овог рода може бити између 500 и 600 (BRASIER 2009). Према BRASIER *et al.* (2003), BRASIER (2009), JUNG *et al.* (2011), NECHWATAL *et al.* (2012), највећи број потенцијално нових врста лежи у ITS „clade“-у 6 (*sensu* COOKE *et al.* (2000) и KROON *et al.* (2004) у коме се налази велики број још увек неформално описаних таксона, укључујући *Phytophthora* taxon "Pg chlamydo" (*P. chlamydospora* Hansen *et al.*), taxon "oaksoil" (*P. obrutafolium* Hansen *et al.*) taxon (sp.) "hungarica" и taxone "sulawesiensis", "riversoil", "forestsoil", "walnut", "paludosa", "cranberry", као и недавно описану *Phytophthora lacustris* Brasier, Cacciola, Nechwatal, Jung and Bakonyi sp. nov., предходно познату као *Phytophthora* taxon "Salixsoil" и друге (BRASIER *et al.* 2003; JUNG *et al.* 2011; BAKONYI *et al.* 2012; KROON *et al.* 2012; NECHWATAL *et al.* 2012; HANSEN *et al.* 2014). Према доступним литературним изворима, једна од скорије описаних врста из овог рода је *Phytophthora pachypleura* sp. nov. Henricot, Pérez-Sierra and Jung, док је неколико нових врста и таксона у процесу описивања.

Постоји неколико разлога који донекле могу да објасне овај прави „бум“ у расту броја новоописаних врста. Прво, доступност нових молекуларних техника које су знатно олакшале детекцију и идентификацију нових врста, затим повећан број истраживача који се баве овом проблематиком и на крају велики број обимних студија широм неистраживаних природних и вештачких екосистема (YANG *et al.* 2013). Главни разлог за њихову широку дистрибуцију у свету су пораст међународне трговине и глобалне размене (EWANS and OSZAKO 2006; BRASIER 2008; SCOTT *et al.* 2013), као и уношење *Phytophthora* врста преко

зараженог садног материјала из расаданика у природне и вештачке екосистеме (BRASIER and JUNG 2006; PÉREZ-SIERRA and JUNG 2013).

Такође, веома леп приказ у напретку и развоју техника за детекцију и идентификацију *Phytophthora* врста, почевши од првих морфолошких анализа (ROSENBAUM 1917), преко комбинованих морфолошко-физиолошких, првих ДНК и филогенетских анализа па до најсавременијих молекуларних техника и секвенцирања следеће генерације (NGS), које се данас користе у раду са овим организмима, су приказали RIBEIRO (2013), THINES (2013) и MARTIN (2013).

## 2. ДОСАДАШЊА ИСТРАЖИВАЊА

Према Националној Инвентури шума, најзаступљеније лишћарске врсте у Србији по површини су буква (*Fagus sylvatica* L.) са 24% и храстови (цер, китњак, сладун и лужњак) са око 30% (БАНКОВИЋ *et al.* 2009). Пропадање стабала у различитим лишћарским шумама у Србији, а нарочито у шумама букве, храста лужњака и храста китњака (КАРАЦИЋ 2010) представља веома велики проблем у екосистемима где доминирају наведене врсте. Поред еколошких последица пропадња, овај феномен ће несумњиво утицати и на економске ефекте у шумарском сектору у Србији.

Пропадање хрстова у Србији и у Европи је озбиљан проблем који датира са почетка прошлог века и на овај проблем у бившој Југославији су указивали ШКОРИЋ (1926), МАНОЛЛОВИЋ (1926), ЂОРЂЕВИЋ (1926, 1927, 1930, 1931), ЈОСИФОВИЋ (1929), (цитирао КАРАЦИЋ 2010). У свим овим почетним студијама углавном се говори о спрези три главна фактора у пропадању хрстових шума и то губара (*Lymantria dispar* L.), пепелнице (*Microsphaera alphitoides* Grif. and Maubl.) и медњаче (гљиве из рода *Armillaria* spp.). У каснијим истраживањима током седамдесетих и осамдесетих година прошлог века, када се ово сушење интензивирало у појединим земљама и проширило на готово све европске земље, указано је и на неке нове факторе у пропадању стабала у хрстовим шумама, пре свега на промену климе и загађења, али и на болести које се развијају у спроводним судовима изазване гљивама из рода *Ophiostoma* spp. (ГОЛУБОВИЋ ЋУРГУЗ and KARADŽIĆ 2000; OSZAKO 2000; OSZAKO and DELATOUR 2000; ГОЛУБОВИЋ ЋУРГУЗ *et al.* 2014). На улогу *Armillaria* врста у пропадању различитих лишћарских и четинарских шума у Србији и Црној Гори, укључујући и хрстове указали су КЕЋА *et al.* (2009). Већина аутора је у последње време сагласна да се ради о комплексу фактора који учествују у овом процесу, па се посебна (главна) улога не може приписати ни једном од наведених фактора (КАРАЦИЋ *et al.* 2013).

Међутим, почетком деведесетих година прошлог века анализом кореновог система више европских хрстова примећен је знатан губитак финог корења и некрозе и трулеж на већем корењу (NÄVEKE and MEYER 1990; EICHHORN 1992), што је навело да се у више студија детаљно истражи земљиште ризосфере

најважнијих европских храстова, а што је довело до открића мноштва присутних врста из рода *Phytophthora*, које могу имати улогу у феномену пропадања храстових шума (JUNG *et al.* 1996, 1999, 2000; BALCI and HALMSCHLAGER 2003 a, b; VETTRAINO *et al.* 2002; JÖNSSON *et al.* 2003 a, b, 2005). *Phytophthora quercina* је један од најопаснијих патогена на храстовима и у повољним условима одговорна је за трулеж и губитак финог корења, некрозе и озледе на матичном корењу већине европских храстова (JUNG *et al.* 1999, 2000; JÖNSSON *et al.* 2003 a, b, 2005; JÖNSSON-BELYAZIO and ROSENGREN 2006).

Буква је за Србију веома важна врста, како са еколошког тако и са економског аспекта и учествује са 40,5% у укупној запремини и са 30,6% у запреминском прирасту шума у Србији (БАНКОВИЋ *et al.* 2009). У чистим и мешовитим буковим шумама у Србији, у последње три деценије су примећени различити процеси пропадања стабала, а главни узрочник овог феномена је ван сваке сумње била болест коре букве-„beech bark disease“ (MARINKOVIĆ and KARADŽIĆ 1985; КАРАЦИЋ 2010; КАРАЦИЋ 2012; KARADŽIĆ *et al.* 2012). Сматра се да су главни узрочници ове болести инсект *Cryptococcus fagisuga* Lind. и колонизација места озлеђених инсектима са гљивама из родова *Neonectria* и *Nectria*, посебно са *Neonectria coccinea* (Pers.) Rossman and Samuels.

Међутим, у неким истраживањима о пропадању букве у Европи и Америци указано је и на неке друге потенцијалне факторе који могу бити умешани у овај феномен, нарочито на представнике из класе *Oomycetes*. Наиме, из некротираних ткива и из земљишта ризосфере у буковим шумама изолован је већи број *Phytophthora* врста и после идентификације и тестова патогености указано је на њихову улогу у комплексу фактора узрочника пропадања стабала букве (BRASIER *et al.* 2005; JUNG *et al.* 2005; JUNG 2009; JUNG and BURGESS 2009; HARTMANN *et al.* 2006; ORLIKOWSKI *et al.* 2006; SCHMITZ *et al.* 2007; WEILAND *et al.* 2010; FLEISCHMANN *et al.* 2002, 2004; PORTZ *et al.* 2011. Према JUNG (2009) и JUNG and BURGESS (2009) *Phytophthora plurivora*, предходно позната као *Phytophthora citricola*, тачније као део комплекса ове врсте, је једна од најчешћих врста из овог рода која се јавља у буковим шумама у Европи и Северној Америци, а одмах за њом долази *P. cambivora* и друге врсте (JUNG *et al.* 2005; JUNG 2009; JUNG and BURGESS 2009; HARTMANN *et al.* 2006; WEILAND *et al.* 2010).

Подаци о присуству *Phytophthora* врста у различитим шумским екосистемима у Србији су веома оскудни или недостају, иако су почетком протекле деценије *Phytophthora citricola* (= *P. plurivora*) и *P. quercina* забележене у неким храстовим шумама, посебно у шумама китњака у Србији (GLAVENDEKIĆ and MEDAREVIĆ 2010). Такође, MILENKOVIĆ and KEČA (2010) и MILENKOVIĆ *et al.* (2011 a, b, c; 2012 a, b; 2013; 2014) наводе присуство више *Phytophthora* врста у различитим природним и урбаним екосистемима. Такође, Булајић и сарадници су 2008. забележили *Phytophthora ramorum* на *Rhododendron* spp. и *Pieris* spp. у урбаним срединама (BULAJIĆ *et al.* 2008), затим су RADULOVIĆ *et al.* (2012) и РАДУЛОВИЋ (2013) неке припаднике овог рода уврстили међу најчешће узрочнике болести дивљега (*Aesculus hippocastanum* L.) и питомог кестена (*Castanea sativa* L.).

### 3. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ

Узимајући у обзир велике еколошке и економске ризике по шумарство и биодиверзитет које присуство *Phytophthora* врста носи, затим недостатак информација о присуству и дистрибуцији ових патогена, као и површину коју чине лишћарске шуме у шумском фонду Србије, циљеви ове дисертације су били да се:

- (i) утврди присуство *Phytophthora* врста у лишћарским шумама у Србији;
- (ii) изолују, морфолошки и молекуларно идентификују главне врсте;
- (iii) утврди веза између забележених симптома и изолације *Phytophthora* врста;
- (iv) одреде главни домаћини и распрострањење главних изолованих *Phytophthora* врста;
- (v) утврде сличности и разлике између парова домаћина и локалитета на којима су изоловане *Phytophthora* врсте;
- (vi) утврде сличности и разлике између различитих шумских састојина, плантажа и вештачки подигнутих састојина, паркова и зелених површина у односу на заступљеност различитих *Phytophthora* врста;
- (vii) утврди присуство *Phytophthora* врста кроз земљишни профил на локалитетима са постављеним пиезометарским станицама;
- (viii) да се кроз тестове патогености провери потенцијална улога најчешће изолованих врста у сушењу и пропадању стабала китњака, лужњака и букве у Србији.

На основу напред наведеног, тестиране су следеће хипотезе:

- (i) Врсте из рода *Phytophthora* су присутне у различитим лишћарским, шумским екосистемима у Србији и могу се наћи на корену, у земљишту ризосфере, у некротичним ткивима различитих домаћина као и у водотоцима и влажним деловима шума;

- (ii) присутно је више врста из рода *Phytophthora*, чија се појава и распрострањење разликују у односу на посматрану врсту овог рода, биљку домаћина и биљну заједницу у којој се јавља;
- (iii) постоји јака веза између забележених симптома и изолације *Phytophthora* врста испод симптоматичних домаћина;
- (iv) шуме храста лужњака (*Quercus robur* L.) са својим хигрофилним пратиоцима су станишта највећег броја различитих врста ових патогених организама;
- (v) не постоји значајна разлика између букве и китњака у погледу броја добијених изолата и изолованих врста, узимајући у обзир да се већина типова шума ових домаћина преплиће и наслања једно на друго;
- (vi) *Phytophthora* врсте су поред површинског, присутне и у дубљим слојевима у земљишном профилу на одабраним локалитетима на подручју Доњег Срема;
- (vii) изолати *Phytophthora* врста из Србије могу да инфицирају изложена дрвна ткива живих биљака и избојака и да проузрокују некрозе различите дужине у зависности од тестиране врсте патогена и домаћина;
- (viii) изолати *Phytophthora* врста из Србије могу да инфицирају корење и да проузрокују оштећења кореновог система на садницама инокулисаним преко земљишта у контролисаним условима.



## 4. САКУПЉАЊЕ УЗОРАКА, ИЗОЛАЦИЈА И МОРФОЛОШКА ИДЕНТИФИКАЦИЈА

### 4.1. Материјал и методе

#### 4.1.1. Локалитети истраживања

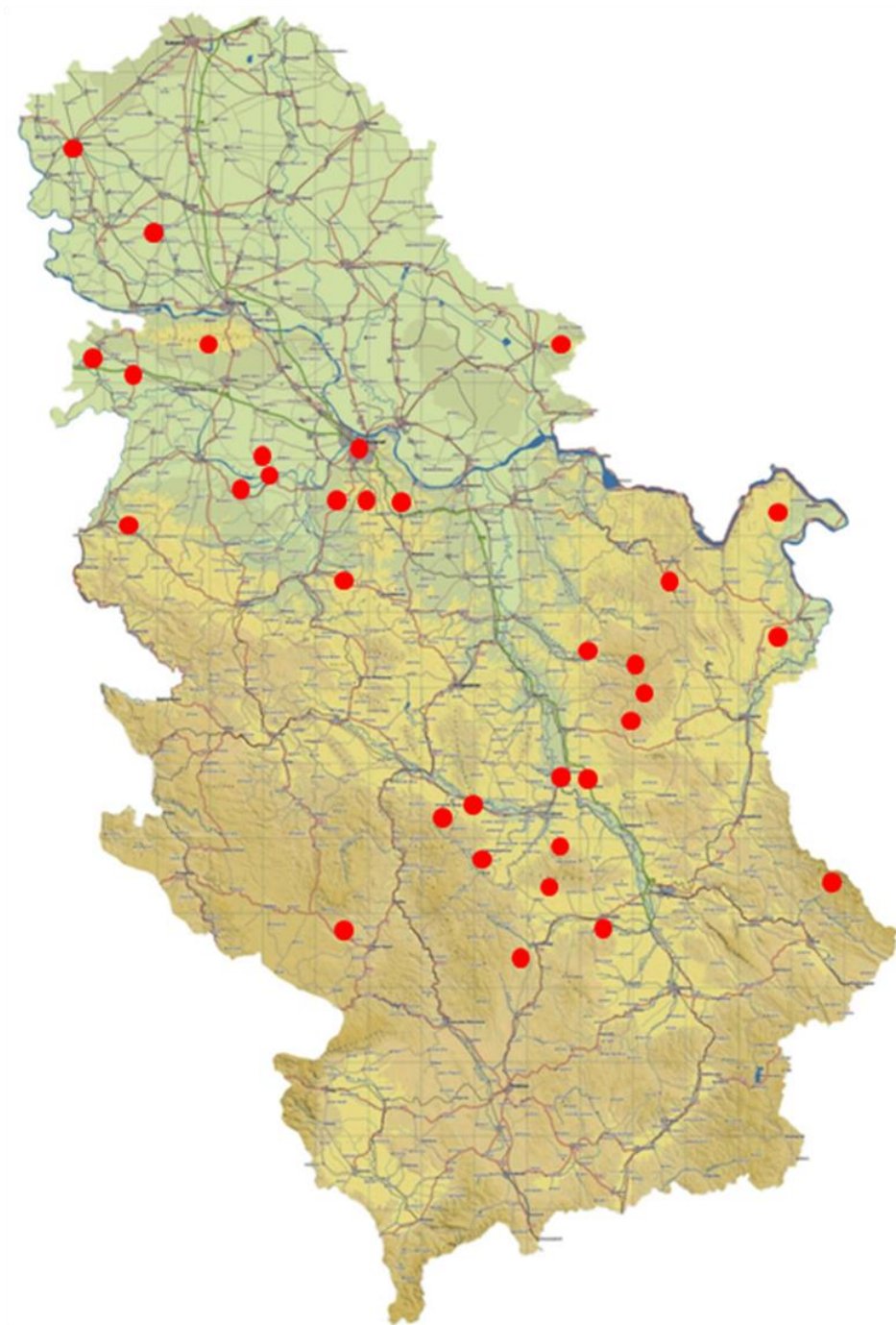
Истраживање *Phytophthora* врста у различитим екосистемима у Србији је спроведено између 2009. и 2014. године. Локалитети истраживања су случајно изабрани и обухватају различите екосистеме у Србији са нагласком на узорковање што више различитих и најважнијих домаћина у лишћарским шумама. Такође, задатак је био и да се изврши узорковање кроз све лишћарске комплексе шума у Србији.

Сакупљање узорака на стаништима храста лужњака са јасеном и другим хигрофилним пратиоцима је вршено у Сремском шумском подручју. У оквиру алувијално-хигрофилних шума, сакупљање узорака је вршено дуж река Дунава, Саве и Мораве. У шумама сладуна и цера, узорци су сакупљани на подручју централне Србије где ове врсте граде климатогену заједницу, као доминантне типове шума у Србији (ЈОВИЋ *et al.* 1991). Узорци из шума китњака су сакупљани на подручју НП „Фрушка Гора“, затим источне, централне и јужне Србије где ова врста гради доминантна и мешовита станишта. Узимајући у обзир велику распрострањеност букових станишта у Србији, она су узоркована на различитим локалитетима и надморским висинама, идући од мешовитих шума букве и храстова, преко чистих букових шума до мешовитих буково-четинарских шума.

Приликом теренског дела истраживања и сакупљања узорака, нагласак је био на напред наведене екосистеме и узорковани су домаћини како у шумама којима газдују јавна предузећа, тако и у шумама приватних власника. Такође, код узорака из шума није стављан нагласак на порекло шуме (висока или ниска), већ су сви узорци третирани као узорци из шумских састојина.

Локалитети истраживања су приказани на слици 1, а листа узетих узорака са детаљнијим описом локалитета је приказана у прилогу А. Такође, узорковане су и вештачки подигнуте састојине и шумске плантаже лишћара (прилог Б). Због

свог значаја за ширење ових патогених врста у различите природне екосистеме, узорковано је и неколико расадника који производе различите лишћарске и четинарске врсте (прилог В), а сакупљање је вршено и у различитим парковским и урбаним срединама и приватним баштама (прилог Г).



**Слика 1.** Локалитети у Србији на којима је вршено сакупљање узорака  
**Figure 1.** Localities in Serbia where the collecting of samples was done

#### 4.1.2. Сакупљање узорака и изолација

##### 4.1.2.1. Припремање подлоге за изолацију и чување култура и лабораторијске пробе метода за изолацију

Пре почетка рада на сакупљању узорака и изолацијама, у лабораторији су на основу консултоване литературе вршене пробе изолација помоћу различитих техника ради утврђивања најподесније методологије за будуће изолације. Узимајући у обзир сложеност животног циклуса ових организама, потребно време за изолације и цену селективне подлоге, као и велику осетљивост и лако „губљење“ ових организама, усавршавање техника и метода изолације, чувања и идентификације добијених изолата се намеће као веома важан део у истраживању *Phytophthora* врста.

Прво је вршено припремање горе поменуте специјалне селективне подлоге према методологији JUNG *et al.* (1996) и то на следећи начин: 800 ml/l дестиловане воде је помешано са 200 ml/l V8 сока (сок припремљен од минимално 8 различитих врста поврћа (Biotta<sup>®</sup>, Swiss), а овој мешавини је додавано 20 g/l агара (Торлак, Србија) и 3 g/l CaCO<sub>3</sub>; после 20 минута аутоклавирања на 120°C и хлађења до на око 50°C, овој мешавини је додавано 10 mg/L pimaricin-a, 200 mg/L ampicillin-a, 10 mg/L rifampicin-a, 25 mg/L pentachloronitrobenzene-a (PCNB), 50 mg/L nystatin-a и 50 mg/L hymexazol-a (TSAO 1983, цитирали JUNG *et al.* 1996). Ова подлога је селективна према врстама из рода *Phytophthora* и има задатак да подстакне раст колонија овог рода, а да заустави раст осталих организама укључујући праве гљиве и бактерије. Она не може потпуно да заустави раст главних конкурената, врста рода *Pythium* (Jung, лична комуникација), већ га привремено успорава услед дејства тахигарена (Tachigaren/Hymexazol), што омогућује пресејавање врхова хифа на свежу подлогу.

Пробне изолације су вршене уз помоћ различитих техника, укључујући директно постављање ткива и коренчића на подлогу, изолације из земље и коренчића помоћу воћа (јабукe и лимун), изолације из земље и коренчића помоћу мамака (ERWIN and RIBEIRO 1996; JUNG *et al.* 1996; JUNG 2009). Како је метод мамака, поред метода директне изолације, један од најчешће коришћених и

најчешће описиваних у литератури (JUNG *et al.* 1996, 2000, 2002, 2005, 2011; JUNG 2009) то је на њега обрађена посебна пажања. На основу добијених резултата прелиминарних проба и консултоване литературе, одабрана су два основна метода за изолацију *Phytophthora* врста у Србији и то метод директног постављања некротичних ткива на селективну подлогу и метод мамака (JUNG *et al.* 1996; JUNG 2009), а младо лишће је коришћено за припрему мамака.

Пречишћавање, идентификација и чување култура су вршени на неколико типова подлога укључујући: Малц-екстракт-агар (MEA), припремљену са 48 g/l малц екстракт агара (MERCK, Germany); Кромпир-декстроза-агар (PDA), припремљену са 39 g/l кромпир декстроза агара (MERCK, Germany); Шаргарепа-агар (CA), припремљену са 900 ml/l дестиловане воде, 100 ml/l свежег органског сока од шаргарепе (Biotta<sup>®</sup>, Swiss), 20 g/l агара и 3 g/l CaCO<sub>3</sub> (JUNG and NESHWATAI 2008); V8-агар подлогу припремљену са 900 ml/l дестиловане воде, 100 ml/l V8 сока (сок припремљен од минимално 8 различитих врста поврћа (Biotta<sup>®</sup>, Swiss), 20 g/l агара и 3 g/l CaCO<sub>3</sub> (Jung *et al.* 1996); Шљивин агар (Prune-juice-agar-PJA), припремљен са 800 ml/l дестиловане воде, 200 ml/l воденог екстракта органских сувих шљива, 3 g/l CaCO<sub>3</sub> и 18 g/l агара (PARTRIDGE-METZ and CHANDRA 2011).

#### 4.1.2.2. Сакупљање, припрема узорака и изолација *Phytophthora* врста

Узорци су сакупљани према познатој и предходно веома добро описаној методологији (JUNG *et al.* 1996, 2000; JUNG 2009; REESER *et al.* 2011). Сакупљани су узорци некротичних ткива из различитих симптоматичних биљних делова, супстрата око кореновог система, узорци стајаће воде у појединим састојинама и узорци воде из различитих водотокова који пресецају истраживане састојине.

Узорци некротичних ткива су узимани на различите начине у зависности од домаћина и места некротичног ткива на деблу. Током сакупљања су коришћени секира, скалпел и зумба (слика 2) предходно стерилисани у 70% алкохолу. Узорци су на терену паковани у стерилне пластичне кесе или у пластичне тегле запремине 0,5 и 1 l, предходно стерилисане у 70% алкохолу па

испирани дестилованом водом. За узорке мањих димензија који су узимани помоћу зумбе, коришћене су стерилне бочице запремине 50 ml.



**Слика 2.** Узимање узорка некротичних ткива: А- са јавора уз помоћ секире;

Б- са храста уз помоћ секире; В-Г- са букве уз помоћ секире и зумбе

**Figure 2.** Taking of necrotic tissue samples: А- from maple with ax;

Б- from oak with ax; В-Г- from beech with ax and cork borer

Узорци узети из некротираних ткива су најпре испирани у дестилованој води (JUNG 2009). Испрани узорци су сушени на стерилној филтер хартији или стерилним кухињским убрусима, сечени на мање делове приближних димензија  $5 \times 5 \times 5$  mm и то скалпелом стерилисаним у 70% алкохолу и на отвореном пламену, а затим постављани директно на селективну хранљиву (агар) подлогу (V8A-PARPNH) (JUNG 2009).



Супстрат заједно са финим корењем је сакупљан у виду земљишних блокова приближних димензија 25×25×25 cm (слика 3 и 4) и то 3 до 4 таква блока по стаблу који су мешани, а затим је део те мешавине пакован у пластичне кесе запремине 10 l у којима је транспортован у лабораторију. Вода је сакупљана помоћу пластичних боца запремине 1 l, које су предходно стерилисане 70% алкохолом и испране у дестилованој води.



**Слика 3.** Узорковање земље и корена и изглед блока испод стабла храста  
**Figure 3.** Sampling of soil and roots and shape of block under the oak trees



**Слика 4.** Узорковање земље и корена и изглед блока испод стабла букве  
**Figure 4.** Sampling of soil and roots and shape of block under the beech trees

Изолација врста из рода *Phytophthora* је вршена помоћу такозване методе мамака (JUNG *et al.* 1996; JUNG 2009). Узорци земље са сваког појединачног стабла су у лабораторији додатно мешани, а затим је одмеравано око 300-500 gr земље и постављано у чисте пластичне посуде после чега је извршено плављење земље дестилованом водом и то у нивоу од 1,5 - 2 cm од површине земље (слика 5). После плављења површина воде је пречишћавана папирним убрусима ради уклањања ситних комада органског материјала који су пливали по површини (слика б), а који могу да спрече инфекције лишћа или пак да буду носиоци неких других, најчешће сапрофитских организама из органског слоја земљишта, који нису били предмет ових истраживања (Jung, лична комуникација).



**Слика 5.** Изглед припремљене земље после плављења  
**Figure 5.** Prepared soil and water after flooding



**Слика 6.** Изглед припремљене земље после чишћења површине воде  
**Figure 6.** Prepared soil after cleaning of water surface

У случајевима када је органског материјала било превише у узорку, коришћене су специјалне перфориране траке, приручно направљене сечењем мреже за комарце на потребне димензије (Jung, лична комуникација) или је коришћен систем посуда са дуплим дном и стерилном газом између њих, приручно направљен према ERWIN and RIBEIRO (1996).



**Слика 7.** Постављено лишће по површини чисте воде  
**Figure 7.** Plated leaves at the surface of clean water



**Слика 8.** Постављено лишће при мамчењу болесних биљака  
**Figure 8.** Plated leaves during the baiting of diseased plants

По таложењу материјала који је био у суспензији после плављења и пречишћавања, по површини бистре воде је постављано младо лишће (слика 7 и 8) које је служило као мамци за ослобођене зооспоре из зооспорангија насталих клијањем полних ооспора или бесполних структура у земљишту. За мамке је

коришћено младо лишће храста, букве и ловорвишње које је постављано по површини воде и праћено до појаве првих некротичних пега.



Слика 9. Некротичне пеге на мамцима настале инфекцијама са *Phytophthora* spp.

Figure 9. Necrotic spots on baits caused by infections with *Phytophthora* spp.

После појаве некротичних пега на површини лишћа (слика 9), оне су прво посматране под светлосним микроскопом ради утврђивања присуства карактеристичних спорангија у некротичном ткиву, затим су ови некротирани делови асептички одвајани скалпелом (слика 9) и постављани на поменућу селективну-агар подлогу (V8A-PARPNH), а инкубација је вршена на 22-25°C у мраку.

Изолације из сакупљене воде, као и пробе са болесним биљкама (слика 8) су такође вршене према горе описаној методи мамака.



Селективна подлога инокулисана са деловима некротичног ткива и лишћа, је свакодневно праћена лупом или бинокуларним микроскопом до појаве првих хифа када су исте стерилном миколошком езом пресејаване на свежу СА подлогу.

#### *4.1.2.3. Пречишћавање и чување култура*

Изолати су пречишћавани помоћу такозване методе палачинке - „*pancake method*“ (Jung, лична комуникација) и то на начин да је скалпелом или лабораторијском езом, стерилисаним у 70% алкохолу, па спаљиваним на отвореном пламену, са једног краја подизан агар у петри шољама и испод њега постављан комадић агара са мицелијом. Инкубација је вршена на 22-25°C у мраку. Појава првих хифа је праћена лупом или бинокуларним микроскопом, и после појаве врхова првих хифа, оне су стерилисаном лабораторијском езом пресејаване на свежу СА подлогу.

Овако третиране чисте културе свих изолата су пресејаване на три типа подлоге, кромпир-декстроза-агар (PDA), шаргарепа-агар (СА) и малц-екстракт-агар (MEA) подлогу ради чувања добијених изолата. Изолати су после пар дана на собној температури проверавани ради утврђивања нормалног развоја свих култура, а затим су остављани да се развијају на собној температури од 22-25°C у наредне три до четири недеље, после чега су паковани у фрижидер на температури од 8-12°C ради чувања. Пресејавање изолата на нову подлогу је вршено сваких 4-6 месеци, узимајући у обзир да ови организми захтевају чешће пресејавање у односу на праве гљиве (MUNTANOVA-CVETKOVIĆ 1990). Такође, забележен је случај да су неки изолати, чувани у фрижидеру на шаргарепа-агар подлози задржали виталност чак и преко две године без пресејавања.

#### 4.1.3. Морфолошка идентификација и анализе пораста изолата

##### *4.1.3.1. Развијање, посматрање и мерење полних и бесполних структура*

Сви изолати су пресејани на „пречишћену“ шаргарепа-агар подлогу и инкубација је вршена на 22-25°C у мраку. Подлога је разливана у нешто мањим

количинама и то 15-18 cm<sup>3</sup> по петри посуду ради повећања провидности подлоге при каснијим микроскопским операцијама. Паралелно је припремљен нестерилни земљишни раствор према ERWIN and RIBEIRO (1996). После 3-5 дана раста или до испуњавања приближно половине петри шоље мицелијом гљиве, са ивице младе колоније су узимани делови агара приближне величине 1×1-1,5×1,5 cm и постављани у чисте петри шоље. Ови комади агара са мицелијом су плавлени са нестерилним земљишним раствором ради иницијације и стимулације образовања типичних спорангија. Нестерилни земљишни раствор је мењан са дестилованом водом после чега је приступљено микроскопији препарата (JUNG and BURGESS 2009).

Посматрање полних ооспора, антеридија, оогонија, бесполних хламидоспора, положаја, изгледа, задебљања и украса хифа је вршено на изолатима гајеним на три типа подлоге (СА, V8А и MEА), такође разливаним у нешто мањој количини него при уобичајеном разливању које износи 18-20 cm<sup>3</sup> по петри посуду. Инкубација је вршена на 22-25°C у мраку, а после 3-4 недеље инкубације, узимани су делови агара са мицелијом и постављани на предметно стакло ради микроскопије.

Полне и бесполне структуре, типичне за врсте из рода *Phytophthora* су посматране под светлосним микроскопом (CETI<sup>®</sup>MAGNUM-T/Trinocular Microscope, UK), на увељичању ×400 и мерене са камером Si3000<sup>®</sup> (UK) и софтвером XliCap<sup>®</sup> (UK) у Фитопатолошкој лабораторији на Универзитету у Београду-Шумарском факултету. Део изолата је обрађен у Фитопатолошкој лабораторији Института за Шумарство (Forest Research Institute-IBL) у Пољској на микроскопу ZEISS Axioskop 2, опремљеног са Nikon Ds-fi1 камером и најновијим NIS Elements AR4<sup>®</sup> софтвером. Све измерене вредности посматраних структура су статистички обрађене у програму STATISTICA<sup>®</sup> (ver. 8) (StatSoft, Inc., Tulsa, OK.).

Забележене структуре су поређене са познатим кључевима за идентификацију *Phytophthora* врста (WATERHOUSE 1963, 1970; STAMPS *et al.* 1990; НОВОТЕЉНОВА 1974; ERWIN and RIBEIRO 1996), као и са подацима из скоријих оригиналних радова у којима су описане поједине врсте (JUNG *et al.* 1999, 2002, 2011; BRASIER *et al.* 2003; 2004; 2005; BELBAHRI *et al.* 2006; MAN IN'T VELD *et al.*

2007, 2012; JUNG and NECHWATAL 2008; JUNG and BURGESS 2009; HONG *et al.* 2011; NELSON and AVAD 2010; AGHIGHI *et al.* 2012; NECHWATAL *et al.* 2012 и други).

Такође, део добијених изолата је упоређиван и са предходно идентификованим врстама које нам је са великом љубазношћу уступио Prof. Dr Leszek Orlikowski и његово особље са „Institute of Floriculture and Pomology“, Skierniewice, Пољска.

#### *4.1.3.2. Одређивање карактеристика колонија*

За сврхе одређивања карактеристика колонија, изолати су пресејавани на пет различитих, раније описаних хранљивих подлога, укључујући СА, PDA, MEA, V8-А и PJA. Инкубација пресејаних изолата је вршена на две температуре и то 20 и 25°C у мраку. Главне карактеристике колонија су одређиване после 5-7 дана раста, укључујући изглед ивице колоније, облик и боју колоније и положај хифа у колонији и то према методологији (HALL 1993; ERWIN and RIBEIRO 1996; BRASIER *et al.* 2003; JUNG *et al.* 2002, 2003).

#### *4.1.3.3. Анализе пораста изолата*

Одређивање брзине пораста на различитим температурама је вршено према прилагођеној методологији HALL (1993). Са ивице младе колоније (СА) после инкубације на око 25°C у мраку, изолати су помоћу кружног шаблона пречника 6 mm пресејавани на нову СА подлогу и то сваки изолат на три нове петри шоље и остављани да расту 24 часа на око 25°C у мраку. Изолати су затим постављани на унапред задате различите температуре (5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35°C) и остављани да се прилагоде на дате температуре у наредна 24 часа. Петри шоље су на дну обележаване постојаним 0,5 маркером са две управне линије (слика 10 и 11) и пораст мицелије је бележен челичном иглом после свака, наредна 24 часа раста током 5 дана или до испуњавања петри шоље са мицелијом гљиве.



Слика 10 и 11. Петри шоље обележене на дну са две управне линије припремљене за мерење после инкубације на различитим температурама

**Figure 10 and 11.** Petri dishes marked with cross lines at the bottom and prepared for measuring after the incubation on different temperatures

Вредности су уношене у унапред припремљене Excel табеле, после чега су у програму *STATISTICA*<sup>®</sup> (ver. 8) (StatSoft, Inc., Tulsa, OK.) рачунате просечне вредности и одређиване кардиналне вредности температуре и брзина пораста на различитим температурама.

#### 4.1.3.4. Тестови спаривања са познатим A1 и A2 тестер изолатима

Изолати код којих током морфолошке идентификације није регистровано образовање полних елемената (антеридије и оогоније) су спаривани са тестер изолатима са унапред одређеним и познатим типом спаривања, према познатој процедури (ERWIN and RIBEIRO 1996).

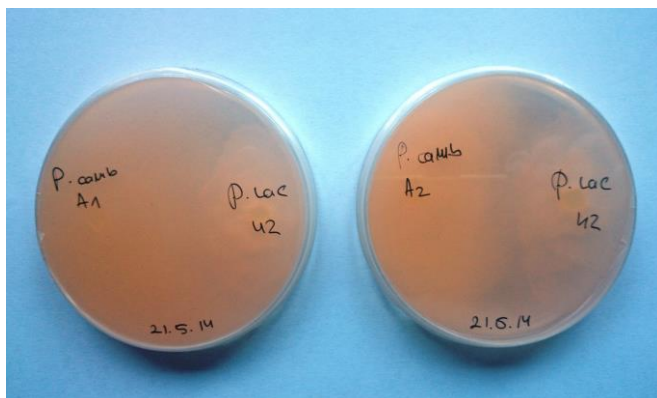
**Табела 1.** Тестер изолати, коришћени за потребе тестова спаривања

**Table 1.** Tester isolates, used for the purposes of mating tests

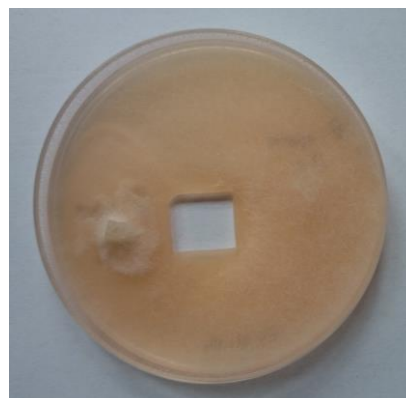
<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora</i> species	Шифра изолата Code of isolate	Тип спаривања Mating type
<i>P. cambivora</i>	BBA 21/95-KII	A1
	BBA 20/95-2bIII	A2
<i>P. cinnamomi</i>	BBA 69094	A1
	BBA 62660	A2
<i>P. cryptogea</i>	BBA 65909	A1
	BBA 63651	A2
<i>P. drechsleri</i>	BBA 65172	A1
	BBA 62679	A2

Тестер изолати (табела 1) су добијени од Dr Sabine Werres, Julius Kühn-Institute, JKI, Messeweg 11/12, D-38104 Braunschweig, Germany.

Све одабране културе заједно са тестер изолатима су пресејане на свежу СА подлогу, а инкубација је била на 22-25°C у мраку. Сваки одабрани изолат је пресејаван на један крај Петри шоље, док је на други крај пресејаван по један познати тип спаривања (A1 и A2) коришћених врста тестер изолата (слика 12). Инкубација је вршена на 22-25°C на дневном светлу у фитопатолошкој лабораторији на Универзитету у Београду-Шумарском факултету. После 3-4 недеље инкубације, делови агара са мицелијом приближне величине 1,5×1,5 cm су скалпелом узимани са места контаката две укрштене колоније (слика 13) и посматрани под светлосним микроскопом на увећању ×400.



**Слика 12.** Укрштање одабраног изолата *P. lacustris* са A1 и A2 тестерима *P. cambivora*  
**Figure 12.** Mating test of chosen *P. lacustris* isolate with A1 and A2 testers of *P. cambivora*



**Слика 13.** Узимање мицелије на месту контакта ради микроскопије  
**Figure 13.** Taking of mycelium at the contact place for microscoping

Образоване оогоније, антеридије и ооспоре су мерене и бележене при чему је одређиван тип спаривања у односу на појаву антеридија и оогонија у различитим комбинацијама укрштања. Изолати код којих није забележена појава антеридија и оогонија после четири недеље инкубације су у комбинацији са осталим морфолошким параметрима вођени као стерилни.

## 4.2. Резултати

### 4.2.1. Локалитети истраживања

Истраживање и сакупљање узорака је вршено на укупно 33 локалитета (слика 1). Сакупљање узорака у шумским састојинама је вршено на 32 локалитета, у вештачки подигнутим састојинама и плантажама на пет локалитета, у расадницима такође на пет локалитета, а у парковима и зеленим површинама на једном локалитету. Детаљнија листа локалитета и списак сакупљених узорака са њиховим пореклом и позитивним и негативним изолацијама за шуме, плантаже и вештачки подигнуте састојине, расаднике, паркове и зелене површине су приказани у табелама у прилозима А, Б, В и Г.

Када се говори само о шумским састојинама и плантажама, без паркова и расадника, укупно је узорковано 109 различитих састојина на 32 локалитета (табела 2). Од укупно 81 састојине из којих су изоловане врсте из рода *Phytophthora*, 65 је било са симптомима, док је 16 састојина било без видљивих симптома (табела 2).

**Табела 2.** Локалитети и број узоркованих различитих шумских састојина и позитивних на присуство врста из рода *Phytophthora*

**Table 2.** Localities and number of different sampled forest stands and positive on the presence of *Phytophthora* species

Број Num.	Локалитет Locality	Број узоркованих састојина Number of sampled stands	Број састојина позитивних на присуство <i>Phytophthora</i> врста Number of stands positive on the presence of the <i>Phytophthora</i> species		
			Укупно Total	Са симптомима With symptoms	Без симптома Without symptoms
1	Авала	4	3	3	0
2	Београд	4	3	2	1
3	Блаце	1	1	1	0
4	Брус	1	1	1	0
5	Бубањ Поток	4	3	2	1
6	Деспотовац (Винатовача)	1	1	1	0
7	Вишњићево	6	6	6	0
8	Вршац	3	2	2	1
9	Гоч	2	1	4	1
10	Дебели Луг	5	3	2	1
11	Јаворак	1	1	1	0
12	Крушевац (Јастребац)	5	3	2	1
13	Јужни Кучај II	4	2	2	0
14	Јужни Кучај Богојево I	8	4	2	2

**Табела 2.** Наставак

**Table 2.** Continuation

15	Кленак	9	9	8	1
16	Купиново	9	9	7	2
17	Куршумлија	1	1	1	0
18	Лазаревац	2	2	1	1
19	Липовица	3	2	1	1
20	Лозница (Борања)	1	1	0	1
21	Моровић	8	3	3	0
22	Нови Пазар	5	3	3	0
23	Обедска Бара	1	1	1	0
24	Прокупље	1	0	0	0
25	Ристовача	1	1	1	0
26	Сталаћ	2	2	1	1
27	Јужна морава (Ушће)	1	1	1	0
28	Тимочка Крајна	1	1	1	0
29	Стара Планина	1	1	0	1
30	Трстеник	7	4	4	0
31	НП Фрушка Гора	7	6	6	0
32	НП Ђердап	1	0	0	0
Укупно Total		109	81	65	16
p				p=0.999	p=0.732

p- вероватноћа да нема разлике између очекиваних и добијених вредности позитивних узорака међу истраживаним локалитетима заснована на  $\chi^2$  квадрат тесту;

p- probability that there is no difference between expected and obtained values of positive samples between the studied localities, based on Chi square test;

#### 4.2.2. Сакупљање узорака и изолација *Phytophthora* врста

Укупно је сакупљено 432 узорка и то 319 из различитих шумских састојина, 49 узорака из плантажа и вештачки подигнутих састојина, 17 узорака из расадника и преосталих 47 узорака је сакупљено у различитим парковским и зеленим површинама (табела 3). Листа свих сакупљених узорака са њиховим детаљима, узоркованим домаћинима и добијеним изолатима су приказани у табелама у прилозима А, Б, В и Г.

После изведених тестова изолације укупно 240 узорака (56%) је било позитивно (табела 3). У шумским састојинама је било позитивно 177 узорака (56%) при чему је добијено 253 изолата. Код шумских плантажа и вештачки подигнутих састојина позитивно је било 36 узорка (73%) са 78 добијених изолата, код расадника 6 узорака (35%) је било позитивно са 20 изолата, док је у случају паркова и зелених површина 21 узорак (45%) био позитиван са 27 добијених изолата (табела 3).

**Табела 3.** Број сакупљених и позитивних узорака из различитих објеката истраживања

**Table 3.** Number of taken and positive samples from different studied objects

Објекат истраживања Studied objects	Сакупљено узорака Taken samples	Позитивно узорака Positive samples	Добијено изолата Obtained isolates	% добијених изолата % of obtained isolates
Природне састојине Natural stands	319	177	253	67
Вештачки подигнуте састојине и плантаже Artificially established stands and plantations	49	36	78	21
Расадници Nurseries	17	6	20	5
Паркови и зелене површине Parks and green areas	47	21	27	7
Укупно Total	432	240	378	100

Према пореклу, сакупљено је 336 узорка земље и земље са финим и матичним корењем и из ових узорака 192 (57%) су била позитивна са различитих домаћина, при чему је добијено 304 изолата (табела 4). Из 48 узорака некротичних ткива, позитивно је било 17 (~35%), при чему је добијено 24 изолата (табела 4). Од 48 сакупљених узорака воде и влажне земље, позитивно је било 31 (64%) и добијено је 50 изолата и то само из узорака сакупљених у шумама и вештачки подигнутим састојинама и плантажама (прилог А и Б).

Укупно је идентификовано 14 различитих врста и њихове морфолошке и молекуларне карактеристике ће детаљно бити описане у наставку. Такође, добијено је и мноштво изолата који су изгубљени или су међувремену изгубили виталност, па њихова идентификација није била могућа и они су обележени као *Phytophthora* spp. Присуство *P. syringae* (Klebahn) Klebahn је потврдио Dr Thomas Jung и она је уврштена као 15. изолована у нашој земљи.



Најчешће изолована врста је била *P. plurivora* (165), а затим долазе *P. lacustris* (32), *P. cactorum* (22), *P. gonapodyides* (19), *P. quercina* (19), *P. polonica* (16) и друге врсте (табела 4).

**Табела 4.** Учесталост изолације појединих *Phytophthora* врста у Србији према пореклу

**Table 4.** Frequency of isolation of different *Phytophthora* species in Serbia according to origin

Број Num.	Врста Species	Порекло изолата Origin of isolates				Укупно Total	% добијених изолата % of obtained isolates
		Земља и корене Soil and roots	Некротична тквива Necrotic tissues	Вода и влажна земља Water and mold			
1	<i>P. cactorum</i>	18	0	4	22	5,81	
2	<i>P. cambivora</i>	7	1	0	8	2,1	
3	<i>P. citricola</i>	1	0	0	1	0,3	
4	<i>P. citrophthora</i>	1	1	0	2	0,53	
5	<i>P. cryptogea</i>	4	0	0	4	1	
6	<i>P. europaea</i>	3	0	0	3	0,8	
7	<i>P. gonapodyides</i>	11	0	8	19	5	
8	<i>P. lacustris</i>	24	0	8	32	8,5	
9	<i>P. pini</i>	12	0	0	12	3,2	
10	<i>P. plurivora</i>	132	16	17	165	43,7	
11	<i>P. polonica</i>	16	0	0	16	4,23	
12	<i>P. quercina</i>	18	0	1	19	5	
13	<i>P. syringae</i>	3	0	0	3	0,8	
14	<i>P. taxon 'pg chlamydo'</i>	0	0	2	2	0,53	
15	<i>P. ×serendipita</i>	5	0	0	5	1,3	
16	<i>P. spp.</i>	49	6	10	65	17,2	
<b>Укупно Total</b>	<b>15</b>	<b>304</b>	<b>24</b>	<b>50</b>	<b>378</b>	<b>100</b>	
	<b>p<sup>a</sup></b>	p=0.980	p=0.214	<b>p=0.001</b>			

p<sup>a</sup>- Вероватноћа да нема разлике између броја изолата унутар колона према Хи квадрат тесту;

p<sup>a</sup>- Probability that there is no difference of number of isolates inside the columns, based on Chi squ. test.

Такође, током изолације врста из рода *Phytophthora*, добијено је и више *Pythium* spp., *Phytopythium* spp. и изолата других организама који нису били предмет ових истраживања (табела 5).

**Табела 5.** Учесталост изолације *Pythium* spp. и изолата других врста према пореклу

**Table 5.** Frequency of isolation of *Pythium* spp and isolates of other species according to origin

Порекло узорака Origin of samples	Земља и корење Soil and roots	Некротична тквива Necrotic tissues	Вода и влажна земља Water and mold	Укупно Total
Изолација других организама ( <i>Pythium</i> , <i>Phytopythium</i> , <i>Mortierella</i> ) Isolation of other organisms ( <i>Pythium</i> , <i>Phytopythium</i> , <i>Mortierella</i> )	46	7	8	<b>61</b>

#### 4.2.3. Морфолошка идентификација

После прегледа и карактеризације добијених изолата, издвојено је неколико морфолошких група (WATERHOUSE 1963) које су указивале на присуство више различитих врста (табела 6). Димензије посматраних структура добијених врста и друге морфолошке карактеристике су приказане у табели 7.

**Табела 6.** Изоловане *Phytophthora* врсте у Србији, разврстане према морфолошким и филогенетским групама

**Table 6.** Isolated *Phytophthora* species in Serbia, arranged according to morphological and phylogenetic groups

Бр. No.	Врста Species	Аутор, година Author, year	WH Група <sup>1</sup> WH group <sup>1</sup>	ITS Clade <sup>2</sup>	Број добијених изолата у Србији Number of obtained isolates in Serbia	Број секвенци у банци гена Number of sequences (GenBank)	Први налаз у Србији First report in Serbia	Први налаз на новим домаћиним а у свету First report on new hosts in the world
1	<i>P. cactorum</i>	(Leb. and Cohn) Schröeter, 1896	I	1	22	4	-	-
2	<i>P. cambivora</i>	(Petri) Buisman, 1927	VI	7	8	2	-	-
3	<i>P. citricola</i>	Sawada, 1927	III	2	1	1	+	-
4	<i>P. citrophthora</i>	(R.E. Smith and E.H. Smith) Leonian, 1925	II	2	2	0	+	-
5	<i>P. cryptogea</i>	Pethybridge and Lafferty, 1919	VI	8	4	3	+	-
6	<i>P. europaea</i>	Hansen and Jung, 2002	V	7	3	2	+	-
7	<i>P. gonapodyides</i>	(H.E. Petersen) Buisman, 1927	V/VI	6	19	3	+	-
8	<i>P. lacustris</i>	Nechwatal et al., 2012	V/VI	6	32	15	+	
9	<i>P. pini</i>	Leonian <sup>3</sup> , 1925	III	2	12	7	+	+
10	<i>P. plurivora</i>	Jung and Burgess, 2009	III	2	165	106	-	-
11	<i>P. polonica</i>	Belbahri et al., 2006	V	9	16	6	+	+
12	<i>P. quercina</i>	Jung, 1999	I	11 <sup>5</sup>	19	2	-	-
13	<i>P. syringae</i>	(Klebahn) Klebahn, 1905	III	8	3	0	+	-
14	<i>P. taxon</i> 'Pg Chlamydo'	Brasier et al., 2003	V/VI	6	2	0	+	-
15	<i>P. × serendipita</i>	Man in't Veld <sup>4</sup> et al., 2012	I	1	5	6	+	+
Σ	15				313	157		

<sup>1</sup>Морфолошке групе описане код Waterhouse (1963); <sup>2</sup>ITS Clade-ови приказани код Martin et al. (2014); <sup>3</sup>Врста првобитно описана од стране Leonian (1925), а затим је опис допуњен уз детаљна молекуларна истраживања од стране Hong et al. (2011); <sup>4</sup>Врста првобитно описана као хибрид *P. hedraiandra* × *P. cactorum* (Man in't Veld et al., 2007), а затим од истих аутора (Man in't Veld et al., 2012) и формално описана као нова врста; <sup>5</sup>Врста издвојена у посебан „Clade“ заједно са *P. sp. ohioensis* (Martin et al. 2014);

<sup>1</sup>Morphological groups, described by Waterhouse (1963); <sup>2</sup>ITS Clades, shown in Martin et al. (2014); <sup>3</sup>Species firstly described by Leonian (1925), and description was amended with detailed molecular and morphological studies by Hong et al. (2011); <sup>4</sup>Species firstly described as a hybrid *P. hedraiandra* × *P. cactorum* (Man in't Veld et al., 2007), and then by the same authors (Man in't Veld et al., 2012) was formally described as a new species; <sup>5</sup>Species separated in individual „Clade“ together with *P. sp. ohioensis* (Martin et al. 2014).

Табела 7. Димензије посматраних структура и морфолошка идентификација добијених *Phytophthora* врста

Table 7. Dimensions of observed structures and morphological identification of obtained *Phytophthora* species

Структуре Structures	<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora</i> species														
	<i>c a c</i>	<i>× s e r</i>	<i>c a m</i>	<i>c i t</i>	<i>c i t r</i>	<i>c r y</i>	<i>e u r</i>	<i>l a c</i>	<i>p l u</i>	<i>p o l</i>	<i>p i n</i>	<i>q u e</i>	<i>g o n</i>	<i>p g c h l</i>	
<b>Спорангије</b>															
Врх (брадавица)	Б	Б	Р	ПБ	Б	Р	Р	Р	ПБ	Р	ПБ	Б	Р	Р	
Просечна дужина (µm)	46,70±7,16	33,67±5,29	49,93±8,3	50,21±12,5	44,36±6,05	40,67±7,76	63,26±8,96	52,73±8,01	49,04±10,7	44,44±4,55	51,26±8,16	40,17±5,30	46,07±6,59	42,64±7,46	
Распон дужина (µm)	28,5-62,8	21,6-46,7	34,1-68,5	21,8-80,60	29,7-59,98	24,40-63,5	51,3-83,61	31,50-97,50	20,4-142,7	33,8-53,51	35,20-71,70	27,90-54,30	23,91-63,30	28,0-64,40	
Просечна ширина (µm)	34,89±5,18	26,7±4,15	34,45±4,47	32,16±5,23	29,51±3,24	29,51±5,01	35,03±7,92	30,99±4,84	32,29±5,73	33,17±2,90	33,81±3,97	30,97±3,24	32,87±4,8	28,30±5,3	
Распон ширина (µm)	21-53,90	17,6-38,9	24,6-44,8	19,5-49,10	21,9-35,75	17,2-39,5	21,78-41,9	19,20-45,0	15,2-49,40	26,81-40,27	24,1-44,40	22,70-39,10	17,63-40,90	18,0-43,30	
Однос ширине и дужине (L:B)	1,34±0,11	1,27±0,12	1,45±0,13	1,56±0,28	1,50±0,13	1,39±0,15	1,75±0,30	1,73±0,322	1,53±0,29	1,34±0,09	1,52±0,17	1,30±0,13	1,41±0,11	1,53±0,23	
Распон L:B	0,72-1,71	0,91-1,71	1,13-1,93	1,11-2,56	1,32-1,93	1,05-1,99	1,34-2,48	1,25-4,59	1,02-5,00	1,12-1,59	1,05-2,04	1,02-1,69	1,14-1,82	1,16-2,23	
Проширена (конусна) основа	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	(+)	(+)	
Непостојаност	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Унутрашње клијање	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	
Ширина отвора спорангије (µm)	6,45±0,73	5,49±0,71	15,05±2,56	8,0±1,57	6,47±0,72	11,57±1,57	15,24±3,15	11,55±1,86	8,03±1,18	14,20±2,52	9,99±1,18	6,32±1,22	12,57±1,84	11,04±1,48	
Распон ширине отвора (µm)	4,3-7,9	4,1-7,1	12,2-20,4	6,4-10,7	4,72-7,31	8,2-16,8	7,18-21,04	6,90-15,80	5,00-12,00	8,30-18,17	6,20-12,30	4,30-8,70	9,10-16,10	7,70-14,50	
<b>Талус</b>	Но	Но	Не	Но	Не	Не	Но	S	Но	Но	Но	Но	S	S	
<b>Оогонија</b>															
Просечна дужина (µm)	29,77±2,81	30,14±2,32	43,39±5,75	31,84±3,44	НА	36,0±4,02	36,44±4,23	-	27,50±3,37	33,59±3,09	32,9±3,04	36,45±5,33	-	-	
Распон (µm)	22,3-36,60	25,4-37,7	22,1-52,6	24,5-37,8	НА	29,5-42,1	26,6-45,5	-	17,6-36,3	28,9-41,3	22,70-38,60	22,50-49,20	-	-	
Просечна ширина (µm)	27,94±2,84	29,5±2,54	41,57±4,77	31,06±3,98	НА	37,06±4,11	32,97±3,29	-	25,85±2,96	31,75±3,34	32,82±3,12	31,63±5,15	-	-	
Распон (µm)	23-34,70	25,4-37,7	23-49,3	23,4-42,60	НА	30,7-44,5	22,8-41,0	-	17,6-33,2	26,7-39,9	23,80-38,40	21,70-42,50	-	-	
Конусна основа	-	-	(+)	-	НА	+	+	-	-	+	-	(+)	-	-	
Изглед површине	Глатка	Глатка	Наборана	Глатка	НА	Глатка	Глатка	-	Глатка	Глатка	Глатка	Глатка	-	-	
<b>Ооспоре</b>															
Пречник 1 (µm)	21,18±1,98	23,23±2,04	31,62±3,75	24,45±3,56	НА	28,08±4,11	25,68±2,48	-	19,95±2,20	23,74±3,17	27,11±2,25	23,52±3,19	-	-	
Распон (µm)	16,8-28,3	15,9-29,8	16,50-38,60	17,4-32,0	НА	21,7-35,9	18,0-31,7	-	12,5-27,2	18,37-29,46	20,2-31,90	15,7-29,40	-	-	
Пречник 2 (µm)	21,03±1,76	23,41±2,09	31,91±3,95	24,74±3,59	НА	28,10±3,98	25,68±2,49	-	20,00±2,26	23,74±3,17	27,27±2,27	23,36±3,29	-	-	
Распон (µm)	17,4-25,5	16,0-31,0	16,5-39,0	17,8-32,1	НА	21,7-35,9	18,0-31,7	-	12,5-27,2	18,37-29,46	20,6-32,30	15,7-29,40	-	-	
<b>Зид ооспоре</b>															
Просечна ширина (µm)	1,07±0,2	1,11±0,16	2,48±0,42	1,47±0,23	НА	1,90±0,49	1,49±0,36	-	1,28±0,27	2,55±0,39	1,40±0,27	2,57±0,62	-	-	
Распон (µm)	0,6-1,7	0,7-1,50	1,4-3,3	1,0-1,90	НА	1,0-3,0	0,6-2,4	-	0,7-1,90	1,31-3,23	0,70-1,90	1,40-3,90	-	-	

Табела 7. Наставак

Table 7. Continuation

<i>Антеридија</i>	Пар	Пар	Ам	Пар		Ам	Пар	С	Пар	Пар(Ам)	Пар	Пар	С	С
Просечна дужина (µm)	13,61±2,35	14,93	27,58±5,79	13,93±2,86	НА	15,29±2,46	13,90±4,88	-	11,24±2,17	16,98±3,16	14,18±2,26	15,43±3,41	-	-
Распон дужина (µm)	8,0-19,90	10-19,5	15,1-48,2	9,1-20,1	НА	10,4-18,4	8,60-35,7	-	6,7-18,6	10,85-25,11	10,3-20,80	10,1-25,70	-	-
Просечна ширина (µm)	10,24±1,93	10,77	16,61±1,51	9,16±1,77	НА	12,52±0,59	9,46±2,36	-	8,20±1,28	9,73±1,89	9,63±1,34	10,20±1,21	-	-
Распон ширина (µm)	6,0-19,0	7,2-14,9	12,6-19,40	5,4-13,90	НА	11,7-13,5	6,0-19,0	-	6,10-13,3	5,1-12,75	6,90-12,80	7,80-13,70	-	-
<i>Украси хиџа</i>	-	-	(+)	-	+	+	-	+	-	+	-	+	(+)	+
<i>Хламидоспоре</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Просечни пречник 1 (µm)	23,12±3,76	-	-	-	-	-	-	-	-	31,83±6,52	-	-	-	20,81±4,62
Распон пречника (µm)	18,4-29,1	-	-	-	-	-	-	-	-	19,64-45,66	-	-	-	14,30-29,9
Просечни пречник 2 (µm)	22,83±4,11	-	-	-	-	-	-	-	-	30,48±6,45	-	-	-	20,0±3,74
Распон пречника 2 (µm)	17,3-29,1	-	-	-	-	-	-	-	-	19,50-45,82	-	-	-	14,30-26,20
Зид хламидоспоре	1,06±0,24 (0,6-1,4)	-	-	-	-	-	-	-	-	НА	-	-	-	НА

*cas* = *P. cactorum*; *×ser* = *P. ×serendipita*; *cam* = *P. cambivora*; *cit* = *P. citricola*; *citr* = *P. citrophthora*; *cry* = *P. cryptogea*; *eur* = *P. europaea*; *lac* = *P. lacustris*; *plu* = *P. plurivora*; *pol* = *P. polonica*; *pin* = *P. pini*; *que* = *P. quercina*; *gon* = *P. gonapodyides*; *pgchl* = *P. taxon Pg Chlamydo*;

"+" = Карактеристика се јавља често; "(+)" = Карактеристика се јавља ретко; "-" = Карактеристика није забележена; Но = Хомоталична; Не = Хетероталична; С = Стерилна; Б = Брадавичаста; ПБ = Полубрадавичаста; Р = Раван врх; Пар = Паригена (Paragynous); Ам = Амфигена (Amphigynous); НА = Није анализирано;

"+" = Characteristic is often present; "(+)" = Characteristic occurs rarely; "-" = Characteristic not recorded; Но = Homothallic; Не = Heterothallic; С = Sterile; Б = papillate; ПБ = Semipapillate; Р = Nonpapillate; Пар = Paragynous; Ам = Amphigynous; НА = Not analysed

## Група 1

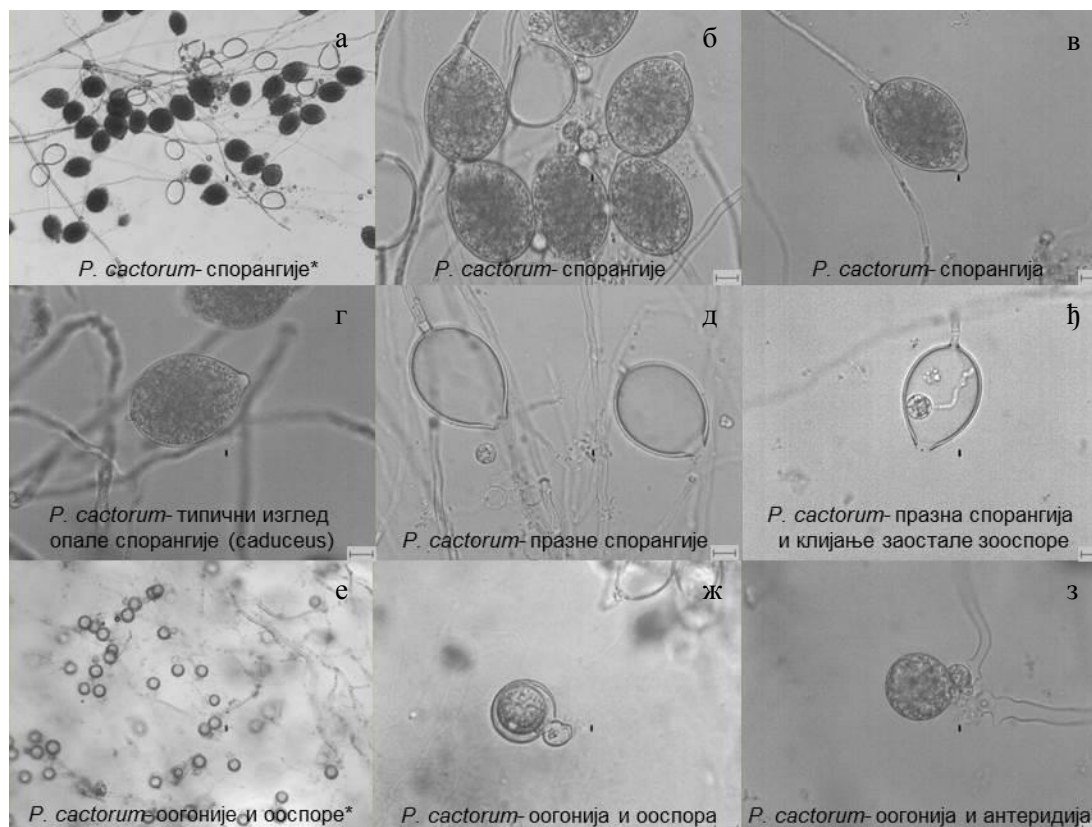
### *Phytophthora cactorum* (Lebert and Cohn) Schröeter

Изолати су имали колонију максималне брзине пораста од  $6,75 \pm 0,39$  mm/дан на оптималних  $25^{\circ}\text{C}$  (табела 8) и без посебног облика на већини тестираних супстрата (табела 9; слика 18). Врста је била хомоталична и брзо је образовала мноштво оогонија на V8 и СА подлози. Оогоније су округле или благо спљоштене просечних димензија  $29,77 \pm 2,81 \times 27,94 \pm 2,84$   $\mu\text{m}$ , глатких зидова и са правилним округлим ооспорама (слика 14 е-з), просечних димензија  $21,18 \pm 1,98 \times 21,03 \pm 1,76$   $\mu\text{m}$ . Антеридије су биле овалног облика, благо елипсасте или издужене батинасте и паригене (paragynous), тј. приљубљене са стране (слика 14 ж-з). Просечне димензије измерених антеридија су износиле  $13,61 \pm 2,35 \times 10,24 \pm 1,93$   $\mu\text{m}$ . Спорангије су биле изразито брадавичасте (papillate) (слика 14 б-г), терминално образоване (слика 14 в, д-ђ), правилне, ретко формиране интеркаларано или асиметрично у односу на спорангиофор. Просечне димензије измерених спорангија су  $46,70 \pm 7,16 \times 34,89 \pm 5,18$   $\mu\text{m}$ , са односом дужине и ширине (L/B) од  $1,34 \pm 0,11$ . Облик спорангије је био елиптичан, овоидан, обовоидан, округлао или лимунаст, ређе обкрушкаст (слика 14 а-ђ). Формирале су се на изразито кратким спорангиофорима (слика 14 в) и биле су непостојане („caducous“ - извештан број је опадао после сазревања (слика 14 г). Спорангиофори су били углавном прости (слика 14 д-ђ) или симподијално гранати (слика 14 в), а забележено је типично формирање спорангија у већим или мањим скупинама (clusters) (слика 14 а-б). Отвор празне спорангије је био сужен (слика 14 д-ђ) и износио је  $6,45 \pm 0,73$   $\mu\text{m}$ . Код извесног броја празних спорангија забележене су заостале, проклијале зооспоре (слика 14 љ). Око једне трећине посматраних изолата је образовало хламидоспоре просечних димензија  $23,12 \pm 3,76 \times 22,83 \pm 4,11$   $\mu\text{m}$ .

Табела 8. Просечне вредности дневног пораста колонија тестираних изолата на СА подлози

Table 8. Average values of daily colony growth of tested isolates on CA media

Врста Species	Просечан дневни пораст на различитим температурама Average daily growth on different temperatures (mm/дан) (mm/day) ± SD						
	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
	<i>P. cactorum</i>	1,59±0,19	2,34±0,54	3,06±0,29	4,22±0,46	6,75±0,39	3,34±0,05
<i>P. cambivora</i>	1,52±0,07	2,77±0,50	3,70±0,24	4,47±0,40	5,74±0,56	3,11±0,46	0
<i>P. citricola</i>	1,25±0,23	3,72±0,35	5,33±0,28	6,45±0,32	8,22±0,33	7,67±0,25	0
<i>P. europaea</i>	1,07±0,30	2,46±0,27	3,83±0,33	4,97±0,31	5,70±0,36	3,58±0,29	0
<i>P. gonapodyides</i>	1,44±0,23	1,91±0,40	2,92±0,23	3,41±0,25	3,98±0,31	3,33±0,39	0,36±0,23
<i>P. lacustris</i>	0,63±0,22	1,78±0,37	2,21±0,42	3,10±0,31	4,45±0,28	4,72±0,31	2,15±0,41
<i>P. pini</i>	1,23±0,23	3,77±0,33	5,31±0,27	6,51±0,32	8,34±0,34	7,81±0,28	0
<i>P. plurivora</i>	1,02±0,27	3,69±0,24	5,11±0,29	6,38±0,46	7,96±0,36	7,33±0,56	0
<i>P. polonica</i>	0	1,16±0,32	1,25±0,27	2,51±0,38	4,25±0,38	3,48±0,55	1,56±0,17
<i>P. quercina</i>	0,49±0,14	1,31±0,23	1,51±0,27	2,29±0,32	2,99±0,63	0,74±0,43	0
<i>P. taxon 'pg chlamydo'</i>	1,42±0,23	2,14±0,41	3,18±0,39	3,96±0,33	3,84±0,26	3,60±0,30	0
<i>P. ×serendipita</i>	1,53±0,07	3,57±0,56	4,77±0,55	5,64±0,33	7,68±0,53	3,1±0,31	0



Слика 14. Забележене структуре *Phytophthora cactorum*; бар=10µm

Figure 14. Recorded structures of *Phytophthora cactorum*; bar=10µm

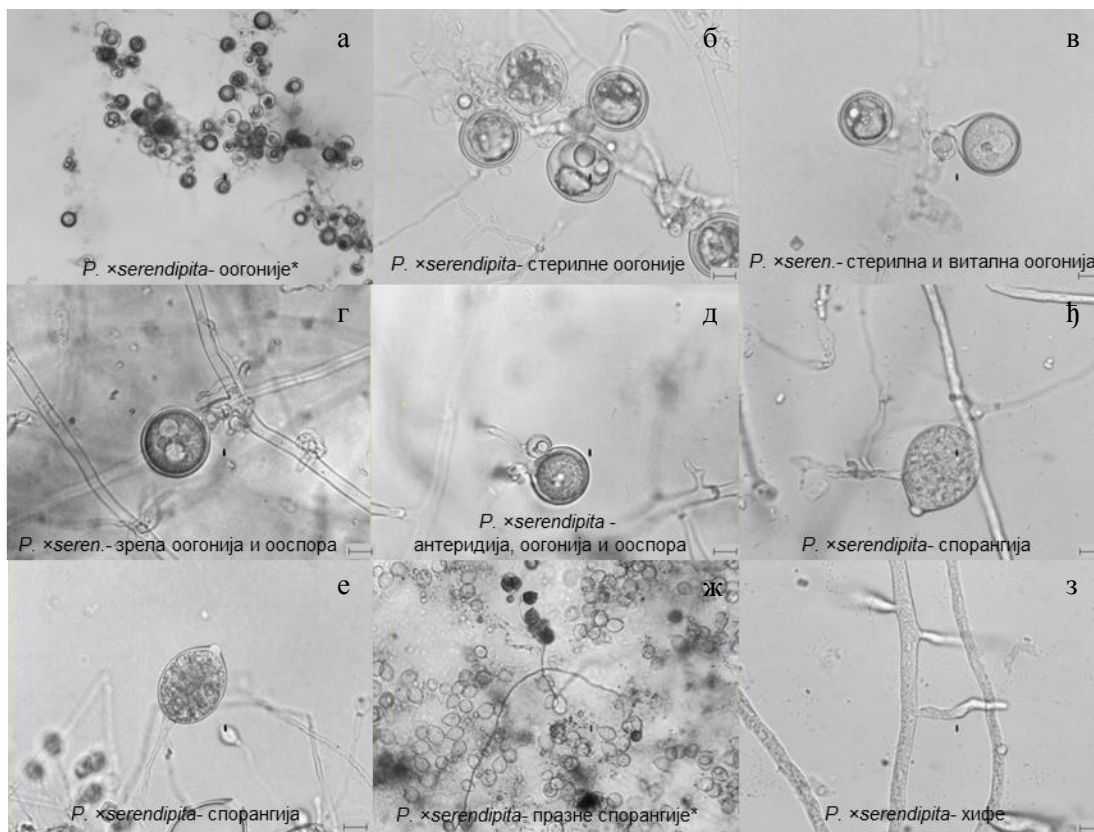
***Phytophthora* ×*serendipita* Man in 't Veld and Rosendahl**

(= ***Phytophthora hedraiandra* × *cactorum* Man in 't Veld, de Cock and Summerbel**)

Ова врста је била морфолошки веома слична са *P. cactorum* (слика 15). Колонија је облика розете или хризантеме, ређе без посебног облика (табела 9; слика 18). Међутим, брзина пораста на оптималној температури је била нешто већа него код наведене *P. cactorum* и износила је  $7,68 \pm 0,53$  mm/дан (табела 8). Оогоније ( $30,14 \pm 2,32 \times 29,50 \pm 2,54$   $\mu\text{m}$ ) и ооспоре ( $23,23 \pm 2,04 \times 23,41 \pm 2,09$   $\mu\text{m}$ ) су такође биле нешто већих димензија (табела 7). Спорангије су биле брадавичасте, овоидне до лимунасте (слика 15 ђ-е), просечних димензија  $33,67 \pm 5,29 \times 26,70 \pm 4,15$   $\mu\text{m}$  и забележена је појава интеркаларно формираних спорангија, у односу на типично терминално формирање код *P. cactorum*. Однос ширине и дужине је износио  $1,27 \pm 0,12$ , а просечна ширина отвора празне спорангије  $5,49 \pm 0,71$   $\mu\text{m}$ . Хифе су имале типичан изглед врста из рода *Phytophthora* са сужењима на местима бочног гранања (слика 15 з).

Врста се осим нешто бржег пораста, према димензијама, физиологији и морфологији уклапа у опис *P. hedraiandra* de Cock and Man in't Veld (DE COCK and LÉVESQUE 2004), али постоји разлика у изгледу ооспора које су код наведене врсте благо спљоштене, док су код наших изолата биле у већем проценту правилне и округле (слика 15 а-д). Појава стерилних оогонија са ооспорама (слика 15 б-в) је забележена у веома високом проценту, за разлику од обе поређене врсте. Такође, битно је напоменути да хламидоспоре нису забележене код ових изолата, док су оне нормално присутне како код *P. cactorum*, тако и код *P. hedraiandra*. На основу свега наведеног, посумњали смо да се ради о хибриду између ове две врсте *P. hedraiandra* × *cactorum*, недавно формално описаном као нова врста *Phytophthora* × *serendipita* sp. nov. Man in't Veld et al. (MAN IN'T VELD et al. 2007, 2012) што је и потврђено молекуларним анализама. Ово је први налаз овог природно насталог хибрида на храстовима и дивљој крушци у Србији и уопште први налаз на шумским дрвенастим домаћинима у свету (табела 6).





Слика 15. Забележене структуре *Phytophthora xserendipita*; бар=10 $\mu$ m

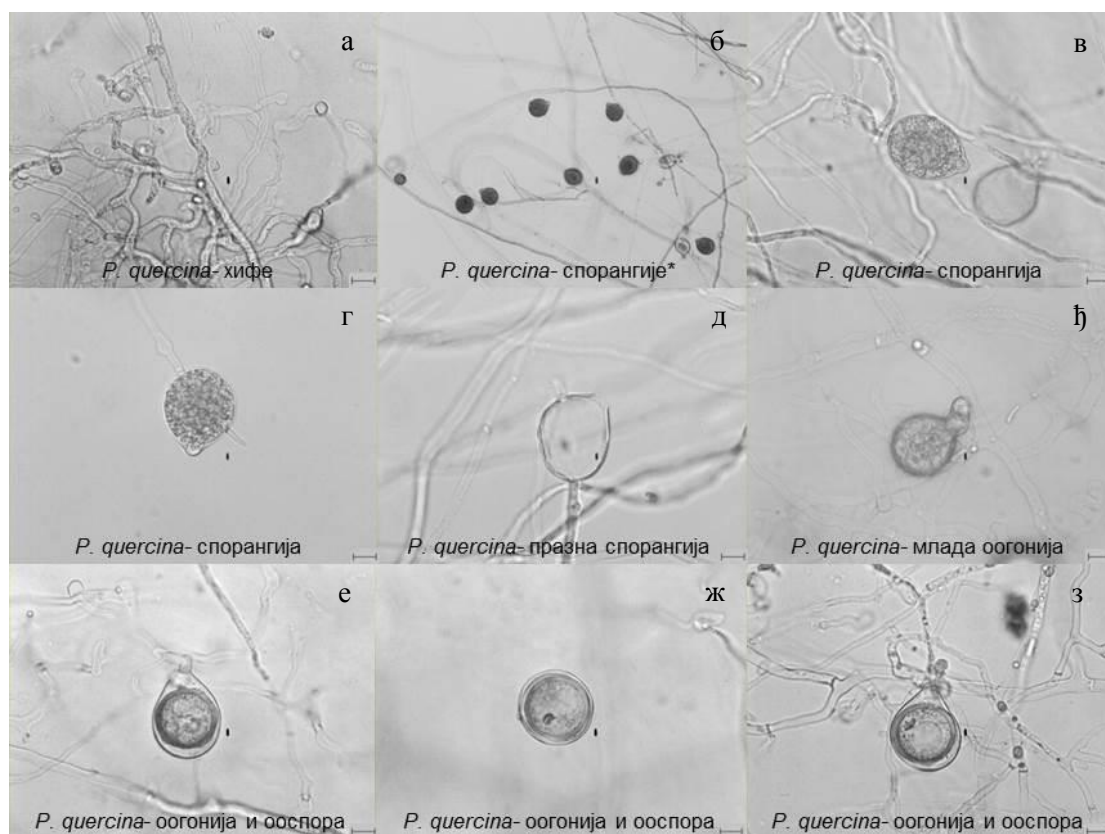
Figure 15. Recorded structures of *Phytophthora xserendipita*; bar=10 $\mu$ m

### *Phytophthora quercina* Jung

Врста са порастом колоније од максимално  $2,99 \pm 0,63$  mm/дан на 25°C (табела 8) и без посебног облика на тестираним подлогама (табела 9; слика 18), је била хомоталична са изражено брадавичастим спорангијама. Оогоније су биле са глатким зидовима и веома варијабилног облика који се кретао од правилних округлих (слика 16 ж), спљоштених, елипсастих (слика 16 е), сужених у средини, са конусном основом (слика 16 з) и различитих других облика. Просечне димензије оогонија су износиле  $36,45 \pm 5,33 \times 31,63 \pm 5,15$   $\mu$ m. Ооспоре су такође биле различитих облика и дебелозидне, округле (слика 16 ж), спљоштене или чудних облика у зависности од облика оогоније, најчешће благо спљоштене неправилне (слика 16 е, з). Просечне димензије ооспора су износиле  $23,52 \pm 3,19 \times 23,36 \pm 3,29$   $\mu$ m, а просечна дебљина зида ооспора  $2,57 \pm 0,62$   $\mu$ m. Антеридије ( $15,43 \pm 3,41 \times 10,20 \pm 1,21$   $\mu$ m) су биле прикачене са стране-паригене, такође врло варијабилног облика, најчешће округластог, батинастог, издуженог овоидног или

обовоидног облика (слика 16 њ). Забележене су и издужене неправилне форме антеридија (слика 16 з). Спорангије су биле округласте (слика 16 б), елипсоидне (слика 16 в), овоидне (слика 16 г), обовоидне (слика 16 д). Такође, забележена је и појава различитих неправилних облика спорангија са два врха. Просечне димензије спорангија су биле  $40,17 \pm 5,30 \times 30,97 \pm 3,24 \mu\text{m}$ . Однос ширине и дужине је износио  $1,30 \pm 0,13$ . Ширина отвора празне спорангије је била сужена (слика 16 д) и износила је  $6,32 \pm 1,22 \mu\text{m}$ . Спорангије су се формирале како терминално на симподијалним спорангиофорима (слика 16 б-в), тако и интеркаларно у различитим положајима (слика 16 г-д). Украси хифа су примећени једино у старијим културама. Изолати наведене врсте су добијени једино из узорка узетих са храстова.

Прегледом литературе са описима различитих врста и анализом секвенци ITS региона, ови изолати су идентификовани као *Phytophthora quercina*.



**Слика 16.** Забележене структуре *Phytophthora quercina*; бар=10 $\mu\text{m}$

**Figure 16.** Recorded structures of *Phytophthora quercina*; bar=10 $\mu\text{m}$

Табела 9. Изглед и карактеристике колонија добијених *Phytophthora* врста

Table 9. Shape and colony patterns of obtained *Phytophthora* species

Врста Species	Изглед колонија Colony shape	Опис и положај мицелије Description and position of mycelium	Изглед ивице колоније Shape of the edge of the colonies
<i>P. cactorum</i>	Колонија без специјалног облика на PDA, V8 и PJA, до благо хризантемаста на MEA и CA	На MEA и CA благо ваздушаста у средини, приљубљена по крајевима, средње густа, вунаста. На V8 и PDA приљубљена за подлогу, јако густа, вунаста до памучаста на V8, паперјаста на PDA. Ретка до паперјаста на PJA	Обод правилан и оштар на PDA и V8, благо неправилан на MEA и PJA, разређен на CA
<i>P. cambivora</i>	Хризантемаста на MEA CA и PDA или без посебног облика	Мицелија проређена и ваздушаста око инокулума на MEA, CA и PJA, на крајевима приљубљена паперјаста. На PDA и V8 јако густа полегла, приљубљена по ивици, памучаста до сомотаста.	Обод колоније правилан и оштар на PJA и V8, благо неправилан на MEA и PDA до неправилан на CA
<i>P. citricola</i>	Колонија облика хризантеме, израженија на MEA, PJA и V8	Мицелија проређена и полуваздушаста у средини, гушћа и приљубљена на крајевима, сомотаста до вунаста	Обод правилан и оштар, ређе неправилан
<i>P. citrophthora</i>	Колонија израженог облика хризантеме	Мицелија густа, паперјаста, приљубљена за супстрат, на PJA благо ваздушаста у средини	Обод колоније правилан и оштар
<i>P. cryptogea</i>	Колонија хризантемастог до розетастог облика, без посебног облика на CA	Мицелија ваздушна око инокулума, полуваздушна по крајевима, густа вунаста, памучаста до паперјаста	Обод колоније правилан и оштар
<i>P. europaea</i>	Колонија без посебног облика	Мицелија ваздушна до полуваздушна, средње густа сомотаста	Облик колоније правилан и оштар, до неправилан на MEA
<i>P. gonapodyides</i>	Колонија облика розете, или без посебног облика	Мицелија проређена ваздушаста, благо одстојећа у средини, сомотаста до памучаста	Обод колоније правилан и оштар
<i>P. lacustris</i>	Колонија израженог облика розете, ређе без посебног облика	Мицелија проређена ваздушаста, на MEA и PDA благо одстојећа у средини, на осталим подлогама полегла сомотаста до памучаста	Обод колоније правилан и оштар
<i>P. pini</i>	Колонија облика хризантеме, израженија на MEA, PJA и V8	Мицелија проређена и полуваздушаста у средини, гушћа и приљубљена на крајевима, сомотаста до вунаста	Обод правилан и оштар, ређе неправилан
<i>P. plurivora</i>	Колонија облика хризантеме или неправилно зракаста на PDA	Мицелија благо ваздушаста у средини, густа, приљубљена по крајевима, сомотаста до памучаста	Обод колоније правилан и оштар, ређе неправилан
<i>P. polonica</i>	Колонија облика розете	Мицелија приљубљена, полуваздушаста, средње густа. На V8 благо ваздушаста у средини а приљубљена на крајевима	Обод колоније правилан и оштар, ређе неправилан
<i>P. quercina</i>	Колонија без посебног облика, до благо неправилно зракастог на V8	Мицелија разређена, до густа приљубљена и паперјаста. На PJA ваздушаста у средини а приљубљена по ободу	Обод колоније правилан и оштар, ређе неправилан на MEA
<i>P. taxon 'pg chlamydo'</i>	Колонија облика розете, ређе без посебног облика	Мицелија проређена ваздушаста, благо одстојећа у средини осим на V8, сомотаста до памучаста	Обод колоније правилан и оштар
<i>P. ×serendipita</i>	Колонија облика розете или хризантеме, ређе без посебног облика	Мицелија полуваздушаста, разређена до густа. На MEA и PDA паперјаста до памучаста, на V8 сомотаста	Обод колоније правилан и оштар

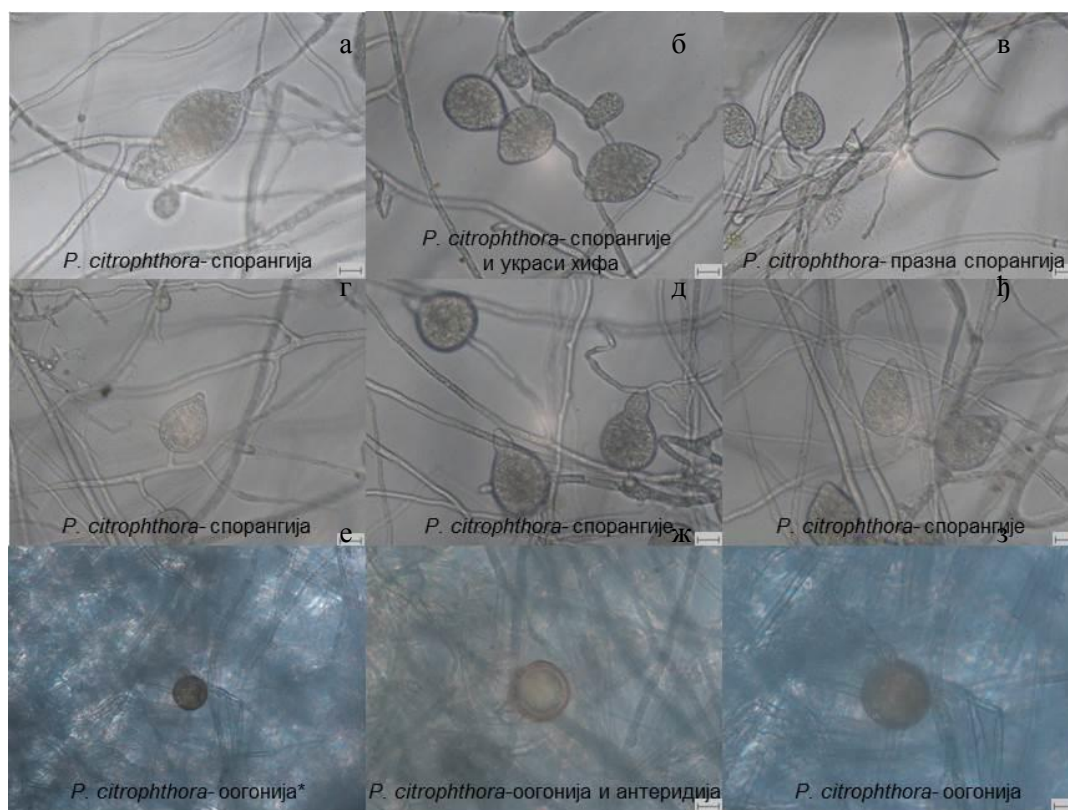
## Група 2

### *Phytophthora citrophthora* (R. E. Smith, H. E. Smith) Leonian

Два изолата су имала густу колонију правилног обода и израженог хризантемастог облика на свим тестираним подлогама (табела 8; слика 18). Спороангије су биле брадавичасте (слика 17 а-ђ), различитог облика идући од

округлих, овоидних (слика 17 б-г), елипсастих, параболоидних (слика 17 а), обкрушкастих до обциграстих (слика 17 д-ђ). Просечне димензије спорангија су износиле  $44,36 \pm 6,05 \times 29,51 \pm 3,24 \mu\text{m}$ . Однос ширине и дужине је износио  $1,50 \pm 0,13$ , а ширина отвора празне спорангије  $8,0 \pm 1,57 \mu\text{m}$ . Спорангиофори су били неправилно до симподијално гранати (слика 17 а-ђ), по некада са израштајима на местима гранања, а забележени су и украси хифа различитог облика и димензија (слика 17 б).

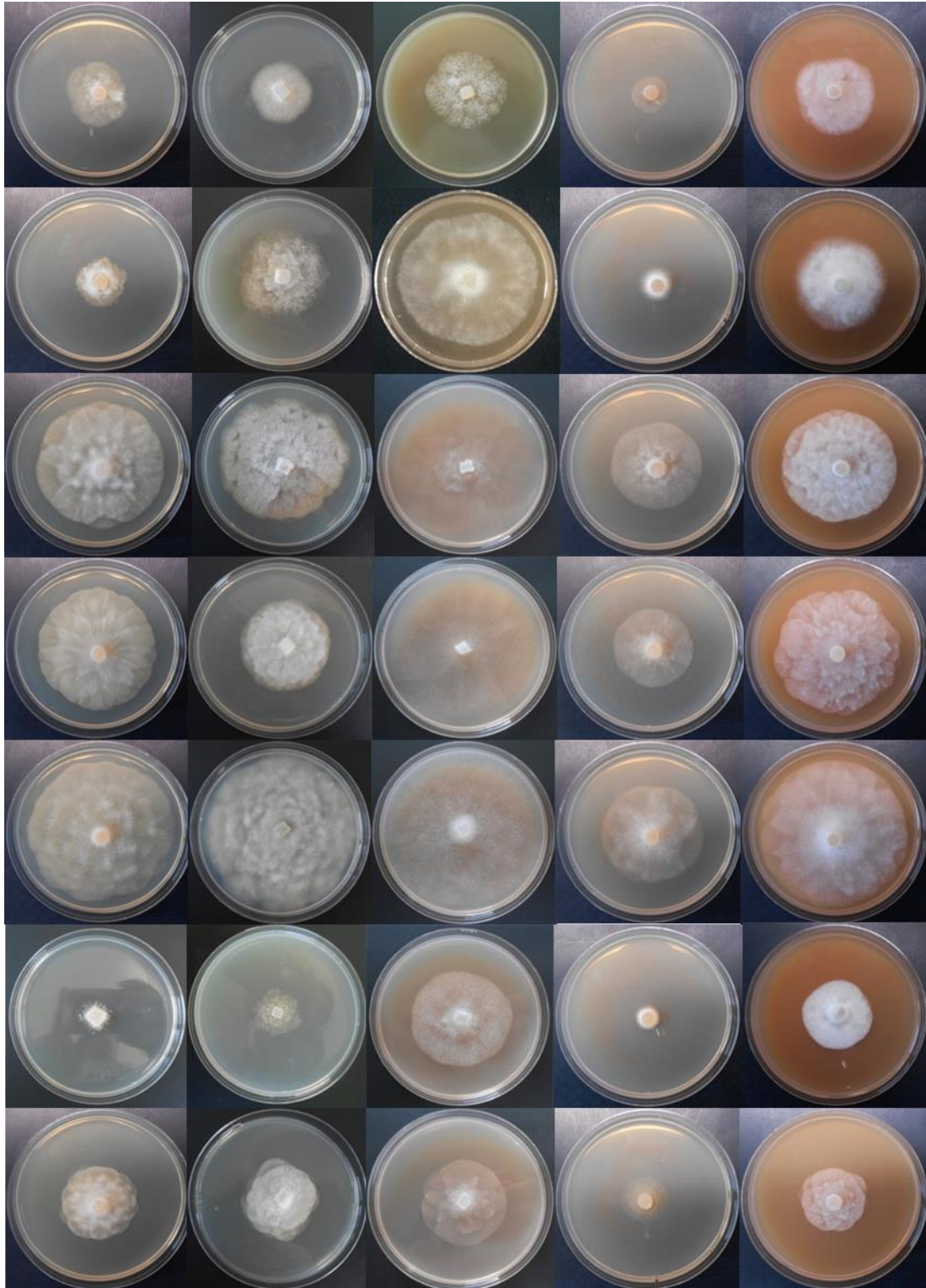
Полни елементи нису уочени у чистим културама, а у тестовима спаривања са различитим хетероталичним врстама, оогоније су забележене једино при спаривању једног изолата са *P. cryptogea* А2 компатибилним типом. Оогоније (слика 17 з-ж) су биле веома ретке и забележено је укупно 6 оогонија на три посматрана препарата. Антеридије су биле спљоштене до елипсасте, издужене и амфигеног типа (слика 17 ж), а због малог броја запажених антеридија и оогонија, као и због нејасних препарата ове структуре нису мерене већ само регистроване. На основу ових карактеристика, врста је идентификована као *P. citrophthora*.



Слика 17. Забележене структуре *Phytophthora citrophthora*; бар=10μm

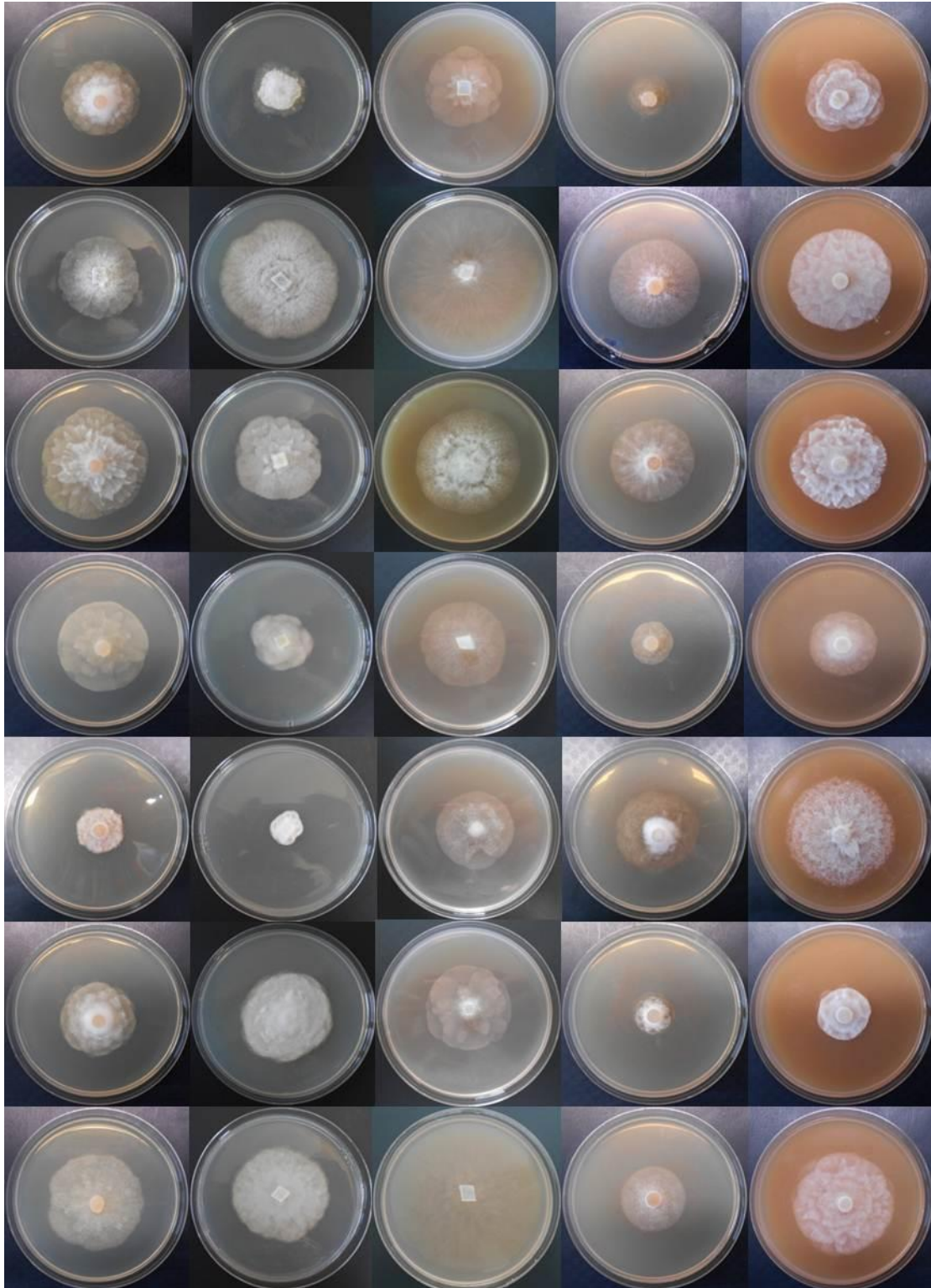
Figure 17. Recorded structures of *Phytophthora citrophthora*; bar=10μm





**Слика 18.** Изглед чистих култура на различитим подлогама- са лева на десно: MEA, PDA, CA, PJA и V8A; Одозго на доле: *Phytophthora cactorum*, *P. cambivora*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. europaea* и *P. gonapodyides*, после седам дана инкубације на 20°C у мраку

**Figure 18.** Pure cultures at different media- from left to right: MEA, PDA, CA, PJA и V8A; From top to bottom: *Phytophthora cactorum*, *P. cambivora*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. europaea* и *P. gonapodyides*, after seven days of incubation at 20°C in the dark



**Слика 18.** Наставак- са лева на десно: MEA, PDA, CA, PJA и V8A; Одозго на доле: *P. lacustris*, *P. pini*, *P. plurivora*, *P. polonica*, *P. quercina*\*, *Phytophthora* taxon 'pg chlamydo' и *P. xserendipita*, после седам дана инкубације на 20°C у мраку

\*код *P. quercina* на CA после 10, а на MEA, PJA и V8A после 20 дана инкубације

**Figure 18.** Continuation- from left to right: MEA, PDA, CA, PJA и V8A; From top to bottom: *P. lacustris*, *P. pini*, *P. plurivora*, *P. polonica*, *P. quercina*\*, *Phytophthora* taxon 'pg chlamydo' и *P. xserendipita*, after seven days of incubation at 20°C in the dark

\*in *P. quercina* on CA after 10, and on MEA, PJA and V8A after 20 days of incubation

Табела 10. Кардиналне температурне тачке добијених врста

Table 10. Cardinal temperature points of obtained species

Врста Species	Кардиналне тачке (°C) Cardinal points (°C)		
	Минимум minimum	Оптимум optimum	Максимум maximum
<i>P. cactorum</i>	0-5	25	30-35
<i>P. cambivora</i>	0-5	25	30-35
<i>P. citricola</i>	0-5	25-30	30-35
<i>P. europaea</i>	0-5	25	30-35
<i>P. gonapodyides</i>	0-5	25	~35
<i>P. lacustris</i>	0-5	25-30	35-40
<i>P. pini</i>	0-5	25-30	30-35
<i>P. plurivora</i>	0-5	25-30	30-35
<i>P. polonica</i>	5-10	25	35-40
<i>P. quercina</i>	0-5	25	30-35
<i>P. taxon 'pg chlamydo'</i>	0-5	20-25	30-35
<i>P. ×serendipita</i>	0-5	25	30-35

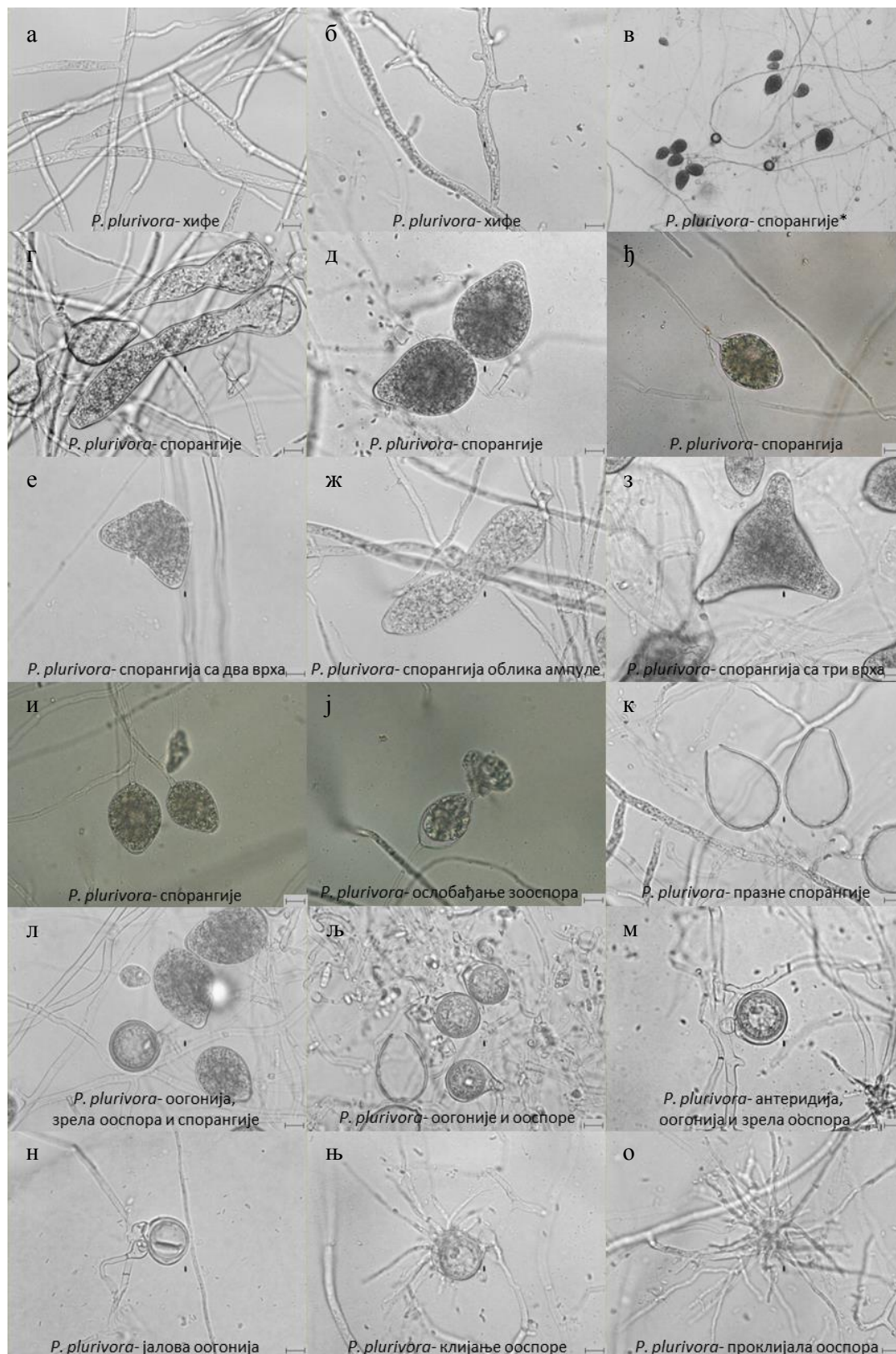
### Група 3

#### *Phytophthora plurivora* Jung and Burgess

Укупно 165 изолата је имало колонију хризантемастога или облика розете и са полуваздушастом мицелијом у средини и приљубљеном на крајевима (табела 9; слика 18). Брзина пораста колоније на оптималних 25°C (табела 10) је износила  $7,96 \pm 0,36$  mm/дан на СА подлози (табела 8). Врста је била хомоталична са округлим ооспорама ( $19,95 \pm 2,20 \times 20,00 \pm 2,26$   $\mu\text{m}$ ) и округластим до благо спљоштеним оогонијама, просечних димензија  $27,50 \pm 3,37 \times 25,86 \pm 2,95$   $\mu\text{m}$ . Око 10 % посматраних оогонија је имало благо спљоштене ооспоре. Забележена је и појава конусног сужења основе оогоније (слика 19 љ). После 48 сати у нестерилном земљишном раствору забележено је мноштво проклијалих ооспора (слика 19 њ-о). Антеридије су биле, округле (слика 19 м), елиптичне, издужене, батинасте (слика 19 н), или других неправилних облика и биле су приљубљене бочно уз оогонију у различитим положајима. Просечне димензије антеридија су износиле  $11,24 \pm 2,17 \times 8,20 \pm 1,28$   $\mu\text{m}$ ). Појава стерилних оогонија је била врло ретка и забележено је само неколико случајева са овом појавом (слика 19 н). Спорангије су биле постојане, полубрадавичасте врло варијабилног облика, идући од правилних овоидних (слика 19 ђ, и), обовоидних (слика 19 д, л), параболоидних, лимунастих до неправилних облика ампуле (слика 19 г, ж),

трокраких (слика 19 з), спорангија са два врха (слика 19 е) и различитих других облика. Просечне димнзије спорангија су биле  $49,04 \pm 10,69 \times 32,29 \pm 5,74 \mu\text{m}$ , а ширина отвора птазне спорангије  $8,03 \pm 1,18 \mu\text{m}$ . Просечни однос ширине и дужине спорангије је износио  $1,53 \pm 0,29$ . Спорангије су углавном биле формиране терминално на спорангиофорима (слика 19 ђ, и-ј), мада је забележено доста случајева када су спорангије образоване интеркаларно или латерално у односу на њихову осу. Велики број спорангија је био асиметричан у односу на спорангиофоре (слика 19 г, е). Спорангиофори су већином били симподијално гранати (слика 19 ђ, и) или прости (слика 19 ј), ређе неправилно гранати, а петелке су биле различите дужине. Појава седећих спорангија или спорангија са врло кратким петелкама је била ређа, мада је забележена (слика 19 д). Хифе су биле правилне са за *Phytophthora* врсте карактеристичним сужењима у основи бочног гранања (слика 19 а-б), без украса и задебљања и без појаве хламидоспора. Врста је према свим наведеним карактеристикама, брзини пораста и димензијама посматраних структура (табела 7) идентификована као *Phytophthora plurivora*, предходно позната као *Phytophthora citricola*, а сада као део комплекса ове врсте.



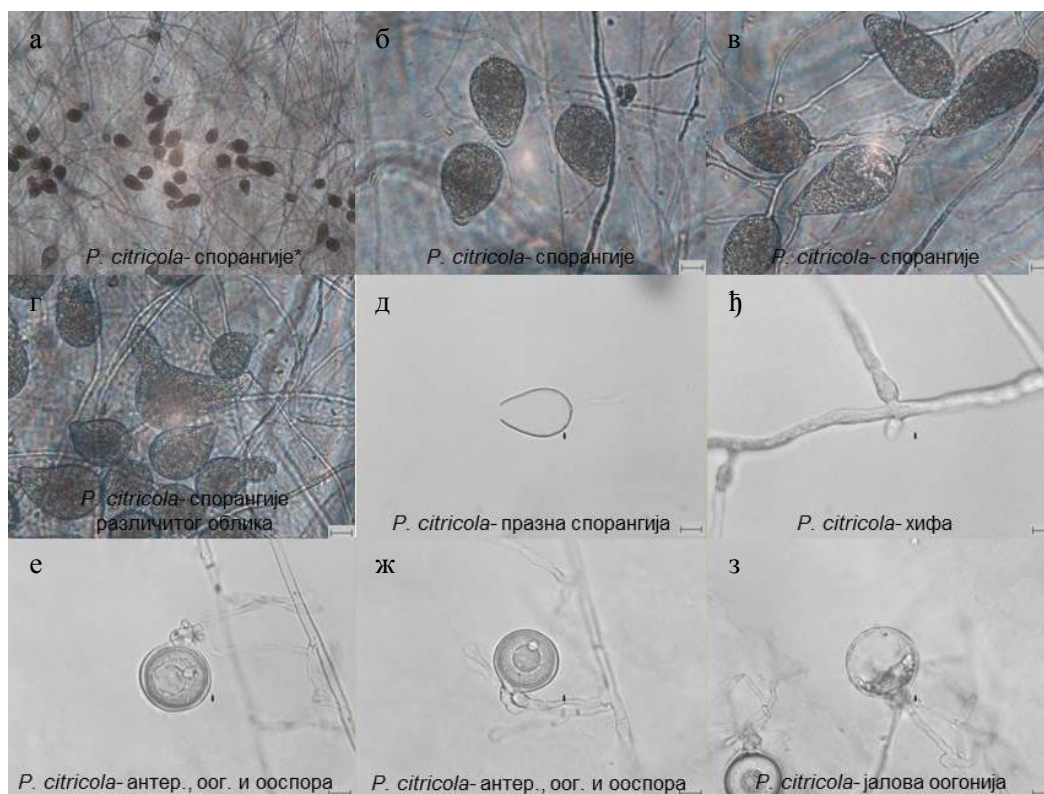


Слика 19. Забележене структуре *Phytophthora plurivora*; бар=10 $\mu$ m

Figure 19. Recorded structures of *Phytophthora plurivora*; bar=10 $\mu$ m

### *Phytophthora citricola* Sawada

Врста са једним добијеним изолатом је била веома слична са *Phytophthora plurivora* и образовала је глатке оогоније са округлим ооспорама (слика 20 е-з). Антеридије су биле округласте (слика 20 е, з), елипсасте или батинасте (слика 19 ж) и приљубљене са стране-паригене. Спорангије су биле полубрадавичасте различитог облика, углавном овоидне до обовоидне (слика 20 б), обкрушкасте или параболоидне (слика 20 в) али нешто варијабилније од *P. plurivora*, а повећан број спорангија неправилних облика (слика 20 г) је уочен одмах по развијању препарата у нестерилном раствору. Међутим, уочено је и неколико других карактеристика по којима се ова врста разликовала од *P. plurivora*. Брзина пораста на оптималних 25°C је била већа у односу на *P. plurivora* и износила је 8,22±0,33 mm/дан на СА подлози (табела 8). Облик колоније је такође био другачији на СА подлози (табела 9; слика 18). Врста је несумњиво део *P. citricola* комплекса и спада у *P. citricola* I или у *P. citricola sensu stricto* према GALEGLY and HONG (2008), а прелиминарно је означена као *P. citricola*.



Слика 20. Забележене структуре *Phytophthora citricola*; бар=10µm

Figure 20. Recorded structures of *Phytophthora citricola*; bar=10µm

### *Phytophthora pini* Leonian

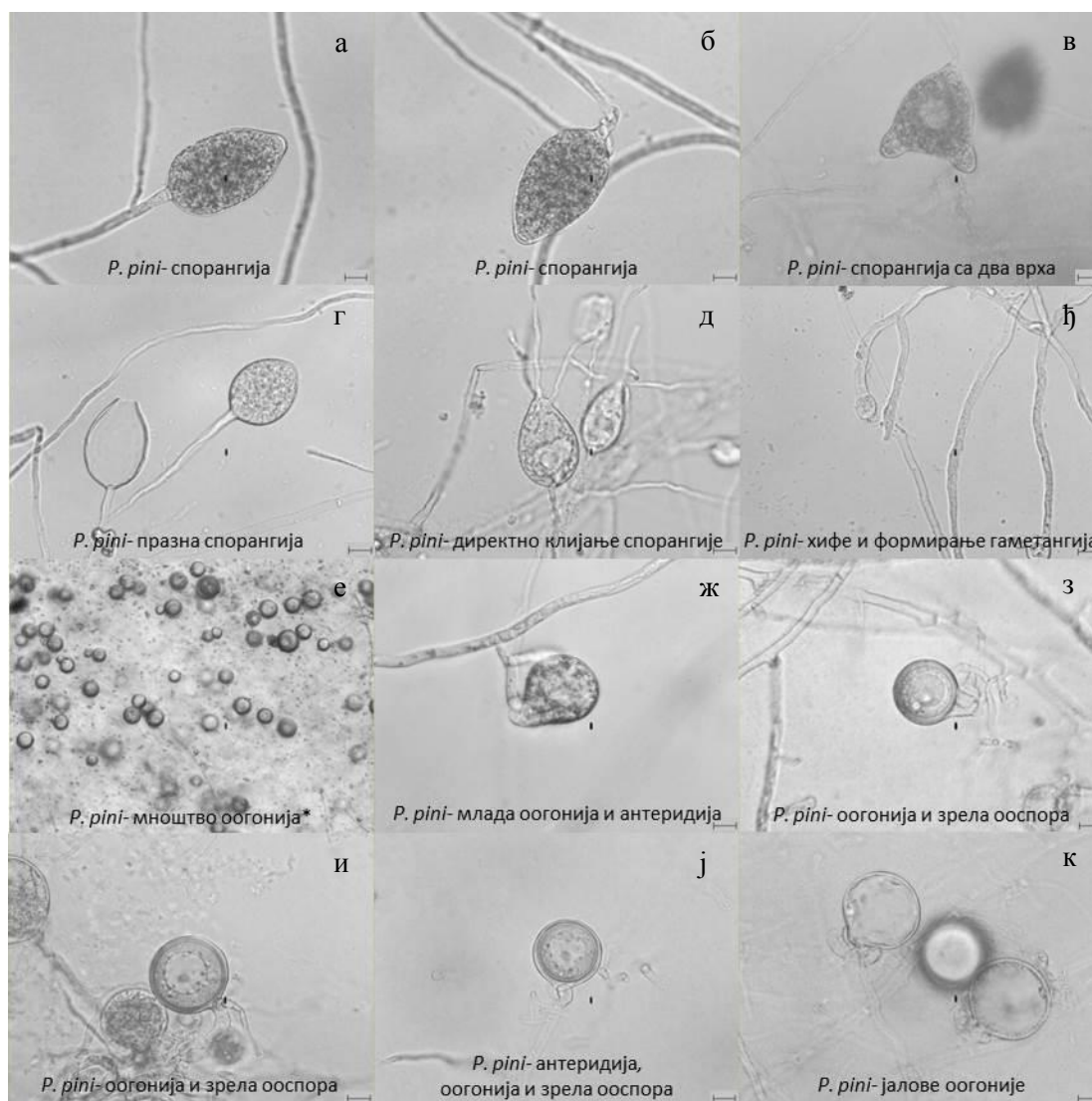
Врста је имала колонију брзог пораста, која је на оптималних 25°C износила 8,34±0,34 mm/дан на СА подлози (табела 8). Колонија је била хризантемаста, посебно изражена на МЕА, V8А и шљивином агару (табела 9; слика 18). Врста је била хомоталична са већином округлим оогонијама (слика 21е-к) глатких зидова, чије су просечне димензије износиле 32,90±3,04 × 32,82±3,12 μm. Забележена је и појава стерилних оогонија (слика 21 к), али у јако ниском проценту (<2%) у односу на укупан број посматраних оогонија. Ооспоре су биле углавном округле (слика 21 е, з-ј) до благо спљоштене са просечним димензијама од 27,11±2,25 × 27,27±2,27 μm. Просечна дебљина зида ооспоре је износила 1,40±0,27 μm. Антеридије су се формирале са стране-паригене, биле су округле, овоидне, обовоидне (слика 21 ж-з), ређе издужено обовоидне до батинасте (слика 21 и) или неправилног облика (слика 21 ј). Просечне димензије антеридија су износиле 14,18±2,26 × 9,63±1,34 μm.

Спорангије су биле полубрадавичасте, постојане и на симподијалним (слика 21 а, г) или простим (слика 21 б) спорангиофорима. Формирале су се углавном терминално и симетрично у односу на спорангиофор (слика 21 а-д), али су забележени и случајеви са интеркаларно образованим спорангијама, благо одстојећим или латерално формираних у односу на спорангиофор. Облик им је био елипсоидан до издужено елипсоидан (слика 21 а), овоидан до издужено овоидан (слика 21 б), лимунаст или обкрушкаст. Просечне димензије спорангија су биле 51,26±8,16 × 33,81±3,97 μm. Однос дужине и ширине спорангија је био 1,52±0,17, а просечна ширина отвора празне спорангије је износила 9,99±1,18 μm. Такође, у већини препарата, а нарочито старијим (10-14 дана), плавленим у нестерилном раствору па у дестилованој води, забележена је појава неправилних облика у виду спорангија са две (слика 21 в) и три брадавице, закривљених у облику бумеранга и кикирикија и различитих других неправилних облика, као и појава директног клијања спорангија у иницијалну хифу (слика 21 д).

Врста је веома слична са горе наведеним *Phytophthora plurivora* и *P. citricola* изолатима и несумњиво припада *P. citricola* комплексу, али су забележене разлике указале на трећу врсту из овог комплекса. Спорангије код ове врсте су биле мање униформне него код *P. plurivora* при чему је појава неправилних



облика била чешћа у свежим препаратима и ишла је са формирањем првих спорангија у нестерилном раствору. Такође, величина оогонија и антеридија је била благо већа у односу на *P. plurivora* (табела 7), као и брзина пораста на СА подлози (табела 8, графикон 1). Све ове карактеристике су указивале на *Phytophthora pini* Leonian, предходно познату као *Phytophthora citricola* I (GALLEGLY and HONG 2008), а недавно ре-описану као нова врста из овог комплекса (HONG *et al.* 2011). Молекуларним истраживањима је потврђена идентификација ове врсте о чему ће бити више речи у наредном поглављу и у дискусији. Ово је први налаз *P. pini* на тополама и лужњаку у Србији.



Слика 21. Забележене структуре *Phytophthora pini*; бар=10 $\mu$ m

Figure 21. Recorded structures of *Phytophthora pini*; bar=10 $\mu$ m

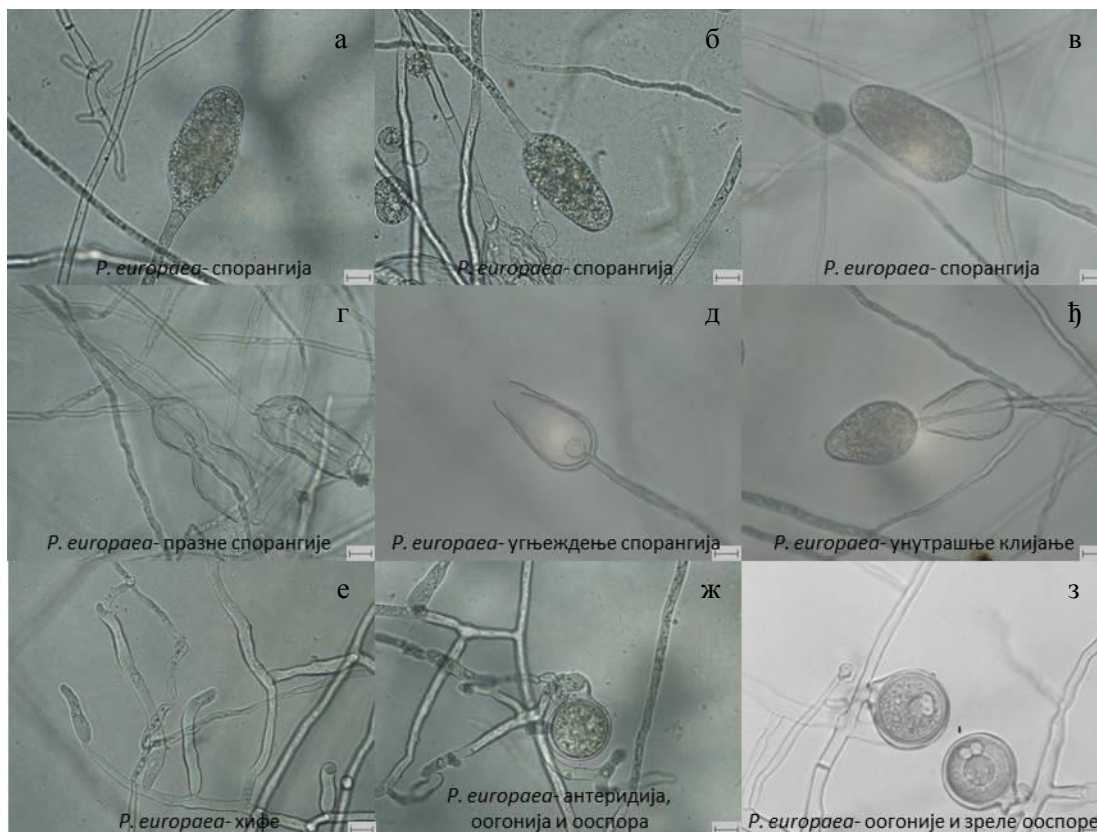
## Група 5

### ***Phytophthora europaea* Hansen and Jung**

Хомоталична врста која је имала спорангије са равним врхом са три добијена изолата из састојина храста лужњака. Мицелија је била средње брзог пораста на оптималних 25°C и износила је 5,70±0,36 mm/дан на СА подлози (табела 8). Колонија је била сомотаста и без посебног облика на тестираним супстратима (табела 9; слика 18). Оогоније су биле округле до благо спљоштене са глатким зидовима (слика 22 ж-з), просечних димензија 36,44±4,23 × 32,97±3,29 μm. Основа оогоније је била конусно сужена и благо закривљена (слика 22 з). Ооспоре су биле округле, крупне и често су ипуњавале оогонију (слика 23 ж-з), просечних димензија 25,68±2,48 × 25,68±2,49 μm. Просечна дебљина зида ооспоре је била 1,49±0,36 μm. Антеридије су биле округласте, благо издужене до батинасте и обично су се формирале око основе оогоније (слика 22 ж-з). Димензије антеридија су биле 13,90±4,88 × 9,46±2,36 μm.

Спорангије су биле постојане, елипсасте до издужено овоидне (слика 22 а-в), овоидне (слика 22 ђ) или обкрушкасте, често са конусним сужењем у основи и проширеним спорангиофором на месту контакта са спорангијом (слика 22 а). Такође, забележене су и спорангије са сужењима у средини (ампуласти облици) (слика 22 г). Просечне димензије спорангија су биле 63,26±8,96 × 35,03±7,92 μm, док је просечан однос дужине и ширине износио 1,75±0,30. Празна спорангија је имала широк отвор од 15,24±3,15 μm, а појава унутрашњег клијања (слика 22 г-д) и унутрашњег клијања са спољашњим формирањем (слика 22 ђ) је била честа.

Према свим наведеним особинама врста није одговарала ни једној наведеној у кључевима WATERHOUSE (1963, 1970) и STAMPS *et al.* (1990), као ни врстама наведеним у ERWIN and RIBEIRO (1996). Консултовањем новије литературе и оригиналних научних радова са новоописаним врстама, карактеристике наших изолата, нарочито домаћин, хомоталичност, облик оогоније, брзина пораста и изглед колоније су одговарале *Phytophthora europaea* и ово је први налаз ове врсте на храсту лужњаку у Србији.



Слика 22. Забележене структуре *Phytophthora europaea*; бар=10 $\mu$ m

Figure 22. Recorded structures of *Phytophthora europaea*; bar=10 $\mu$ m

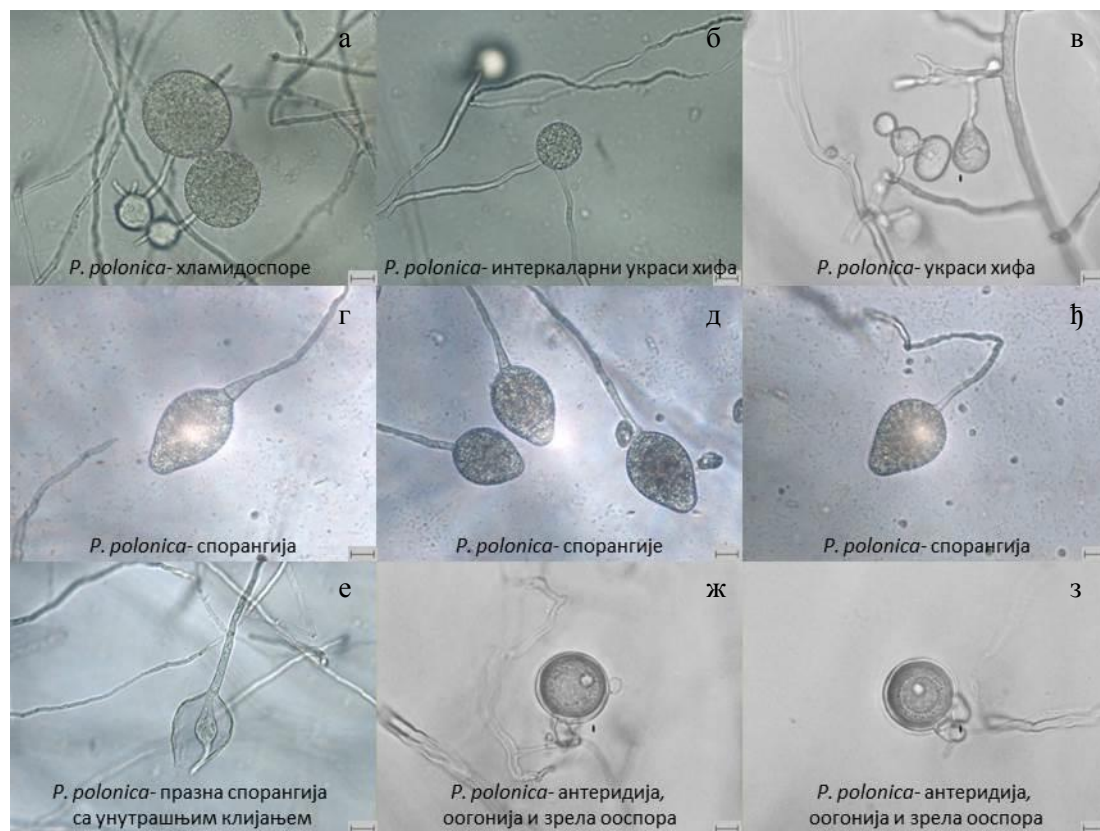
### *Phytophthora polonica* Belbahri *et al.*

Мицелија је била средње брзог пораста на оптималних 25°C и износила је 4,25 $\pm$ 0,38 mm/дан на СА подлози (табела 8). Колонија је била розетаста и приљубљена за супстрат (табела 9; слика 18). Оогоније су биле крупне (33,59 $\pm$ 3,09  $\times$  31,75 $\pm$ 3,34  $\mu$ m), глатких зидова и са благо закривљеном основом (слика 23 ж) код одређеног броја изолата. Ооспоре су биле округле (23,74 $\pm$ 3,17  $\times$  23,74 $\pm$ 3,17  $\mu$ m), ређе благо спљоштене и са дебелим зидовима (2,55 $\pm$ 0,39  $\mu$ m). Антеридије су биле округле, овоидне, обовоидне до батинасте или различитих неправилних облика и биле су прикачене са стране на различитим позицијама на оогонији- „paragynous“ (слика 23 з). Такође, код одређеног броја оогонија забележен је и амфигени- „amphigynous“ тип антеридија (слика 23 ж).

Спорангије су биле постојане са заобљеном основом (слика 23 д-ђ), правилне и терминално формиране. Облик спорангије је углавном био овоидан (слика 23 г, ђ), издужено овоидан (слика 23 д), ређе елипсоидан и обкрушкаст. На

местима контакта са спорангијом забележено је проширење спорангиофора (слика 23 г). Просечне димензије спорангија су биле  $44,44 \pm 4,56 \times 33,17 \pm 2,90 \mu\text{m}$ , а ширина отвора празне спорангије  $14,20 \pm 2,52 \mu\text{m}$ . Однос дужине и ширине спорангија је био  $1,34 \pm 0,09$ . Врста је такође образовала и крупне округле хламидоспоре ( $31,83 \pm 6,52 \times 30,48 \pm 6,45 \mu\text{m}$ ), формиране терминално (слика 23 а) и интеркаларно, као и украсе хифа различите величине и облика (слика 23 б-в).

Врста се није уклапала у описе врста наведених у кључевима и у листи врста у ERWIN and RIBEIRO (1996), а према свим наведеним карактеристикама врста је идентификована као *Phytophthora polonica* ВЕЛВАНРИ *et al.* (2006). Ово је први налаз ове врсте у Србији и према доступним литературним изворима, први налаз на храсту лужњаку и тополи у свету (табела 6).



**Слика 23.** Забележене структуре *Phytophthora polonica*; бар=10 $\mu\text{m}$

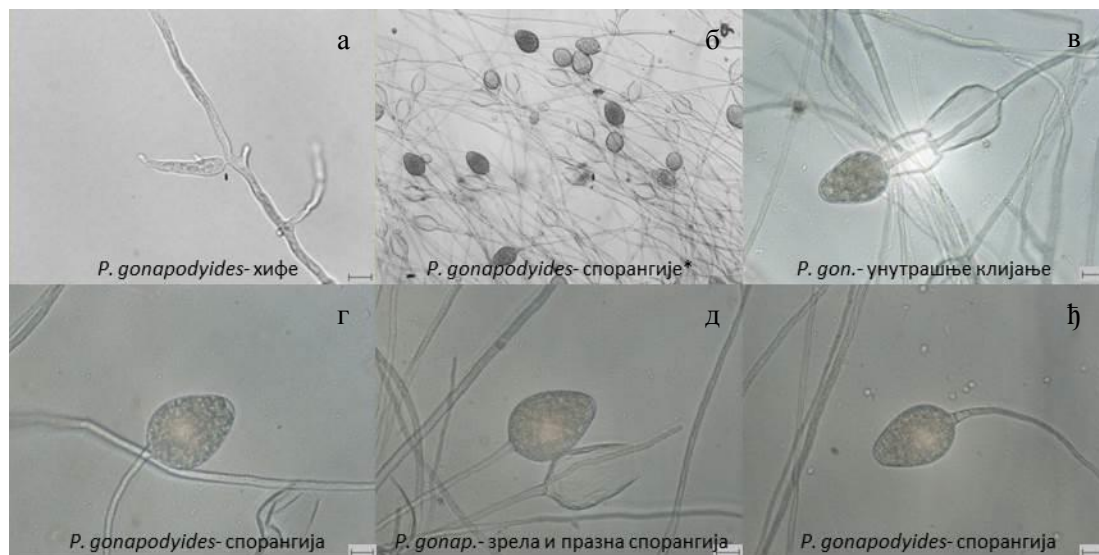
**Figure 23.** Recorded structures of *Phytophthora polonica*; bar=10 $\mu\text{m}$

Група 5/6

*Phytophthora gonapodyides* (H. E. Petersen) Buisman

Деветнаест изолата са различитих домаћина и из различитих влажних станишта је имало колонију облика розете (табела 9; слика 18). Пораст мицелије је износио максималних  $3,98 \pm 0,31$  mm/дан на СА подлози, на оптималних  $25^{\circ}\text{C}$  (табела 8). Хифе су биле неправилног облика са проширењима на различитим позицијама и карактеристичним сужењима на местима бочног гранања (слика 24 а). Узимајући у обзир да није забележена појава гаметангија у чистим културама, као ни у културама у тестовима спаривања са познатим тестер изолатима (табела 11), изолати ове врсте су вођени као стерилни.

Спорангије су биле постојане са равним врхом (слика 24 б-ђ), образовале су се терминално, углавном овоидног (слика 23 в-ђ), ређе обкрушкастог до елипсастог облика. Забележено је карактеристично унутрашње клијање (слика 24 в-д) спорангија са спољашњим формирањем (слика 24 в). Просечне димензије спорангија су биле  $46,07 \pm 6,59 \times 32,87 \pm 4,80$   $\mu\text{m}$ . Однос дужине и ширине је износио  $1,41 \pm 0,11$ . Просечна ширина отвора празне спорангије је износила  $12,57 \pm 1,84$   $\mu\text{m}$ .



Слика 24. Забележене структуре *Phytophthora gonapodyides*; бар=10 $\mu\text{m}$

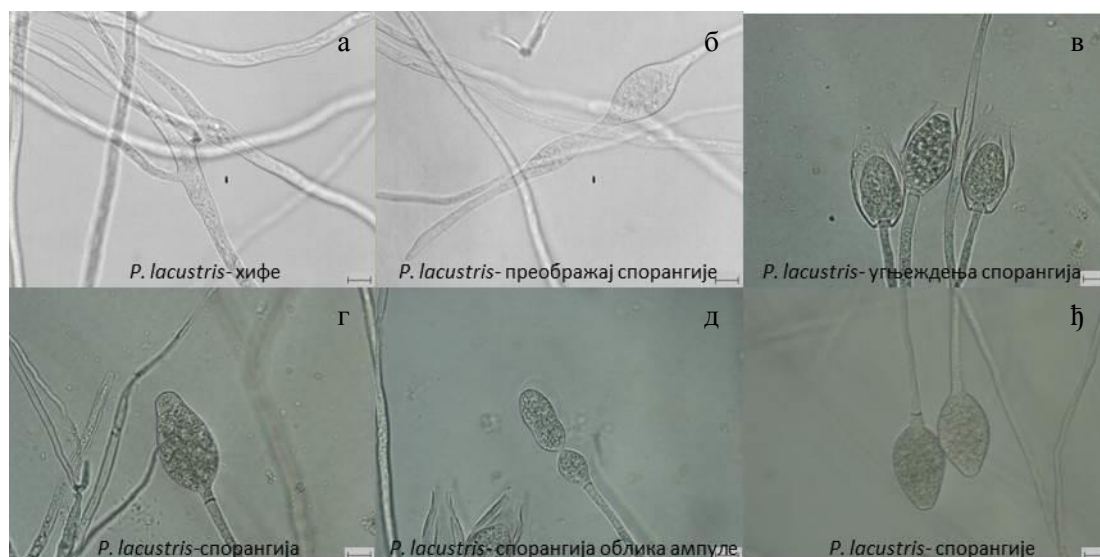
Figure 24. Recorded structures of *Phytophthora gonapodyides*; bar=10 $\mu\text{m}$



### *Phytophthora lacustris* Brasier *et al.*

Колонија је била розетаста, на MEA и PDA благо одстојећа и полуваздушаста а на осталим подлогама полегла (табела 9; слика 18). Оптимална температура пораста је била на 30°C, а максимална између 35 и 40°C, што је јасно разликује од морфолошки сличне *P. gonapodyides*. Брзина пораста на оптималној температури је износила  $4,72 \pm 0,31$  mm/дан на СА подлози (табела 8). Спорангије су биле са равним врхом и широким отвором празне спорангије ( $11,55 \pm 1,86$   $\mu$ m). Образовале су се терминално и мање више симетрично у односу на спорангиофоре (слика 25 в-ђ). Постојане су, често са конусним сужењем и основом у облику дршке (слика 25 г, љ). Такође, забележено је и благо проширење конидиофора на месту контакта са спорангијама (слика 25 д, љ). Скоро све примарне спорангије су имале појаву вишеструког унутрашњег клијања (слика 23 в) и унутрашњег клијања са спољашњим формирањем са једног матичног спорангиофора. Просечне димензије спорангија су биле  $52,73 \pm 8,01 \times 30,99 \pm 4,84$   $\mu$ m. Однос дужине и ширине је био висок и износио је  $1.73 \pm 0.32$ . Варијабилност њиховог облика је била велика и кретала се од овоидних (слика 25 љ), издужено овоидних (слика 25 г) и различитих других неправилних облика са сужењима у средини (ампуласти облици) (слика 25 д). Појава овалних или елипсастих спорангија са заобљеном основом је углавном била везана за секундарне спорангије, формиране унутар празних, матичних спорангија (слика 25 в). Такође, забележена је и појава преображаја спорангија у виду лажних задебљања хифа (слика 25 б), из којих је полазила углавном по једна иницијална хифа и то симетрично у односу на спорангије. Хифе су биле различите дебљине са сужењима на местима бочног гранања (слика 25 а).

Врста није образовала гаметангије у агар-култури, а у тестовима спаривања са познатим тестер изолатима (табела 11) такође није образовала оогоније и антеридије што указује на њен стерилитет. На основу свих наведених карактеристика врста је идентификована као *Phytophthora lacustris* sp. nov. Brasier *et al.*, предходно познату као *Phytophthora* taxon 'Salixsoil' Brasier *et al.* и ово је први налаз ове врсте на више различитих домаћина у Србији.



Слика 25. Забележене структуре *Phytophthora lacustris*; бар=10 $\mu$ m

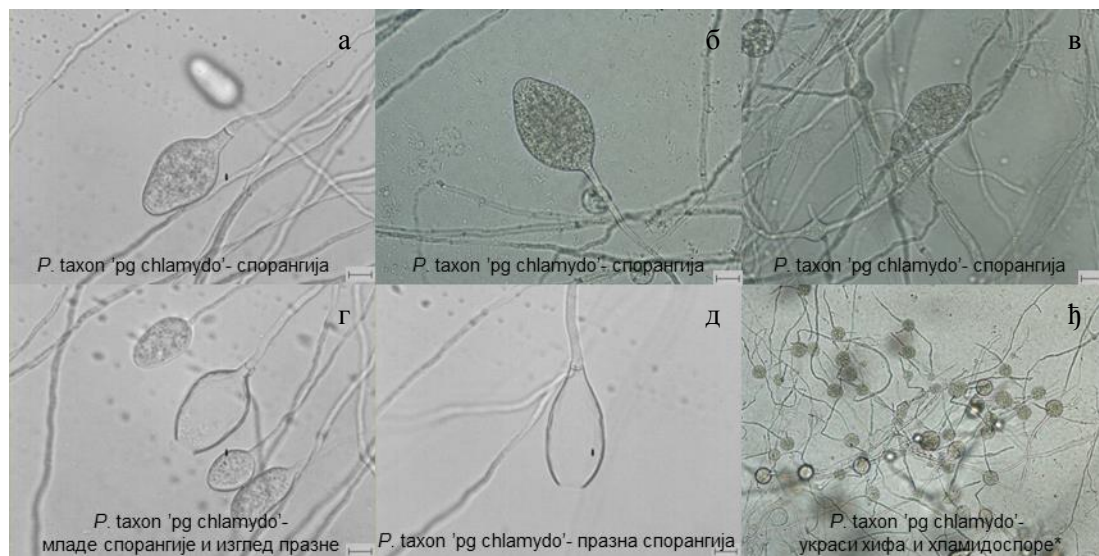
Figure 25. Recorded structures of *Phytophthora lacustris*; bar=10 $\mu$ m

***Phytophthora* taxon 'Pg Chlamydo' Brasier et al. (= *P. chlamydospora* Hansen et al.)**

Два изолата су у изгледу колоније била веома слична са *P. gonapodyides* и *P. lacustris*, формирајући соматасту до памучасту колонију, ваздушасту у средини и скоро полеглу по ободу, розетастог облика (табела 9; слика 18). Спорангије су такође биле сличне, правилне овоидне са заобљеном основом (слика 26 б) као код *P. gonapodyides*. Забележени су и варијабилни облици у виду обовоидних и ампуластих спорангија (слика 26 в) и спорангија са основом у облику дршке (слика 26 а, г) као код *P. lacustris*. Такође, забележена је и појава проширења спорангиофора на месту контакта са спорангијама (слика 26 а, д). Просечне димензије спорангија су биле  $42,64 \pm 7,46 \times 28,30 \pm 5,30 \mu\text{m}$ , а ширина отвора празне спорангије је износила  $11,04 \pm 1,48 \mu\text{m}$ . Однос дужине и ширине спорангија је износио  $1,53 \pm 0,23$ . Врста није образовала гаметангије у агар-култури, а у тестовима спаривања са познатим тестер изолатима (табела 11) такође није образовала оогоније и антеридије што указује на њен стерилитет.

Међутим, неколико битних карактеристика је указало на једну другу врсту, пре свега нешто нижа оптимална температура за пораст која се кретала између 20 и 25°C (табела 10). Максимална брзина мицелије од  $3,96 \pm 0,33 \text{ mm/дан}$  је забележена на 20°C на СА подлози (табела 8). Такође, код ова два изолата је забележена и појава украса хифа и хламидоспора ( $20,81 \pm 4,62 \times 20,0 \pm 3,74 \mu\text{m}$ ) у

карактеристичним ланцима и кластерима (слика 26 в, ђ) што је недвосмислено указивало на *Phytophthora* taxon 'Pg Chlamydo' Brasier *et al.*, за коју је недавно предложен назив *P. chlamydospora* (HANSEN *et al.* 2014). Ово је први налаз ове врсте у Србији.



**Слика 26.** Забележене структуре *Phytophthora* taxon 'Pg Chlamydo'; бар=10μm

**Figure 26.** Recorded structures of *Phytophthora* taxon 'Pg Chlamydo'; bar=10μm

## Група 6

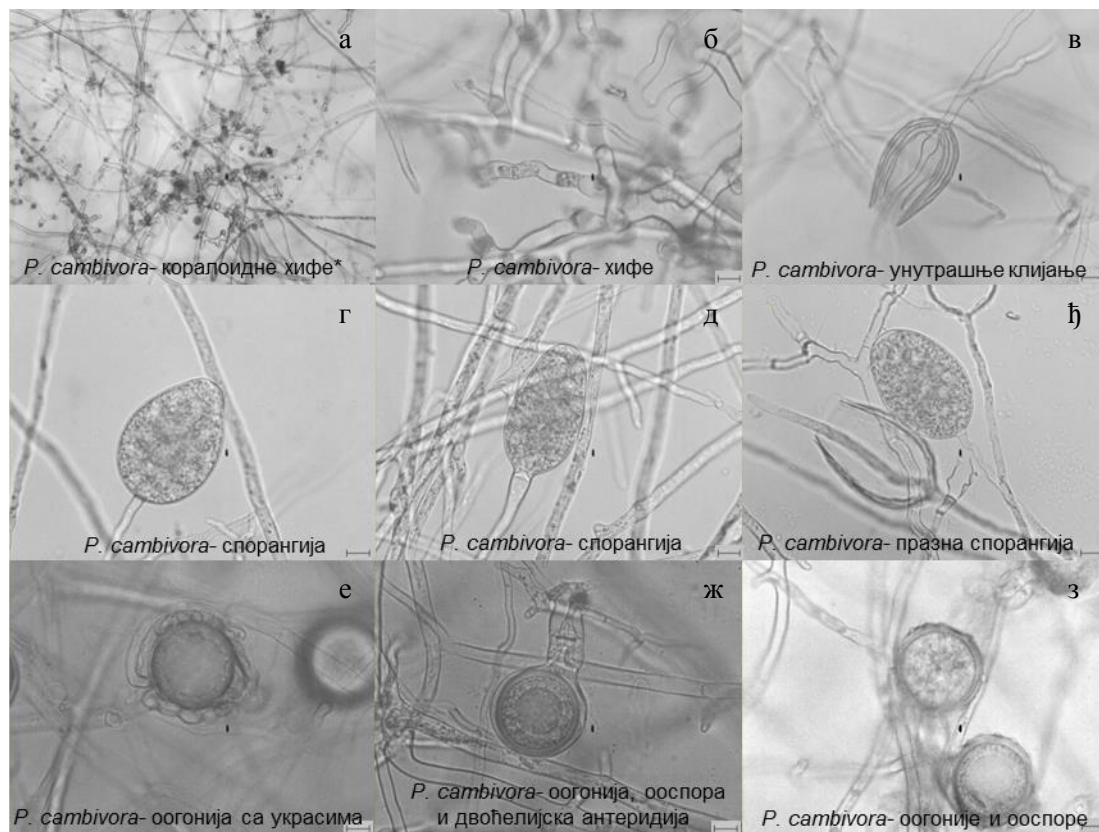
### *Phytophthora cambivora* (Petri) Buisman

Изолати су имали карактеристичну паперјасту, вунасту или памучасту колонију са ваздушастом мицелијом у средини (табела 9; слика 18). Оптимална температура за пораст је била 25°C, а максимална брзина пораста на овој температури је износила 5,74±0,56 mm/дан на СА подлози (табела 8). Хифе су имале карактеристичан коралоидан изглед (слика 27 а-б), а појава украса хифа је била веома ретка и забележена је у малом броју случајева. Врста је образовала спорангије са равним врхом (nonpapillate), различитог облика у зависности од старости препарата и кретале су се од овоидних (слика 27 г), елипсастих (слика 27 ђ), издужено елипсастих (слика 27 д), ређе до обкрушкастих. Спорангије су се образовале терминално на врху спорангиофора и биле су са заобљеном основом углавном без конусног сужења и основе у облику дршке, али су забележени

изузеци (слика 27 д). Просечне димензије спорангија су биле  $49,93 \pm 8,30 \times 34,45 \pm 4,47 \mu\text{m}$ . Однос ширине и дужине спорангија је био  $1,45 \pm 0,13$ . Спорангије су биле постојане и образовале су се искључиво симетрично у односу на спорангиофор (слика 27 в-ђ). Појава вишеструког унутрашњег клијања (nested internal proliferation-клијање једне унутар друге) је била честа (слика 27 в), као и појава унутрашњег клијања са спољашњим формирањем спорангија (extended internal proliferation). Ширина отвора празне спорангије је била релативно велика и износила је  $15,05 \pm 2,56 \mu\text{m}$ .

Врста није образовала гаметангије у чистим културама. У тестовима спаривања са компатибилним типовима друге хетероталичне врсте образовала је гаметангије у виду амфигених (amphigynous), двоћелијских антеридија (слика 27 ж), које су обавијале оогоније у основи. Оогоније су биле крупне ( $43,39 \pm 5,75 \times 41,57 \pm 4,77 \mu\text{m}$ ) са карактеристичним кружним украсима и јастучастим израштајима-мехурастим украсима на површини зида оогоније (слика 27 е, з). Ооспоре су биле крупне (слика 27 е-з), округле до благо спљоштене, просечних димензија од  $31,62 \pm 3,75 \times 31,91 \pm 3,95 \mu\text{m}$ . Просечна дебљина зида ооспоре је износила  $2,48 \pm 0,42 \mu\text{m}$ . Димензије антеридија су износиле  $27,58 \pm 5,79 \times 16,61 \pm 1,51 \mu\text{m}$ . Сви изолати, тестирани у тестовима спаривања са компатибилним паровима су припадали А2 типу спаривања (табела 11).

Хетероталичност и двоћелијске антеридије у комбинацији са украсима на зидовима оогоније су карактеристике које су недвосмислено указивале на *Phytophthora cambivora*. Ово је први налаз *P. cambivora* на ловорвишњи у Србији.



Слика 27. Забележене структуре *Phytophthora cambivora*; бар=10µm

Figure 27. Recorded structures of *Phytophthora cambivora*; bar=10µm

### *Phytophthora cryptogea* Pethybridge and Lafferty

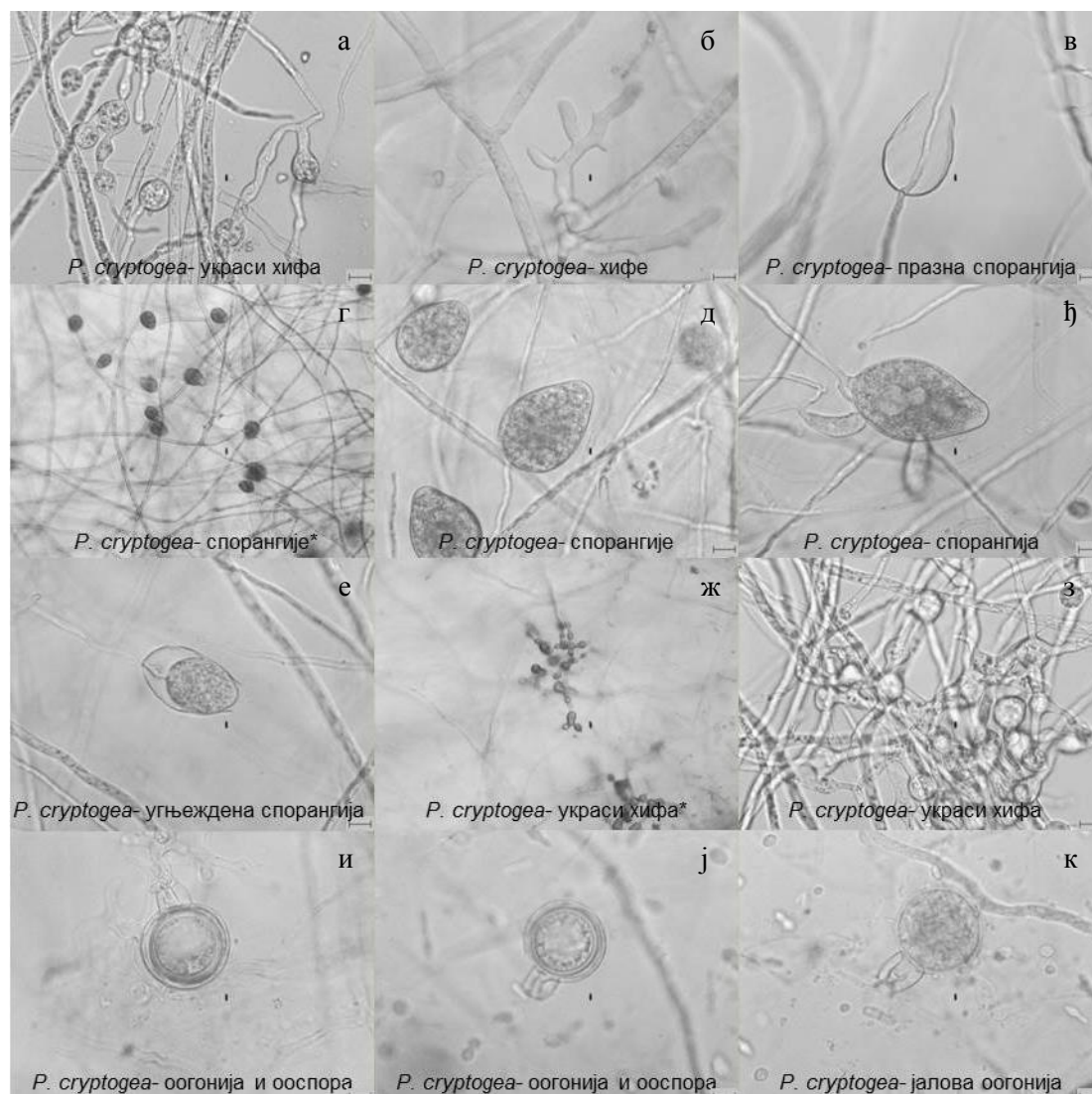
Изолати су имали густу вунасту до памучасту мицелију, ваздушну до полуваздушну колонију, најчешће баршунасту или без облика на СА подлози (табела 9; слика 18). Хифе су биле правилне, у старијим културама благо кораллоидне (слика 28 б). Украси хифа су били јако заступљени у препаратима плавленим у нестерилном раствору па у дестилованој води (слика 28 а), формирали су се у ланцима различите дужине и облика (слика 28 ж-з).

Спорангије су биле постојане после сазревања, са равним врхом (слика 28 г-е) и овоидног (слика 28 д), издужено овоидног до обкрушкастог облика (слика 28 ђ). Просечне димензије спорангија су биле  $40,67 \pm 7,76 \times 29,51 \pm 5,01 \mu\text{m}$ , а однос дужине и ширине је износио  $1,39 \pm 0,15$ . Секундарне спорангије, образоване унутар празних су биле елипсастиг или јајастог облика (слика 28 е). Основа спорангије је била заобљена без конусног сужења, по некада благо асиметрична у односу на

спорангиофор. Појава вишеструког унутрашњег клијања (слика 28 е) је такође забележена као и симподијално гранање спорангиофора (слика 28 ђ). Просечна ширина отвора празне спорангије је износила  $11,57 \pm 1,57 \mu\text{m}$ .

Изолати ове врсте нису образовали гаметангије у чистим културама, а у тестовима спаривања (табела 11) су забележене крупне оогоније ( $36,0 \pm 4,02 \times 37,06 \pm 4,11 \mu\text{m}$ ), глатких зидова, које су имале конусно сужење у основи и углавном округле ооспоре (слика 28 и-к). Просечне димензије ооспора су биле  $28,08 \pm 4,11 \times 28,10 \pm 3,98 \mu\text{m}$ . Дебљина зида ооспоре је била  $1,90 \pm 0,49 \mu\text{m}$ . Антеридије су биле амфигене, округле или благо цилиндричне и обавијале су оогонију у основи (слика 28 и-к). Просечне димензије антеридија су биле  $15,29 \pm 2,46 \times 12,52 \pm 0,59 \mu\text{m}$ . Сви наши изолати су имали А2 тип у тестовима спаривања. Појава оогонија са стерилним ооспорама је такође забележена (слика 28 к). На основу свих забележених карактеристика ови изолати су идентификовани као *Phytophthora cryptogea* и ово је први налаз ове врсте на храсту китњаку у Србији.





**Слика 28.** Забележене структуре *Phytophthora cryptogea*; бар=10µm

**Figure 28.** Recorded structures of *Phytophthora cryptogea*; bar=10µm

#### 4.2.4. Тестови спаривања са А1 и А2 тестер изолатима

Три до четири недеље после укрштања и инкубације према горе наведеној методологији све културе су прегледане под светлосним микроскопом ради утврђивања присуства образованих полних елемената. Сваки изолат је окарактерисан као одређени тип спаривања у зависности од формирања полних елемената после укрштања са супротним типом из тестер изолата. Подаци су

такође укрштани са другим морфолошким карактеристикама ради коначне потврде добијене врсте.

Укупно је проверено 48 изолата различитих стерилних и хетероталичних врста које нису образовале оогоније и антеридије у чистим културама (табела 11).

**Табела 11.** Резултати тестова спаривања

**Table 11.** Results of mating type tests

<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora</i> species	Изолат Isolate	Тестер изолат Tester isolate	Присуство антеридија, оогонија и ооспора Presence of antheridium, oogonium and oospores	Талус, тип Thallus, type
<i>P. cambivora</i>	2011/F.S.03	BBA 21/95-KII	+	Хетероталична, А2
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/F.S.04	BBA 21/95-KII	+	Хетероталична, А2
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/F.S.05	BBA 21/95-KII	+	Хетероталична, А2
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2013/F.S.03	BBA 21/95-KII	+	Хетероталична, А2
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2013/F.S.06	BBA 21/95-KII	+	Хетероталична, А2
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2010/P.LA.0.1	BBA 21/95-KII	+	Хетероталична, А2
		BBA 20/95-2bIII	-	
<i>P. cryptogea</i>	2012/Ras.Q.P.02	BBA 65909	+	Хетероталична, А2
		BBA 63651	-	
	2012/Ras.Q.P.05	BBA 65909	+	Хетероталична, А2
		BBA 63651	-	
	2012/Q.P.14	BBA 65909	+	Хетероталична, А2
		BBA 63651	-	
<i>P. citrophthora</i>	2012/Q.P.21	BBA 65909	-	Хетероталична, А1
		BBA 63651	+	
<i>P. gonapodyides</i>	2010/Q.F.Blato05	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/Q.R.14	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/F.A.11	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/F.A.11	BBA 65909	-	Стерилна
		BBA 63651	-	
	2011/F.A.18	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/F.S.01	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/Voda.05	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/Blato.06	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/A.C.01/02	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/F.A.03	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/A.C.03	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2013/Q.RU.02	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2013/Q.RU.02	BBA 65909	-	Стерилна
		BBA 63651	-	
	2011.Pop.Voda.01	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/Pop.04	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	



Табела 11. Наставак

Table 11. Continuation

<i>P. lacustris</i>	2011/F.A.09	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/F.A.10	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/F.A.14	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/Blato.01	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/Q.R.41	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/F.A.17	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/Q.R.43	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/F.A.19	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/A.HE.02	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/Voda.01	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/Voda.02	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/Voda.04	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/A.PL.01	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/F.A.02	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/A.T.01	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2012/F.A.09	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
2012/F.A.10	BBA 21/95-KII	-	Стерилна	
	BBA 20/95-2bIII	-		
2012/F.A.12	BBA 21/95-KII	-	Стерилна	
	BBA 20/95-2bIII	-		
2013/F.A.2	BBA 21/95-KII	-	Стерилна	
	BBA 20/95-2bIII	-		
2011/Pop.03	BBA 21/95-KII	-	Стерилна	
	BBA 20/95-2bIII	-		
2012/Pop.04	BBA 21/95-KII	-	Стерилна	
	BBA 20/95-2bIII	-		
<i>P. taxon pg chlamydo</i>	2011/Fa-Ab.01	BBA 21/95-KII	-	Стерилна
		BBA 20/95-2bIII	-	
	2011/Fa-Ab.02	BBA 21/95-KII	-	Стерилна

### 4.3. Закључци

На основу добијених резултата можемо извући следеће закључке:

- Од укупног броја узоркованих састојина, 81 (74%) је била позитивна на присуство *Phytophthora* врста;
- од укупно 432 узорака, 240 (56%) је било позитивно после изолације;

- у шумским састојинама је било позитивно 179 узорака (56%), код шумских плантажа и вештачки подигнутих састојина позитивно је било 34 узорка (74%), код расадника 6 узорака (35%), док је у случају паркова и зелених површина 21 узорак (45%) био позитиван;
- укупно је добијено 378 изолата врста из рода *Phytophthora* и то 253 из шумских састојина, 78 из плантажа и вештачки подигнутих састојина, 20 из расадника и преосталих 27 из парковских и зелених површина;
- после извршених морфолошких анализа, добијени изолати врста из рода *Phytophthora* су разврстани у пет морфолошких група према Waterhouse (1963) и то у I, II, III, V и VI групу;
- укупно је добијено 15 различитих врста из рода *Phytophthora*, укључујући *P. cactorum* са 22 изолата, *P. cambivora* са осам изолата, *P. citricola* са једним изолатом, *P. citrophthora* са два изолата, *P. cryptogea* са четири изолата, *P. europaea* са три изолата, *P. gonapodyides* са 19 изолата, *P. lacustris* са 32 изолата, *P. plurivora* са 165 изолата, *P. pini* са 16 изолата, *P. polonica* са 16 изолата, *P. quercina* са 19 изолата, *P. syringae* са три изолата, *P. taxon 'Pg Chlamydo'* са два изолата и *P. ×serendipita* са пет изолата;
- за изолате врста *P. cambivora*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. taxon 'Pg Chlamydo'*, *P. gonapodyides* и *P. lacustris*, које нису образовале гаметангије у чистим културама извршено је спаривање са тестер изолатима са познатим типовима спаривања при чему је одређен стерилитет или хетеротализам наведених врста;
- после изведених тестова спаривања, потврђено је да су хетероталичне *P. cambivora* и *P. cryptogea* припадале А2 типу спаривања, док је *P. citrophthora* припадала А1 типу. *P. gonapodyides*, *P. taxon 'Pg Chlamydo'* и *P. lacustris* су биле стерилне и нису образовале гаметангије;
- први налаз *Phytophthora cryptogea*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. europaea*, *P. gonapodyides*, *P. lacustris*, *P. pini*, *P. polonica*, *P. syringae*, *P. taxon 'Pg Chlamydo'* и *P. ×serendipita* у Србији;
- први налаз *Phytophthora pini* и *P. polonica* на новим дрвенастим домаћинима и први налаз *P. ×serendipita* на шумским дрвенастим домаћинима у свету.

## 5. МОЛЕКУЛАРНА ИДЕНТИФИКАЦИЈА

Узимајући у обзир велики број новоописаних врста и таксона у последњих 15 година (BRASIER 2009; JUNG *et al.* 2011; NECHWATAL *et al.* 2012; KROON *et al.* 2012; MARTIN *et al.* 2014), чије карактеристике нису сврстане у предходно поменуте кључеве, као и чињеницу да постојећи морфолошки кључеви не прате природну поделу овог рода на комплексе врста и врсте *sensu* KROON *et al.* (2004), неопходно је извршити и молекуларну идентификацију добијених репрезентативних изолата и потврдити налазе морфолошких анализа.

### 5.1. Материјал и метод

За потребе молекуларних истраживања одабрани су изолати који су развијани и чије су морфолошке карактеристике предходно одређене. Из једног дела изолата екстрахована је DNK са којом су вршене PCR и реакције секвенцирања. Из осталих изолата није екстрахована DNK, већ су PCR реакције извођене после узимања фрагмената хиџа директно из чистих култура према методи која ће бити описана у наставку (метод директних PCR реакција). Листа изолата који су коришћени за молекуларне анализе је приказана у табели 12, а изолати из којих је изолована DNK су означени звездицом поред ознаке изолата.

**Табела 12.** Листа изолата коришћених за секвенцирање са домаћинима и пореклом

**Table 12.** List of isolates used for sequencing with hosts and origin

Број; Num.	Изолат Isolate	Радна шифра изолата Working code of isolates	Број у IBL Колекцији Number in IBL collection	NCBI приступни код NCBI access code	Филогенетика Phylogeny	Домаћин Host	Порекло Origin
1	2011/F.A.08*	1	IBL306	JX276051	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља
2	2011/Q.R.13*	2	IBL307	JX276052	-	<i>Quercus robur</i>	Земља
3	2011/Q.R.12*	3	IBL308	JX276053	-	<i>Q. robur+Fraxinus angustifolia</i>	Земља
4	2010/Q.F.02*	4	IBL359	KF234661	-	<i>Quercus robur</i>	Земља
5	2010/MIX.01*	5	IBL360	KM272259	+	<i>Q. frainetto+Q. petraea</i>	Земља и вода
6	2010/MIX.01*	6	IBL320	JX276054	-	<i>Q. frainetto+Q. petraea</i>	Влажна земља
7	2011/Q.P.02*	8	IBL309	JX276055	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља
8	2011/Q.R.14	8/1/10	IBL310/1	JX276041	-	<i>Quercus robur+ F. angustifolia</i>	Земља
9	2011/Q.P.05*	11	IBL311	JX276057	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља
10	2010/F.A.01*	15	IBL312	JX276058	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља
11	2010/F.A.03*	16	IBL313	JX276059	-	<i>Fraxinus angustifolia + Q. robur</i>	Земља

Табела 12. Наставак

Table 12. Continuation

12	2009/Q.R.02*	17	IBL314	JX276060	-	<i>Quercus robur</i>	Земља
13	2009/Q.R.03*	18	IBL314/1	JX276063	-	<i>Quercus robur</i>	Земља
14	2011/C.B.01	18/1	IBL365	KF234662	-	<i>Carpinus betulus</i>	Земља и корење
15	2012/P.AV.01	19/1	IBL366	KF234663	-	<i>Prunus avium</i>	Земља и корење
16	2011/Q.R.28*	20	IBL315	JX276061	+	<i>Quercus robur</i>	Земља
17	2011/Q.R.30*	21	IBL316	JX276062	+	<i>Quercus robur</i>	Земља
18	2011/Q.R.33*	24	IBL318	JX276064	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
19	2011/Q.R.34*	25	IBL319	JX276065	-	<i>Q. robur</i> + <i>F. angustifolia</i>	Земља
20	2011/A.P.01*	26	IBL321	JX276066	-	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Земља
21	2011/A.P.05*	27	IBL322	JX276067	-	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Земља
22	2011/A.P.09*	28	IBL323	JX276068	-	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Земља
23	2011/A.P.07*	29	IBL324	JX276069	-	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Земља
24	2011/A.P.14*	30	IBL325	JX276090	-	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Земља
25	2010/A.P.01*	31	IBL326	JX276071	-	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Земља
26	2010/A.HI.02	32	IBL367.1	JX276072	-	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Земља и корење
27	2010/A.HI.03	32/1	IBL367	KF234664	-	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Земља и корење
28	2010/A.HI.9	33	IBL368.1	JX276073	-	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Земља и корење
29	2010/A.HI.10	33/1	IBL368	KF234665	-	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Земља и корење
30	2010/A.P.01*	34	IBL327	JX276074	-	<i>A. pseudoplatanus</i>	Ткиво
31	2011/A.PL.01*	35	IBL328	JX276075	-	<i>A. platanoides</i>	Земља и корење
32	2010/A.P.02*	35/1	IBL369	KF234675	-	<i>A. pseudoplatanus</i>	Ткиво
33	2010/A.P.02*	35/1/1	IBL370	KF234676	-	<i>A. pseudoplatanus</i>	Ткиво
34	2011/F.A.02*	36	IBL329	JX276076	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља
35	2011/F.A.07*	37	IBL330	JX276077	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља
36	2010/F.Ang.01*	38	IBL331	JX276078	+	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља
37	2011/F.A.19/1*	39	IBL332	JX276079	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља
38	2011/MIX.03*	41	IBL334	JX276080	-	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Вода
39	2011/F.A.05*	42	IBL335	JX276081	+	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља
40	2011/F.A.17*	43	IBL336	JX276083	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља
41	2011/Fa-Ab.01*	45	IBL337	JX276084	+	<i>F. sylvatica</i> + <i>Abies alba</i>	Влажна земља
42	2009/F.S.01*	47	IBL338	JX276086	-	<i>Fagus sylvatica</i>	Земља
43	2010/FS.Blat.03*	48	IBL339	JX276087	-	<i>Fagus sylvatica</i>	Влажна земља
44	2011/F.S.03*	49	IBL340	JX276088	+	<i>Fagus sylvatica</i>	Земља
45	2012/A.C.03*	50	IBL341	JX276089	+	<i>Acer campestre</i>	Земља
46	2011/J.R.01*	51	IBL342	JX276090	-	<i>Juglans regia</i>	Земља
47	2011/M.S.02*	52	IBL343	JX276091	+	<i>Malus sylvestris</i>	Земља
48	2011/A.HI.01*	53	IBL344	JX276087	-	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Ткиво
49	2010/P.LA.0.1*	54	IBL345	JX276093	+	<i>Prunus laurocerasus</i>	Земља
50	2011/Pop.08*	57	IBL347	JX276094	+	<i>Populus spp.</i>	Земља
51	2010/Blato.05	71	IBL372	KF234677	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
52	2012/Blato.01	72	IBL373	KF234678	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
53	2012/A.G.01	73	IBL374	KF234679	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Ткиво
54	2012/A.G.01	74	IBL375	KF234680	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Ткиво
55	2012/Blato.03	76	IBL377	KF234681	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
56	2012/Blato.04	77	IBL378	KF234682	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
57	2012/Blato.05	78	IBL379	KF234683	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
58	2012/Blato.06	79	IBL380	KF234684	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
59	2012/Blato.07	80	IBL381	KF234685	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
60	2012/Blato.08	81	IBL382	KF234686	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
61	2012/Blato.09	83	IBL384	KF234687	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
62	2012/Blato.10	84	IBL385	KF234688	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
63	2012/Blato.11	89	IBL390	KR023646	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Вл. земља и корење
64	2012/Voda.10	90	IBL391	KF234693	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Влажна земља
65	2012/Voda.09	91	IBL392	KF234694	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Вода
66	2012/Voda.11	92	IBL393	KF234695	-	<i>Alnus glutinosa</i>	Вода
67	2012/Q.R.13	93	IBL394	KF234696	-	<i>Quercus petraea/Q. robur</i>	Земља и корење

Табела 12. Наставак

Table 12. Continuation

68	2012/Q.R.14	94	IBL395	KF234697	-	<i>Quercus petraea/Q. robur</i>	Земља и корење
69	2012/Q.R.16	95	IBL396	KF234698	-	<i>Quercus petraea/Q. robur</i>	Земља и корење
70	2012/Q.R.17	96	IBL397	KF234699	-	<i>Quercus petraea/Q. robur</i>	Земља и корење
71	2010/Q.P.01	97	IBL398	KF234700	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
72	2012/Q.P.04	98	IBL399	KF234701	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
73	2012/Q.P.06	99	IBL400	KF234702	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
74	2012/Q.P.10	100	IBL401	KF234703	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
75	2012/Q.P.13	101	IBL402	KF234704	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
76	2012/Q.P.15	102	IBL403	KF234705	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
77	2012/Q.P.14	103	IBL404	KF234763	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
78	2012/Ras.Q.P.02	109	IBL410	KF234764	+	Расадник 6, 2 год.	Земља и корење
79	2012/Ras.Q.P.05	111	IBL412	KF234765	+	Расадник 6, 2 год.	Земља и корење
80	2012/Ras.Q.P.03	112	IBL413	KF234666	-	Расадник 6, 1 год.	Земља и корење
81	2012/Ras.Q.R.02	113	IBL414	KF234667	-	Расадник 6, 1 год.	Земља и корење
82	2012/Ras.Q.R.04	114	IBL415	KF234668	-	Расадник 6, 1 год.	Земља и корење
83	2012/Ras.Q.R.11	115	IBL416	KF234669	-	Расадник 6, 1 год.	Земља и корење
84	2011/Q.P.Ras.02	116	IBL417	KF234670	-	Расадник 2, 1 год.	Земља и корење
85	2011/Q.R.25	121	IBL422	KF234706	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
86	2012/Q.P.15	123	IBL424	KF234707	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
87	2011/Q.R.22	124	IBL425	KF234708	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
88	2011/Q.R.20	125	IBL426	KF234709	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
89	2011/Q.R.15	126	IBL427	KF234710	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
90	2012/Q.P.31	128	IBL429	KF234711	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
91	2012/Q.P.16	129	IBL430	KF234712	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
92	2012/Q.P.17	130	IBL431	KF234713	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
93	2012/Q.P.18	131	IBL432	KF234714	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
94	2012/Q.P.19	132	IBL433	KF234715	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
95	2012/Q.P.20	133	IBL434	KF234716	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
96	2012/F.S.03	140	IBL441	KF234717	-	<i>Fagus sylvatica</i>	Земља и корење
97	2011/F.S.09	141	IBL442	KF234718	+	<i>Fagus sylvatica</i>	Земља и корење
98	2012/F.S.02	142	IBL443	KF234719	-	<i>Fagus sylvatica</i>	Земља и корење
99	2012/Q.P.21	143	IBL444	KF234720	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
100	2012/Q.P.22	144	IBL445	KF234721	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
101	2012/Q.P.23	145	IBL446	KF234722	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
102	2012/Q.P.25	146	IBL447	KF234723	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
103	2012/Q.P.26	147	IBL448	KF234724	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
104	2012/Q.P.27	148	IBL449	KF234725	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
105	2012/Q.P.30	149	IBL450	KF234726	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
106	2012/P.PY.01	150	IBL451	KM272260	+	<i>Pyrus pyraeaster</i>	Земља и корење
107	2012/P.PY.02	151	IBL452	KM272261	-	<i>Pyrus pyraeaster</i>	Земља и корење
108	2012/P.PY.04	152	IBL453	KM272262	+	<i>Pyrus pyraeaster</i>	Земља и корење
109	2012/F.S.06	154	IBL455	KF234671	-	Вода	Вода
110	2012/Voda.03	155	IBL456	KF234672	-	Вода	Вода
111	2012/F.S.09	156	IBL457	KF234673	-	Вода	Вода
112	2012/F.S.10	157	IBL458	KF234674	-	Вода	Вода
113	2012/Pop.26	158	IBL459	KF234727	-	<i>Populus spp.</i>	Земља
114	2012/Pop.29	159	IBL460	KF234728	-	<i>Populus spp.</i>	Земља
115	2012/Pop.21	160	IBL461	KF234729	-	<i>Populus spp.</i>	Земља
116	2012/Pop.22	161	IBL462	KF234759	-	<i>Populus spp.</i>	Земља
117	2012/Pop.28	162	IBL463	KF234760	+	<i>Populus spp.</i>	Земља
118	2012/Q.R.11	164	IBL465	KF234659	+	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
119	2012/Q.R.12	165	IBL466	KF234730	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
120	2011/Q.R.0.2	166	IBL467	KF234731	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
121	2011/F.A.20	168	IBL469	KF234750	+	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
122	2012/F.A.04	169	IBL470	KF234732	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
123	2012/F.A.05/1	170	IBL471	KF234733	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење

Табела 12. Наставак

Table 12. Continuation

124	2012/F.A.12	172	IBL473	KF234734	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
125	2011/F.A.15	173	IBL474	KF234735	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
126	2012/Pop.03	174	IBL475	KF234736	-	<i>Populus</i> spp.	Земља
127	2012/Pop.01	175	IBL476	KF234654	+	<i>Populus</i> spp.	Земља
128	2012/Pop.17	176	IBL477	KF234655	-	<i>Populus</i> spp.	Земља
129	2012/Pop.18	177	IBL478	KF234737	-	<i>Populus</i> spp.	Земља
130	2012/Q.P.07	178	IBL479	KF234738	+	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
131	2012/Q.P.08	179	IBL480	KF234739	-	<i>Quercus petraea</i>	Земља и корење
132	2012/Pop.09	181	IBL482	KF234656	-	<i>Populus</i> spp.	Земља
133	2012/Pop.07	182	IBL483	KF234740	-	<i>Populus</i> spp.	Земља
134	2012/Pop.11	183	IBL484	KF234660	+	<i>Populus</i> spp.	Земља
135	2012/Pop.12	184	IBL485	KF234657	-	<i>Populus</i> spp.	Земља
136	2012/Pop.14	185	IBL486	KF234658	-	<i>Populus</i> spp.	Земља
137	2012/A.C.01	186	IBL487	KF234741	+	<i>Acer campestre</i>	Земља и корење
138	2012/A.C.02	187	IBL488	KF234742	-	<i>Acer campestre</i>	Земља и корење
139	2012/F.A.01	188	IBL489	KF234743	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
140	2012/F.A.06	189	IBL490	KF234744	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
141	2012/F.A.07	190	IBL491	KF234761	+	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
142	2012/F.A.11	194	IBL495	KF234762	+	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
143	2011/Q.R.41	195	IBL496	KF234751	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
144	2012/Q.R.12	196	IBL497	KF234752	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
145	2012/F.A.02	197	IBL498	KF234753	+	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
146	2012/F.A.03	199	IBL500	KF234754	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
147	2012/F.A.05	200	IBL501	KF234755	-	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Земља и корење
148	2012/Q.R.07	201	IBL502	KF234756	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
149	2012/Q.R.08	202	IBL503	KF234757	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
150	2011/Q.R.36	203	IBL504	KF234745	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
151	2012/Q.R.01	204	IBL505	KF234746	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
152	2012/Q.R.05	207	IBL508	KF234747	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
153	2011/Q.R.37	208	IBL509	KF234748	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
154	2011/Q.R.29	209	IBL510	KF234749	-	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
155	2011/Q.R.32	211	IBL509/2	KF234758	+	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
156	2011/Q.R.32	211/1	IBL509/1	JX276020	+	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење
157	2012/Q.R.03	211/2	IBL510/1	JX276021	+	<i>Quercus robur</i>	Земља и корење

\*изолати из којих је екстрахована DNK

\*isolates from which the DNA was extracted

## 5.1.1. Екстракција и провера квалитета DNK

Укупно 47 репрезентативних изолата је пресејано на пречишћену течну V8 подлогу припремљену са 2 g/l CaCO<sub>3</sub>, 100 ml/l супернатанта V8 сока и 900 ml/l дестиловане воде, а раствор је 20 минута аутоклавиран на 120°C. После хлађења, течна подлога је разливана у стерилне петри шоље пречника 90 mm и инокулисана комадићем агара и мицелије из чисте културе гљиве, а инкубација је вршена на око 22°C у мраку. Течна подлога је препоручљива за екстракцију DNK уместо метода сакупљања хифа са површине чисте културе, такозваним „гребањем“ хифа, јер се агар понаша као благи антагонист у случају када се не

користи перфорирана фолија која раздваја агар и врхове хифа који се сакупљају (Sikora, лична комуникација). После испуњавања приближно половине петри посуде у течной подлози, мицелија је сакупљана стерилном пинцетом, комадић инокулума са агаром је уклањан и чиста мицелија гљиве је испирана у стерилној дестилованој води па сушена на стерилној филтер хартији. Осушена мицелија је сакупљана и постављана у керамичке аване и преливана течним азотом па затим млевена керамичким штапићем за аван са проширеном главом. Добијени мицелијски прах је сакупљан стерилном лабораторијском кашичицом и постављан у епендорфе за колекцију запремине 2 ml. Даље је следило додавање раствора „А“ и „В“ из комплета, а екстракција DNK је вршена уз помоћ GenElute™ Plant Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich® GmbH, Germany) комплета, пратећи препоруке произвођача.

После екстракције DNK је растварана у 100 µl „elution solution“ раствора, предходно загрејаног на 65°C, обезбеђеног од стране произвођача комплета. Добијена DNK је чувана у лабораторијском фрижидеру на -20°C.

Квалитет свих узорака DNK је проверен помоћу спектрофотометра NanoDrop® (ND-1000, Thermo Fisher Scientific) и посматрањем на 1 % агарозном гелу на Tris-EDTA баферу.

#### 5.1.2. Извођење PCR реакција, пречишћавање продуката и провера квалитета PCR продуката

Извођење PCR реакција је вршено уз помоћ пара прајмера ITS6 (COOKE *et al.* 2000) и ITS4 (WHITE *et al.* 1990) (табела 13).

**Табела 13.** Прајмери ITS6 и ITS4 коришћени у PCR реакцијама  
**Table 13.** Primers ITS6 and ITS4 used for PCR reactions

Број Num.	ITS	Секвенце Sequences	Извор Source
1	ITS4	TCCTCCGCTTATGATATGC, T 49,7°C	White <i>et al.</i> (1990)
2	ITS6	GAAGGTGAAGTCGTAACAAGG, T 52,4°C	Cooke <i>et al.</i> (2000)

Реакције су биле запремине 50  $\mu$ l и садржале су 1  $\mu$ l генске DNK, 1 $\times$ PCR buffer [75mM Tris-HCl (pH 9.0), 50mM KCl, 20 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>]; 1 $\times$ Q solution, 0.2 mM dNTPs, 0.25 mM оба прајмера; 1 mM MgCl<sub>2</sub>; 1U *Taq* Polymerase (Qiagen Ltd., Valencia, CA, USA); и воду (mQ) до допуне коначне запремине. Реакције су изведене у PTC-200™ Programmable Thermal Controller (MJ Research, Inc.) машини, а PCR протокол је био као у табели 14.

**Табела 14.** PCR протокол, време и број циклуса

**Table 14.** PCR protocol, time and number of cycles

Фазе PCR-а Phases of PCR	Температура (°C) Temperatures (°C)	Време Time	Бр. циклуса N of cycles
Initial denaturation	95	3 min	×1
Denaturation	95	30 s	×35
Annealing	55	30 s	
Extension	72	50 s	
Final extension	72	10 min	×1

Провера успеха реакције је изведена постављањем дела PCR продуката, предходно помешаног са 6 $\times$ Orange DNK Loading Dye на 1 % агарозни гел на Tris-EDTA buffer-у, који је посматран под UV светлом после електрофорезе. Такође, део DNK је посматран на начин да је агарозни гел предходно бојен са етидијум бромидом па посматран на UV светлу. Присуство једне траке (band) (~800bp) је сматрано позитивном реакцијом.

PCR продукти су пречишћавани помоћу A&A Biotechnology (Gdynia, Poland) комплекта за пречишћавање пратећи препоруке произвођача. Такође, после пречишћавања квалитет добијених продуката је провераван и помоћу спектрофотометра NanoDrop® (ND-1000, Thermo Fisher Scientific), при чему је одређивана количина добијених продуката DNK, чији је износ био веома битан због каснијих реакција секвенцирања и захтеване оптималне количине пречишћених PCR продуката. У случајевима када је квалитет добијених продуката био оскудан, PCR реакције су понављане.

### 5.1.3. Секвенцирање

Секвенцирање је изведено на SEQ™8000 9.0.25 аутоматском секвенатору, (Beckman Coulter®, Fullerton, USA) према упутству произвођача. Реакције су биле



запремине 20  $\mu\text{l}$  и садржале су 4  $\mu\text{l}$  DTCS Quick Start Master Mix (садржи 4 флуорохрома, буфер и *Taq* полимераза), 33 ng пречишћеног PCR продукта (ова количина је препоручена за фрагменте дужине 600-1000 базних парова (bp) (Nowakowska, лична комуникација), затим 3,2 pmol прајмера 5' или 3' и вода (milli-Q) до укупне запремине реакције од 20  $\mu\text{l}$ . Мешавина је амплификована у PTC-200™ машини, а PCR протокол је био са по 30 циклуса и то: „denaturation“ - 20 секунди на 96°C; „annealing“ - 20 секунди на 55°C и „extension“ - 4 минута на 60°C. Амплификована мешавина је држана у PTC-200™ машини на 4°C.

Стопирање PCR реакција је изведено додавањем 5  $\mu\text{l}$  специјалне мешавине у сваки узорак. Мешавина је била састављена од 2  $\mu\text{l}$  100 mM Na<sub>2</sub>-EDTA (Sigma-Aldrich® GmbH, Germany), 2  $\mu\text{l}$  3M натријум ацетата (Sigma-Aldrich® GmbH, Germany) и 1  $\mu\text{l}$  гликогена (концентрација 20 mg/ml). Следећа операција је била таложење DNK која је изведена у 60  $\mu\text{l}$  95% етанола. После 15 минута центрифугирања на +4°C на 14000 обртаја, DNK је испирана два пута са по 200  $\mu\text{l}$  75% етанола. Сушење узорака је вршено 10-15 минута на око 21°C. Ресуспензија DNA узорака је вршена у 40  $\mu\text{l}$  SLS (Beckman Coulter®) раствора и остављена на +4°C за 30 минута. Узорци су после тога пребачени на посебну таблу за секвенцирање и преливени са по једном капи минералног уља.

Анализа секвенци је вршена помоћу CEQ™8000 Genetic Analysis System software (Beckman Coulter®, Fullerton, USA). Хроматограми свих добијених секвенци су прво проверени у програму FinchTV (ver. 1.4.0, Geospiza®, Inc), а слагање секвенци је изведено са допуњујућим DNK продуктима секвенцирања, „forward“ и „reverse“ секвенце су упоређиване и прављена је „consensus“ секвенца помоћу програма Bioedit v 7.1.3 software. Резултати су у GenBank банци гена поређени са NCBI колекцијом (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) користећи опцију (Basic BLAST и Nucleotide BLAST) (ZHANG *et al.* 2000).

#### 5.1.4. Извођење директног PCR-а, провера квалитета и секвенцирање

Укупно 110 изолата (табела 12) је секвенцирано после извођења директног PCR-а уз помоћ Thermo Scientific™ Phire™ Plant Direct PCR Kit-а. Чисте културе су развијане на V8-агар подлози, а инкубација је била на 22-25°C у мраку. После

3-5 дана раста, стерилном лабораторијском езом је узиман врх хифе са ивице младе колоније и постављан у епендорфе за колекцију запремине 2 ml у које је предходно додавано 30  $\mu$ l „Dilution Buffer“-а, обезбеђеног од стране произвођача. PCR реакције су биле запремине 20  $\mu$ l и састојале су се од: 10  $\mu$ l 1 $\times$ Phire Plant PCR Buffer-а, по 1  $\mu$ l 0,5  $\mu$ M прајмера ITS4/ITS6 (табела 13), 0,4  $\mu$ l Phire Hot Start II DNA Polymerase, 0,5  $\mu$ l супернатанта „Dilution Buffer“-а у коме су растваране младе хифе и вода (mQ) као допуна до укупно 20  $\mu$ l по реакцији. Реакције су изведене у PTC-200™ машини и то 3-step PCR протокол према препоруци произвођача (табела 15).

**Табела 15.** Директни PCR протокол, време и број циклуса  
**Table 15.** Direct PCR protocol, time and number of cycles

Фазе PCR-а Phases of PCR	Температура (°C) Temperature (°C)	Време Time	Бр. циклуса N of cycles
Initial denaturation	98	5 min	$\times$ 1
Denaturation	98	5 s	$\times$ 40
Annealing	55	5 s	
Extension	72	50 s	
Final extension	72	1 min	$\times$ 1

После изведених директних PCR реакција, провера успеха реакције је изведена постављањем дела PCR продуката, предходно помешаних са 6 $\times$ Orange DNA Loading Dye, на 1 % агарозни гел на Tris-EDTA buffer-у, који је посматран под UV светлом после електрофорезе. Узорци су затим секвенцирани у **Genomed S.A.** (Warsaw, Poland).

Хроматограми секвенци су проверавани у програму FinchTV (ver. 1.4.0; Geospiza<sup>®</sup>, Inc), а слагање секвенци је изведено са допуњујућим DNK продуктима секвенцирања, „forward“ и „reverse“ секвенце су упоређиване и прављена је „consensus“ секвенца помоћу програма Bioedit v 7.1.3 software.

#### 5.1.5. Анализа секвенци и поређење са идентификованим врстама

После израде „consensus“ секвенци извршено је поређење секвенци изолата *Phytophthora* врста из Србије са секвенцама које се налазе у NCBI банци гена (GenBank). Ово поређење је извршено помоћу BLAST сервиса на сајту (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) користећи опције „Basic BLAST“ и „Nucleotide

BLAST“, при чему је вршено поређење односа истих база и укупног броја базних парова које има односна секвенца „Identities“ (%), као и броја база које се разликују „Gaps“ (%). Такође, у обзир су узете и „Expected“ (%) вредности, које по некада могу бити кључне за коначну идентификацију врста.

Поред „BLAST“ анализе и поређења са најближим секвенцама у банци гена, секвенце изолата су упоређиване и са ITS секвенцама из референтне литературе (табела 16).

**Табела 16.** Коришћене ITS секвенце из референтне литературе

**Table 16.** Used ITS sequences from referent literature

Број Num.	<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora species</i>	NCBI приступни код NCBI access code	Аутор Author
1	<i>P. cactorum</i>	AF266772	Cooke <i>et al.</i> (2000)
2	<i>P. cambivora</i>	AF266763	Cooke <i>et al.</i> (2000)
3	<i>P. cryptogea</i>	AF266796	Cooke <i>et al.</i> (2000)
4	<i>P. lacustris</i>	AF266793	Cooke <i>et al.</i> (2000)
5	<i>P. quercina</i>	AJ131986	Cooke <i>et al.</i> (2000)
6	<i>P. europaea</i>	AF449493	Jung <i>et al.</i> (2002)
7	<i>P. plurivora</i>	FJ665225	Jung and Burgess (2009)
8	<i>P. citricola</i> (Taiwan)	FJ392318	Hong <i>et al.</i> (2011)
9	<i>P. pini</i>	FJ392322	Hong <i>et al.</i> (2011)
10	<i>P. polonica</i>	DQ396409	Belbahri <i>et al.</i> (2006)
11	<i>P. gonapodyides</i>	JF912517	Nechwatal <i>et al.</i> (2012)
12	<i>P. ×serendipita</i>	DQ836127	Man in 't Veld <i>et al.</i> (2007)

Анализа је извршена коришћењем опције „ClustalW Multiple alignment“ (THOMPSON *et al.* 1994) у Bioedit програму са вредношћу „Bootstrap“-а од 1000. Вредност „Gap open“ је износила 15 поена, а вредност „Gap extend“ 1 поен.

Делови великих јединица 18S и 28S rDNK су потпуно уклањани и све секвенце су свођене на једнаке дужине од 792bp и садржале су ITS1 регион, 5,8S ген и ITS2 регион. Уколико су примећена нека минимална одступања у структурама секвенци, на пример разлике у једном положају нуклеотида код „noncoding“ региона, оне су у комбинацији са поновном детаљном анализом хроматограма ручно исправљане. После тога, приступило се детаљној анализи поравнатих секвенци и упоређивању наших са секвенцама из литературе при чему су бележене главне разлике, ако их је било, у одређеним позицијама нуклеотида. Уколико су више или у неким случајевима све наше секвенце једне анализиране врсте биле идентичне са репрезентативним секвенцама из литературе, насумично

су биране две до три секвенце које су представљале „consensus“ секвенце свих секвенцираних изолата те врсте, или групу изолата са идентичним секвенцама.

#### 5.1.6. Филогенетске анализе

За потребе филогенетских анализа одабрано је 28 секвенци *Phytophthora* изолата из Србије, депонованих у NCBI банку гена (табела 12). Секвенце су поравнате помоћу опције ClustalW Multiple alignment (THOMPSON *et al.* 1994) у програму Bioedit v 7.1.3 software, такође са вредностима „Bootstrap“-а од 1000, „Gap extend“-а 1, а „Gap open“-а 15 поена (илустрација 4). Секвенца *Pythium undulatum* Petersen (GenBank: FJ801397) је коришћена као секвенца контролне групе сродних, али довољно различитих организама (outgroup) (MARTIN *et al.* 2014). Такође, при изради „Maximum parsimony“ филогенетског стабла коришћене су и ITS секвенце из референтне литературе (табела 16).

##### а) Maximum parsimony- метод максималне очуваности

Првим методом (максималне очуваности) тестирана је 41 секвенца, од чега су 28 биле секвенце *Phytophthora* изолата из Србије (табела 12), 12 из референтне литературе (табела 16), уз секвенцу *Pythium undulatum* (FJ801397), као секвенцу референтне групе. „MP“ стабло је добијено помоћу „Subtree-Pruning-Regrafting“ (SPR) алгоритма (NEI and KUMAR 2000), са нивоом претраживања 1 у коме су иницијална стабла добијена насумичним додавањем секвенци уз 100 понављања. У коначном скупу података су биле 672 позиције. Процент понављања стабала у којима су груписани повезани таксони на основу „Bootstrap“ теста од 1000 понављања су приказани поред грана (FELSENSTEIN 1985). Све позиције са мање од 100% поклапања су уклоњене. Стабло је израђено у програму MEGA6 (TAMURA *et al.* 2013).

## б) Метод UPGMA

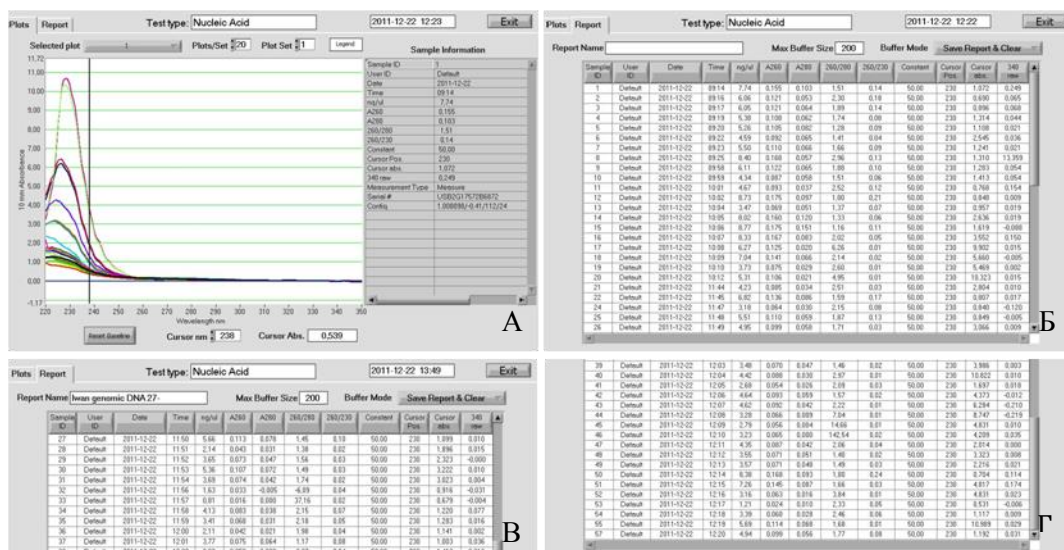
Други метод који је коришћен у овим филогенетским истраживањима је био „Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means-UPGMA“ (SNEATH and SOKAL 1973). Анализе су извршене са 29 секвенци, 28 од *Phytophthora* врста из Србије и једном контролном секвенцом (FJ801397). Укупно је било 670 позиција у коначном скупу података, а анализа је изведена у MEGA6 софтверу (TAMURA *et al.* 2013). Сума дужина грана за оптимално стабло (илустрација б) је износила 0.69684994. Процент понављања стабала у којима су груписани повезани таксони на основу „Bootstrap“ теста од 1000 понављања су приказани поред грана (FELSENSTEIN 1985).

Еволуционе дистанце су израчунате уз помоћ „Maximum Composite Likelihood“ метода (TAMURA *et al.* 2004).

## 5.2. Резултати

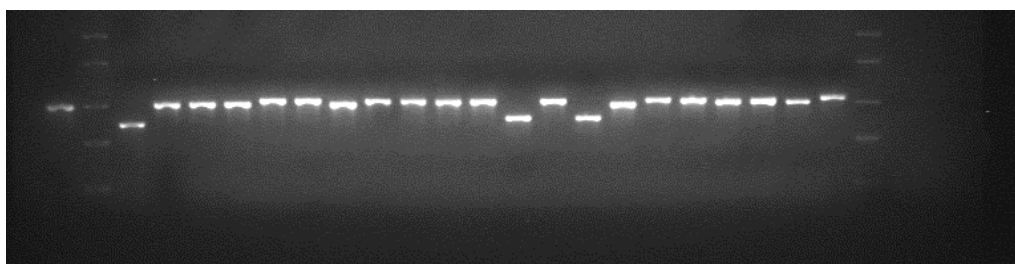
### 5.2.1. Екстракција и провера квалитета DNK

После екстракције према горе наведеној методологији, DNK је провераван помоћу агарозног гела и NanoDrop® (ND-1000, Thermo Fisher Scientific) спектрофотометарског уређаја. Количина екстраховане генске DNK се кретала од 0,81 до 8,73 ng/μl (илустрација 1). На илустрацији 1 су приказане добијене квалитативне вредности екстраховане DNK помоћу NanoDrop® уређаја за 47 узорака и изглед криве квалитета екстраховане DNK за узорак број 1, а на илустрацији 2 је приказана слика агарозног гела.



**Илустрација 1.** Квалитет екстраховане DNK добијен помоћу NanoDrop® уређаја: А- крива квалитета за узорак 1; Б, В и Г- табеларни приказ параметара квалитета и количине

**Illustration 1.** Quality of extracted DNA, obtained with NanoDrop® machine: А- quality curve for sample 1; Б, В and Г- tabelar view of parameters of quality and amount



**Илустрација 2.** Провера квалитета дела екстраховане DNK

**Illustration 2.** Quality checking of part of the extracted DNA

### 5.2.2. Извођење PCR реакција и провера квалитета PCR продуката

Коришћени ITS6 и ITS4 прајмери су успешно амплификовали добијену DNK, при чему су добијени PCR продукти приближне величине од 800bp. PCR продукти су анализирани на агарозном гелу, а затим пречишћавани помоћу горе наведеног комплета за пречишћавање. Количина пречишћених продуката се кретала од 10,68 до 32,95 ng/μl (подаци нису приказани).

### 5.2.3. Секвенцирање

Добијено је укупно 157 секвенци различитих *Phytophthora* врста (табела 17). Анализама помоћу BLAST сервиса у NCBI бази података утврђено је да је идентичност- „Identities“ (%) поређених секвенци *Phytophthora* изолата из Србије са секвенцама у бази података врло висока и за 146 секвенци износи 100%, а за 11 секвенци износи 99% (табела 17), док је различитост- „Gaps“ (%) за све тестиране изолате износила 0%. Такође, вредности „E“ су износиле 0% за све поређене изолате (подаци нису приказани). Добијени резултати су недвосмислено потврдили резултате морфолошке идентификације и указали на присуство већег броја различитих *Phytophthora* врста у екосистемима у Србији.

**Табела 17.** BLAST анализа секвенцираног ITS региона за одабране *Phytophthora* изолате

**Табела 17.** BLAST analyses of sequenced ITS regio for chosen *Phytophthora* isolates

Приступни код Access code	Идентичност Identities (%)	Различитост Gaps (%)	Најближа секвенца у NCBI The closest sequence in NCBI	Врста у NCBI Species in NCBI	Морфолошка идентификација Morphological identification	Поређење са секвенцама из референтне литературе Comparison with sequences from referent literature
<b>JX276070</b>	807/808 (99%)	0/808 (0%)	EU109567	<i>P. cactorum</i>	<i>P. cactorum</i>	Разлика у две позиције (103, 712)
<b>JX276090</b>	799/799 (100%)	0/799 (0%)	GU111587	<i>P. cactorum</i>	<i>P. cactorum</i>	Разлика у једној позицији (611)
<b>JX276091</b>	809/809 (100%)	0/809 (0%)	AY552099	<i>P. cactorum</i>	<i>P. cactorum</i>	100%
<b>JX276094</b>	810/810 (100%)	0/810 (0%)	AY552099	<i>P. cactorum</i>	<i>P. cactorum</i>	100%
<b>JX276088</b>	832/832 (100%)	0/832 (0%)	FN547046	<i>P. cambivora</i>	<i>P. cambivora</i>	Разлика у две позиције (705, 771)
<b>JX276093</b>	824/824 (100%)	0/824 (0%)	EU000145	<i>P. cambivora</i>	<i>P. cambivora</i>	Разлика у две позиције (705, 711)

Табела 17. Наставак

Табела 17. Continuation

<b>JX276078</b>	760/760(100%)	0/760 (0%)	DQ648146	<i>P. citricola</i>	<i>P. citricola</i>	Разлика у једној позицији (15) у односу на FJ392322 и у три позиције (20, 66 и 698) у односу на FJ392318
<b>KF234763</b>	830/833 (99%)	0/833 (0%)	EU000123	<i>P. cryptogea</i>	<i>P. cryptogea</i>	Разлика у три позиције (56, 600, 727)
<b>KF234764</b>	796/797 (99%)	0/797 (0%)	FJ801408	<i>P. cryptogea</i>	<i>P. cryptogea</i>	Разлика у две позиције (56, 727)
<b>KF234765</b>	797/797(100%)	0/797 (0%)	FJ801408	<i>P. cryptogea</i>	<i>P. cryptogea</i>	Разлика у једној позицији (727)
<b>JX276061</b>	821/821(100%)	0/821 (0%)	AF449492	<i>P. europaea</i>	<i>P. europaea</i>	Разлика у једној позицији (655)
<b>JX276062</b>	846/848 (99%)	2/848 (0%)	EF032479	<i>Phytophthora</i> sp. WV BSC	<i>P. europaea</i>	
<b>JX276041</b>	825/826 (99%)	0/826 (0%)	KF444065	<i>P. gonapodyides</i>	<i>P. gonapodyides</i>	Разлика у једној позицији (337)
<b>JX276084</b>	800/800 (100%)	0/800 (0%)	KF444065	<i>P. gonapodyides</i>	<i>P. gonapodyides</i>	100%
<b>JX276089</b>	837/837 (100%)	0/837 (0%)	KF444065	<i>P. gonapodyides</i>	<i>P. gonapodyides</i>	100%
<b>JX276076</b>	810/810 (100%)	0/810 (0%)	EU240177	<i>P. taxon salixsoil</i>	<i>P. lacustris</i>	100%
<b>JX276077</b>	820/820 (100%)	0/820 (0%)	EU240177	<i>P. taxon salixsoil</i>	<i>P. lacustris</i>	100%
<b>JX276079</b>	808/808 (100%)	0/808 (0%)	EU240177	<i>P. taxon salixsoil</i>	<i>P. lacustris</i>	100%
<b>JX276080</b>	834/834 (100%)	0/834 (0%)	EU240094	<i>P. taxon salixsoil</i>	<i>P. lacustris</i>	100%
<b>JX276081</b>	817/817 (100%)	0/817 (0%)	EU240177	<i>P. taxon salixsoil</i>	<i>P. lacustris</i>	100%
<b>JX276082</b>	834/834 (100%)	0/834 (0%)	EU240094	<i>P. taxon salixsoil</i>	<i>P. lacustris</i>	100%
<b>KF234750-KF234752; KF234754-KF234758</b>	854/854 (100%)	0/854 (0%)	EU240177	<i>P. taxon salixsoil</i>	<i>P. lacustris</i>	100%
<b>KF234753</b>	854/854 (100%)	0/854 (0%)	EF153673	<i>Phytophthora</i> sp.	<i>P. lacustris</i>	100%
<b>KF234659</b>	798/798 (100%)	0/798 (0%)	EU194402	<i>P. citricola</i>	<i>P. pini</i>	Разлика у једној позицији (649)
<b>KF234654-KF234658, KF234660</b>	761/761 (100%)	0/761 (0%)	FJ392320	<i>P. citricola</i> I	<i>P. pini</i>	Разлика у једној позицији (649)
<b>JX276051-JX276053; JX276055; JX276057- JX276060; JX276063; JX276066-JX276069; JX276071-JX276074; JX276086; JX276087</b>	761/761 (100%)	0/761 (0%)	HQ697237	<i>P. plurivora</i>	<i>P. plurivora</i>	100%
<b>JX276075</b>	761/761 (100%)	0/761 (0%)	HQ697237	<i>P. plurivora</i>	<i>P. plurivora</i>	Разлика у једној позицији (441)
<b>KF234661</b>	797/798 (99%)	0/798 (0%)	FN547055	<i>P. plurivora</i>	<i>P. plurivora</i>	Разлика у једној позицији 594



Табела 17. Наставак

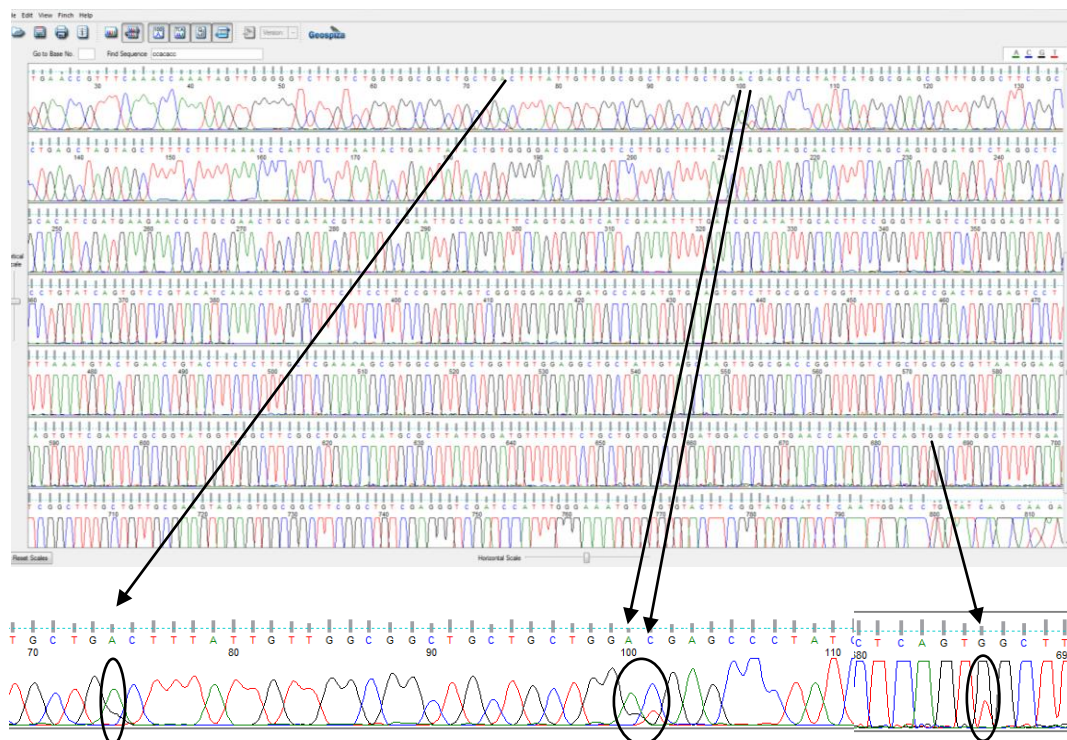
Табела 17. Continuation

KF234662-KF234674; KF234676-KF234679; KF234681-KF234683, KF234693-KF234729; KF234731; KF234733-KF234734; KF234736-KF234749	798/798 (100%)	0/798 (0%)	FN547055	<i>P. plurivora</i>	<i>P. plurivora</i>	100%
KF234675, KF234680, KF234684- KF234686, KF234735	798/798 (100%)	0/798 (0%)	FN547055	<i>P. plurivora</i>	<i>P. plurivora</i>	Разлика у једној позицији (350)
KF234687-KF234688; KF234730, KF234732	798/798 (100%)	0/798 (0%)	FN547055	<i>P. plurivora</i>	<i>P. plurivora</i>	Разлика у једној позицији (396)
JX276064	814/815 (99%)	0/815 (0%)	AB511828	<i>P. polonica</i>	<i>P. polonica</i>	Разлика у три позиције (452,437, 453)
JX276065	815/816 (99%)	0/816 (0%)	AB511828	<i>P. polonica</i>	<i>P. polonica</i>	Разлика у три позиције (448, 437, 453)
KF234759	812/815 (99%)	0/815 (0%)	AB511828	<i>P. polonica</i>	<i>P. polonica</i>	Разлика у пет позиција (80, 161, 437, 453, 656)
KF234760-KF234762	815/815 (100%)	0/815 (0%)	AB511828	<i>P. polonica</i>	<i>P. polonica</i>	Разлика у две позиције (437, 453)
JX276021	820/822 (99%)	0/822 (0%)	EU196370	<i>Phytophthora</i> sp. ST18-37	<i>P. quercina</i>	100%
JX276020	793/795 (99%)	0/795 (0%)	EU196370	<i>Phytophthora</i> sp. ST18-37	<i>P. quercina</i>	100%
KM272259- KM272262	792/792 (100%)	0/792 (0%)	FJ183724	<i>P. hedr.</i> × <i>cactorum</i>	<i>P. ×serendipita</i>	100%
JX276054	812/812 (100%)	0/812 (0%)	GU111588	<i>P. cactorum</i>	<i>P. ×serendipita</i>	100%

При анализи са поређењем секвенци из референтне литературе битно је издвојити случај *P. ×serendipita* као јединог хибрида и забележене специфичности његових секвенци. Наиме, као што је у морфолошком опису ове врсте наведено, изолати су првенствено били идентификовани као *P. cactorum*, али је на основу детаљних морфолошких анализа и анализа хроматограма добијених изолата ова врста идентификована као *P. ×serendipita*, пошто је установљено присуство дуплих база на позицијама 74, 100, 101 и 686 (илустрација 3).

У случају свих пет изолата на наведене четири позиције су забележене дупле позиције и то у редоследу R, R, Y и K према IUPAC номенклатури и ово је у комбинацији са резултатима морфолошких истраживања несумњиво указало на хибрид *P. ×serendipita*. Такође, после ручног обележавања забележених дуплих база у програму Bioedit, секвенце наших изолата су биле идентичне са секвенцом

*P. ×serendipita*- DQ836127 (MAN IN 'T VELD *et al.* 2007). Приступни кодови за секвенце добијених изолата ове врсте у Србији су приказане у табели 17.



**Илустрација 3.** Присуство дуплих база на позицијама 74, 100, 101 и 686 на хроматограму *Phytophthora ×serendipita*, пример за случај изолата **KM272259**

**Iustration 3.** Presence of duple basis at positions 74, 100, 101 and 686 in chromatograms of *Phytophthora ×serendipita*, case of isolate **KM272259**

#### 5.2.4. Резултати филогенетских анализа

Коришћено је 40 секвенци *Phytophthora* врста, од чега је 28 секвенци било од *Phytophthora* изолата из Србије (табела 12), а преосталих 12 из референтне литературе (табела 16).

Као што је напред наведено, све поравнате секвенце су садржале ITS1 регион, 5,8S ген и ITS2 регион. Величина поравнатих секвенци износила је 876 базних парова (bp) (илустрација 4).



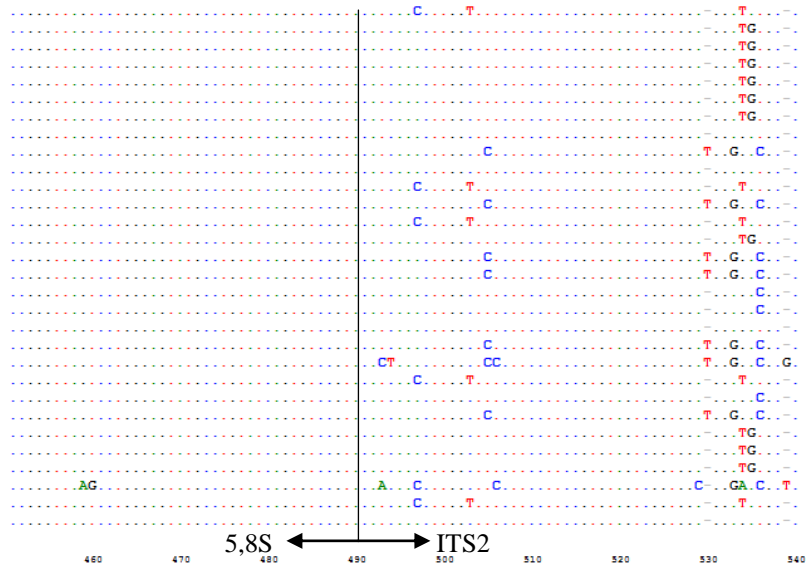
P\_cryptogea-KF234765 .....A.T.....A.....TC  
 P\_cryptogea-KF234764 .....A.T.....A.....TC  
 P\_polonica-KF234762 .....T.TAC.GT..ACTGA.....TC  
 P\_polonica-KF234761 .....T.TAC.GT..ACTGA.....TC  
 P\_polonica-KF234760 .....T.TAC.GT..ACTGA.....TC  
 P\_lacustris-KF234753 ..C..AT.CTT.A.....AC.....TC  
 P\_lacustris-KF234750 ..C..AT.CTT.A.....AC.....TC  
 P\_plurivora-KF234741 .....TAC.....C.....TC  
 P\_plurivora-KF234738 .....TAC.....C.....TC  
 P\_plurivora-KF234718 .....TAC.....C.....TC  
 P\_pini-KF234660 .....TAC.....C.....TC  
 P\_pini-KF234659 .....TAC.....C.....TC  
 P\_pini-KF234654 .....TAC.....C.....TC  
 P\_cactorum-JX276094 .....T.G.....A.....TC  
 P\_cambivora-JX276093 .....T.G.....A.....TC  
 P\_cactorum-JX276091 .....T.G.....A.....TC  
 P\_gonapodyides-JX276089 ..C..T...T.A.....AC.....TC  
 P\_cambivora-JX276088 .....T.G.....A.....TC  
 P\_gonapodyides-JX276084 ..C..T...T.A.....AC.....TC  
 P\_citricola-JX276078 .....TAC.....C.....TC  
 P\_europaea-JX276062 .....T.G.....A.....TC  
 P\_europaea-JX276061 .....T.G.....A.....TC  
 P\_quercina-JX276021 ..A.....A...T.....TC  
 P\_quercina-JX276020 ..A.....A...T.....TC  
 P\_cactorum-AF266772 .....T.G.....A.....TC  
 P\_cambivora-AF266763 .....T.G.....A.....TC  
 P\_cryptogea-AF266796 .....A.T.....A.....TC  
 P\_lacustris-AF266793 ..C..AT.CTT.A.....AC.....TC  
 P\_quercina-AJ131986 ..A.....A...T.....TC  
 P\_europaea-AF449493 .....T.G.....A.....TC  
 P\_plurivora-FJ665225 .....TAC.....C.....TC  
 P\_citricola\_(Taiwan)-FJ392318 .....TAC.....C.....TC  
 P\_citricola\_I-FJ392322 .....TAC.....C.....TC  
 P\_polonica-DQ396409 .....T.TAC.GT..ACTGA.....TC  
 P\_gonapodyides-JF912517 ..C..T...T.A.....AC.....TC  
 P\_xserendipita-DQ836127 .....TAC.....C.....TC



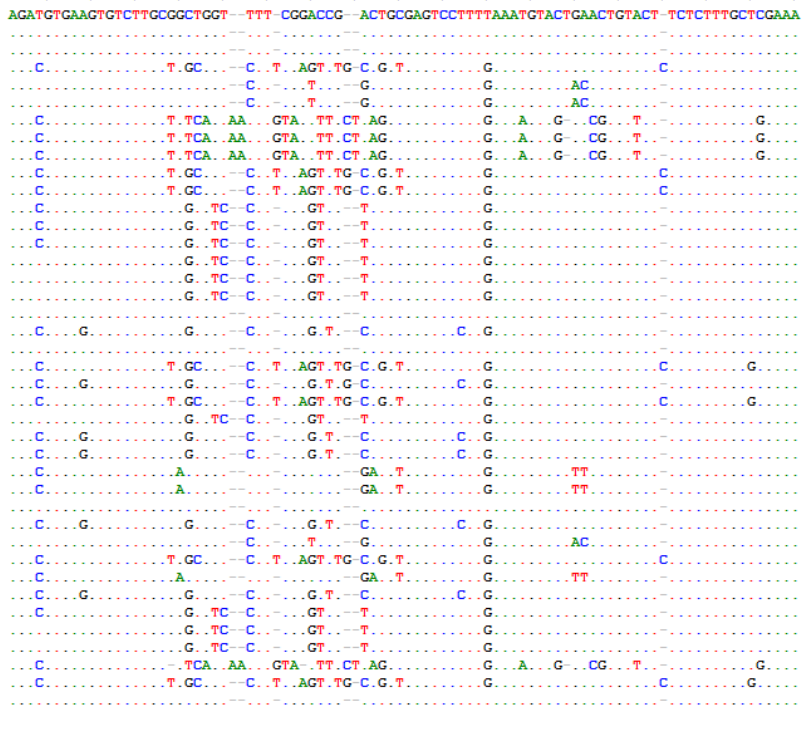
P\_xserendipita-IM272262 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_xserendipita-IM272260 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_xserendipita-IM272259 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_taxon\_Salixsoil-JX276081 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_cryptogea-KF234765 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_cryptogea-KF234764 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_polonica-KF234762 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_polonica-KF234761 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_polonica-KF234760 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_lacustris-KF234753 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_lacustris-KF234750 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_plurivora-KF234741 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_plurivora-KF234738 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_plurivora-KF234718 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_pini-KF234660 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_pini-KF234659 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_pini-KF234654 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_cactorum-JX276094 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_cambivora-JX276093 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_cactorum-JX276091 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_gonapodyides-JX276089 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_cambivora-JX276088 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_gonapodyides-JX276084 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_citricola-JX276078 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_europaea-JX276062 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_europaea-JX276061 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_quercina-JX276021 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_quercina-JX276020 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_cactorum-AF266772 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_cambivora-AF266763 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_cryptogea-AF266796 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_lacustris-AF266793 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_quercina-AJ131986 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_europaea-AF449493 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_plurivora-FJ665225 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_citricola\_(Taiwan)-FJ392318 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_citricola\_I-FJ392322 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_polonica-DQ396409 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_gonapodyides-JF912517 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT  
 P\_xserendipita-DQ836127 .....CACATCGATGAAGAACGCTGCGAAGCTGCGATACCTAAATCGGAATTCAGGATTGAGTGCATCGAAATTTTGAACCCATATTGCACCTT

P\_xserendipita-IM272262 .....CCGGTTACTCCTGGGAGTATGCCTGTATCAGTGTCCGTTCATCAAACCTTGGCTTTTCCCTTCCGTGTAGTCGGTGGAGGAGATGC-C  
 P\_xserendipita-IM272260 .....CCGGTTACTCCTGGGAGTATGCCTGTATCAGTGTCCGTTCATCAAACCTTGGCTTTTCCCTTCCGTGTAGTCGGTGGAGGAGATGC-C  
 P\_xserendipita-IM272259 .....CCGGTTACTCCTGGGAGTATGCCTGTATCAGTGTCCGTTCATCAAACCTTGGCTTTTCCCTTCCGTGTAGTCGGTGGAGGAGATGC-C  
 P\_taxon\_Salixsoil-JX276081 .....CCGGTTACTCCTGGGAGTATGCCTGTATCAGTGTCCGTTCATCAAACCTTGGCTTTTCCCTTCCGTGTAGTCGGTGGAGGAGATGC-C  
 P\_cryptogea-KF234765 .....CT.....CC.....T..G..C..G.  
 P\_cryptogea-KF234764 .....CT.....CC.....T..G..C..G.  
 P\_polonica-KF234762 .....AG.....C.....C.....C.....GA.C..T.  
 P\_polonica-KF234761 .....AG.....C.....C.....C.....GA.C..T.  
 P\_polonica-KF234760 .....AG.....C.....C.....C.....GA.C..T.  
 P\_lacustris-KF234753 .....C.....T.....C.....T.....

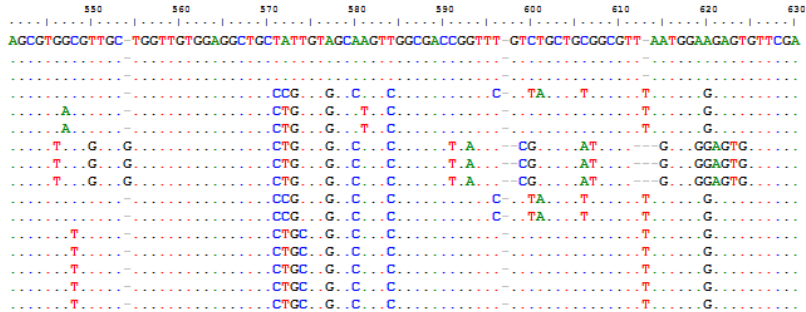
P. lacustris-KF234750  
 P. plurivora-KF234741  
 P. plurivora-KF234738  
 P. plurivora-KF234718  
 P. pini-KF234660  
 P. pini-KF234659  
 P. pini-KF234654  
 P. cactorum-JX276094  
 P. cambivora-JX276093  
 P. cactorum-JX276091  
 P. gonapodyides-JX276089  
 P. cambivora-JX276088  
 P. gonapodyides-JX276084  
 P. citricola-JX276078  
 P. europaea-JX276062  
 P. europaea-JX276061  
 P. quercina-JX276021  
 P. quercina-JX276020  
 P. cactorum-AF266772  
 P. cambivora-AF266763  
 P. cryptogea-AF266796  
 P. lacustris-AF266793  
 P. quercina-AJ131986  
 P. europaea-AF449493  
 P. plurivora-FJ665225  
 P. citricola (Taiwan)-FJ392318  
 P. citricola\_I-FJ392322  
 P. polonica-DQ396409  
 P. gonapodyides-JF912517  
 P. xserendipita-DQ836127



P. xserendipita-KM272262  
 P. xserendipita-KM272260  
 P. xserendipita-KM272259  
 P. taxon\_Salixsoil-JX276081  
 P. cryptogea-KF234765  
 P. cryptogea-KF234764  
 P. polonica-KF234762  
 P. polonica-KF234761  
 P. polonica-KF234760  
 P. lacustris-KF234753  
 P. lacustris-KF234750  
 P. plurivora-KF234741  
 P. plurivora-KF234738  
 P. plurivora-KF234718  
 P. pini-KF234660  
 P. pini-KF234659  
 P. pini-KF234654  
 P. cactorum-JX276094  
 P. cambivora-JX276093  
 P. cactorum-JX276091  
 P. gonapodyides-JX276089  
 P. cambivora-JX276088  
 P. gonapodyides-JX276084  
 P. citricola-JX276078  
 P. europaea-JX276062  
 P. europaea-JX276061  
 P. quercina-JX276021  
 P. quercina-JX276020  
 P. cactorum-AF266772  
 P. cambivora-AF266763  
 P. cryptogea-AF266796  
 P. lacustris-AF266793  
 P. quercina-AJ131986  
 P. europaea-AF449493  
 P. plurivora-FJ665225  
 P. citricola (Taiwan)-FJ392318  
 P. citricola\_I-FJ392322  
 P. polonica-DQ396409  
 P. gonapodyides-JF912517  
 P. xserendipita-DQ836127



P. xserendipita-KM272262  
 P. xserendipita-KM272260  
 P. xserendipita-KM272259  
 P. taxon\_Salixsoil-JX276081  
 P. cryptogea-KF234765  
 P. cryptogea-KF234764  
 P. polonica-KF234762  
 P. polonica-KF234761  
 P. polonica-KF234760  
 P. lacustris-KF234753  
 P. lacustris-KF234750  
 P. plurivora-KF234741  
 P. plurivora-KF234738  
 P. plurivora-KF234718  
 P. pini-KF234660  
 P. pini-KF234659





P\_pini-KF234654  
P\_cactorum-JX276094  
P\_cambivora-JX276093  
P\_cactorum-JX276091  
P\_gonapodyides-JX276089  
P\_cambivora-JX276088  
P\_gonapodyides-JX276084  
P\_citricola-JX276078  
P\_europaea-JX276062  
P\_europaea-JX276061  
P\_quercina-JX276021  
P\_quercina-JX276020  
P\_cactorum-AF266772  
P\_cambivora-AF266763  
P\_cryptogea-AF266796  
P\_lacustris-AF266793  
P\_quercina-AJ131986  
P\_europaea-AF449493  
P\_plurivora-FJ665225  
P\_citricola (Taiwan)-FJ392318  
P\_citricola\_I-FJ392322  
P\_polonica-DQ396409  
P\_gonapodyides-JF912517  
P\_xserendipita-DQ836127

```

.....T.....CTGC..G..C..C.....T.....G.....
P_cactorum-JX276094
.....A..T.....CTG..G..C..C.....T.....G.....
P_cambivora-JX276093
.....CTG..G..C..C.....TA..TA..T.....G.....
P_gonapodyides-JX276089
.....A..T.....CTG..G..C..C.....T.....G.....
P_cambivora-JX276088
.....CTG..G..C..C.....TA..TA..T.....G.....
P_gonapodyides-JX276084
.....T.....CTGC..G..C..C.....T.....G.....
P_citricola-JX276078
.....A..T.....CTG..G..C..C.....T.....G.....
P_europaea-JX276062
.....A..T.....CTG..G..C..C.....T.....G.....
P_europaea-JX276061
.....AA.....C..G..G..C..C.....T.....TA..T.....G.....T
P_quercina-JX276021
.....AA.....C..G..G..C..C.....T.....TA..T.....G.....T
P_quercina-JX276020
.....A..T.....CTG..G..C..C.....T.....G.....
P_cactorum-AF266772
.....A..T.....CTG..G..C..C.....T.....G.....
P_cambivora-AF266763
.....CCG..G..C..C.....C..TA..T.....T.....G.....
P_lacustris-AF266793
.....AA.....C..G..G..C..C.....T.....TA..T.....G.....T
P_quercina-AJ131986
.....A..T.....CTG..G..C..C.....T.....G.....
P_europaea-AF449493
.....T.....CTGC..G..C..C.....T.....G.....
P_plurivora-FJ665225
.....T.....CTGC..G..C..C.....T.....G.....
P_citricola (Taiwan)-FJ392318
.....T.....CTGC..G..C..C.....T.....G.....
P_citricola_I-FJ392322
.....T..G..G.....CTG..G..C..C.....TA..CG..AT.....G..GGAGTG.....
P_polonica-DQ396409
.....CTG..G..C..C.....TA..TA..T.....G.....
P_gonapodyides-JF912517
.....CTG..G..C..C.....
P_xserendipita-DQ836127

```

640 650 660 670 680 690 700 710 720

P\_xserendipita-KM272262  
P\_xserendipita-KM272260  
P\_xserendipita-KM272259  
P\_taxon\_Salixsoil-JX276081  
P\_cryptogea-KF234765  
P\_cryptogea-KF234764  
P\_polonica-KF234762  
P\_polonica-KF234761  
P\_polonica-KF234760  
P\_lacustris-KF234753  
P\_lacustris-KF234750  
P\_plurivora-KF234741  
P\_plurivora-KF234738  
P\_plurivora-KF234718  
P\_pini-KF234660  
P\_pini-KF234659  
P\_pini-KF234654  
P\_cactorum-JX276094  
P\_cambivora-JX276093  
P\_cactorum-JX276091  
P\_gonapodyides-JX276089  
P\_cambivora-JX276088  
P\_gonapodyides-JX276084  
P\_citricola-JX276078  
P\_europaea-JX276062  
P\_europaea-JX276061  
P\_quercina-JX276021  
P\_quercina-JX276020  
P\_cactorum-AF266772  
P\_cambivora-AF266763  
P\_cryptogea-AF266796  
P\_lacustris-AF266793  
P\_quercina-AJ131986  
P\_europaea-AF449493  
P\_plurivora-FJ665225  
P\_citricola (Taiwan)-FJ392318  
P\_citricola\_I-FJ392322  
P\_polonica-DQ396409  
P\_gonapodyides-JF912517  
P\_xserendipita-DQ836127

```

TTCCGGTATGGTTGGCTTCGGCTGAACAAATCCGCTTATTGGATGTTTTTCCTGCTGTTGGCCTGATGACCGCGTGAACCAATAGCT
P_xserendipita-KM272262
.....CT.....G..C..C.....C..A..G..T..A..T.....G.....
P_xserendipita-KM272260
.....G..A.....G..C..C.....TC.....T.....G.....
P_xserendipita-KM272259
.....G..A.....G..C..C.....TC.....T.....G.....
P_taxon_Salixsoil-JX276081
.....TTT..CT.....G..CG.....CGTT.....TT..CG..GT.....G.....
P_cryptogea-KF234765
.....TTT..CT.....G..CG.....CGTT.....TT..CG..GT.....G.....
P_cryptogea-KF234764
.....TTT..CT.....G..CG.....CGTT.....TT..CG..GT.....G.....
P_polonica-KF234762
.....CT.....G..C..C.....C..A..G..T..A..T.....G.....
P_polonica-KF234761
.....CT.....G..C..C.....C..A..G..T..A..T.....G.....
P_polonica-KF234760
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_lacustris-KF234753
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_lacustris-KF234750
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_plurivora-KF234741
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_plurivora-KF234738
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_plurivora-KF234718
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_pini-KF234660
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_pini-KF234659
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_pini-KF234654
.....A.....C..C..C.....G..T..C..T.....G.....
P_cactorum-JX276094
.....A.....C..C..C.....G..T..C..T.....G.....
P_cambivora-JX276093
.....CT.....G..C..C.....TCA..T.....G..T..C..A..T.....G.....
P_cactorum-JX276091
.....CT.....G..C..C.....TCA..T.....G..T..C..A..T.....G.....
P_gonapodyides-JX276089
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_cambivora-JX276088
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_gonapodyides-JX276084
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_citricola-JX276078
.....C..C..C.....G..T..C..T.....G.....
P_europaea-JX276062
.....C..C..C.....G..T..C..T.....G.....
P_europaea-JX276061
.....C..C..C.....G..T..C..T.....G.....
P_quercina-JX276021
.....C..C..C.....T.....G.....
P_quercina-JX276020
.....A.....C..C..C.....G..T..C..T.....G.....
P_cactorum-AF266772
.....A.....C..C..C.....G..T..C..T.....G.....
P_cambivora-AF266763
.....G..A.....G..C..C.....TC.....T.....G.....
P_cryptogea-AF266796
.....CT.....G..C..C.....C..A..G..T..A..T.....G.....
P_lacustris-AF266793
.....A.....C..C..C.....G..T..C..T.....G.....
P_quercina-AJ131986
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_europaea-AF449493
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_plurivora-FJ665225
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_citricola (Taiwan)-FJ392318
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_citricola_I-FJ392322
.....G.....T..C..C.....G..T.....G.....
P_polonica-DQ396409
.....TTT..CT.....G..CG.....CGTT.....TT..CG..GT.....G.....
P_gonapodyides-JF912517
.....CAP.....G..C..C.....TCA..T.....G..T..C..A..T.....G.....
P_xserendipita-DQ836127

```

730 740 750 760 770 780 790 800 810

P\_xserendipita-KM272262  
P\_xserendipita-KM272260  
P\_xserendipita-KM272259  
P\_taxon\_Salixsoil-JX276081  
P\_cryptogea-KF234765  
P\_cryptogea-KF234764  
P\_polonica-KF234762  
P\_polonica-KF234761  
P\_polonica-KF234760  
P\_lacustris-KF234753  
P\_lacustris-KF234750  
P\_plurivora-KF234741  
P\_plurivora-KF234738  
P\_plurivora-KF234718  
P\_pini-KF234660  
P\_pini-KF234659  
P\_pini-KF234654  
P\_cactorum-JX276094  
P\_cambivora-JX276093  
P\_cactorum-JX276091  
P\_gonapodyides-JX276089  
P\_cambivora-JX276088

```

CAGTTKGGCTTTTGAATCGGCTTTGCTGTTCCGAAGTAGAGTGCCGCCTTTCGGCTGTCGAGGGT
P_xserendipita-KM272262
GT..TGG.....C.....GCT.....G.....
P_xserendipita-KM272260
GT..CTA.....G.....GG..G..G.....G.....T..T..T.....C.....GTAAGCTGGGGTGA.....G.....
P_xserendipita-KM272259
GT..CTA.....G.....CG..G..G.....G.....T..T..T.....C.....GTAAGCTGGGGTGA.....G.....
P_taxon_Salixsoil-JX276081
GC..TTG.....CT..TG..GC..TG..C.....TG.....T..GTGGCC.....G.....CGGTCCG..C.....A..A
P_cryptogea-KF234765
GC..TTG.....CT..TG..GC..TG..C.....TG.....T..GTGGCC.....G.....CGGTCCG..C.....A..A
P_cryptogea-KF234764
GC..TTG.....CT..TG..GC..TG..C.....TG.....T..GTGGCC.....G.....CGGTCCG..C.....A..A
P_polonica-KF234762
GT..TGG.....C.....GCT.....TG.....T..GTGGCC.....G.....CGGTCCG..C.....A..A
P_polonica-KF234761
GT..TGG.....C.....GCT.....TG.....T..GTGGCC.....G.....CGGTCCG..C.....A..A
P_polonica-KF234760
GT..TGG.....C.....GCT.....G.....
P_lacustris-KF234753
GT..TG.....G.....
P_lacustris-KF234750
GT..TG.....G.....
P_plurivora-KF234741
GT..TG.....G.....
P_plurivora-KF234738
GT..TG.....G.....
P_plurivora-KF234718
GT..TG.....G.....
P_pini-KF234660
GT..TG.....A.....
P_pini-KF234659
GT..TG.....A.....
P_pini-KF234654
GT..TG.....A.....
P_cactorum-JX276094
GT..CGA.....C.....C.....GG..TTG..C.....G.....G.....
P_cambivora-JX276093
GT..CGA.....C.....C.....GG..TTG..C.....G.....G.....
P_cactorum-JX276091
GT..TGG.....C.....GCT.....T..A.....G.....
P_gonapodyides-JX276089
GT..CGA.....C.....C.....GG..TTG..C.....G.....G.....
P_cambivora-JX276088

```

```

P_gonapodyides-JX276084 GT.TGG.....C.....GCT.....T..A.....G.
P_citricola-JX276078 GT.TG.....A.....G.
P_europaea-JX276062 GT.CGA.....C..GG.GTTG..C.....G.....G.
P_europaea-JX276061 GT.CGA.....C..GG.GTTG..C.....G.....G.
P_quercina-JX276021 GT.CA.....C.....T.....T.....G.
P_quercina-JX276020 GT.CA.....C.....T.....T.....G.
P_cactorum-AF266772 .....G.
P_cambivora-AF266763 GT.CGAA.....C..C..GG.GTTG..C.....G.....G.
P_cryptogea-AF266796 GT.CTA.....G..C..GG..G..G.....G..T.T.T.....CT..GTAACCTGGGGTG.A.....G.
P_lacustris-AF266793 GT.TGG.....C.....GCT.....G.
P_quercina-AJ131986 GT.CA.....C.....T.....T.....G.
P_europaea-AF449493 GT.CGA.....C..GG.GTTG..C.....G.....G.
P_plurivora-FJ665225 GT.TG.....G.
P_citricola_(Taiwan)-FJ392318 GT.TG.....G.
P_citricola_I-FJ392322 AT.TG.....A.....G.
P_polonica-DQ396409 GC.TTG.....CT.TG.GC.TG..C.....TG..T..GTGCGCC.....G.....GCGTGGC.C.....A..A
P_gonapodyides-JF912517 CT.TCG.....C.....GCT.....T..A.....G.
P_xserendipita-DQ836127 .....G.

```

```

                820      830      840      850      860      870
P_xserendipita-KM272262 CGATC CATTT GGGAA ATGTGTGT GTA CTTCGGTAT GCATCTCAA
P_xserendipita-KM272260 .....
P_xserendipita-KM272259 .....
P_taxon_Salixsoil-JX276081 .....TG..A..CT..T..GT..CGG.....TGC..GCC
P_cryptogea-KF234765 .....ACGT.....CG.....CGC
P_cryptogea-KF234764 .....ACGT.....CG.....CGC
P_polonica-KF234762 ..G..AC.....G..T..CTTTGGG..C.....CC..T..TG
P_polonica-KF234761 ..G..AC.....G..T..CTTTGGG..C.....CC..T..TG
P_polonica-KF234760 ..G..AC.....G..T..CTTTGGG..C.....CC..T..TG
P_lacustris-KF234753 .....TG..A..CT..T..GT..CGG.....TGC..GCC
P_lacustris-KF234750 .....TG..A..CT..T..GT..CGG.....TGC..GCC
P_plurivora-KF234741 .....C..T.....C.....GC
P_plurivora-KF234738 .....C..T.....C.....GC
P_plurivora-KF234718 .....C..T.....C.....GC
P_pini-KF234660 .....C..T.....C.....GC
P_pini-KF234659 .....C..T.....C.....GC
P_pini-KF234654 .....C..T.....C.....GC
P_cactorum-JX276094 .....
P_cambivora-JX276093 .....CT.....C..CT..CGGCGG.....G..GCTGCGGGTG
P_cactorum-JX276091 .....
P_gonapodyides-JX276089 .....TG..A..CT..T..GT..CGG.....TGC..GCC
P_cambivora-JX276088 .....CT.....C..CT..CGGCGG.....G..GCTGCGGGTG
P_gonapodyides-JX276084 .....TG..A..CT..T..GT..CGG.....TGC..GCC
P_citricola-JX276078 .....C..T.....C.....GC
P_europaea-JX276062 .....C.....C..CT..CGGCGG.....G..GCTGCGGGTG
P_europaea-JX276061 .....C.....C..CT..CGGCGG.....G..GCTGCGGGTG
P_quercina-JX276021 .....T.....TG...G.....TGC..TG
P_quercina-JX276020 .....T.....TG...G.....TGC..TG
P_cactorum-AF266772 .....
P_cambivora-AF266763 ..A.....CT.....C..CT..CGGCGG.....G..GCTGCGGGTG
P_cryptogea-AF266796 .....ACGT.....CG.....CGC
P_lacustris-AF266793 .....TG..A..CT..T..GT..CGG.....TGC..GCC
P_quercina-AJ131986 .....T.....TG...G.....TGC..TG
P_europaea-AF449493 .....C.....C..CT..CGGCGG.....G..GCTGCGGGTG
P_plurivora-FJ665225 .....C..T.....C.....GC
P_citricola_(Taiwan)-FJ392318 .....C..T.....C.....GC
P_citricola_I-FJ392322 .....C..T.....C.....GC
P_polonica-DQ396409 ..G..AC.....G..T..CTTTGGG..C.....CC..T..TG
P_gonapodyides-JF912517 .....TG..A..CT..T..GT..CGG.....TGC..GCC
P_xserendipita-DQ836127 .....

```

ITS2 ←

**Илустрација 4.** Поравнате секвенце у програму Bioedit уз помоћ опције ClustalW, са вредностима „Bootstrap“-а од 1000, „Gap extend“-а 1 и „Gap open“-а 15 поена; Све секвенце садрже ITS1, 5,8S и

**Illustration 4.** Aligned sequences in Bioedit programe using the ClustalW with Bootstrap values of 1000, Gap extend values of 1 and Gap open values of 15 points; All the sequences consist ITS1, 5,8S and ITS2; (-) represent missing base; (.) represent repeating base

Забележено је знатно варирање у оквиру ITS региона, највише због велике унутарврсне различитости, замене или уметања појединачних база у низу. Број променљивих места износи 353 од укупно 876 bp. Од укупног броја променљивих места, 281 се налази у оквиру варијаблног региона, а 72 у оквиру очуваног.

У овим анализама, ITS1 регион је показао мању варијабилност и садржи 138 променљивих места (24 у оквиру очуваних и 114 варијабилних места), у односу на ITS2 регион који садржи 213 променљивих места (48 у оквиру очуваних и 165 варијабилних места). Код 5,8S гена, забележена су свега два варијабилна места, при чему ова јединица показује висок степен очуваности (илустрација 4).



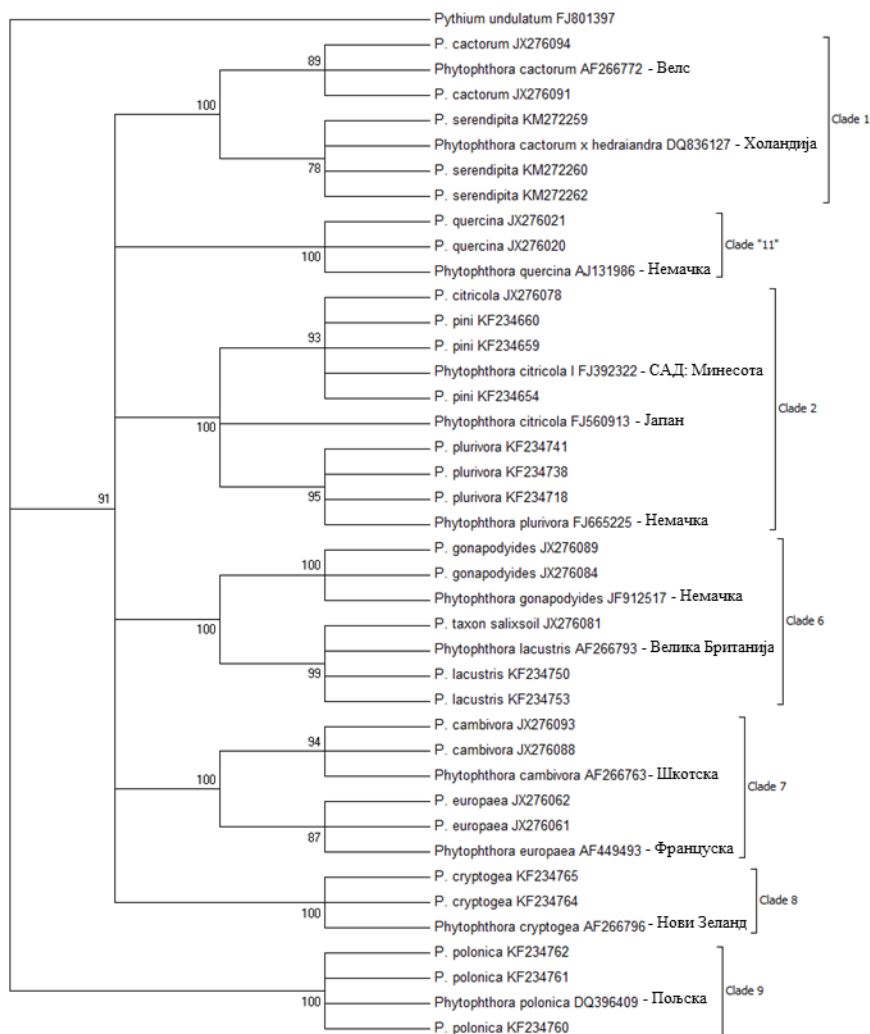
Број Num	<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora</i> species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	
1	P_xserendipita-KM272262		0,00	0,00	2,57	2,70	2,70	6,37	6,37	6,37	2,57	2,57	1,90	1,90	1,90	1,89	1,89	1,89	0,13	2,32	0,13	2,72	2,32	2,72	1,89	2,24	2,24	1,50	1,50	0,13	2,36	2,74	2,57	1,50	2,28	1,90	1,82	1,89	6,37	2,72	0,00	
2	P_xserendipita-KM272260		0,00	0,00	2,57	2,70	2,70	6,37	6,37	6,37	2,57	2,57	1,90	1,90	1,90	1,89	1,89	1,89	0,13	2,32	0,13	2,72	2,32	2,72	1,89	2,24	2,24	1,50	1,50	0,13	2,36	2,74	2,57	1,50	2,28	1,90	1,82	1,89	6,37	2,72	0,00	
3	P_xserendipita-KM272259		0,00	0,00	2,57	2,70	2,70	6,37	6,37	6,37	2,57	2,57	1,90	1,90	1,90	1,89	1,89	1,89	0,13	2,32	0,13	2,72	2,32	2,72	1,89	2,24	2,24	1,50	1,50	0,13	2,36	2,74	2,57	1,50	2,28	1,90	1,82	1,89	6,37	2,72	0,00	
4	P_taxon_Salixsoil-JX276081		11,53	11,53	11,53		2,63	2,63	5,99	5,99	5,99	0,00	0,00	2,42	2,42	2,42	2,46	2,46	2,46	2,61	2,40	2,61	0,68	2,40	0,68	2,46	2,37	2,37	2,66	2,66	2,61	2,44	2,67	0,00	2,66	2,41	2,42	2,39	2,50	5,99	0,68	2,57
5	P_cryptogea-KF234765		11,89	11,89	11,89	11,79		0,00	6,51	6,51	6,51	2,63	2,63	2,55	2,55	2,55	2,49	2,49	2,49	2,74	2,21	2,74	2,74	2,21	2,74	2,49	2,18	2,18	2,70	2,70	2,74	2,25	0,13	2,63	2,70	2,21	2,55	2,46	2,53	6,51	2,74	2,70
6	P_cryptogea-KF234764		11,89	11,89	11,89	11,79	0,00		6,51	6,51	6,51	2,63	2,63	2,55	2,55	2,55	2,49	2,49	2,49	2,74	2,21	2,74	2,74	2,21	2,74	2,49	2,18	2,18	2,70	2,70	2,74	2,25	0,13	2,63	2,70	2,21	2,55	2,46	2,53	6,51	2,74	2,70
7	P_polonica-KF234762		26,82	26,82	26,82	25,37	27,06	27,06		0,00	0,00	5,99	5,99	6,46	6,46	6,46	6,52	6,52	6,52	6,43	6,36	6,43	6,21	6,36	6,21	6,52	6,26	6,26	6,37	6,37	6,43	6,44	6,56	5,99	6,37	6,33	6,46	6,41	6,58	0,00	6,21	6,37
8	P_polonica-KF234761		26,82	26,82	26,82	25,37	27,06	27,06	0,00		0,00	5,99	5,99	6,46	6,46	6,46	6,52	6,52	6,52	6,43	6,36	6,43	6,21	6,36	6,21	6,52	6,26	6,26	6,37	6,37	6,43	6,44	6,56	5,99	6,37	6,33	6,46	6,41	6,58	0,00	6,21	6,37
9	P_polonica-KF234760		26,82	26,82	26,82	25,37	27,06	27,06	0,00	0,00		5,99	5,99	6,46	6,46	6,46	6,52	6,52	6,52	6,43	6,36	6,43	6,21	6,36	6,21	6,52	6,26	6,26	6,37	6,37	6,43	6,44	6,56	5,99	6,37	6,33	6,46	6,41	6,58	0,00	6,21	6,37
10	P_lacustris-KF234753		11,53	11,53	11,53	0,00	11,79	11,79	25,37	25,37	25,37		0,00	2,42	2,42	2,42	2,46	2,46	2,46	2,61	2,40	2,61	0,68	2,40	0,68	2,46	2,37	2,37	2,66	2,66	2,61	2,44	2,67	0,00	2,66	2,41	2,42	2,39	2,50	5,99	0,68	2,57
11	P_lacustris-KF234750		11,53	11,53	11,53	0,00	11,79	11,79	25,37	25,37	25,37	0,00		2,42	2,42	2,42	2,46	2,46	2,46	2,61	2,40	2,61	0,68	2,40	0,68	2,46	2,37	2,37	2,66	2,66	2,61	2,44	2,67	0,00	2,66	2,41	2,42	2,39	2,50	5,99	0,68	2,57
12	P_pluvora-KF234741		8,42	8,42	8,42	10,87	11,36	11,36	27,47	27,47	27,47	10,87	10,87		0,00	0,00	0,23	0,23	0,23	1,94	2,37	1,94	2,55	2,37	2,55	0,23	2,30	2,30	2,02	2,02	1,94	2,41	2,59	2,42	2,02	2,30	0,00	0,21	0,26	6,46	2,55	1,90
13	P_pluvora-KF234736		8,42	8,42	8,42	10,87	11,36	11,36	27,47	27,47	27,47	10,87	10,87	0,00		0,00	0,23	0,23	0,23	1,94	2,37	1,94	2,55	2,37	2,55	0,23	2,30	2,30	2,02	2,02	1,94	2,41	2,59	2,42	2,02	2,30	0,00	0,21	0,26	6,46	2,55	1,90
14	P_pluvora-KF234718		8,42	8,42	8,42	10,87	11,36	11,36	27,47	27,47	27,47	10,87	10,87	0,00	0,00		0,23	0,23	0,23	1,94	2,37	1,94	2,55	2,37	2,55	0,23	2,30	2,30	2,02	2,02	1,94	2,41	2,59	2,42	2,02	2,30	0,00	0,21	0,26	6,46	2,55	1,90
15	P_pini-KF234660		8,24	8,24	8,24	11,04	10,99	10,99	27,71	27,71	27,71	11,04	11,04	0,41	0,41		0,00	0,00	0,00	1,92	2,41	1,92	2,49	2,41	2,49	0,00	2,34	2,34	2,05	2,05	1,92	2,45	2,53	2,46	2,05	2,34	0,23	0,18	0,13	6,52	2,49	1,89
16	P_pini-KF234659		8,24	8,24	8,24	11,04	10,99	10,99	27,71	27,71	27,71	11,04	11,04	0,41	0,41	0,00		0,00	0,00	1,92	2,41	1,92	2,49	2,41	2,49	0,00	2,34	2,34	2,05	2,05	1,92	2,45	2,53	2,46	2,05	2,34	0,23	0,18	0,13	6,52	2,49	1,89
17	P_pini-KF234654		8,24	8,24	8,24	11,04	10,99	10,99	27,71	27,71	27,71	11,04	11,04	0,41	0,41	0,00	0,00		0,00	1,92	2,41	1,92	2,49	2,41	2,49	0,00	2,34	2,34	2,05	2,05	1,92	2,45	2,53	2,46	2,05	2,34	0,23	0,18	0,13	6,52	2,49	1,89
18	P_cactorum-JX276094		0,14	0,14	0,14	11,70	12,06	12,06	27,05	27,05	27,05	11,70	11,70	8,58	8,58	8,58	8,41	8,41	8,41		2,36	0,00	2,76	2,36	2,76	1,92	2,27	2,27	1,53	1,53	0,00	2,40	2,78	2,61	1,53	2,31	1,94	1,86	1,92	6,43	2,76	0,13
19	P_cambivora-JX276093		10,16	10,16	10,16	10,65	9,69	9,69	26,69	26,69	26,69	10,65	10,65	10,62	10,62	10,62	10,79	10,79	10,79	10,33		2,36	2,36	0,00	2,36	2,41	0,25	0,25	2,41	2,41	2,36	0,13	2,24	2,40	2,41	0,28	2,37	1,86	1,92	6,46	2,36	2,32
20	P_cactorum-JX276091		0,14	0,14	0,14	11,70	12,06	12,06	27,05	27,05	27,05	11,70	11,70	8,58	8,58	8,58	8,41	8,41	8,41	0,00	10,33		2,76	2,36	2,76	1,92	2,27	2,27	1,53	1,53	0,00	2,40	2,78	2,61	1,53	2,31	1,94	1,86	1,92	6,43	2,76	0,13
21	P_gonapodyides-JX276089		12,29	12,29	12,29	2,39	12,40	12,40	26,45	26,45	26,45	2,39	2,39	11,43	11,43	11,43	11,26	11,26	11,26	12,47	10,50	12,47		2,36	0,00	2,49	2,33	2,33	2,81	2,81	2,76	2,41	2,78	0,68	2,81	2,37	2,55	2,51	2,53	6,21	0,00	2,72
22	P_cambivora-JX276088		10,16	10,16	10,16	10,65	9,69	9,69	26,69	26,69	26,69	10,65	10,65	10,62	10,62	10,62	10,79	10,79	10,79	10,33	0,00	10,33	10,50		2,36	2,41	0,25	0,25	2,41	2,41	2,36	0,13	2,24	2,40	2,41	0,28	2,37	1,86	1,92	6,46	2,36	2,32
23	P_gonapodyides-JX276084		12,29	12,29	12,29	2,39	12,40	12,40	26,45	26,45	26,45	2,39	2,39	11,43	11,43	11,43	11,26	11,26	11,26	12,47	10,50	12,47	0,00	10,50		2,49	2,33	2,33	2,81	2,81	2,76	2,41	2,78	0,68	2,81	2,37	2,55	2,51	2,53	6,21	0,00	2,72
24	P_citricola-JX276078		8,24	8,24	8,24	11,04	10,99	10,99	27,71	27,71	27,71	11,04	11,04	0,41	0,41	0,00	0,00	0,00	8,41	10,79	8,41	11,26	10,79	11,26		2,34	2,34	2,05	2,05	1,92	2,45	2,53	2,46	2,05	2,34	0,23	0,18	0,13	6,52	2,49	1,89	
25	P_europaea-JX276062		9,80	9,80	9,80	10,48	9,53	9,53	26,34	26,34	26,34	10,48	10,48	10,28	10,28	10,28	10,45	10,45	10,45	9,97	0,41	9,97	10,33	0,41	10,33	10,45		0,00	2,42	2,42	2,27	0,28	2,21	2,37	2,42	0,13	2,30	2,27	2,38	6,26	2,33	2,24
26	P_europaea-JX276061		9,80	9,80	9,80	10,48	9,53	9,53	26,34	26,34	26,34	10,48	10,48	10,28	10,28	10,28	10,45	10,45	10,45	9,97	0,41	9,97	10,33	0,41	10,33	10,45	0,00		2,42	2,42	2,27	0,28	2,21	2,37	2,42	0,13	2,30	2,27	2,38	6,26	2,33	2,24
27	P_quercina-JX276021		6,24	6,24	6,24	11,90	12,12	12,12	26,69	26,69	26,69	11,90	11,90	8,97	8,97	8,97	9,14	9,14	9,14	6,40	10,58	6,40	12,68	10,58	12,68	9,14	10,56	10,56		0,00	1,53	2,46	2,74	2,66	0,00	2,46	2,02	1,98	2,08	6,37	2,81	1,50
28	P_quercina-JX276020		6,24	6,24	6,24	11,90	12,12	12,12	26,69	26,69	26,69	11,90	11,90	8,97	8,97	8,97	9,14	9,14	9,14	6,40	10,58	6,40	12,68	10,58	12,68	9,14	10,56	10,56	0,00		1,53	2,46	2,74	2,66	0,00	2,46	2,02	1,98	2,08	6,37	2,81	1,50
29	P_cactorum-AF266772		0,14	0,14	0,14	11,70	12,06	12,06	27,05	27,05	27,05	11,70	11,70	8,58	8,58	8,58	8,41	8,41	8,41	0,00	10,33	0,00	12,47	10,33	12,47	8,41	9,97	9,97	6,40	6,40		2,40	2,78	2,61	1,53	2,31	1,94	1,86	1,92	6,43	2,76	0,13
30	P_cambivora-AF266763		10,33	10,33	10,33	10,82	9,86	9,86	26,92	26,92	26,92	10,82	10,82	10,79	10,79	10,79	10,96	10,96	10,96	10,50	0,14	10,50	10,67	0,14	10,67	10,96	0,55	0,55	10,75	10,75	10,50		2,28	2,44	2,46	0,32	2,41	2,38	2,49	6,44	2,41	2,36
31	P_cryptogea-AF266796		12,07	12,07	12,07	11,98	0,14	0,14	27,34	27,34	27,34	11,98	11,98																													

Занемарујући разлике од 0% међу изолатима истих врста, најмање разлике (0,1%) су забележене између изолата *P. cactorum* и *P. ×serendipita*, што је било и очекивано. С друге стране, највеће разлике су забележене у односу на *P. polonica* у поређењу са свим врстама, а највише у односу на *P. pini* (илустрација 5). У односу на изолате *P. pini* из Србије, максимална разлика је износила 27,71%, док је у односу на *P. pini* из референтне литературе (*P. citricola* I), ова разлика износила 27,95% (илустрација 5). Добијени резултати су потврђени и у филогенетским анализама.

а) Maximum parsimony- метод максималне очуваности

Први метод коришћен у овим истраживањима је био метод максималне очуваности. Раздвајање *Phytophthora* врста из Србије после „Maximum parsimony“ филогенетских анализа, заједно са секвенцама из референтне литературе је било сигнификантно и износило је 78% у случају *P. ×serendipita* и 89% у случају *P. cactorum* (уз напомену да је *P. cactorum* један од родитеља *P. ×serendipita*) и 87% код *P. europaea*, док се у свим осталим случајевима ова вредност кретала између 93 и 100%, уз „Bootstrap“ вредност од 1000 понављања (илустрација 6).

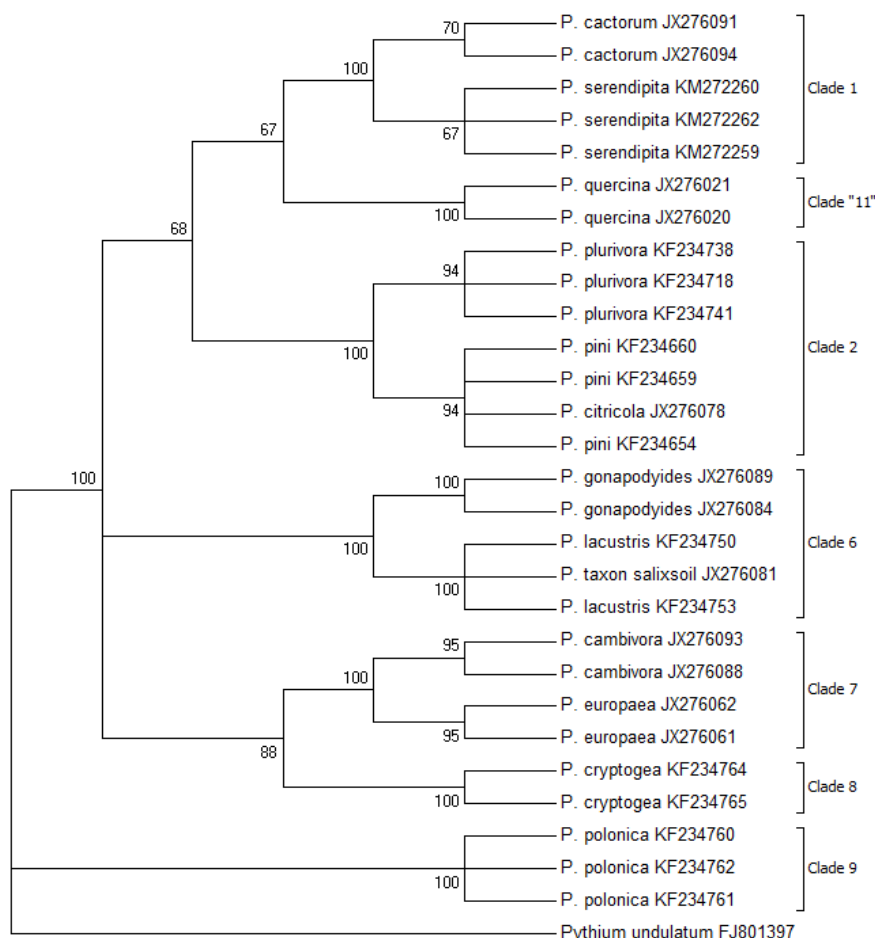
*Phytophthora* врсте из Србије су после „Maximum parsimony“ филогенетске анализе груписане у седам различитих ITS „clade“-ова, укључујући „clade“-ове 1, 2, 6, 7, 8, 9 и додатни „clade“ 11, описаних код MARTIN *et al.* (2014). (илустрација 6). Груписање *Phytophthora* врста из Србије у одређене ITS „clade“-ове је било сигнификантно после „MP“ филогенетских анализа и у свим случајевима је износило 100% на основу „Bootstrap“ теста уз 1000 понављања (илустрација 6).



**Илустрација 6.** „Maximum parsimony“ филогенетска анализа одабраних ITS секвенци *Phytophthora* изолата- треће по реду од 88 добијених стабала (дужина= 445) помоћу „SPR“ алгорита; Индекс конзистенције је био 0.722826 индекс ретенције 0.929167, а композитни индекс 0.716189 (0.671626) за све позиције; „Bootstrap“ вредност је износила 1000 понављања са уклоњеним вредностима испод 75%; Десно су означени „clade“-ови којима поједине врсте припадају, а на гранама сваке групе степен значајности раздвајања у односу на 100 стабала; секвенца *Pythium undulatum* (FJ801397) коришћена као „outgroup“. Референтне врсте су написане пуним именом.

**Illustration 6.** Maximum parsimony phylogenetic analyse of chosen ITS sequences of *Phytophthora* isolates- the third of total 88 obtained trees (length= 445) using the SPR algorithm; Consistency index was 0.722826, retention index was 0.929167, while the composite index was 0.716189 (0.671626) for all tested positions; Bootstrap value is 1000 repetitions with cut values below 75%; The clades with grouped *Phytophthora* species are marked on the right, and on the branches of every group is degree of significance, based on 100 trees; sequence of *Pythium undulatum* (FJ801397) was used as outgroup. Referent species are written with full names.

## б) Метод UPGMA



**Илустрација 7.** „UPGMA“ филогенетска анализа- оригинално стабло са међусобним односима ITS секвенци одабраних *Phytophthora* изолата са „Bootstrap“ вредношћу од 1000 понављања, где је секвенца *Pythium undulatum* (FJ801397) коришћена као „outgroup“; Десно су приказана стабла у која су груписане *Phytophthora* врсте из Србије

**Illustration 7.** „UPGMA“ phylogenetic analyse- original tree with relations of ITS sequences of chosen isolates with Bootstrap value of 1000 repetitions, where is the sequence of *Pythium undulatum* (FJ801397) used as outgroup; The clades with grouped *Phytophthora* species from Serbia are shown on the right

Други метод који је коришћен у овим филогенетским истраживањима „UPGMA“ метод. На илустрацији 7 је приказано оптимално стабло са филогенетским односима одабраних секвенци *Phytophthora* врста у Србији. Груписање и раздвајање појединих врста је било сигнификантно и износило је минимално 67% у случају *P. ×serendipita* и 70% у случају *P. cactorum*, док се у свим осталим случајевима ова вредност кретала између 94 и 100%, уз „Bootstrap“

вредност од 1000 понављања (илустрација 7). Овим анализама су тестиране секвенце такође груписане у седам ITS „clade“-ова, укључујући „clade“-ове 1, 2, 6, 7, 8, 9 и „11“. Такође, при груписању *Phytophthora* врста из Србије у одређене „clade“-ове, раздвајање је било сигнификантно и у свим случајевима је износило 100% на основу „Bootstrap“ теста уз 1000 понављања (илустрација 7).

Овде је битно истаћи случај раније поменуте *P. citricola*, која је у овим филогенетским истраживањима груписана заједно са *P. pini*, односно *P. citricola* I и ово груписање је било статистички сигнификантно различито у односу на *P. plurivora* и *P. citricola sensu stricto*. Такође, поређењем са секвенцама *P. pini* и *P. citricola sensu stricto* из референтне литературе, утврђене су разлике у једној, односно три позиције у некодирајућим регионима. Узимајући у обзир само једну секвенцу и један изолат *P. citricola*, добијен у овим истраживањима, било би добро проверити и остале локусе ради коначне идентификације, а ова врста несумњиво припада *P. citricola* комплексу врста.

### 5.3. Закључци

На основу спроведених молекуларних истраживања, могу се извести следећи закључци:

- Количина генске ДНК, екстраховане из 47 одабраних изолата се кретала од 0,81 до 8,73 ng/μl, док су за 123 изолата PCR реакције изведене методом директног PCR-а;
- количина пречишћених PCR продуката кретала у распону од 10,68 до 32,95 ng/μl, а дужина добијених PCR продуката је износила око 800 базних парова (bp);
- секвенцирањем је добијено 157 секвенци 12 различитих *Phytophthora* врста у Србији;
- после BLAST анализе секвенци у NCBI банци гена, потврђени су налази морфолошких анализа и присуство *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. cryptogea*, *P. citricola*, *P. europaea*, *P. lacustris*, *P. gonapodyides*, *P. plurivora*, *P. pini*, *P. polonica*, *P. quercina* и *P. ×serendipita* на различитим домаћинима у Србији;

- за 146 секвенци поређених *Phytophthora* изолата из Србије са секвенцама у NCBI бази утврђена је максимална идентичност (identities) од 100%, док је за преосталих 11 секвенци износила 99%;
- различитост (gaps) и „E“ вредност су износили 0% за све поређене секвенце;
- анализом хроматограма у случају хибрида *P. ×serendipita* забележени су дупли пикови на позицијама 74, 100, 101 и 686 и то R, R, Y и K према IUPAC номенклатури у наведеном редоследу, чиме је недвосмислено потврђено присуство ове врсте у Србији;
- ITS1 регион је показао мању варијабилност и садржи 138 променљивих места (24 у оквиру очуваних и 114 варијабилних места), у односу на ITS2 регион који садржи 213 променљивих места (48 у оквиру очуваних и 165 варијабилних места);
- 5,8S ген је показао висок степен очуваности са свега два променљива места;
- раздвајање појединих врста је потврђено и у филогенетским анализама и код „Maximum Parsimony“ метода је минимално износило 78% код *P. ×serendipita*, 87% код *P. europaea* и 89% код *P. cactorum*, док се код осталих случајева кретало између 93 и 100%;
- код „UPGMA“ метода, раздвајање је минимално износило 67% код *P. ×serendipita* и 70% код *P. cactorum*, док се код осталих случајева кретало између 94 и 100%;
- у случају *P. citricola* није било статистички значајних разлика у односу на *P. pini* у обе спроведене филогенетске анализе, док значајне разлике забележене у односу на *P. plurivora* и *P. citricola sensu stricto*;
- *Phytophthora* врсте из Србије су после „UPGMA“ и „MP“ филогенетских анализа груписане у седам различитих ITS „clade“-ова, укључујући „clade“-ове 1, 2, 6, 7, 8, 9 и додатни „clade“ 11;
- раздвајање „clade“-ова, којима припадају поједине врсте је било уз максималан проценат значајности од 100% у свим случајевима у обе спроведене филогенетске анализе.

## 6. НЕКЕ ЕКОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ИЗОЛОВАНИХ *Phytophthora* ВРСТА У СРБИЈИ

Екологија је научна дисциплина која проучава узајамне односе између организама и односе тих организама и животних заједница према условима спољашње средине (ODUM and BARRETT 2005). Она обједињује разноврсност врста, њихове трофичке односе, узајамну повезаност и дистрибуцију. Квалитативни састав, који укључује број и комбинацију врста биоценозе, варира у времену и простору. Богатство врста једног екосистема, група екосистема или читавих области зависи од разноврсности животних фактора, који се разликују по интензитету и количини али и еколошких ниша сваке врсте. Ако су животни услови ближи просечном оптимуму (температура, влага, присуство осетљивог домаћина и друго), њихово елиминаторно дејство је мање изражено и биоценоза је богатија врстама (ODUM and BARRETT 2005).

Када се говори о трофичким односима *Phytophthora* врста са биљкама домаћинима, првенствено се ради о паразитским, а ређе и сапрофитским односима (LATJNHOUWERS *et al.* 2003; AGRIOS 2005; THINES 2013).

Односи *Phytophthora* врста са другим микроорганизмима се свODE на конкуренцију и борбу за животни простор и храну. То се пре свега односи на друге гљивама сличне организме, праве гљиве и бактерије, а ређе и на неке друге организме.

### 6.1. Материјал и метод

#### 6.1.1. Локалитети, домаћини и изолати *Phytophthora* врста у Србији

Поред локалитета истраживања приказаних на слици 1 и у табели 2 и 26, за потребе неких еколошких анализа извршено је додатно груписање локалитета истраживања на различита подручја, која нису имала еколошких сличности (табела 27). Такође, током свих еколошких анализа и статистичке анализе података, коришћен је само број изолата са идентификованим *Phytophthora* врстама, док су *Phytophthora* spp. изолати уклоњени. У појединим анализама

уместо листе свих тестираних домаћина, коришћена је листа родова узоркованих домаћина.

### 6.1.2. Регистровани симптоми

Евидентирање симптома је вршено током обиласка терена, разговора са људима из праксе, као и при самом сакупљању узорака, при чему је регистровано више симптома који могу бити узроковани инфекцијама врстама из рода *Phytophthora*. Оцена стабала је вршена према „ИСП“ мониторинг методологији за оцену виталности и појаву симптома на стабалима. Прво је вршена оцена изгледа и стања асимилационих органа, а затим стања и појаве симптома у крошњи, као и појава симптома на деблу и у приданку стабла. Уколико је забележено више различитих симптома на једном стаблу, биран је главни симптом забележен идући од врха крошње на доле.

### 6.1.3. Диверзитет врста

Диверзитет врста представља јединствен параметар који означава богатство врста у заједници и њихов релативни значај (MARGALEF 1951).

Као мера за оцену диверзитета у еколошким истраживањима коришћен је алфа ( $\alpha$ ) диверзитет који представља разноврсност унутар одређеног екосистема и који је изражен бројем врста у том екосистему (WHITTAKER 1972).

Сличност објеката испитивања, истраживаних локалитета и типова регистрованих симптома је тестирана преко индекса сличности и то Sorensen-овог и Jaccard-овог индекса (KREBS 1989). За ове индексе је утврђено да су врло поуздани у класификацији сличности узорака (MURGUÍA and VILLASEÑOR 2003) и оба индекса користе само податак присуства односно одсуства врста, што и јесте главни резултат у спроведеним истраживањима.

Асоцираност парова врста (локалитет, објекат истраживања, тип симптома) је истраживана преко Jaccard-овог индекса ( $S_j$ ) како би се утврдила могућа трофичка интеракција међу тестираним паровима (LUDWIG and REYNOLDS 1988).



Жассард-ов индекс представља однос броја узорака где се јављају обе врсте и броја узорака сваке од њих појединачно и израчунава се помоћу формуле:

$$S_j = a / (a+b+c)$$

**a** – број узорака у којима су присутне обе врсте, А и В

**b** - број узорака у којима је присутна само врста А

**c** - број узорака у којима је присутна само врста В

Вредност индекса  $S_j$  се креће између 0 и 1. Вредност 0 указује да нема асоцираности узорака док вредност 1 указује на потпуно преклапање два узорка. Жассард-ов индекс је углавном непристрасан, чак и при малом ( $N= 10$ ) броју узорака (GODALL 1973).

За анализу бета ( $\beta$ ) диверзитета, који представља разноврсност између екосистема, мерен збиром промена у врстама (WHITTAKER 1972), коришћен је Sorensen-ов индекс сличности. Sorensen-ов индекс као мера сличности два узорка односно станишта (DICE 1945; SØRENSEN 1948) коришћен је за поређење сличности локалитета, биљних родова и објеката истраживања у односу на све изоловане *Phytophthora* врсте. Sorensen-ов индекс се израчунава помоћу формуле:

$$S_s = 2c / (a + b)$$

**a** – број врста на локалитету А

**b** - број врста на локалитету В

**c** - број заједничких врста на локалитетима А и В

Вредност индекса  $S_s$  је између 0 и 1. Вредност 0 указује да нема преклапања узорака док вредност 1 указује на потпуно преклапање два узорка.

Sorensen-ов индекс даје већи значај врстама које су заједничке за оба узорка и задржава осетљивост и код хетерогених скупова података (McCUNE and GRACE, 2002).

#### 6.1.4. Квантитативна заступљеност

Поред квалитативне анализе, односно броја *Phytophthora* врста, утврђена је и квантитативна заступљеност изражена преко броја изолата сваке врсте у оквиру различитих локалитета истраживања, објеката истраживања, тестираних домаћина и забележених типова симптома на појединим домаћинима.

Такође, за сваку идентификовану *Phytophthora* врсту, тестирана је и везаност (Fidelity или скраћено **F**), као облик сталности и једна од структурних одлика биоценозе. Везаност указује на степен присуства једне врсте у одређеној заједници, односно показује степен искључивости једне врсте према одређеној биоценози и израчунава се преко формуле:

$$F = O_x / S_x$$

**O<sub>x</sub>**– број локалитета (састојина) на којима је одређена врста нађена

**S<sub>x</sub>**– укупан број локалитета (састојина)

Постоје четири степана везаности:

1 – карактеристичне врсте, искључиво везане за једну биоценозу, монофагне врсте (0,00 – 0,01)

2 – преференцијалне врсте, нису искључиво везане за једну биоценозу, налазе се иу суседним биоценозама уз изражену склоност ка једној биоценози, олиго и полифагне врсте (0,01 – 0,10)

3 – акциденталне врсте, ретке врсте, случајно унете из других биоценоза (0,10 – 0,50)

4 – индиферентне врсте, убиквисти које не показују одређени афинитет за једну биоценозу, свуда присутне врсте са широком еколошком валенцом (0,50 – 1,00).

Све вредности индекса везаности, као и Sorensenov-ог и Jaccardov-ог индекса су рачунате у софтверу „Microsoft Office Excel” (ver. 2007).

#### 6.1.5. Присуство *Phytophthora* врста кроз земљишни профил на одабраним локалитетима на подручју Доњег Срема

Подручје Доњег Срема је под јаким утицајем плавних вода у плавном периоду, али и под утицајем подземних вода у неплавном периоду током године. Због таквих услова станишта ово подручје је погодно за развој заједница хигрофилних дрвенастих врста, укључујући *Quercus robur*, *Fraxinus angustifolia*, *Populus spp.*, *Acer tataricum* и других хигрофилних пратилаца. Такође, улога реке Саве на ово подручје и њена јака хидрауличка веза са овим стаништима је раније описана у литератури (Никић *et al.* 2010).

Улога воде као извора инокулума за инфекције и једног од најважнијих путева разношења *Phytophthora* врста је описана од више аутора (ORLIKOWSKI *et al.* 2007; HULVEY *et al.* 2010 a; REESER *et al.* 2011). Узимајући у обзир напред наведено, као и чињеницу да подручје Доњег Срема поседује веома погодне услове за развој *Phytophthora* врста, спроведено је истраживање са циљем да се одреди присуство *Phytophthora* врста у земљишном профилу на пет различитих локалитета на овом подручју и да се тиме провери улога подземних и површинских-плавних вода у разношењу и стварању резервоара инокулума ових организама.

Истраживање је вршено у Доњем Срему на подручју Шумске Управе Кленак, у газдинској јединици „Грабовачко-Витојевачко Острво” – ГВО. Одабрано је пет различитих локалитета у одељењима 26 а (поље 1- *Fraxino-Quercetum roboris subinundatum*), 24 f (поље 2- *Fraxino-Quercetum roboris hygrophillum*), 53 d (поље 3- вештачки подигнута састојина топола), 81 а (поље 4- *Fraxino-Quercetum roboris subinundatum*) и 105 k (поље 5- *Carpino-Fraxino-Quercetum roboris inundatum*). На истим овим локалитетима се у последњих 20 година континуирано прати и осцилација нивоа подземних вода на пиезометарским станицама, па је ово утицало на одабир локалитета ради каснијег укрштања података, али и због различитих хигрофилних домаћина присутних на овим локалитетима.

Методe сакупљања узорака и изолације су вршене пратећи раније наведену методологију JUNG *et al.* (1996, 2000) и JUNG (2009). Земља и коренов систем су

сакупљани у облику земљишних блокова димензија  $\sim 25 \times 25 \times 25$  cm, а изолације су вршене коришћењем мамака са младим лишћем храста, букве и ловорвишње. Такође, узорци са сваких пола метара дубине, идући од површине земљишта до нивоа подземне воде, као и саме подземне воде су узимани помоћу ручне сонде у облику сврдла са телескопским наставцима, уз пажљиву стерилизацију овог алата. Тестови изолације из узорака сакупљених помоћу сонде су такође вршени помоћу горе описане методе мамака.

Део супстрата из узорака узетих сондом је одвајан за гранулометријске анализе и одређивање текстурних класа земљишта кроз профил (Николић В., необјављени подаци). Паралелно са сакупљањем узорака земљишта за анализу, на оближњим пиезометарским станицама је вршено регистровање нивоа слободне подземне воде (Ђоровић and Летић 2002). и ови подаци су касније укрштани са подацима о присуству врста из рода *Phytophthora* кроз профил. Сакупљање узорака и праћење нивоа подземних вода за потребе ових истраживања је вршено три пута током вегетационе периоде (април, мај и јун) 2011. и једном у пролеће (мај) 2012. године.

#### 6.1.6. Статистичка обрада података

Квалитативни подаци су анализирани помоћу  $\chi^2$  „goodness of fit“ анализе, која је примењена за анализу фреквенци у оквиру појединих категорија (тип симптома, домаћини, објекти истраживања, локалитети). Овај тест (Chi square test) је коришћен ради провере да ли добијене фреквенције узорака одступају од хипотетичких, очекиваних фреквенција (PETZ 1985).

Очекиване фреквенције су рачунате према формули:

$$O = (S \times C) / N$$

**O**- очекиване вредности

**S**- број посматрања за одређену *Phytophthora* врсту;

**C**- укупан број посматрања у категорији од интереса;

**N**- укупан број посматрања.

Вредности  $\chi^2$  су рачунате помоћу формуле:

$$\chi^2 = \sum (A-O)^2 / O$$

**A**- број посматрања за одређену *Phytophthora* врсту у оквиру одређене категорије од интереса;

**O**- очекиване вредности за одређену *Phytophthora* врсту у оквиру одређене категорије од интереса.

Вредности вероватноће (p) су на основу  $\chi^2$  вредности рачунате помоћу бесплатног „online“ (<http://www.danielsoper.com/statcalc3/calc.aspx?id=11>) калкулатора.

Разлике су сматране значајним уколико је вероватноћа била 0,05 и мања.

## 6.2. Резултати

### 6.2.1. Распрострањење *Phytophthora* врста према истраживаним локалитетима

Од укупно 33 истраживана локалитета у Србији (слика 1; табела 2), различите *Phytophthora* врсте су изоловане на 30 локалитета (табела 18).

Локалитет на коме је добијено највише изолата је Купиново са укупно 77 изолата и то 71 изолат седам различитих *Phytophthora* врста и 6 *Phytophthora* spp. изолата. Други по реду локалитет је НП „Фрушка Гора“ са укупно 52 изолата и то 42 изолата осам различитих врста и 10 *Phytophthora* spp. изолата. Затим долазе Кленак са 39, Београд са 37, Нови Пазар са 32, Вишњићево са 20 изолата, док је са осталих локалитета добијено мање изолата различитих врста (табела 18).

Најчешће изолована врста на свим локалитетима је била *P. plurivora* са укупно 165 изолата на 24 локалитета (табела 18).

Локалитет на коме је појединачно добијено највише врста је био НП „Фрушка Гора“, где је добијено осам различитих врста (табела 18), уз напомену да је већина изолата на овом локалитету добијена из вештачки подигнутих састојина и расадника лишћара. На овом локалитету је добијено и највише изолата једне изоловане *Phytophthora* врсте и то 27 изолата *P. plurivora*. Следећа *Phytophthora* врста са највећим бројем изолата на појединачном локалитету је била *P. pini* са 16 изолата на подручју Купинова, док је 15 изолата *P. lacustris* такође добијено на овом локалитету (табела 18).

На картама на сликама 29-33 је приказан просторни распоред изолованих и идентификованих *Phytophthora* врста у Србији, а на слици 34 и распоред броја изолата свих врста *Phytophthora* на различитим локалитетима.

Табела 18. Распрострањење изолованих *Phytophthora* врста на различитим локалитетима у Србији

Table 18. Distribution of isolated *Phytophthora* species at different localities in Serbia

Бр No.	Локалитет Locality	<i>Phytophthora</i> врсте и број добијених изолата <i>Phytophthora</i> species and number of isolates																		p <sup>b</sup>
		Бр. врста по локалитету No of species per locality	Укупно изолата Total of isolates	<i>cac</i>	<i>cam</i>	<i>cit</i>	<i>citr</i>	<i>cry</i>	<i>eur</i>	<i>gon</i>	<i>lac</i>	<i>pin</i>	<i>plu</i>	<i>pol</i>	<i>que</i>	<i>ser</i>	<i>syr</i>	pgchl	spp.	
1	Авала	3	11	1	2	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	1	p=0.238
2	Београд	7	37	1	2	1	1	0	0	2	0	0	17	0	0	2	0	0	11	p=0.008
3	Блаце	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	p=0.999
4	Брус	0*	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	p=0.842
5	Бубањ	4	15	2	0	0	0	0	0	1	1	0	9	0	0	0	0	0	2	p=0.985
6	Винаговача	0*	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	p=0.492
7	Вишњићево	5	20	0	0	0	0	0	3	2	1	0	11	0	3	0	0	0	0	p<0.001
8	Вршац	2	7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4	0	0	0	0	0	2	p=0.999
9	Гоч	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	p<0.001
10	Дебели Луг	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	p=0.988
11	Јаворак	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	p=0.999
12	Крушевац	2	5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	2	p=0.998
13	Јужни Кучај II	1	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3	p=0.977
14	Јужни Кучај	0*	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	p=0.064
15	Кленак	5	39	3	0	0	0	0	0	5	9	0	15	0	7	0	0	0	0	p<0.001
16	Купиново	7	77	2	0	0	0	0	0	3	15	12	22	16	1	0	0	0	6	p<0.001
17	Куршумлија	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	p=0.999
18	Лазаревац	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	1	p=0.999
19	Липовица	3	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	2	p=0.497
20	Лозница	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	p=0.999
21	Моровић	2	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	2	p=0.997
22	Нови Пазар	6	32	6	1	0	0	0	0	4	2	0	16	0	0	3	0	0	0	p<0.001
23	Обедска Бара	2	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	p=0.023
24	Ристовача	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	p=0.060
25	Сталаћ	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	p=0.949

Табела 18. Наставак

Table 18. Continuation

26	Ј. Морава (Уш.)	2	8	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	0	0	0	0	3	p=0.957
27	Тимочка Крајна	0*	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	p=0.994
28	С. Планина	0*	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	p=0.994
29	Трстеник	3	14	0	2	0	0	0	0	1	0	0	9	0	0	0	0	0	2	p=0.393
30	Фрушка Гора	8	52	1	1	0	1	4	0	1	0	0	27	0	4	0	3	0	10	p<0.001
	Укупно		378	22	8	1	2	4	3	19	32	12	165	16	19	5	3	2	65	
		p <sup>a</sup>	p=0.006	p=0.405	p=0.999	p=0.999	p=0.674	p=0.004	p=0.982	p=0.086	p=0.019	p=0.791	p<0.001	p<0.001	p=0.707	p=0.926	p<0.001	p<0.001		

\*- на наведеним локалитетима добијени су само *Phytophthora* spp. изолати;

p<sup>a</sup>- вероватноћа да нема разлике између локалитета на којима су добијене поједине врста рода *Phytophthora*, заснована на  $\chi^2$  квадрат тесту;

p<sup>b</sup>- вероватноћа да нема разлике између броја изолатата добијених врста у односу на поједине локалитете, према  $\chi^2$  квадрат тесту;

\*- at listed localities, only *Phytophthora* spp. isolates were obtained;

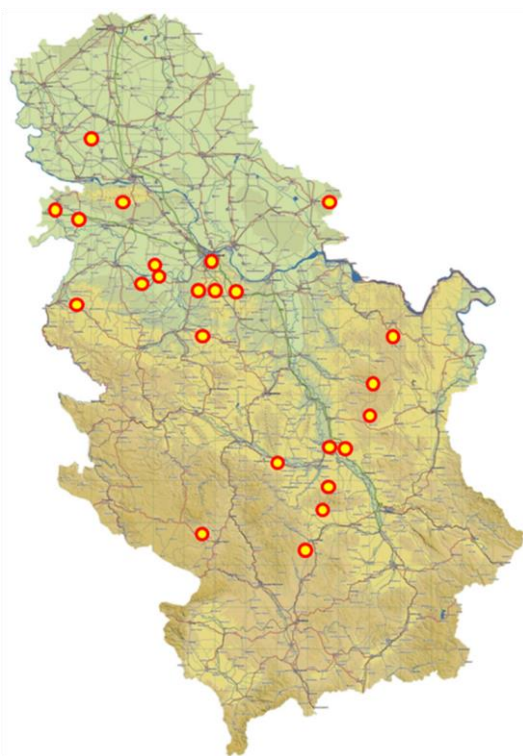
p<sup>a</sup>- probability that there is no difference between localities, on which individual *Phytophthora* species were obtained, based on Chi square test;

p<sup>b</sup>- probability that there is no difference between number of isolates of obtained species according to different localities, based on Chi square test;

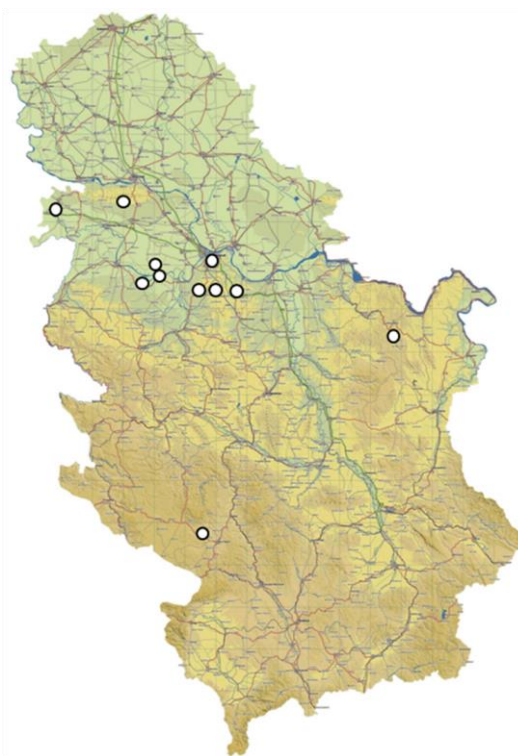
cas=*P. cactorum*; cam=*P. cambivora*; cry=*P. cryptogea*; cit=*P. citricola*; citr=*P. citrophthora*; plu=*P. plurivora*; gon=*P. gonapodyides*; lac=*P. lacustris*; que=*P.*

*quercina*; pin=*P. pini*; pgchl=*P. taxon Pg Chlamydo*; ser=*P. ×serendipita*; syr=*P. syringae*; pol=*P. polonica*; eur=*P. europaea*; spp=неидентификовани, изгубљени изолати; spp=unidentified, lost isolates.

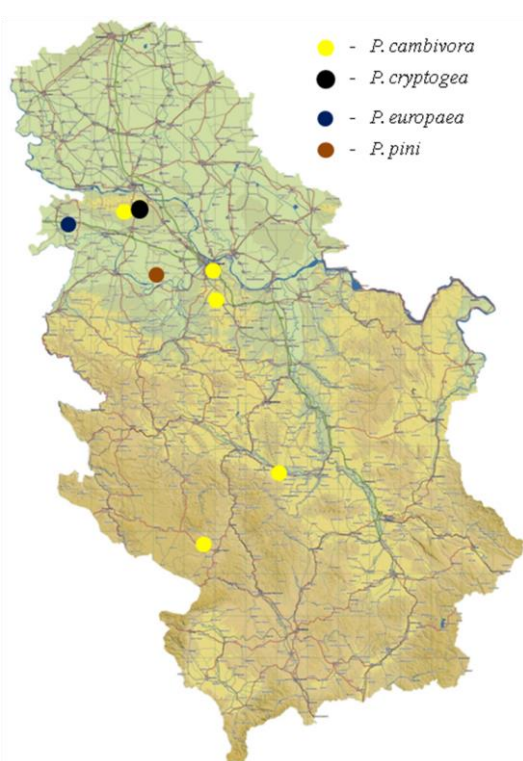




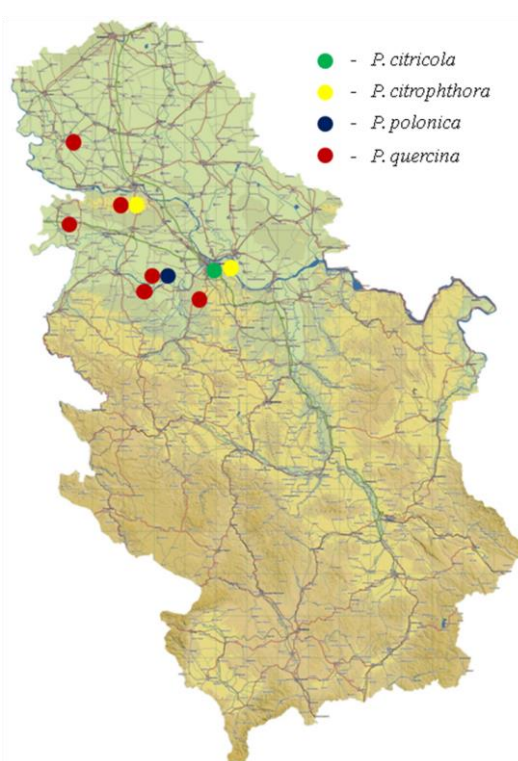
Слика 29. Дистрибуција *P. plurivora*  
**Figure 29.** Distribution of *P. plurivora*



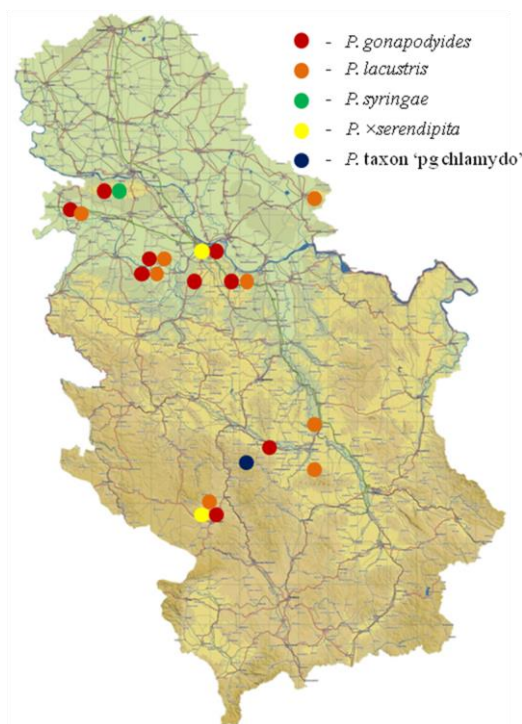
Слика 30. Дистрибуција *P. cactorum*  
**Figure 30.** Distribution of *P. cactorum*



Слика 31. Дистрибуција *P. cambivora*,  
*P. cryptogea*, *P. europaea* и *P. pini*  
**Figure 31.** Distribution of *P. cambivora*,  
*P. cryptogea*, *P. europaea* and *P. pini*

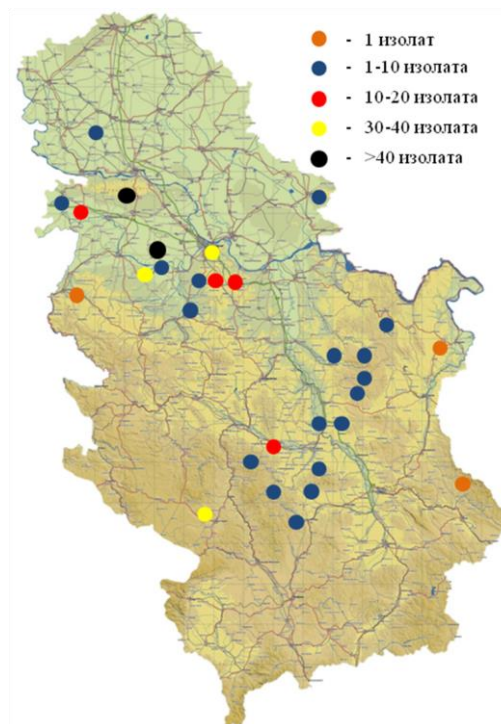


Слика 32. Дистрибуција *P. citricola*, *P.*  
*citrophthora*, *P. polonica* и *P. quercina*  
**Figure 32.** Distribution of *P. citricola*, *P.*  
*citrophthora*, *P. polonica* and *P. quercina*



**Слика 33.** Дистрибуција *P. gonapodyides*, *P. lacustris*, *P. syringae*, *P. xserendipita* и *P. taxon 'pg chlamydo'*

**Figure 33.** Distribution of *P. gonapodyides*, *P. lacustris*, *P. syringae*, *P. xserendipita* и *P. taxon 'pg chlamydo'*



**Слика 34.** Дистрибуција броја изолата *Phytophthora* врста на различитим локалитетима у Србији

**Figure 34.** Distribution of number of isolates of *Phytophthora* species at different localities in Serbia

Ради даљих еколошких анализа извршено је груписање локалитета истраживања на 16 ширих подручја истраживања-груписаних локалитета, који су се разликовали међусобно по еколошким и другим карактеристикама (табела 19).

Најмању везаност за све груписане локалитете истраживања је показала *P. plurivora* ( $F=0,81$ ), изолована је са 13 груписаних локалитета (табела 19) и према овим резултатима једина спада у убиквисте у Србији. Према степену везаности добијеном у овим истраживањима, седам врста спада у преференцијалне врсте, укључујући *P. cryptogea*, *P. citricola*, *P. europaea*, *P. pini*, *P. polonica*, *P. syringae* и *P. taxon 'pg chlamydo'* ( $F=0,06$ ). Све остале изоловане врсте у Србији спадају у случајне (акциденталне), према наведеном степену ( $F=0,10-0,50$ ) (табела 19).

Такође, тестирана је и сличност и асоцираност између груписаних локалитета помоћу Sorensen-овог и Jaccard-овог индекса сличности и асоцираности (табела 20).

Табела 19. Распрострањење идентификованих *Phytophthora* врста на груписаним локалитетима у Србији

Table 19. Distribution of identified *Phytophthora* species at grouped localities in Serbia

Бр. No.	Груписани локалитети Grouped localities	Phytophthora врсте и број добијених изолата* Phytophthora species and number of obtained isolates*															Укупно Total
		<i>cac</i>	<i>cam</i>	<i>cry</i>	<i>citr</i>	<i>cit</i>	<i>eur</i>	<i>gon</i>	<i>lac</i>	<i>plu</i>	<i>pin</i>	<i>pol</i>	<i>que</i>	<i>syr</i>	pg chl	<i>ser</i>	
1	Београд	5	3	0	1	1	0	3	1	37	0	0	2	0	0	2	55
2	Дебели луг	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
3	Доњи Срем	8	0	0	0	0	0	8	24	40	12	16	8	0	0	0	116
4	Фрушка Гора	1	1	4	1	0	0	1	0	27	0	0	4	3	0	0	42
5	Гоч	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
6	Горњи Срем	1	0	0	0	0	3	2	1	14	0	0	3	0	0	0	24
7	Јастребац	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	4
8	Јужни Кучај	0	1	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	6
9	Крушевац	0	2	0	0	0	0	1	2	13	0	0	0	0	0	0	18
10	Куршумлија	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3
11	Лозница	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
12	Неготин	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	Нови Пазар	6	1	0	0	0	0	4	2	16	0	0	0	0	0	3	32
14	Ристовача	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	3
15	Стара Планина	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	Вршачки брег	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	5
	<b>Укупно</b>	<b>22</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>19</b>	<b>32</b>	<b>165</b>	<b>12</b>	<b>16</b>	<b>19</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>313</b>
	<b>Fidelity</b>	<b>0,38</b>	<b>0,31</b>	<b>0,06</b>	<b>0,13</b>	<b>0,06</b>	<b>0,06</b>	<b>0,38</b>	<b>0,44</b>	<b>0,81</b>	<b>0,06</b>	<b>0,06</b>	<b>0,31</b>	<b>0,06</b>	<b>0,06</b>	<b>0,13</b>	

\*без *Phytophthora* spp. изолата

\*without *Phytophthora* spp. isolates

*cac*=*P. cactorum*; *cam*=*P. cambivora*; *cry*=*P. cryptogea*; *cit*=*P. citricola*; *citr*=*P. citrophthora*; *plu*=*P. plurivora*; *gon*=*P. gonapodyides*; *lac*=*P. lacustris*; *que*=*P. quercina*; *pin*=*P. pini*; *pgchl*=*P. taxon Pg Chlamydo*; *ser*=*P. serendipita*; *syr*=*P. syringae*; *pol*=*P. polonica*; *eur*=*P. europaea*

Максимална сличност ( $S_s=1,00$ ), као и максимална асоцираност-преклапање ( $S_j=1,00$ ) су забележени између Куршумлије и Лознице и између Јастрепца и Вршачког Брега (табела 20). Ова појава може бити објашњена тиме да су на наведеним локалитетима изоловане исте врсте (табела 19), иако су на наведеним локалитетима узорковане потпуно различите шумске заједнице, са различитим условима станишта и њиховом географском удаљеношћу. Наиме, на подручју Куршумлије и Лознице је изолована само *P. plurivora*, док су на подручју Јастрепца и Вршачког Брега изоловане *P. lacustris* и *P. plurivora* (табела 19), па отуда и преклапање међу наведеним локалитетима. Ови резултати се поклапају и додатно иду у прилог убиквистичкој природи *P. plurivora*, а делимично и *P. lacustris*.

Неготин и Стара Планина нису показали било каквих сличности ( $S_s=0,00$ ) и асоцираности ( $S_j=0,00$ ) са осталим локалитетима истраживања (табела 20) и ова појава може бити објашњена тиме што су на овим локалитетима добијени само *Phytophthora* spp. изолати, који су изгубљени и њихова идентификација није извршена. Такође, локалитет Гоч није показао било каквих сличности са осталим локалитетима истраживања (табела 20), а ова појава је очекивана, узимајући у обзир да је на овом локалитету изолована једино *P. taxon 'Pg chlamydo'*, која није забележена на другим локалитетима у Србији (табела 18 и 19).

Мала сличност ( $S_s=0,20$ ) и мала асоцираност ( $S_j=0,11$ ) су забележени упоредном анализом Јастребца са Фрушком Гором, Јужног Кучаја са Доњим Сремом, Куршумлије са Београдом и Лознице са Београдом (табела 20). Наведени парови локалитета деле само по једну заједничку врсту (табела 19), што објашњава добијене вредности сличности и асоцираности. Такође, на наведеним локалитетима су узорковани објекти са различитим домаћинима и са различитим условима станишта (прилог А, Б, В и Г), па су добијене вредности анализираних индекса биле очекиване.

Табела 20. Сличност и асоцираност између груписаних подручја истраживања

Table 20. Similarity and association between grouped studied localities

Локалитет- подручја истраживања Localities- studied areas	Београд	Дебели луг	Доњи Срем	Фрушка Гора	Гоч	Горњи Срем	Јастреб ац	Јужни Кучај	Крушева ц	Курумљ ија	Лозниц а	Неготи н	Нови Пазар	Ристовач а	Стара Планина	Вршачки Брег
Београд	1,00	0,36	0,59	0,71	0,00	0,67	0,36	0,36	0,62	<b>0,20</b>	<b>0,20</b>	0,00	0,80	0,36	0,00	0,36
Дебели луг	0,22	1,00	0,40	0,40	0,00	0,50	0,50	0,50	0,33	0,67	0,67	0,00	0,50	0,50	0,00	0,50
Доњи Срем	0,42	0,25	1,00	0,50	0,00	0,71	0,40	<b>0,20</b>	0,50	0,22	0,22	0,00	0,57	0,40	0,00	0,40
Фрушка Гора	0,55	0,25	0,33	1,00	0,00	0,57	<b>0,20</b>	0,40	0,50	0,22	0,22	0,00	0,57	0,40	0,00	0,20
Гоч	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Горњи Срем	0,50	0,33	0,56	0,40	0,00	1,00	0,50	0,25	0,60	0,29	0,29	0,00	0,67	0,50	0,00	0,50
Јастребац	0,22	0,33	0,25	<b>0,11</b>	0,00	0,33	1,00	0,50	0,67	0,67	0,67	0,00	0,50	0,50	0,00	<b>1,00</b>
Јужни Кучај	0,22	0,33	<b>0,11</b>	0,25	0,00	0,14	0,33	1,00	0,67	0,67	0,67	0,00	0,50	0,50	0,00	0,50
Крушевац	0,44	0,20	0,33	0,33	0,00	0,43	0,50	0,50	1,00	0,40	0,40	0,00	0,80	0,33	0,00	0,67
Курумљија	<b>0,11</b>	0,50	0,13	0,13	0,00	0,17	0,50	0,50	0,25	1,00	<b>1,00</b>	0,00	0,29	0,67	0,00	0,67
Лозница	<b>0,11</b>	0,50	0,13	0,13	0,00	0,17	0,50	0,50	0,25	<b>1,00</b>	1,00	0,00	0,29	0,67	0,00	0,67
Неготин	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Нови Пазар	0,67	0,33	0,40	0,40	0,00	0,50	0,33	0,33	0,67	0,17	0,17	0,00	1,00	0,25	0,00	0,50
Ристовача	0,22	0,33	0,25	0,25	0,00	0,33	0,33	0,33	0,20	0,50	0,50	0,00	0,14	1,00	0,00	0,50
Стара Планина	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00
Вршачки Брег	0,22	0,33	0,25	<b>0,11</b>	0,00	0,33	<b>1,00</b>	0,33	0,50	0,50	0,50	0,00	0,33	0,33	0,00	1,00

\*зелена боја- Sorensen-ов индекс; плава боја- Jaccard-ов индекс

\*green colour- Sorensen index; blue colour- Jaccard index



### 6.2.2. Регистровани симптоми

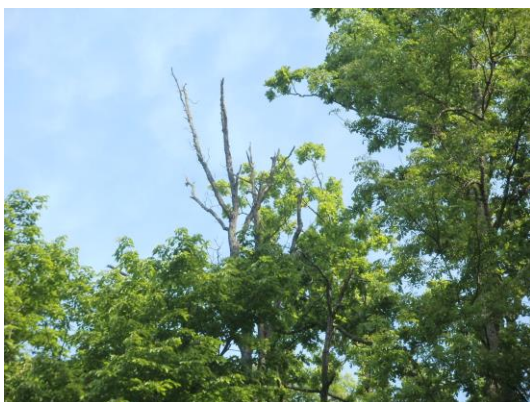
Током обиласка терена и сакупљања узорака забележени су различити симптоми, укључујући одумирање стабала од врха („dieback“- тип пропадања) (слика 37 и 38); одумирање врхова крошњи и грана уз појаву водених избојака (слика 39); повећану проређеност крошње (слика 40); хлорозу и жутило лишћа (слика 41); некрозе на деблима и у приданку стабала уз цурење тамног ексудата (stem cankers and collar rots) (слика 42-46); некрозе у вишим партијама стабла уз цурење тамног ексудата (aerial cankers) (слика 47); некрозе и озледе на матичном корењу уз губитак и трулеж финог корења (слика 35 и 36).



**Слика 35.** *Fagus sylvatica*- велике некрозе и озледе на матичном корењу  
**Figure 35.** *Fagus sylvatica*- necrosis and wounds on mother roots



**Слика 36.** *Quercus frainetto*- некрозе на матичном и губитак финог корења  
**Figure 36.** *Quercus frainetto*- necrosis on mother and decay and loss of fine roots



**Слика 37.** *Quercus robur*- одумирање стабала од врха- „dieback“  
**Figure 37.** *Quercus robur*- dieback



**Слика 38.** *Fraxinus angustifolia*- одумирање стабала од врха „dieback“  
**Figure 38.** *Fraxinus angustifolia*- dieback



**Слика 39.** *Quercus robur* – одумирање врхова и појава секундарне круне  
**Figure 39.** *Quercus robur* – dieback and appearance of secondary crown



**Слика 40.** *Quercus petraea* – повећана проређеност крошње  
**Figure 40.** *Quercus petraea* – increased crown transparency



**Слика 41.** *Quercus rubra*- хлороза и жутило лишћа  
**Figure 41.** *Quercus rubra*- chlorosis and yellowing of leaves



**Слика 42 и 43.** *Acer pseudoplatanus*-некрозе и цурење тамног ексудата  
**Figure 42 и 43.** *Acer pseudoplatanus*-necrosis and dark exudates





**Слика 44 и 45.** *Fagus sylvatica*- некрозе и цурење тамног ексудата у приданку стабала  
**Figure 44 и 45.** *Fagus sylvatica*- necrosis and dark exudates at the stem bases of the trees



**Слика 46.** *Juglans regia*- некрозе и цурење тамног ексудата у приданку стабала  
**Figure 46.** *Juglans regia*- necrosis and dark exudates at the stem base



**Слика 47.** *Aesculus hippocastanum*- некрозе у вишим партијама стабала  
**Figure 47.** *Aesculus hippocastanum*- necrosis and aerial cankers

У табели 21 су представљени најчешће забележени симптоми на појединим домаћинима, изражени бројем добијених изолата у оквиру различитих типова симптома. Проређеност крошње је био симптом са највећим бројем изолата (табела 21), а уједно и један од најчешће забележених током теренских истраживања. Појединачни домаћини са највећим бројем изолата у оквиру овог типа симптома су били буква са 19 и храст лужњак са 16 изолата.

Из комбинације домаћин-тип симптома, највише изолата је добијено испод стабала храста лужњака са „dieback“ типом симптома и то укупно 40 изолата, док је испод стабала китњака из исте категорије симптома добијено 28 изолата (табела 21). Из категорије стабала без симптома, највише изолата је добијено у плантажама топола (табела 21).



Табела 21. Типови симптома и број изолата са појединих домаћина

Table 21. Types of symptoms and number of isolates from different hosts

Бр. No.	Домаћини Hosts	Некроза коре Bark necrosis	Проређеност круне Crown transparency	Жутило лишћа Yellowing of leaves	Одумирање грана Dying of branches	Одумирање стабала од врха Dieback	Нема симптома No symptoms	Укупно Total	p <sup>b</sup>
1	<i>Acer campestre</i>	0	4	0	0	0	0	4	p=0.058
2	<i>Acer platanoides</i>	0	0	0	0	0	2	2	p=0.351
3	<i>Acer pseudoplatanus</i>	2	9	1	4	2	3	21	p=0.057
4	<i>Acer tataricum</i>	0	0	0	0	0	2	2	p=0.351
5	<i>Acer heldreichii</i>	1	0	0	1	0	1	3	p=0.156
6	<i>Aesculus hippocastanum</i>	<b>12</b>	7	0	2	0	0	21	<b>p&lt;0.001</b>
7	<i>Alnus glutinosa</i>	1	0	0	0	0	0	1	<b>p=0.028</b>
8	<i>Betula pendula</i>	0	0	0	0	0	1	1	p=0.734
9	<i>Carpinus betulus</i>	0	0	0	0	0	2	2	p=0.351
10	<i>Crataegus monogyna</i>	0	0	0	0	0	1	1	p=0.734
11	<i>Fagus sylvatica</i>	7	<b>19</b>	0	0	2	3	31	<b>p&lt;0.001</b>
12	<i>Fraxinus angustifolia</i>	0	8	4	3	<b>14</b>	3	32	<b>p=0.035</b>
13	<i>Juglans regia</i>	3	3	0	0	0	0	6	<b>p&lt;0.001</b>
14	<i>Malus sylvestris</i>	0	2	0	0	0	0	2	p=0.376
15	<i>Pyrus pyraster</i>	0	1	0	3	0	5	9	<b>p=0.003</b>
16	<i>Populus spp.</i>	0	6	5	0	0	<b>27</b>	38	<b>p&lt;0.001</b>
17	<i>Prunus avium</i>	0	0	1	0	0	1	2	p=0.249
18	<i>Prunus laurocerasus</i>	0	1	0	0	0	0	1	p=0.752
19	<i>Quercus cerris</i>	0	0	1	0	0	0	1	<b>p=0.028</b>
20	<i>Quercus petraea</i>	1	3	5	4	<b>28</b>	6	47	<b>p&lt;0.001</b>
21	<i>Quercus robur</i>	0	<b>16</b>	9	3	<b>40</b>	5	73	<b>p&lt;0.001</b>

**Табела 21.** Наставак

**Table 21.** Continuation

22	<i>Quercus rubra</i>	0	3	0	0	0	0	3	p=0.156
23	<i>Quercus frainetto</i>	0	1	0	2	0	5	8	<b>p=0.033</b>
24	<i>Taxus bacata</i>	0	0	0	1	0	0	1	<b>p=0.011</b>
25	Мешовити узорци	0	11	1	0	0	4	16	<b>p=0.006</b>
26	Вода и влажна земља	1	9	1	1	9	29	50	<b>p&lt;0.001</b>
<b>Укупно Total</b>		<b>28</b>	<b>103</b>	<b>28</b>	<b>24</b>	<b>95</b>	<b>100</b>	<b>378</b>	
<b>p<sup>a</sup></b>		<b>p&lt;0.001</b>	<b>p&lt;0.001</b>	p=0.164	<b>p=0.004</b>	<b>p&lt;0.001</b>	<b>p&lt;0.001</b>		

p<sup>a</sup>- Вероватноћа да нема разлике између позитивних домаћина код појединих типова симптома, заснована на Хи квадрат тесту

p<sup>b</sup>- Вероватноћа да нема разлике између броја изолата у оквиру појединих симптома, у односу на поједине домаћине, према Хи квадрат тесту

p<sup>a</sup>- Probability that there is no difference between positive hosts in individual types of symptoms, based on Chi square test

p<sup>a</sup>- Probability that there is no difference between number of isolates inside the individual types of symptoms, according to different hosts, based on Chi square test

Ако се посматрају појединачне *Phytophthora* врсте, без *Phytophthora* spp. изолата, врста са највећим бројем изолата у оквиру свих категорија симптома је била *P. plurivora* са 45 изолата (табела 22). Наведена врста је најчешће изолована испод стабала која су имала проређеност крошње као главни симптом. Врста која по броју изолата долази за њом у оквиру овог типа симптома је *P. gonapodydes* са девет изолата (табела 22).

Тип симптома код кога је добијено највише изолата је био „dieback“ тип са укупно 86 изолата. Најчешће изоловане врсте код овог типа симптома су биле *P. plurivora* са 42 изолата, *P. lacustris* са 10 и *P. quercina* са девет изолата (табела 22).

**Табела 22.** Типови симптома и број изолата према *Phytophthora* врстама

**Table 22.** Types of symptoms and number of isolates according to *Phytophthora* species

Бр. No.	<i>Phytophthora</i> врсте* <i>Phytophthora</i> species	Некроза коре Bark necrosis	Проређе ност круне Crown transpare ncy	Жутило лишћа Yellowin g of leaves	Одумир ање грана Dying of branches	Одумир ање стабала од врха Dieback	Нема симпто ма No sympto ms	Укупно Total	Везан ост Fideli ty
1	<i>P. cactorum</i>	0	6	1	2	3	10	<b>22</b>	0,83
2	<i>P. cambivora</i>	2	4	1	0	1	0	<b>8</b>	0,67
3	<i>P. citricola</i>	0	1	0	0	0	0	<b>1</b>	0,17
4	<i>P. citrophthora</i>	1	0	0	0	1	0	<b>2</b>	0,33
5	<i>P. cryptogea</i>	0	1	0	0	2	1	<b>4</b>	0,50
6	<i>P. europaea</i>	0	0	0	0	3	0	<b>3</b>	0,17
7	<i>P. gonapodydes</i>	0	9	1	0	4	5	<b>19</b>	0,67
8	<i>P. lacustris</i>	1	5	2	2	10	12	<b>32</b>	1,00
9	<i>P. pini</i>	0	2	0	0	0	10	<b>12</b>	0,33
10	<i>P. plurivora</i>	<b>18</b>	<b>45</b>	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>42</b>	<b>33</b>	<b>165</b>	1,00
11	<i>P. polonica</i>	0	4	4	0	8	0	<b>16</b>	0,50
12	<i>P. quercina</i>	0	6	1	0	9	3	<b>19</b>	0,67
13	<i>P. syringae</i>	0	0	0	0	3	0	<b>3</b>	0,17
14	<i>P. taxon 'Pg Chlamydo'</i>	0	0	0	0	0	2	<b>2</b>	0,17
15	<i>P. ×serendipita</i>	0	1	0	1	0	3	<b>5</b>	0,50
<b>Укупно Total</b>		<b>22</b>	<b>84</b>	<b>22</b>	<b>20</b>	<b>86</b>	<b>79</b>	<b>313</b>	

\*без *Phytophthora* spp. изолата; \*without *Phytophthora* spp. isolates

Најмању везаност ( $F=1,00$ ) за поједине типове симптома су показале *P. lacustris* и *P. plurivora* и изоловане су како испод стабала без симптома, тако и испод стабала са свим наведеним типовима симптома (табела 22). Према добијеној вредности „F“ индекса, ове врсте спадају у убиквисте у односу на појаву на стаблима са различитим типовима симптома, а поред њих у ову

категорију спадају још и *P. cactorum* (F=0,83), *P. cambivora*, *P. gonapodydes* и *P. quercina* (F=0,67) (табела 22). Највећу везаност (F=0,17) за поједине типове симптома су показале врсте које су добијене испод једног домаћина у овим истраживањима, укључујући *P. citricola*, *P. europaea*, *P. syringae* и *P. taxon* 'Pg Chlamydo' (табела 22). Овај податак не може бити потпуна одлика особина везаности ових врста за поједине типове симптома, нарочито када су у питању *P. citricola* и *P. syringae*, које су у литератури познате као изразите полифагне и патогене врсте.

Сличност појединих типова симптома је тестирана преко Sorensen-овог индекса сличности, а асоцираност преко Jaccard-овог индекса (табела 23).

**Табела 23.** Сличност и асоцираност појединих типова симптома

**Table 23.** Similarity and association between different types of symptoms

Типови симптома* Types of symptoms	Одумирање стабала од врха Dieback	Некрозе коре Bark necrosis	Нема симптома No symptoms	Одумирање грана Dying of branches	Проређеност круне Crown transparency	Жутило лишћа Yellowing of leaves
„Dieback“	1,00	0,53	0,60	0,40	0,70	0,74
Некрозе коре Bark necrosis	0,36	1,00	0,31	0,50	0,38	0,50
Нема симптома No symptoms	0,43	0,18	1,00	0,62	0,76	0,59
Одумирање грана Dying of branches	0,25	0,33	0,44	1,00	0,50	0,50
Проређеност круне Crown transparency	0,53	0,23	0,62	0,33	1,00	0,80
Жутило лишћа Yellowing of leaves	0,58	0,33	0,42	0,33	0,67	1,00

\*зелена боја- Sorensen-ов индекс; плава боја- Jaccard-ов индекс

\*green colour- Sorensen index; blue colour- Jaccard index

Највећа сличност ( $S_s=0,80$ ) је забележена између жутила лишћа и проређености круне и ова појава може бити објашњена тиме што је седам заједничких, различитих врста изоловано испод стабала са појавом ова два типа симптома (табела 23). Такође, ова појава указује и на повезаност ова два симптома и да жутило и хлороза лишћа, заједно са већењем избојака предходе појави проређености крошње. Највећа асоцираност ( $S_j=0,67$ ) је такође забележена између жутила лишћа и проређености круне (табела 23). Најмања сличност ( $S_s=0,31$ ) и најмања асоцираност ( $S_j=0,18$ ) су забележени између стабала без симптома и

стабала са некрозом коре (табела 23). Узимајући у обзир да су само *P. lacustris* и *P. plurivora* заједничке за ове две групе стабала, ова појава је била очекивана.

### 6.2.3. Домаћини изолованих врста

Укупно је узорковано 49 различитих домаћина из различитих шумских екосистема, вештачки подигнутих састојина, плантажа, расадника и паркова (прилог А, Б, В и Г). После изведених тестова изолације, 24 домаћина је било позитивно на присуство различитих *Phytophthora* врста, укључујући 23 лишћарска домаћина и једну четинарску врсту (*Taxus baccata* L.) (табела 24).

Када се говори о појединачним домаћинима, највише изолата је изоловано испод стабала храста лужњака и то 86 изолата осам различитих врста *Phytophthora* (табела 24). Следећи домаћин је био храст китњак са 50 изолата и осам изолованих врста. Још треба издвојити букву са 46 изолата и шест изолованих врста, тополе са 42 изолата и шест изолованих врста и пољски јасен са 36 изолата и пет изолованих врста. Са осталих домаћина је добијено знатно мање изолата и врста (табела 24).

Табела 24. Домаћини изолованих *Phytophthora* врста у Србији

Table 24. Hosts of isolated *Phytophthora* species in Serbia

Бр. No.	Домаћини Hosts	<i>Phytophthora</i> врсте <i>Phytophthora</i> species																	p <sup>b</sup>
		Укупно Total	сас	сам	cit	citr	cry	eur	gon	lac	pin	plu	pol	que	ser	syr	pgchl	spp.	
1	<i>Acer campestre</i> L.	7	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	0	p=0.068
2	<i>Acer platanoides</i> L.	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	p=0.992
3	<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	21	3	0	0	0	0	0	0	1	0	14	0	0	0	0	0	3	p=0.766
4	<i>Acer tataricum</i> L.	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	p=0.963
5	<i>Acer heldreichii</i> Orph.	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	p=0.998
6	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	25	1	1	0	1	0	0	2	0	0	14	0	0	0	0	0	6	p=0.476
7	<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	17	1	0	0	0	0	0	2	1	0	10	0	0	0	0	0	3	p=0.981
8	<i>Betula pendula</i> Roth	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	p=0.999
9	<i>Carpinus betulus</i> L.	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	p=0.999
10	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	p=0.370
11	<i>Fagus sylvatica</i> L.	46	1	5	0	0	0	0	2	1	0	17	0	0	0	0	2	18	p<0.001
12	<i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl	36	0	0	1	0	0	0	3	15	0	12	3	0	0	0	0	2	p<0.001
13	<i>Juglans regia</i> L.	7	2	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	1	p=0.912
14	<i>Malus sylvestris</i> (L.) Mill.	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	p=0.934
15	<i>Pyrus pyrastrer</i> (L.) Burgsd.	9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	0	3	p<0.001
16	<i>Populus</i> spp.	42	4	0	0	0	0	0	3	4	11	14	5	0	0	0	0	1	p<0.001
17	<i>Prunus avium</i> (L.) L.	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	p=0.999
18	<i>Prunus laurocerasus</i> L.	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	p<0.001
19	<i>Quercus cerris</i> L.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	p=0.994
20	<i>Quercus petraea</i> (Mattuschka) Liebl.	50	4	1	0	1	4	0	0	0	0	23	0	2	1	3	0	11	p<0.001
21	<i>Quercus robur</i> L.	86	2	0	0	0	0	3	2	6	1	40	8	16	0	0	0	8	p<0.001
22	<i>Quercus rubra</i> L.	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	p=0.974
23	<i>Quercus frainetto</i> Ten.	11	1	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	1	1	0	0	3	p=0.870
24	<i>Taxus baccata</i> L.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	p=0.994
Укупно		378	22	8	1	2	4	3	19	32	12	165	16	19	5	3	2	65	
p <sup>a</sup>			p=0.018	p<0.001	p=0.994	p=0.995	p=0.289	p=0.990	p=0.055	p<0.001	p<0.001	p=0.968	p=0.547	p=0.006	p<0.001	p=0.661	p=0.914	p=0.007	

p<sup>a</sup> - Вероватноћа да нема разлике између позитивних домаћина код појединих врста рода *Phytophthora*, заснована на Ни квадрат тесту

p<sup>b</sup> - Вероватноћа да нема разлике између броја изолата добијених врста у односу на поједине домаћине, према Ни квадрат тесту

**Табела 24.** Наставак

**Table 24.** Continuation

p<sup>a</sup>- Probability that there is no difference between number of isolates, according to different hosts, based on Chi square test

p<sup>a</sup>- Probability that there is no difference between positive hosts in individual *Phytophthora* species, based on Chi square test

cac=*P. cactorum*; cam=*P. cambivora*; cry=*P. cryptogea*; cit=*P. citricola*; citr=*P. citrophthora*; plu=*P. plurivora*; gon=*P. gonapodyides*; lac=*P. lacustris*; que=*P. quercina*; pin=*P. pini*; pgchl=*P. taxon Pg Chlamydo*; ser=*P. ×serendipita*; syr=*P. syringae*; pol=*P. polonica*; eur=*P. europaea*; spp=неидентификовани изолати;  
spp=unidentified isolates

*Phytophthora* врсте показују велику разноликост у погледу специјализованости за одређене домаћине, тако да су неке врсте уско специјализоване за одређене домаћине, док су пак друге широке полифаге и нападају домаћине из више различитих родова или фамилија. Од врста специјализованих за поједине домаћине, у овим истраживањима су изоловане *P. europaea* и *P. quercina* испод храстових стабала (табела 24). Испод једног домаћина изоловане су још и *P. citricola*, *P. cryptogea*, *P. syringae* и *P. taxon 'Pg chlamydo'*, али су у литератури ове врсте познате као полифагне, а *P. taxon 'Pg chlamydo'* је јако раширена у различитим водотоковима у свету и ступа у хибридизације са другим врстама.

Највећи број домаћина у овим истраживањима је забележен са по две *Phytophthora* врсте, њих укупно седам (табела 24). *Phytophthora* врста која је изолована на највећем броју позитивних домаћина је била *P. plurivora* и изолована је са 19 различитих домаћина (табела 24). Такође, ова врста је изолована и са највише различитих домаћина у оквиру истог рода (четири врсте из рода *Acer*).

Ради даљих еколошких анализа и великог броја родова са по једним представником, извршено је груписање домаћина из родова *Acer*, *Prunus* и *Quercus*, који су у овим истраживањима били позитивни на присуство *Phytophthora* врста. Сличност родова домаћина је тестирана и приказана преко Sorensen-овог индекса сличности, а асоцираност преко Jaccard-овог индекса (табела 25).

Максимална сличност ( $S_s=1$ ) је забележена између црне јове и врста из рода јаворова, као и између граба и брезе (табела 25) и ова појава може бити објашњена тиме што су на паровима ових домаћина изоловане исте врсте (табела 24). Највећа асоцираност-преклапање ( $S_j=1,00$ ) у паровима домаћина је такође забележена између јаворова и црне јове и између брезе и граба (табела 25). Врло висока сличност ( $S_s=0,86$ ), и асоцираност ( $S_j=0,75$ ) је забележена између ораха и јаворова и ораха и црне јове, зато што су испод ових домаћина изоловане три заједничке врсте (табела 24). Висока сличност ( $S_s=0,80$ ) и висока асоцираност ( $S_j=0,67$ ) је забележена између топола и јаворова, топола и црне јове, ораха и дивље јабуке, дивље јабуке и дивље крушке и букве и врста рода *Prunus* (табела 25). Наведене вредности, осим броја појединих, присутних *Phytophthora* врста,



могу бити објашњене и у самој екологији наведених домаћина и њиховој сличности према потребама за влагом (већина ових домаћина су мезофили до хигрофили). Станишта на којима је вршено сакупљање узорака са ових домаћина, одговарају за развој и изолованим *Phytophthora* врстама. Такође, код наведених парова домаћина, постоје и извесне сличности у осетљивости на инфекције *Phytophthora* врстама, посебно када је у питању *P. plurivora*.

Сличност и асоцираност није забележена ( $S_s=0,00$ ;  $S_j=0,00$ ) упоредним анализама пољског јасена, букве, брезе, врста рода *Prunus* и граба са глогом (табела 25). Наиме, испод стабала глога добијен је само један изолат *P. cactorum* (табела 24), док су испод брезе, врста рода *Prunus* и граба изоловане друге врсте, а са пољског јасена и букве је изоловано више различитих врста (табела 24).

Мала сличност ( $S_s=0,15$ ) и мала асоцираност ( $S_j=0,08$ ) су забележени при поређењу храстова са брезом, храстова са грабом и храстова са глогом (табела 25). Храстови су осетљиви на инфекције са *Phytophthora* врстама и већину узорака у оквиру храстова чине узорци са лужњака, испод кога је добијено највише изолата различитих врста у овим истраживањима (табела 24). Испод стабала граба, брезе и глога добијена је по једна врста (табела 24) и у литератури нема пуно података о осетљивости ових домаћина. Такође, узорак са брезе је сакупљен у буковој шуми, док су узорци са граба и глога сакупљени у храстовим шумама.

Слична ситуација је забележена и упоредном анализом хигрофилних домаћина (пољски јасен и тополе) са другим врстама дрвећа које су по екологији мезофили или ксеромезофили (буква, граб, орах, бреза, глог, дивља јабука, дивља крушка), где су индекси сличности и асоцираности имали вредности испод 0,50 (табела 25).

Добијени резултати указују на преференцију врста из рода *Phytophthora* према мезофилним и хигрофилним домаћинима, са којих су у овим истраживањима уједно и најчешће изоловане. Такође, очигледна је и њихова преференција према свежим стаништима, стаништима богатим влагом и стаништима на којима долази до периодичног задржавања површинске воде, а на којима су сакупљени узорци испод различитих домаћина.

Табела 25. Сличност и асоцираност појединих родова домаћина

Table 25. Similarity and association between different host genus

Бр.	Домаћини* Hosts	<i>Acer</i> spp.	<i>Aesculus hippocastanum</i>	<i>Alnus glutinosa</i>	<i>Betula pendula</i>	<i>Carpinus betulus</i>	<i>Crataegus monogyna</i>	<i>Fagus sylvatica</i>	<i>Fraxinus angustifolia</i>	<i>Juglans regia</i>	<i>Malus sylvestris</i>	<i>Populus</i> spp.	<i>Pyrus pyraeaster</i>	<i>Taxus bacata</i>	<i>Quercus</i> spp.	<i>Prunus</i> spp.
1	<i>Acer</i> spp.	1,00	0,67	<b>1,00</b>	0,40	0,40	0,40	0,57	0,67	<b>0,86</b>	0,67	0,80	0,57	0,00	0,50	0,33
2	<i>Aesculus hippocastanum</i>	0,50	1,00	0,67	0,33	0,33	0,33	0,75	0,40	0,50	0,57	0,55	0,50	0,00	0,59	0,57
3	<i>Alnus glutinosa</i>	<b>1,00</b>	0,50	1,00	0,40	0,40	0,40	0,57	0,67	<b>0,86</b>	0,67	0,80	0,57	0,00	0,50	0,33
4	<i>Betula pendula</i>	0,25	0,20	0,25	1,00	<b>1,00</b>	0,00	0,50	0,33	0,50	0,67	<b>0,29</b>	0,50	0,00	<b>0,15</b>	0,67
5	<i>Carpinus betulus</i>	0,25	0,20	0,25	<b>1,00</b>	1,00	0,00	0,50	0,33	0,50	0,67	<b>0,29</b>	0,50	0,00	<b>0,15</b>	0,67
6	<i>Crataegus monogyna</i>	0,25	0,20	0,25	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,50	0,67	<b>0,29</b>	0,50	0,00	<b>0,15</b>	0,00
7	<i>Fagus sylvatica</i>	0,40	0,60	0,40	0,33	0,33	0,00	1,00	0,50	0,33	0,40	0,44	0,33	0,00	0,40	0,80
8	<i>Fraxinus angustifolia</i>	0,50	0,25	0,50	0,20	0,20	0,00	0,33	1,00	0,50	<b>0,29</b>	0,55	<b>0,25</b>	0,00	0,47	<b>0,29</b>
9	<i>Juglans regia</i>	0,75	0,33	0,75	0,33	0,33	0,33	0,20	0,33	1,00	0,80	0,67	0,67	0,00	0,40	0,40
10	<i>Malus sylvestris</i>	0,50	0,40	0,50	0,50	0,50	0,50	0,25	<b>0,17</b>	0,67	1,00	0,50	0,80	0,00	<b>0,29</b>	0,50
11	<i>Populus</i> spp.	0,67	0,38	0,67	<b>0,17</b>	<b>0,17</b>	<b>0,17</b>	0,29	0,38	0,50	0,33	1,00	0,44	0,00	0,56	<b>0,25</b>
12	<i>Pyrus pyraeaster</i>	0,40	0,33	0,40	0,33	0,33	0,33	0,20	0,14	0,50	0,67	0,29	1,00	0,00	<b>0,27</b>	0,40
13	<i>Taxus bacata</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
14	<i>Quercus</i> spp.	0,33	0,42	0,33	<b>0,08</b>	<b>0,08</b>	<b>0,08</b>	0,25	0,31	0,25	<b>0,17</b>	0,39	0,15	0,00	1,00	<b>0,29</b>
15	<i>Prunus</i> spp.	0,20	0,40	0,20	0,50	0,50	0,00	0,67	<b>0,17</b>	0,25	0,33	<b>0,14</b>	0,25	0,00	<b>0,17</b>	1,00

\*једини представници из појединих родова су написани комплетним именом; зелена боја- Sorensen-ов индекс; плава боја Jaccard-ов индекс

\*the single representatives from individual genus are written with full names; green colour- Sorensen index; blue colour Jaccard index

#### 6.2.4. Појава *Phytophthora* врста у различитим објектима истраживања

Истраживање *Phytophthora* врста у Србији је вршено у оквиру комплекса типова шума и вештачки подигнутих састојина различитих домаћина, као и у парковима и зеленим површинама (табела 26). Изолати и врсте из расадника нису укључени у овај део еколошких истраживања, а детаљи везани за ове објекте истраживања су приказани у прилогу В.

Разврставањем добијених изолата и врста према одређеним објектима истраживања, највише изолата је добијено из заједница храста лужњака са различитим хигрофилним пратиоцима у плавном шумском подручју. Главни узорковани пратиоци храста лужњака су били пољски јасен, граб, жешља и у мањој мери клен. Из шума на овим стаништима је добијено 108 изолата осам различитих врста *Phytophthora* (табела 26).

Друга по реду станишта са 41 добијеним изолатом шест различитих врста су биле вештачки подигнуте састојине топола. За њима долазе шуме букве са 37 изолата шест различитих врста и шуме китњака и шуме сладуна и цера са по 30 изолата од по шест различитих врста (табела 26). Из осталих објеката је добијено знатно мање изолата.

Најмању везаност ( $F=0,90$ ) у односу на све посматране објекте истраживања је показала *P. plurivora* и у односу на овај податак спада у убиквисте са широком еколошком валенцом ( $F=0,50-1,00$ ). Према резултатима ових истраживања (табела 26), у Србији у ову групу још спадају *P. cactorum* и *P. gonapodyides* ( $F=0,70$ ), док је *P. lacustris* на граници између убиквиста и акциденталних врста ( $F=0,50$ ).

Такође, занимљиво је истаћи и пет врста које су биле на граници између преференцијалних и случајних врста ( $F=0,10$ ), укључујући *P. citricola*, *P. europaea*, *P. polonica*, *P. syringae* и *P. taxon pg chlamydo*.

Табела 26. Присуство *Phytophthora* врста у различитим објектима истраживања у Србији

Table 26. Presence of *Phytophthora* species in different studied objects in Serbia

Бр. No.	<i>Phytophthora</i> врста <sup>1</sup> <i>Phytophthora</i> species <sup>1</sup>	Објекти истраживања Studied objects										Укупно Total	Везаност Fidelity
		Хигрофилне Hygrophilic		Мезофилне Mesophilic		Ксеромезофилне Xeromesophilic			Ксеротермофилне Xerothermophilic	Вештачки подигнуте састојине осталих лишћара Artificially established stands of other broadleaves	Паркови и зелене површине Parks and green areas		
		Шуме лужњака и хигрофилних пратилаца Pedunculate oak forests and hygrophilic followers	Вештачки подигнуте састојине топола Artificially established poplar stands	Шуме букве Beech forests	Шуме букве и јеле Forests of beech and fir	Вештачки подигнуте састојине лужњака <sup>2</sup> Artificially established pedunculate oak stands <sup>2</sup>	Шуме китњака Sessile oak forests	Вештачки подигнуте састојине китњака Artificially established sessile oak stands	Шуме сладуна и цера Forests of Hungarian and Turkey oaks				
1	<i>P. cactorum</i>	5	4	1	0	0	5	0	3	2	1	21	0,70
2	<i>P. cambivora</i>	0	0	5	0	0	0	0	0	0	2	7	0,20
3	<i>P. citricola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	<b>0,10</b>
4	<i>P. citrophthora</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0,20
5	<i>P. cryptogea</i>	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	3	0,20
6	<i>P. europaea</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	<b>0,10</b>
7	<i>P. gonapodydes</i>	7	3	2	0	1	1	0	3	0	2	19	0,70
8	<i>P. lacustris</i>	21	4	2	0	0	2	0	3	0	0	32	0,50
9	<i>P. pini</i>	1	11	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0,20
10	<i>P. plurivora</i>	46	14	24	0	8	20	7	19	4	12	154	0,90
11	<i>P. polonica</i>	11	5	0	0	0	0	0	0	0	0	16	<b>0,10</b>
12	<i>P. quercina</i>	14	0	0	0	0	0	1	1	0	0	16	0,30
13	<i>P. syringae</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	<b>0,10</b>
14	<i>P. taxon 'Pg Chlamydo'</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	<b>0,10</b>
15	<i>P. ×serendipita</i>	0	0	3	0	0	1	0	1	0	0	5	0,30
<b>Укупно изолата</b>		<b>108</b>	<b>41</b>	<b>37</b>	<b>2</b>	<b>9</b>	<b>30</b>	<b>13</b>	<b>30</b>	<b>6</b>	<b>19</b>	<b>295</b>	
Бр. врста/No of species		8	6	6	1	2	6	5	6	2	6		

<sup>1</sup>без *Phytophthora* spp. изолата и без изолата и врста из расадника; <sup>2</sup>вештачки подигнуте састојине лужњака на влажнијим стаништима китњака у НП „Фрушка Гора“; <sup>1</sup>without *Phytophthora* spp. isolates and without species and isolates from nurseries; <sup>2</sup>artificially established pedunculate oak forests on very wet sessile oak stands in the NP „Fruška Gora“

Такође, тестирана је и сличност објеката истраживања помоћу Sorensen-овог индекса сличности, а асоцираност преко Jaccard-овог индекса (табела 27).

Највећа сличност ( $S_s=0,83$ ) је забележена поређењем шума китњака са шумама сладуна и цера, затим код шума китњака са шумама букве и шума сладуна и цера са шумама букве (табела 27). У шумама сладуна и цера и шумама китњака је изолована *P. quercina*, која није изолована у шумама букве (табела 26), док је у шумама букве изолована *P. cambivora*, која није изолована у храстовим шумама, укључујући китњак, сладун и цер (табела 26). Међутим, *P. cambivora* је изолована у расаднику испод симптоматичних, младих биљака китњака (прилог В). Пет врста је било заједничко за сва три комплекса, укључујући *P. cactorum*, *P. lacustris*, *P. gonapodyides*, *P. plurivora* и *P. serendipita* (табела 26), па отуда и висока сличност међу наведеним шумама (табела 27). Такође, највећа асоцираност ( $S_j=0,71$ ) је забележена између ова три комплекса типова шума (табела 27). Ова три комплекса типова шума се преплићу и смењују на кратким растојањима и у вертикалном распореду се наслањају један на други. При таквим условима, врло су могућа и преношења одређених *Phytophthora* врста из једних екосистема у друге.

Шуме букве и јеле нису показале било какву сличност са осталим објектима истраживања ( $S_s=0,00$ ) и ова појава може бити објашњена тиме што је у овим састојинама изолована само једна врста, *P. taxon 'Pg chlamydo'*, која није изолована у другим шумама и локалитетима у Србији (табела 26). Такође, шуме букве и јеле нису показале било какву асоцираност ( $S_j=0,00$ ) у поређењу са осталим објектима истраживања (табела 27). Мала сличност ( $S_s=0,18$ ) је забележена између вештачки подигнутих састојина китњака и вештачки подигнутих састојина топола и вештачки подигнутих састојина китњака и шума букве (табела 27). У вештачки подигнутим састојинама китњака је изоловано пет различитих врста, док је у шумама букве и вештачки подигнутим састојинама топола изоловано по шест врста (табела 26). Међутим, само је *P. plurivora* била заједничка у поређењу вештачки подигнутих састојина китњака са шумама букве и вештачки подигнутим састојинама топола (табела 26), што је рефлектовано на малу везаност, али и на малу асоцираност ( $S_j=0,10$ ) (табела 27).

Вештачки подигнуте састојине китњака су у овим истраживањима узорковане једино на подручју НП „Фрушка Гора“, где преовлађује ксеромезофилни до мезофилни карактер, док су вештачки подигнуте састојине топола узорковане у плавном подручју равног срема са претежно хигрофилним карактером станишта (прилог Б). На ове карактеристике нам делимично указује и одсуство *Phytophthora* врста, претежно везаних за влажне и акватичне екосистеме, у вештачки подигнутим састојинама китњака, које су са друге стране често изоловане у вештачки подигнутим састојинама топола (табела 26). Мала сличност и асоцираност у поређењу са шумама букве, иако су у питању станишта са сличним еколошким карактеристикама, може бити објашњена и уношењем различитих *Phytophthora* врста преко садног материјала из расадника у вештачки подигнуте састојине китњака. На пример, *P. cryptogea* и *P. syringae* су изоловане једино у вештачки подигнутим састојинама китњака на подручју НП „Фрушка Гора“, док на осталим локалитетима у Србији ове врсте нису забележене (табела 18; слика 31 и 33).

Слична ситуација по питању ниских вредности везаности ( $S_s=0,29$ ) и асоцираности ( $S_j=0,17$ ) је забележена и при упоредној анализи вештачки подигнутих састојина китњака са вештачки подигнутим састојинама осталих лишћара и вештачки подигнутим састојинама лужњака. Наиме у вештачки подигнутим састојинама осталих лишћара и вештачки подигнутим састојинама лужњака су изоловане по две врсте (табела 26), од којих је само *P. plurivora* била заједничка у поређењу са вештачки подигнутим састојинама китњака, па тиме могу бити објашњене и наведене вредности индекса сличности и асоцираности.

Табела 27. Сличност и асоцираност између различитих објеката истраживања у Србији

Table 27. Similarity and association between different studied objects in Serbia

Бр. No.	Објекти истраживања* Studied objects	Паркови и зелене површине Parks and green areas	Шуме букве Beech forests	Шуме букве и јеле Forests of beech and fir	Шуме китњака Sessile oak forests	Шуме лужњака и хигрофилних пратилаца Pedunculate oak forests and hygrophilic followers	Шуме сладуна и цера Forests of Hungarian and Turkey oak	Вештачки подигнуте састојине осталих лишћара Artificially established stands of other broadleaves	Вештачки подигнуте састојине топола Artificially established poplar stands	Вештачки подигнуте састојине лужњака Artificially established pedunculate oak stands	Вештачки подигнуте састојине китњака Artificially established sessile oak stands
1	Паркови и зелене површине	1,00	0,67	0,00	0,50	0,43	0,50	0,50	0,50	0,50	0,36
2	Шуме букве	0,50	1,00	0,00	<b>0,83</b>	0,57	<b>0,83</b>	0,50	0,67	0,50	<b>0,18</b>
3	Шуме букве и јеле	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	Шуме китњака	0,33	<b>0,71</b>	0,00	1,00	0,57	<b>0,83</b>	0,50	0,67	0,50	0,36
5	Шуме лужњака и хигрофилних пратилаца	0,27	0,40	0,00	0,40	1,00	0,71	0,40	0,71	0,40	0,31
6	Шуме сладуна и цера	0,33	<b>0,71</b>	0,00	<b>0,71</b>	0,56	1,00	0,50	0,67	0,50	0,36
7	Вештачки подигнуте састојине осталих лишћара	0,33	0,33	0,00	0,33	0,25	0,33	1,00	0,50	0,50	0,29
8	Вештачки подигнуте састојине топола	0,33	0,50	0,00	0,50	0,56	0,50	0,33	1,00	0,50	<b>0,18</b>
9	Вештачки подигнуте састојине лужњака	0,33	0,33	0,00	0,33	0,25	0,33	0,33	0,33	1,00	0,29
10	Вештачки подигнуте састојине китњака	0,22	<b>0,10</b>	0,00	0,22	<b>0,18</b>	0,22	<b>0,17</b>	<b>0,10</b>	<b>0,17</b>	1,00

\*зелена боја- Sorensen-ов индекс; плава боја- Jaccard-ов индекс

\*green colour- Sorensen index; blue colour- Jaccard index

### **6.3. Присуство *Phytophthora* врста кроз земљишни профил на одабраним локалитетима на подручју Доњег Срема**

Током истраживања у 2011. години, утврђено је да су *Phytophthora* врсте биле присутне у слоју земљишта ризосфере на свих пет узоркованих локалитета, на основу изолација током априла, маја и јуна месеца (табела 28). На пољима 1 и 4 ови организми су изоловани са максимално 1 m дубине, док су на пољима 3 и 5 изолације биле успешне са 1,5 m дубине и то је био најдубљи слој на коме су забележени ови организми (табела 28). Из узорака узетих са дубина већих од 1,5 m нису изоловани ови организми, као ни из узорака директно узетих из слоја у нивоу подземне воде у тренутку узорковања.

После детаљне морфолошко-физиолошке и молекуларне идентификације, на овим локалитетима је идентификовано пет различитих врста, укључујући *Phytophthora cactorum*, *P. gonapodyides*, *P. lacustris*, *P. plurivora* и *P. quercina*. Врста која је изолована из узорака из свих дубина, укључујући и 1 и 1,5 m дубине је била *P. plurivora*, док су остале врсте претежно изоловане из површинског слоја земљишта на 25 и 50 cm дубине (табела 28). Слични резултати су добијени и током истраживања у мају месецу 2012. године (табела 28), с тим да су на пољу један *Phytophthora* врсте изоловане са максимално 0,5 m дубине.

После извршених гранулометријских анализа, утврђено је да кроз земљишни профил доминира глина до слоја између 1,5-2 m дубине на прва три поља, а испод овог слоја доминира песковита глина. На последња два поља кроз профил доминира песковита иловаста глина и песковита глина (табела 28). Све три текстурне класе су погодне за развој врста из рода *Phytophthora*.

Током узимања узорака сондом, забележене су и дубине на којима је била позиција подземне воде у том тренутку. У табели 28, плавом бојом су приказане дубине подземне воде на истраживаним локалитетима током априла, маја и јуна 2011. и маја 2012. године.



Табела 28. Присуство *Phytophthora* врста кроз земљишни профил на истраживаним локалитетима током априла, маја и јуна 2011. и маја 2012. године

Table 28. Presence of *Phytophthora* species through the soil profile on studied localities during the April, May and June in 2011, and May 2012

Дубина Depth (m)	Присуство <i>Phytophthora</i> врста Presence of <i>Phytophthora</i> species																								
	Поље 1 Field 1					Поље 2 Field 2					Поље 3 Field 3					Поље 4 Field 4					Поље 5 Field 5				
	2011			2012	Текстурна класа земљишта Soil textural class	2011			2012	Текстурна класа земљишта Soil textural class	2011			2012	Текстурна класа земљишта Soil textural class	2011			2012	Текстурна класа земљишта Soil textural class	2011			2012	Текстурна класа земљишта Soil textural class
	Април	Мај	Јун	Мај		Април	Мај	Јун	Мај		Април	Мај	Јун	Мај		Април	Мај	Јун	Мај		Април	Мај	Јун	Мај	
0,25	L	C	G	P	*	Q	P Q	L	Q	*	L P	C L	spp.	L	*	L Q	Q	-	Q	*	C G P	G	-	L P	***
0,5	-	P	-	spp.	*	-	Q	-	P	*	L	spp.	spp.	L P	*	-	-	spp.	P	**	-	-	G	spp.	**
1,0	P	-	-	-	*	-	-	-	-	*	-	-	P	-	*	-	P	-	spp.	**	-	-	-	-	**
1,5	-	-	-	-	*	-	-	-	-	*	-	P	-	P	*	-	-	-	-	**	-	P	-	-	**
1,7	-	-	-	-	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	***	-	-	-	-	**
2,0	-	- <sup>1</sup>	-	-	***	-	-	-	-	***	-	-	-	-	*	-	- <sup>1</sup>	-	-	***	-	- <sup>1</sup>	-	-	**
2,3	-	-	-	-	***	-	-	- <sup>2</sup>	-	***	-	-	-	-	*	-	-	-	-	***	-	-	- <sup>3</sup>	-	**
2,5	-	-	-	-	***	-	-	-	-	***	-	-	-	-	*	-	-	-	-	***	-	-	-	-	**
3,0	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA	HA

\*глина; \*\*песковита иловаста глина; \*\*\*песковита глина; HA- није анализирано; плава боја означава различите нивое подземне воде; <sup>1</sup>- ниво подземне воде је био на 1,8 m; <sup>2</sup>- ниво подземне воде је био на 2,1 m; <sup>3</sup>- ниво подземне воде је био на 2,2 m;

\*clay; \*\*sandy-loamy-clay; \*\*\*sandy-clay; HA- not analysed; blue color means different levels of underground water; <sup>1</sup>- level of ground water was at 1,8 m; <sup>2</sup>- level of ground water was at 2,1 m; <sup>3</sup>- level of ground water was at 2,2 m;

C=*P. cactorum*; P=*P. plurivora*; G=*P. gonapodyides*; L=*P. lacustris*; Q=*P. quercina*; spp= изгубљени изолати; spp=lost isolates

Из приложене табеле видимо да је најмања дубина на којој је забележена подземна вода била на 1,5 m током априла месеца, што је уједно и највећа дубина на којој је забележена *P. plurivora*. Међутим, *P. plurivora* је са ове дубине изолована само током маја месеца, када је ниво подземне воде био нешто нижи (табела 28), док су све пробе изолација из узорака са веће дубине биле негативне.

#### 6.4. Најниже и највише надморске висине на којима су изоловане поједине *Phytophthora* врсте

У погледу надморске висине на којима су поједине врсте изоловане, најнижа надморска висина на којој су изоловане *Phytophthora* врсте у Србији је била око 73 m (табела 29) и то у доњем Срему на подручју ШУ Купиново. Највећа надморска висина на којој су изоловане *Phytophthora* врсте је била на око 1200 метара (табела 29), на подручју Јастрепца (ШУ Крушевац), где су изоловане *P. plurivora* и *P. lacustris* испод стабала планинског јавора (*Acer heldreichii*).

Табела 29. Највише и најниже надморске висине изолованих *Phytophthora* врсте у Србији  
Table 29. Maximum and minimum elevations of isolations of *Phytophthora* species in Serbia

Broj Num.	<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora</i> species	Надморска висина Elevation (m)	
		Најнижа надморска висина The lowest elevation	Највиша надморска висина The highest elevation
1	<i>P. cactorum</i>	73	841
2	<i>P. cambivora</i>	112	768
3	<i>P. citricola</i>	77	77
4	<i>P. citrophthora</i>	142	363
5	<i>P. cryptogea</i>	212	396
6	<i>P. europaea</i>	82	82
7	<i>P. gonapodyides</i>	73	581
8	<i>P. lacustris</i>	73	1211
9	<i>P. pini</i>	73	73
10	<i>P. plurivora</i>	73	1214
11	<i>P. polonica</i>	73	73
12	<i>P. quercina</i>	73	392
13	<i>P. syringae</i>	212	212
14	<i>P. taxon 'pg chlamydo'</i>	902	902
15	<i>P. ×serendipita</i>	118	836

## 6.5. Закључци

Узимајући у обзир наведене резултате можемо извести следеће закључке:

- *Phytophthora* врсте су изоловане на 30 од 33 истраживана локалитета у Србији;
- локалитет на коме је добијено највише изолата је Купиново са укупно 77 изолата седам различитих врста, затим следе НП Фрушка гора са 52 изолата осам врста, Кленак са 39 изолата пет врста, Београд са 37 изолата седам врста, Нови Пазар са 32 изолата шест врста и Вишњићево са 20 изолата пет врста, док је са осталих локалитета добијено мање изолата и врста;
- најчешће изолована врста на свим локалитетима је *P. plurivora* са 165 изолата на 24 различита локалитета у Србији;
- у односу на 16 груписаних локалитета, најмању везаност је показала *P. plurivora* ( $F=0,81$ ) и изолована је са 13 груписаних локалитета;
- седам врста према степену везаности спада у преференцијалне, у односу на груписане локалитете истраживања, укључујући *P. cryptogea*, *P. citricola*, *P. europaea*, *P. pini*, *P. polonica*, *P. syringae* и *P. taxon 'pg chlamydo'* ( $F=0,06$ ), а преосталих седам у акциденталне;
- максимална сличност ( $S_s=1,00$ ), као и максимална асоцираност ( $S_j=1,00$ ), у погледу изолованих врста на груписаним локалитетима, су забележене између Куршумлије и Лознице и између Јастрепца и Вршачког Брега, док су у осталим случајевима вредности индекса везаности биле знатно мање;
- током истраживања врста из рода *Phytophthora* у Србији, забележени су симптоми, који су груписани у пет различитих типова симптома, укључујући некрозе коре, жутило лишћа, проређеност крошње, одумирање грана и одумирање стабала од врха- „dieback“ тип пропадања;
- при анализи кореновог система, забележени су прогресиван губитак и трулеж финог корења, као и некрозе и озледе на матичном корењу;
- највише изолата је добијено испод стабала са симптомом проређености крошње, а домаћини са највећим бројем изолата у оквиру овог типа симптома су били буква са 19 и храст лужњак са 16 изолата;

- у случајевима појединачних домаћина у оквиру одређених типова симптома, највише изолата је добијено испод стабала храста лужњака у оквиру „dieback“ типа симптома;
- такође, 100 изолата је добијено испод стабала без регистрованих симптома;
- најчешће изолована врста у оквиру свих типова симптома је била *P. plurivora* са 45 изолата у оквиру симптома проређености крошње;
- највећа сличност између појединих типова симптома, на основу Sorensen-овог индекса, као и највећа асоцираност, на основу Jaccard-овог индекса су забележене између жутила лишћа и проређености круне;
- укупно 24 домаћина је било позитивно у тестовима изолације;
- домаћини са највише добијених изолата су били храст лужњак са 86, храст китњак са 50, буква са 46, тополе са 42 и пољски јасен са 36 добијених изолата, док је са осталих домаћина добијено знатно мање изолата;
- највише врста је добијено са храста лужњака и то 8, храста китњака такође 8, са букве и топола по 6 врста, са пољског јасена, храста сладуна, дивљег кестена по 5 врста, са црне јове 4 врсте, док је са осталих домаћина добијено мање врста;
- на седам различитих домаћина су забележене по две *Phytophthora* врста;
- *Phytophthora* врста је која је изолована на највише домаћина је била *P. plurivora* на 19 различитих домаћина, а затим следе *P. cactorum* са 12, *P. lacustris* са 10, *P. gonapodyides* са девет, *P. cambivora* са четири, *P. polonica*, *P. quercina* и *P. ×serendipita* са по три и *P. citrophthora* са два домаћина;
- пет врста је изоловано са по једног домаћина и то *P. europaea* испод стабала храста лужњака *P. cryptogea* и *P. syringae* испод стабала храста китњака, *P. citricola* испод стабала пољског јасена и *P. taxon 'pg chlamydo'* испод стабала букве;
- максимална сличност у паровима родова домаћина према Sorensen-овом индексу и максималана асоцираност према Jaccard-овом индексу су забележене између врста из рода јавора и црне јове, као и између граба и брезе;
- највише изолата, укупно 108 од осам различитих *Phytophthora* врста је изоловано на стаништима храста лужњака са хигрофилним пратиоцима;

- следећа по реду станишта су била вештачки подигнуте састојине топола са укупно 41 изолатом шест различитих *Phytophthora* врста, затим шуме букве са 37 изолата од шест различитих врста, шуме китњака и шуме сладуна и цера са по 30 изолата од по шест различитих врста, паркови и зелене површине са 19 изолата од шест различитих врста, вештачки подигнуте састојине китњака са 13 изолата од пет различитих врста, вештачки подигнуте састојине лужњака са девет изолата од две различите врсте, вештачки подигнуте састојине осталих лишћара са шест изолата две различите врсте и шуме букве и јеле са два изолата једне *Phytophthora* врста;
- најмању везаност у односу на све објекте истраживања су показале *P. plurivora* ( $F=0,90$ ), *P. cactorum* и *P. gonapodyides* ( $F=0,70$ ) према чему се сврставају у убиквисте са широком еколошком валенцом;
- пет врста је према степену везаности за објекте истраживања било на граници између преференцијалних и акциденталних врста ( $F=0,10$ ), укључујући *P. citricola*, *P. europaea*, *P. syringae* и *P. taxon 'pg chlamydo'*;
- највећа сличност ( $S_s=0,83$ ), као и највећа асоцираност ( $S_j=0,71$ ) су забележене између шума сладуна и цера са шумама китњака и шума сладуна и цера са шумама букве;
- током истраживања присуства *Phytophthora* врста кроз земљишни профил, максимална дубина са које су изоловани ови патогени организми је била 1,5 m;
- сви узорци подземне воде и слоја земљишта на њеном тренутном нивоу су били негативни на присуство *Phytophthora* врста, иако је евидентна јака хидрауличка веза подземних вода на овом подручју са реком Савом;
- закључак је да су плавне воде, које су карактеристика овог подручја, главни извор инокулума *Phytophthora* врста;
- најнижа надморска висина на којој су изоловане *Phytophthora* врсте у Србији је била око 73 m (Купиново), док је највећа надморска висина била на око 1200 m (Јастребац).

## 7. ПАТОГЕНОСТ

Провера патогености је извршена помоћу три различита теста који се најчешће спроводе са *Phytophthora* врстама изолованим из ткива, земљишта и финог корења домаћина и то према доле наведеним методама. Методе су изабране са циљевима да се класично провери патогеност у тестовима инокулације под кору, као и тестовима са имитацијом услова за инфекције у природи.

### 7.1. Материјал и метод

#### 7.1.1. Провера патогености под кору на избојцима

Овај тест је вршен методом инокулација избојака под кору (Shoot inoculation test) (JUNG and NECHWATAL 2008). Репрезентативни изолати *Phytophthora cambivora* (2011/F.S.03), *P. citricola* (2010/F.Ang.01), *P. cryptogea* (2012/Ras.Q.P.02), *P. europaea* (2011/Q.R.30), *P. plurivora* (2011/Q.P.05) и *P. taxon 'pg chlamydo'* (2011/Fa-Ab.01), одабраних за тестове патогености, су пресејавани на свежу шаргарепа-агар подлогу, а инкубација је вршена у мраку на 22-25°C. Двогодишњи избојци одабраних домаћина су виноградарским маказама, стерилисаним у 70% етанолу па на отвореном пламену, краћени на штапиће дужине од по 15 cm, и то на тај начин да су бирани прави делови без чворића, неравнина или неких оштећења. У лабораторији су прво површински стерилисани са комадом вате натопљене 70% етанолом, а затим спаљивани на отвореном пламену. На средини избојка уклањан је комадић коре приближне величине 5×5×5 mm (слика 48 и 49) и то скалпелом стерилисаним у 70% етанолу па на отвореном пламену. Са ивице колоније узиман је комад агара са мицелијом, такође приближне величине 5×5×5 mm и постављан на изложено ткиво дрвета (слика 50). Уклоњени комадић коре је враћан и заједно са инокулумом обавијан са комадићем вате натопљене стерилном дестилованом водом, затим завијан парафилмом (Parafilm® M) (слика 51).



**Слика 48.** Избојци китњака припремљени за инокулацију  
**Figure 48.** Sessile oak shoots prepared for inoculation



**Слика 49.** Изложено дрвно ткиво на избојку китњака  
**Figure 49.** Exposed wood on sessile oak shoot



**Слика 50.** Комадић агара са мицелијом прислоњен на озледу  
**Figure 50.** Piece of agar with mycelium plated on the exposed wood



**Слика 51.** Комадић агара обавијен влажном ватом и парафилмом  
**Figure 51.** Piece of agar sealed with moisture cotton and parafilm

Укупно је инокулисано  $3 \times 10$  штапића по домаћину по изолату (табела 30). Контролни штапићи су инокулисани са стерилним комадићем агара такође  $3 \times 10$  штапића по домаћину. После завијања са парафилмом, штапићи су паковани у стерилне најлонске кесе и инкубација је вршена на  $25^{\circ}\text{C}$ . Три недеље по инокулацији, парафилм је уклањан и штапићи су анализирани на присуство некроза (JUNG and NESHWATAL 2008). Евидентиране некрозе су у аксијалном правцу мерене шублером у милиметрима до на једну децималу, а вредности уписиване у предходно припремљене табеле. Реизолације су вршене на тај начин што је стерилним скалпелом узиман комадић дрвета са прелаза здравог у некротирано ткиво и постављан директно на селективну агар подлогу (V8A-

PARNH). Комадићи дрвета са контролних штапића, узети око места стерилног инокулума, су такође постављани на поменућу подлогу.

**Табела 30.** Списак тестираних врста и домаћина са бројем инокулисаних избојака

**Table 30.** List of tested species and hosts with number of inoculated shoots

Шифра изолата Code of isolate	Phytophthora врста и приступни код Phytophthora species and access code	Домаћин Host			
		Quercus petraea		Fagus sylvatica	
		Инокулисано Inoculated	Контрола Control	Инокулисано Inoculated	Контрола Control
2011/F.S.03	<i>P. cambivora</i> (JX276088)	3 × 10	30	3 × 10	30
2010/F.Ang.01	<i>P. citricola</i> (JX276078)	3 × 10		3 × 10	
2012/Ras.Q.P.30	<i>P. cryptogea</i> (KF234764)	3 × 10		3 × 10	
2011/Q.R.30	<i>P. europaea</i> (JX276062)	3 × 10		3 × 10	
2011/Q.P.05	<i>P. plurivora</i> (JX276057)	3 × 10		3 × 10	
2011/Fa-Ab.01	<i>P. taxon 'pg chlamydo'</i>	3 × 10		3 × 10	

7.1.2. Провера патогености инокулацијом под кору на живим биљкама у контролисаним условима

Овај тест је вршен инокулацијом под кору на живим биљкама (Stem inoculation test) (JUNG and BLASCHKE 1996; BALCI and HALMSCHLAGER 2003b; BALCI *et al.* 2008). Узимајући у обзир да је најчешће изолована врста била *Phytophthora plurivora*, као и то да је највише изолата добијено са храста лужњака (поглавље са резултатима), тестирано је пет различитих изолата *P. plurivora* добијених са различитих домаћина у Србији (табела 31). Поред *P. plurivora*, тестиране су и *P. europaea* и *P. polonica* (табела 31), које су по први пут констатоване на храсту лужњаку у Србији.



**Табела 31.** Листа тестираних врста и изолата са домаћинима и приступним кодовима у банци гена

**Table 31.** List of tested species and isolates with their hosts and GenBank access codes

<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora</i> species	Шифра изолата Code of isolate	Домаћин Host	Приступни код Access code	Број инокулисаних биљака Number of inoculated plants	Контрола Control
<i>P. plurivora</i>	2011/A.HI.01	<i>Aesculus hippocastanum</i>	JX276087	18	30
	2011/A.P.05	<i>Acer pseudoplatanus</i>	JX276067	18	
	2009/F.S.01	<i>Fagus sylvatica</i>	JX276086	18	
	2011/Q.P.05	<i>Quercus petraea</i>	JX276057	18	
	2011/Q.R.12	<i>Quercus robur</i>	JX276053	18	
<i>P. europaea</i>	2011/Q.R.30	<i>Quercus robur</i>	JX276062	18	
<i>P. polonica</i>	2011/Q.R.33		JX276064	18	

Саднице храста лужњака су произведене из жира и биле су старости 13 месеци у време инокулације. Биљке су гајене у саксијама запремине 1l, а супстрат је био састављен од хумуса (Agrohum, Lomianki, Poland) и перлита (Agra-Perlite, RHP, Poland) у односу 2:1. Саднице су гајене у условима стаклене баште на 22-25°C на Институту за шумарство (Forest Research Institute-IBL) у Пољској. Инокулум је произведен на тај начин што су одабрани изолати пресејавани на свежу V8 (Tymbark, Poland) агар (BTL, Poland) подлогу и инкубација је вршена на око 22-25°C у мраку. По испуњавању приближно половине Петри шоље од 90 mm приступило се инокулацији садница храста. Кора младих садница је прво површински стерилисана са ватом натопљеном у 70% алкохолу, а затим је на око 5-7 cm од нивоа супстрата скалпелом, стерилисаним у 70% алкохолу па на отвореном пламену, отворан део коре приближне величине 5×5 mm у облику латиничног слова „U“ (U-shaped wound) (BALCI *et al.* 2008). Са ивице младе колоније је стерилним скалпелом узиман комадић агара са мицелијом, приближне величине 5×5×5 mm и прислањан на изложено дрвно ткиво и то горњом страном агара на којој се налазила мицелија, комадић коре је наслањан на доњу страну, тако да је агар са мицелијом био заглављен између коре и дрвета. Инокулум и кора су прво прекривани комадићем вате натопљене стерилном дестилованом водом, затим завијани парафилмом (Parafilm® M) па алуминијумском фолијом (BALCI and HALMSCHLAGER 2003b; BALCI *et al.* 2008) и инкубација је вршена на 20-22°C у стакленој башти. Контролна група садница је инокулисана стерилним комадићима агара, завијана и гајена на исти начин као и саднице инокулисане са

*Phytophthora* spp. Укупно је инокулисано 126 садница (табела 31), а контролна група је садржала 30 садница. Свака садница је била обележена траком и бројем ради лакше касније манипулације.

Осам недеља по инокулацији (24/9 до 16/11/2012) саднице су сечене у нивоу кореновог врата и ношене у лабораторију где је уклањан парафилм и вршена анализа присуства некроза. Дужине некроза су мерене у аксијалном правцу са шублером у милиметрима и уношене у припремљене табеле. Реизолације су вршене директним постављањем комадића дрвета са прелаза здравог у некротирано ткиво на селективну (V8A-PARPNH) подлогу. Делови ткива око озледе на контролним биљкама су такође постављани на селективну подлогу.

#### 7.1.3. Провера патогености инфекцијом кореновог система преко земљишта у условима контролисаног влажења

Овај тест је спроведен помоћу методе инфекције кореновог система преко земљишта (Soil infestation test) (JUNG *et al.* 1996). За ове тестове су одабрани храст китњак и храст лужњак, као економски највредније врсте храста у Србији. Саднице су произведене из жира пореклом из Србије, где је жир храста лужњака обезбеђен из семенског центра у Моровићу (N: 44°58'30,14"; E: 19°11'38,31"), а жир китњака је сакупљен у шумама Центра за Наставне и Научне Активности у Дебелом Лугу (N: 44°22'06,51"; E: 21°54'42,97"), у источној Србији. У међувремену је припремљен супстрат од смесе хумуса (Agrohum, Lomianki, Poland), перлита (Agra-Perlite, RHP, Poland) и песка у размери 1:1:1, који је мешан уз влажење у мешалици. Супстрат је стерилисан у аутоклаву (25 минута на 120°C), а после хлађења је пуњен у предходно стерилисане пластичне саксије запремине 1 литар.



**Слика 52 и 53.** Изглед епрувета постављених у саксије ради формирања шупљина  
**Figure 52 and 53.** Epruvets placed in the pots in order to form cavities for inoculum

После стратификације и клијања семе је сађено у саксије и гајено на 22-25°C до старости од око шест месеци када је извршена инокулација. У тренутку садње клијаваца, на око 5 cm од стабаоцета додаване су две стерилне епрувете које су обезбеђивале простор за инокулум (слика 52 и 53). Формирањем простора за инокулум у саксијама са одраслим биљкама корен би био оштећен, што би негативно утицало на експеримент.

Инокулум је припремљен према методологији MIRCETICH and MATHERON (1985) (цитирали JUNG *et al.* 1996). У ерленмајере запремине 1 литар је одмерено 500 cm<sup>3</sup> финог вермикулита (Agra-Vermiculite, RHP, Poland) и 40 cm<sup>3</sup> семенки проса (millet seeds), затим је у ову мешавину доливано 350 ml течне V8 подлоге, припремљене са 200 ml/l V8 сока (Tymbark, Poland) 3 g/l CaCO<sub>3</sub> и 800 ml/l дестиловане воде и после мешања смеша је 20 минута стерилисана у аутоклаву на 120°C. Истовремено, изолати одабраних врста за инокулацију су пресејавани на свежу V8 подлогу, а инкубација је вршена на око 22-25°C у мраку приближно до испуњавања половине петри шоље од 90 mm. По завршетку стерилизације и хлађења смесе, иста је инокулисана комадима агара са мицелијом величине 1×1 cm, узетих са ивице младе колоније. Ерленмајери су по инокулацији затварни стерилним чеповима од вате и алуминијумском фолијом, затим паковани у кутије и инкубација је трајала 4-6 недеља у мраку. После 4-6 недеља развоја у мраку, инокулум је испиран у стерилној дестилованој води из разлога уклањања потенцијалних бактеријских контаминација и шећера из супстрата који су могли бити носиоци бактеријских колонија. Делови инокулума из сваког Ерленмајера су

после испирања постављани на шаргарепа агар подлогу ради провере активности патогена, после чега се приступило инокулацији.

Инокулација је вршена на тај начин што су прво вађене епрувете из супстрата у саксијама, а тако формиране шупљине су пуњене инокулумом уз помоћ стерилне лабораторијске кашике. Свака биљка је инокулисана са 20-25 cm<sup>3</sup> инокулума, а контролна група биљака је инокулисана стерилним супстратом од финог вермикулита, проса и V8 сока (JUNG *et al.* 1996). Укупно је инокулисано 12 биљака по врсти *Phytophthora* по домаћину, а контролна група је такође бројала 12 биљака (табела 32).

**Табела 32.** Списак тестираних врста и домаћина са бројем инокулисаних биљака

**Table 32.** List of tested species and hosts with number of inoculated plants

Шифра изолата Code of isolate	<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora</i> species	Домаћин Host			
		<i>Quercus petraea</i>		<i>Quercus robur</i>	
		Инокулисано Inoculated	Контрола Control	Инокулисано Inoculated	Контрола Control
2011/F.S.03	<i>P. cambivora</i> (JX276088)	12	12	12	12
2011/Q.R.12	<i>P. plurivora</i> (JX276053)	12		12	
2011/Q.R.33	<i>P. polonica</i> (JX276064)	12		12	
2011/Q.R.32	<i>P. quercina</i> (JX276020)	12		12	
2010/MIX.01	<i>P. ×serendipita</i> (KM272259)	12		12	

Одмах по инокулацији саксије су постављане у пластичне кутије запремине 80 литара (слика 54 и 55) и плављене водом до нивоа од око 2-4 cm изнад ивице саксије (слика 56, 57, 58 и 59). Вода је после 72 сата плављења испуштана и стерилисана у натријум-хипохлориту, а процес плављења свих саксија је понављан на три до четири недеље све до завршетка експеримента. Током сваког наредног плављења по површини воде је постављано младо лишће храста и букве (слика 60, 61 и 62) које је служило као мамци ради провере виталности инокулума и способности да се одржи и произведе зооспорангије са зооспорама у супстрату, а некротични делови су после провере под светлосним микроскопом постављани на селективну подлогу.



Слика 54 и 55. Инокулисане биљке у саксијама постављене у пластичне кутије

Figure 54 and 55. Inoculated plants in pots placed in plastic boxes



Слика 56, 57, 58 и 59. Инокулисане поплављене биљке у пластичним кутијама

Figure 56, 57, 58 и 59. Inoculated flooded plants in plastic boxes



Слика 60, 61 и 62. Постављено младо лишће по површини воде ради мамчења и појава некроза услед инфекција са активним инокулумом у супстрату

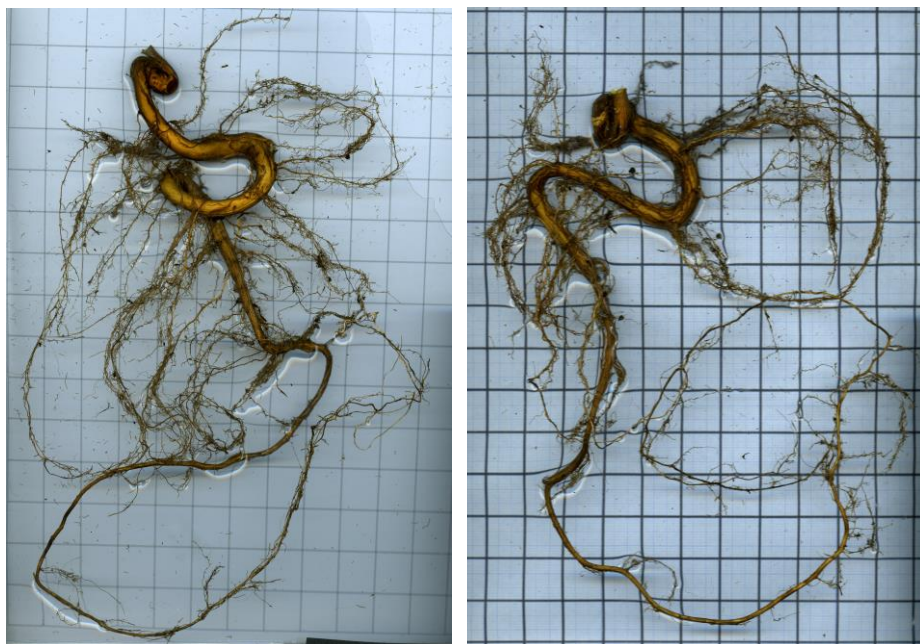
Figure 60, 61 and 62. Young leaves, plated on the water surface as a baits, and appearance of necrosis after infections with active inocula in the substrate

Тест је трајао 8 месеци (07/09/2012-05/05/2013). По завршетку овог теста, све биљке су прегледане и одређен је број убијених биљака, затим су пажљиво извађене из саксија и корење је постављано у метално сито и испирано под млазом воде средње јачине. После сушења у папирним убрूसима на собној



температури, вршен је преглед корења на присуство некроза и озледа. Реизолације су извршене постављањем некротираних делова и врхова коренчића на селективну агар подлогу (V8A-PARPNH). Такође, реизолације су вршене и из мамака постављених током три последња плавлјења.

После изведених реизолација, приступило се мерењу надземног и подземног дела и пречника кореновог врата биљке. Корење је сечено у нивоу кореновог врата, а затим је постављано на подлогу са уцртаном мрежом квадрата од 1,5×1,5 cm (слика 63 и 64). На овој подлози је утврђиван број укупних квадрата на којима се простирао коренов систем биљака (слика 63 и 64), као и број квадрата које захватају делови корена са појавом некроза. Такође, утврђиван је и број биљака са појавом абнормалности развоја кореновог система, укључујући неправилно рачвање корена, трулеж и недостатак централног корена и појаву вишеструког рачвања на превршеним деловима централног корена. Касније су помоћу добијених вредности прерачунавани проценти некротираниог и абнормално развијеног корена у односу на укупну површину корена. Такође, на истој подлози је вршено и скенирање сваког појединачног корена помоћу EPSON® Perfection V700 воденог скенера ради фотодокументације завршеног теста.



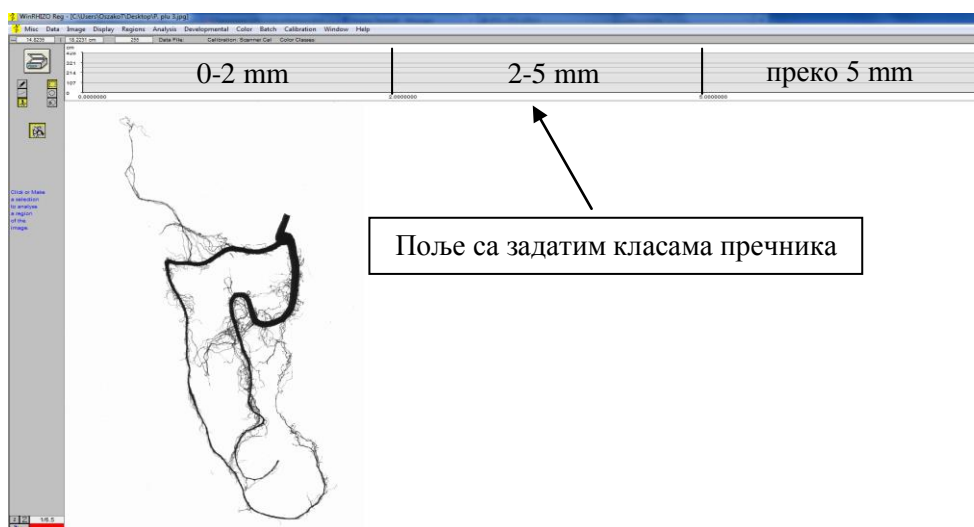
Слика 63 и 64. *Quercus robur*- скенирано корење инфицирано са *Phytophthora polonica*

Figure 63 and 64. *Quercus robur*- scanned roots infected with *Phytophthora polonica*

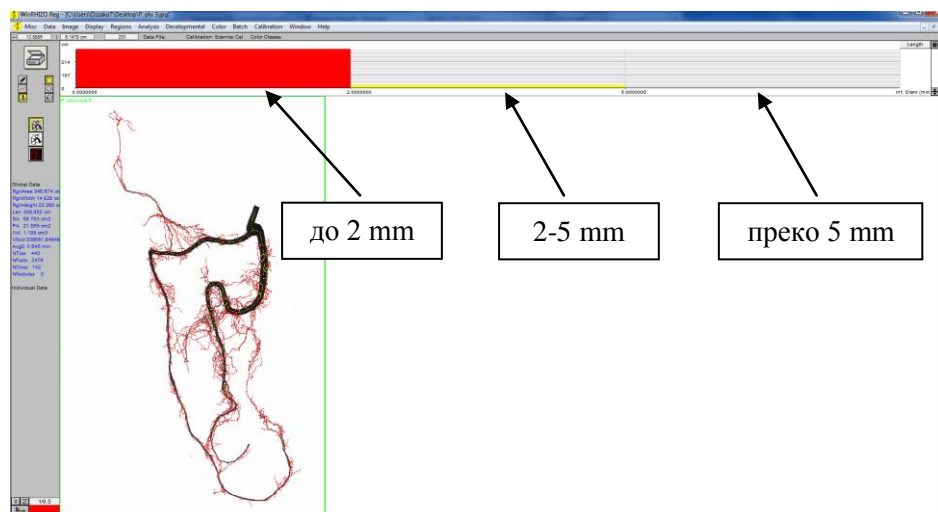
На крају је извршена припрема за анализе губитка кореновог система помоћу софтвера WinRhizo<sup>®</sup> (ver. 2012b, Regent Instruments<sup>®</sup>, Canada).

#### 7.1.4. Анализа губитка кореновог система помоћу софтвера WinRhizo<sup>®</sup>

Сво корење је после реизолације и утврђивања процента некроза још једном пажљиво просушено уз помоћ стерилних убруса, после чега је вршено скенирање помоћу софтвера WinRhizo (ver. 2012b, Regent Instruments<sup>®</sup>, Canada) и EPSON<sup>®</sup> Perfection V700 воденог скенера. Софтвер ове Канадске компаније је веома користан и погодан из разлога што аутоматски мери више различитих параметара, као на пример укупну дужину корена, број рачви, број врхова, запремину, површину, површину пројекције и друге параметре. Такође, могуће му је задати различите инструкције и различите класе корена према пречнику за које програм аутоматски врши прерачунавања. Одабрана је стандардна подела на фино корење (до 2 mm пречника), матично (=мало корење; 2-5 mm пречника) и на крају крупно корење (преко 5 mm пречника), а остали улазни параметри (калибрација, избор величине посуде за водени скенер, формат и резолуција слика, кумулација података, мод рада, скенирање са обојеном подлогом) су били према инструкцијама произвођача, детаљно описаних у софтверском мануалу. На следећим сликама је приказан пример изгледа корена током скенирања (65 и 66).



Слика 65. *Quercus petraea*-*P. plurivora* 5, изглед корена у софтверу пре анализе  
Figure 65. *Quercus petraea*-*P. plurivora* 5, root view in software before the analyses



Слика 66. *Quercus petraea- P. plurivora 5*, изглед корена у софтверу после анализе  
 Figure 66. *Quercus petraea- P. plurivora 5*, root view in software after the analyse

У случајевима када је корен био превелики за посуду воденог скенера, он је сечен на одређеним местима а операција скенирања је вршена из више фаза у аутоматску кумулацију података, за шта постоји опција у овом софтверу. После скенирања, корење је сечено и дељено на напред наведене класе корена према пречнику (до 2 и преко 2 mm пречника), затим је паковано у папирне коверте и сушено у сушници на 65°C до постизања константне масе. Корење је мерено уз помоћ калибрисане електронске ваге (Tehtnica EB-300 M) до на три децимале, после чега се приступило прерачунавању параметара за сваки појединачни корен.

#### 7.1.5. Статистичке анализе

Добијене вредности дужина некроза на инокулисаним избојцима букве и китњака су статистички обрађене, при чему су израчунате просечне вредности ( $\bar{x}$ ) и стандардне грешке ( $\pm SE$ ). Затим је извршена двофакторијална анализа варијансе (two way ANOVA) на усвојеном нивоу вероватноће ( $\alpha=0,05$ ). Фактори су били врста домаћина и врста *Phytophthora*, док су дужине некроза биле зависно променљиве. Тестирање разлика између средњих вредности група, у односу на дужине некроза, је урађено Duncan тестом ( $\alpha=0,05$ ).

Вредности дужина некроза, образованих инокулацијом под кору на живим биљкама, су унете у припремљене табеле и извршено је прерачунавање средњих



вредности ( $\bar{x}$ ) и стандардних грешака ( $\pm SE$ ). Затим је извршена анализа варијансе (one way ANOVA) на усвојеном нивоу вероватноће ( $\alpha=0,05$ ). Тестирање разлика према дужини некроза, између средњих вредности група је урађено Duncan тестом ( $\alpha=0,05$ ).

Од укупно 24 добијена параметра после скенирања и прерачунавања у тесту инокулације кореновог система, 12 је одабрано за статистичке анализе. За све одабране параметре су одређене средње вредности ( $\bar{x}$ ) и стандардне грешке ( $\pm SE$ ), а затим је извршена двофакторијална анализа варијансе (two way ANOVA) на усвојеном нивоу вероватноће ( $\alpha=0,05$ ). Фактори су били врста храста и врста *Phytophthora*, док су испитивана обележја (параметри) била зависно променљива. Тестирање разлика по обележјима, између средњих вредности група, урађено је Duncan тестом ( $\alpha=0,05$ ).

Све анализе су обављене у статистичком пакету *STATISTICA*<sup>®</sup> (ver. 12).

## **7.2. Резултати**

### 7.2.1. Резултати теста патогености на избојцима

Три недеље по инокулацији вршена је анализа присуства некроза на инокулисаним избојцима при чему су мерене забележене некрозе. Реизолације су биле успешне у 297 од 373 (~80%) постављених комадића дрвета на селективну подлогу. На контролним групама избојака нису забележене некрозе, а калусно ткиво је отпочело процес обрастања озледа у мери у којој су му биле доступне материје. Резултати статистичких анализа за букву и храст су приказани у табели 33, а резултати просечних вредности мерених некроза и Duncan теста у табели 34.

**Табела 33.** Суме квадрата (SS), средине квадрата (MS), F и P вредности величина некроза, добијених помоћу „two-way ANOVA“ за тестиране параметре. Храстови и *Phytophthora* врсте су коришћени као фактори. Значајни ефекти су означени подебљано;

**Table 33.** Sum squares (SS), Mean squares (MS), F and P values from two-way ANOVA for tested parameters. Oaks and *Phytophthora* species were fixed as factors. Significant effects are marked in bold

Варијације Source of variation	Величина некроза Size of necrosis				
	Степени слободе Degr. of (Freedom)	(SS)	(MS)	(F)	(p)
Домаћин (1) Host (1)	1	0,552	0,552	0,2335	0,6294
<i>Phytophthora</i> (2)	5	704,801	140,960	59,6598	<b>0,0000</b>
1 × 2	5	25,166	5,033	2,1302	0,0633
Грешка Error	201	474,910	2,363		
Σ	212	1230,045			

На основу резултата статистичких анализа, приказаних у табели 33, на дужине некроза значајно је утицала *Phytophthora* врста ( $p < 0,001$ ), док врста домаћина (храст и буква), као и интеракција између ова два фактора није утицала статистички значајно на дужине некроза (табела 33).

**Табела 34.** Измерене величине некроза са стандардним девијацијама и резултатима Duncan теста

**Table 34.** Measured necrosis lengths with standard deviations and results of Duncan test

<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora</i> species	Домаћин и величина некроза Host and size of necrosis	
	<i>Quercus petraea</i> ( $\bar{x} \pm SE$ (mm)+Duncan)	<i>Fagus sylvatica</i> ( $\bar{x} \pm SE$ (mm)+Duncan)
<i>P. cambivora</i>	3,04±0,319 <b>bc</b>	3,81±0,246 <b>c</b>
<i>P. citricola</i>	1,54±0,115 <b>d</b>	1,79±0,307 <b>d</b>
<i>P. cryptogea</i>	3,43±0,500 <b>c</b>	2,11±0,372 <b>bd</b>
<i>P. europaea</i>	1,13±0,142 <b>d</b>	0,96±0,062 <b>d</b>
<i>P. plurivora</i>	5,93±0,349 <b>a</b>	6,48±0,532 <b>a</b>
<i>P. taxon 'pg chlamydo'</i>	0,93±0,085 <b>d</b>	1,49±0,216 <b>d</b>

Из табеле 34, уочљиво је да је у случају букових избојака најагресивнија врста била *P. plurivora*, образујући 6,8 пута веће некрозе од *P. europaea* код које су забележене најмање некрозе. На основу резултата Duncan теста, *P. plurivora* се

статистички значајно разликовала у односу на све остале *Phytophthora* врсте (табела 34).

У случају избојака храста китњака, најагресивнија врста је такође била *P. plurivora* и образовала је 6 пута веће некрозе од *P. taxon 'pg chlamydo'*, код које су забележене најмање некрозе. И у овом случају, *P. plurivora* се статистички значајно разликовала у односу на све тестиране *Phytophthora* врсте, на основу резултата Duncan теста (табела 34).

#### 7.2.2. Резултати теста патогености под кору на живим биљкама

Реизолације су биле успешне код 86% биљака. На контролној групи биљака нису уочене некрозе, а калусно ткиво је отпочело процес затварања озлеђених места и све изведене реизолације су биле негативне. Резултати статистичке обраде података измерених некроза су приказани у табели 35.

**Табела 35.** Суме квадрата (SS), средине квадрата (MS), F и P вредности величина некроза, добијених помоћу „one-way ANOVA“. Значајни ефекти су означени подебљано

**Table 35.** Sum squares (SS), Mean squares (MS), F and P values from one-way ANOVA. Significant effects are marked in bold.

Варијације Source of variation	Величина некроза Size of necrosis				
	Степени слободе Degr. of (Freedom)	(SS)	(MS)	(F)	(p)
<i>Phytophthora</i>	6	2360,354	393,392	163,210	<b>0,0000</b>
Грешка Error	98	236,213	2,410		
Укупно Total	104	2596,568			

На основу резултата статистичких анализа, *Phytophthora* врста је значајно утицала на дужине некроза ( $p < 0,001$ ) (табела 35).

Издвојене су четири хомогене групе помоћу Duncan теста (ANOVA), укључујући: групу 1, која је укључивала *P. europaea* и *P. polonica*; групу 2, која је укључивала *P. plurivora* 53, *P. plurivora* 47; групу 3, која је укључивала *P.*

*plurivora* 27 и *P. plurivora* 47; и групу 4, која је укључивала *P. plurivora* 11, *P. plurivora* 3 (табела 36).

**Табела 36.** Дужине некроза, хомогене групе и резултати Duncan теста (ANOVA)

**Table 36.** Lengths of necrosis, homogenous groups and results of Duncan test (ANOVA)

Број Numb.	<i>Phytophthora</i> врста <i>Phytophthora</i> species	Величина некроза (mm) Means±SE Size of necrosis (mm) Means±SE	Duncan
1	<i>P. polonica</i>	1,86±0,217	d
2	<i>P. europaea</i>	2,53±0,154	d
4	<i>P. plurivora</i> 53	10,88±0,293	c
6	<i>P. plurivora</i> 47	11,48±0,275	bc
5	<i>P. plurivora</i> 27	12,13±0,389	b
7	<i>P. plurivora</i> 3	13,45±0,529	a
3	<i>P. plurivora</i> 11	14,21±0,679	a

Из приложене табеле се види да је најагресивнија била *P. plurivora* и то хомогена група коју чине изолат 11, добијен са китњака и изолат 3, добијен са лужњака (табела 36). Изолат *P. plurivora* 11 је изазвао 7,6 пута веће некрозе од *P. polonica*, која је изазвала најмање некрозе у овом тесту.

7.2.3. Резултати теста патогености инфекцијом кореновог преко земљишта у условима контролисаног влажења

После завршетка овог теста и пребројавања убијених биљака вршен је обрачун процента површине корења са присуством некроза у односу на укупну површину корења, као и број биљака са појавом абнормалности у развоју корења. Резултати ових обрачуна су приказани у табели 37.

**Табела 37.** Број убијених биљака и проценат некротираног и абнормално развијеног корења за поједине врсте у односу на домаћина

**Table 37.** Number of killed plants and percent of necrotic and abnormally developed roots for individual species according to hosts

Врста Species	<i>Quercus petraea</i>				<i>Quercus robur</i>			
	Број биљака Number of plants	Број убијених Number of killed	% некроза (просек) % of necrosis (average)	% биљака са абнормалним кореном % of plants with abnormally root	Број биљака Number of plants	Број убијених Number of killed	% некроза (просек) % of necrosis (average)	% биљака са абнормалним кореном % of plants with abnormally root
<i>P. cambivora</i>	12	1	50	83	12	1	43	92
<i>P. plurivora</i>	12	0	44	75	12	0	25	58
<i>P. polonica</i>	12	0	33	50	12	0	14	33
<i>P. quercina</i>	12	2	46	75	12	1	35	67
<i>P. hed/cac</i>	12	0	39	75	12	0	20	67
Контрола	12	0	0	0	12	0	0	0

Из табеле 42 видимо да је како у случају китњака, тако и код лужњака највећи проценат корења са некрозама изазвала *P. cambivora*, а одмах иза ње долазе *P. quercina*, *P. plurivora* и *P. ×serendipita*. У случају *Phytophthora polonica* је забележен нешто мањи проценат некроза код обе тестиране врсте. На сликама које следе у наставку приказане су неке од забележених некроза и трулежи на матичном корењу, трулеж и потпуно разарање централног корена уз губитак финог корења, као и појаве абнормалности развоја кореновог система услед дејства патогена, као и изгледи корена код контролних биљака.



**Слика 67.** Изглед некротираног и абнормално развијеног корења и одређивање процента некроза и абнормалности: А- *Q. robur*- *P. cambivora* 12; Б- *Q. petraea*- *P. quercina* 5

**Слика 67.** Necrotic and abnormally developed roots and determination of the percent of necrosis and abnormality: А- *Q. robur*- *P. cambivora* 12; Б- *Q. petraea*- *P. quercina* 5



**Слика 68.** *Q. robur- P. polonica* 5-  
трулеж централног корена  
**Figure 68.** *Q. robur- P. polonica* 5-  
rot of central root



**Слика 69.** *Q. robur- P. quercina*  
10- некрозе и трулеж на матичном  
корену  
**Figure 69.** *Q. robur- P. quercina* 10-  
necrosis and rot of mother root



**Слика 70.** *Q. robur- P. cambivora*  
3- некрозе и трулеж на матичном  
корену  
**Figure 70.** *Q. robur- P. cambivora*  
3- necrosis and rot of mother roots



**Слика 71.** *Q. robur- P. ×serendipita*  
9- некрозе и трулеж на матичном  
корену  
**Figure 71.** *Q. robur- P. ×serendipita* 9-  
necrosis and rot of mother roots



**Слика 72.** *Q. robur- P. plurivora*  
6- трулеж и губитак финог корена  
**Figure 72.** *Q. robur- P. plurivora* 6-  
rot and loss of fine roots



**Слика 73.** *Q. petraea- P. polonica*  
9- некрозе и абнормални развој  
корена  
**Figure 73.** *Q. petraea- P. polonica* 9-  
necrosis and abnormally development



**Слика 74.** *Q. petraea- P. plurivora*  
8- абнормалност и трулеж  
срчанице  
**Figure 74.** *Q. petraea- P. plurivora*  
8- abnormality and rot of central root



**Слика 75.** *Q. petraea- P. cambivora*  
1- некрозе матичног корена  
**Figure 75.** *Q. petraea- P. cambivora*  
1- necrosis of mother root



**Слика 76.** *Q. petraea* - *P. serendipita* 2- трулеж матичног и финог корења  
**Figure 76.** *Q. petraea* - *P. serendipita* 2- rot of mother and fine roots



**Слика 77.** *Q. petraea* - *P. serendipita* 5- трулеж матичног и финог корења  
**Figure 77.** *Q. petraea* - *P. serendipita* 5- rot of mother and fine roots



**Слика 78.** *Q. petraea*- *P. quercina* 5- изражене некрозе и трулеж корена  
**Figure 78.** *Q. petraea*- *P. quercina* 5- expressed necrosis and root rot



**Слика 79.** *Q. petraea*- *P. quercina* 12- потпуно уништен корен убијене биљке  
**Figure 79.** *Q. petraea*- *P. quercina* 12- completely destroyed root of killed plant



**Слика 80.** *Q. robur*- Изглед развијеног корена контролне биљке  
**Figure 80.** *Q. robur*- Developed root of control plant



**Слика 81.** *Q. robur*- Изглед развијеног корена контролне биљке  
**Figure 81.** *Q. robur*- Developed root of control plant



**Слика 82.** *Q. petraea*- Изглед развијеног корена контролне биљке  
**Figure 82.** *Q. petraea*- Developed root of control plant



**Слика 83.** *Q. petraea*- Изглед развијеног корена контролне биљке  
**Figure 83.** *Q. petraea*- Developed root of control plant



Реизолације су биле позитивне код свих 109 узорака (100%), постављених некротичних ткива и у 283 од 298 (95%) постављених врхова коренчића на селективну агар подлогу. На Петри посудама са постављеним деловима коренчића из контролних група биљака није забележен пораст култура.

Просечне вредности свих израчунатих параметара и премерене суве масе финог и матичног корена су приказане у табели 38.

После прерачунавања параметара, извршене су статистичке анализе за 12 одабраних параметара (табела 40). Суме квадрата ( $SS$ ), средине квадрата ( $MS$ ),  $F$  и  $P$  вредности, добијене помоћу „two-way ANOVA“ за тестиране параметре су приказане у табели 39.



Табела 38. Просечне вредности параметара за различите комбинације домаћина и патогена

Table 38. Average values of parameters for different host-pathogen combinations

Бр. No	Параметар Parameters	<i>Quercus robur</i>						<i>Quercus petraea</i>					
		<i>cam</i>	<i>plu</i>	<i>pol</i>	<i>que</i>	<i>×ser</i>	кон	<i>cam</i>	<i>plu</i>	<i>pol</i>	<i>que</i>	<i>×ser</i>	кон
1.	Укупна запремина корења (cm <sup>3</sup> )	3.69	3.72	5.01	3.71	4.35	5.99	2.61	2.75	3.25	2.13	1.96	4.02
2.	Запремина финог корења (cm <sup>3</sup> )	1.21	1.71	2.43	1.53	1.56	2.80	1.042	1.25	1.42	0.81	0.71	2.09
3.	Укупна површина корења (cm <sup>2</sup> )	109.62	144.87	201.15	136.69	142.26	254.76	92.62	100.08	124.33	76.51	65.91	175.4
4.	Површина финог корења (cm <sup>2</sup> )	55.79	90.57	130.95	74.92	81.23	168.50	58.97	65.67	78.33	42.50	40.42	119.83
5.	Укупан број рачви	2991.83	4599.33	8842.25	3876	4325.42	11911	2831.58	3048.17	4185	1960.42	1919.92	5870.17
6.	Укупан број укрштања	111.58	244	429.17	161.17	215.33	788.33	164.33	166.92	254.42	91.92	93.83	338.25
7.	Укупан број врхова	708.83	839.92	2094.83	731.17	873.25	3296.5	616.83	650.67	835.33	399	434.17	1883.42
8.	Број врхова финог корења	705.67	837.83	2092	728	870.42	3292.5	615.17	649.08	832.67	396.75	432.25	1880.25
9.	Број врхова по дужини матичног корења (n/cm)	25.27	39.34	69.79	27.17	28.49	92.62	43.83	49.96	44.57	35.56	35.69	94.71
10.	Број рачви по дужини матичног корења (n/cm)	114.86	215.89	293.26	144.23	141.53	337.10	196.55	234.05	223.79	178.23	158.37	289.07
11.	Број укрштања по дужини матичног корења (n/cm)	3.99	11.52	13.89	5.92	7.24	22.85	10.64	13.32	13.38	9.024	7.72	18.63
12.	Укупна дужина корења (cm)	378.12	636.69	1008.65	499.43	585.41	1359.22	439.65	478.17	590.83	293.05	295.08	876.61
13.	Дужина матичног корења (cm)	31.62	24.82	33.20	28.82	33.67	39.52	18.33	18.17	21.17	13.25	13.74	25.23
14.	Дужина финог корења (cm)	340.40	603.81	965.28	460.73	543.93	1308.33	417.56	455.67	562.83	272.79	278.15	844.33
15.	Специфична дужина финог корења (cm/g)	783.97	958.88	1243.95	827.26	1054.84	2029.76	1286.45	1204.12	1334.04	1132.92	1410.28	1795.3
16.	Специфична густина врхова финог корења (n/g)	1601.07	1329.19	2704.07	1334.59	1660.36	5116.39	1291.63	1744.19	1957.57	1776.56	2249.53	4056.73
17.	Дужина финог по дужини матичног корења (cm/cm)	12.34	29.04	32.04	16.82	18.54	37.71	30.07	35.43	29.53	24.99	22.62	43.53
18.	Број врхова финог по дужини матичног корења (n/cm)	25.11	39.25	69.697	27.062	28.38	92.53	43.68	49.87	44.42	35.37	35.55	94.57
19.	Сува маса финог по дужини матичног корења (g/cm)	0.017	0.031	0.027	0.021	0.018	0.020	0.023	0.028	0.024	0.023	0.017	0.024
20.	Дужина финог по сувој маси матичног корења (cm/g)	101.32	153.99	225.66	103.09	133.63	470.43	251.78	307.02	280.46	145.21	206.83	665.42
21.	Простор пројекције финог корења (cm <sup>3</sup> )	17.76	28.83	41.68	23.85	25.86	53.64	18.77	20.83	25	13.53	12.86	7.58
22.	Специфична површина финог корења (cm <sup>2</sup> /g)	128.81	143.59	169.43	133.54	157.57	260.98	181.91	170.31	185.05	170.077	201.76	254.067
23.	Маса финог корења (g)	0.459	0.647	0.802	0.572	0.522	0.639	0.329	0.25	0.50	0.265	0.221	0.51
24.	Маса матичног корења (g)	3.570	4.228	4.659	4.785	4.257	2.817	1.749	1.92	2.33	2.269	1.482	1.78

*cam*=*Phytophthora cambivora*; *plu*=*P. plurivora*; *pol*=*P. polonica*; *que*=*P. quercina*; *×ser*=*P. ×serendipita*; кон=Контрола

**Табела 39.** Суме квадрата (SS), средине квадрата (MS), F и P вредности, добијене помоћу „two-way ANOVA“ за тестиране параметре. Храстови и *Phytophthora* врсте су коришћени као фактори. Степени слободе (df) за храст су били 1, за *Phytophthora* врсте и њихове интеракције са храстовима су били 5, док су за грешке били 132. Значајни ефекти су означени подебљано

**Table 39.** Sum squares (SS), Mean squares (MS), F and P values from two-way ANOVA for tested parameters. Oaks and *Phytophthora* species were fixed as factors. Degrees of freedom (df) for oak was 1, for *Phytophthora* and their interaction with oaks was equal to 5, while df of error was 132. Significant effects are marked in bold.

Параметри Parameters	Варијације Source of variation	(SS)	(MS)	(F)	(p)
Запремина корена Root Volume (Mean) (cm <sup>3</sup> )	Hrast (1)	51,9396	51,9396	91,1870	<b>0,0000</b>
	<i>Phytophthora</i> (2)	33,3638	6,6728	11,7150	<b>0,0000</b>
	1 × 2	1,8275	0,3655	0,6420	0,6683
	Error	75,1867	0,5696		
Број врхова финог корења Number of fine root tips (n)	Hrast (1)	13840260,00	13840260,00	42,1913	<b>0,0000</b>
	<i>Phytophthora</i> (2)	75613477,00	15122695,00	46,1007	<b>0,0000</b>
	1 × 2	9715163,00	1943033,00	5,9232	<b>0,0001</b>
	Error	43300778,00	328036,00		
Број врхова по дужини матичног корења Number of Tips per MRL (n/cm)	Hrast (1)	468,90	468,90	0,5085	0,4771
	<i>Phytophthora</i> (2)	69276,50	13855,30	15,0230	<b>0,0000</b>
	1 × 2	6851,90	1370,40	1,4859	0,1986
	Error	121739,70	922,30		
Укупна дужина корења Total root length (cm)	Hrast (1)	2232819,00	2232819,00	41,7600	<b>0,0000</b>
	<i>Phytophthora</i> (2)	9866720,00	1973344,00	36,9070	<b>0,0000</b>
	1 × 2	1146977,00	229395,00	4,2900	<b>0,0012</b>
	Error	7057720,00	53468,00		
Дужина финог корења Fine root length (cm)	Hrast (1)	1935541,00	1935541,00	37,6473	<b>0,0000</b>
	<i>Phytophthora</i> (2)	9522984,00	1904597,00	37,0454	<b>0,0000</b>
	1 × 2	1131549,00	226310,00	4,4018	<b>0,0010</b>
	Error	6786449,00	51412,00		
Специфична дужина финог корења SFRL (cm/g)	Hrast (1)	1598862,00	1598862,00	8,9250	<b>0,0034</b>
	<i>Phytophthora</i> (2)	14111796,00	2822359,00	15,7540	<b>0,0000</b>
	1 × 2	1974104,00	394821,00	2,2040	0,0576
	Error	23647788,00	179150,00		
Специфична густина врхова финог корења SFRTD (n/g)	Hrast (1)	1556,00	1556,00	0,0017	0,9672
	<i>Phytophthora</i> (2)	162585984,00	32517197,00	35,4953	<b>0,0000</b>
	1 × 2	14984038,00	2996808,00	3,2713	<b>0,0081</b>
	Error	120925139,00	916100,00		
Дужина финог по дужини матичног корења FRL/MRL (cm/cm)	Hrast (1)	1574,90	1574,90	4,9050	<b>0,0285</b>
	<i>Phytophthora</i> (2)	8063,00	1612,60	5,0224	<b>0,0003</b>
	1 × 2	1298,60	259,70	0,8089	0,5453
	Error	42382,90	321,10		
Број врхова финог по дужини матичног корења FRT/MRL (n/cm)	Hrast (1)	459,00	459,00	0,4994	0,4810
	<i>Phytophthora</i> (2)	69328,60	13865,70	15,0860	<b>0,0000</b>
	1 × 2	6867,00	1373,40	1,4943	0,1959
	Error	121322,80	919,10		
Сува маса финог по дужини матичног корења FR dry weight/MRL (g/cm)	Hrast (1)	0,00	0,00	0,1494	0,6998
	<i>Phytophthora</i> (2)	0,00	0,00	2,7628	<b>0,0208</b>
	1 × 2	0,00	0,00	0,5887	0,7086
	Error	0,02	0,00		

**Табела 39.** Наставак

**Table 39.** Continuation

Дужина финог по сувој маси матичног корења Fine root length per dry weight of mother roots (cm/g)	Hrast (1)	447047,00	447047,00	18,7780	<b>0,0000</b>
	<i>Phytophthora</i> (2)	3095494,00	619099,00	26,0050	<b>0,0000</b>
	1 × 2	118251,00	23650,00	0,9934	0,4244
	Error	3142514,00	23807,00		
Специфична површина финог корења Specific Fine Root Surface Area (cm <sup>2</sup> /g)	Hrast (1)	28649,00	28649,00	10,7690	<b>0,0013</b>
	<i>Phytophthora</i> (2)	190823,00	38165,00	14,3460	<b>0,0000</b>
	1 × 2	14036,00	2807,00	1,0550	0,3883
	Error	351154,00	2660,00		

SFRL- Specific Fine Root Length; SFRTD- Specific Fine Root Tip Density; FRL- Fine Root Length; MRL- Mother Root Length; FRT- Number of Fine Root Tips

На запремину корена, специфичну дужину финог корења, дужину финог корења по дужини матичног корења, дужину финог по сувој маси матичног корења и специфичну површину финог корења, значајно су утицале врста храста и тестиране врсте *Phytophthora*, док интеракција између ова два фактора није утицала статистички значајно на ова обележја (параметре) (табела 39).

На број врхова по дужини матичног корења, број врхова финог по дужини матичног корења и суву масу финог по дужини матичног корења значајно су утицале тестиране врсте *Phytophthora*, док врста храста и интеракција између ова два фактора није утицала статистички значајно на ове параметре (табела 39).

На специфичну густину врхова финог корења, врста храста није утицала статистички значајно на овај параметар, док су тестиране *Phytophthora* врсте и интеракција између ова два фактора значајно утицале на овај параметар (табела 39).

На број врхова финог корења, укупну дужину корена и дужину финог корења значајно утичу врста храста, врста *Phytophthora*, као и интеракција ова два фактора (табела 39).

**Табела 40.** Просечне вредности, стандардне грешке и резултати Duncan теста за 12 одабраних параметара корена лужњака и китњака

**Table 40.** Mean values, standard errors and results of Duncan test for 12 chosen parameters of roots of pedunculate oak and sessile oak

Параметар Parameter	<i>Q. robur</i> (Mean±SE)						<i>Q. petraea</i> (Mean±SE)					
	Kontrola Control	<i>cam</i>	<i>plu</i>	<i>pol</i>	<i>que</i>	× <i>ser</i>	Kontrola Control	<i>cam</i>	<i>plu</i>	<i>pol</i>	<i>que</i>	× <i>ser</i>
Запремина корена Root Volume (Mean) (cm <sup>3</sup> )	3,9±0,36a	2,6±0,19bf	2,7±0,17bef	3,3±0,35ae	3,0±0,17ef	2,8±0,19ef	2,9±0,23ef	1,6±0,12cd	1,7±0,16cd	2,1±0,19bc	1,6±0,23cd	1,2±0,08d
Број врхова финог корења Number of fine root tips	3292,5±427,84a	705,7±70,52c	837,8±75,03c	2092,0±301,01b	728,0±33,27c	870,4±80,09c	1880,3±120,36b	615,2±62,28c	649,1±48,34c	832,7±111,15c	396,8±51,29c	432,3±23,92c
Број врхова по дужини матичног корења Number of Tips per MRL (n/cm)	92,6±12,82a	25,3±2,40c	39,3±4,59c	69,8±9,20ab	27,2±2,33c	28,5±2,65c	94,7±15,25a	43,8±12,94bc	50,0±11,34bc	44,6±7,06bc	35,6±6,25c	35,7±4,03c
Укупна дужина корења Total root length (cm)	1359,2±163,14a	378,1±34,34d	636,7±42,00c	1008,7±105,07b	499,4±26,06cd	585,4±40,23c	876,6±23,09b	439,6±46,29cd	478,0±37,00cd	590,9±68,08c	293,1±38,09d	295,1±21,08d
Дужина финог корења Fine root length (cm)	1308,3±160,95a	340,4±31,36d	603,8±41,08c	965,3±103,18ab	460,7±24,64cd	543,9±38,10c	844,3±22,80ab	417,6±45,49cd	455,6±35,78cd	562,8±67,14c	272,8±36,40d	278,1±20,75d
Специфична дужина финог корења SFRL (cm/g)	2029,8±199,39a	784,0±68,73c	958,9±53,99bce	1244,0±96,77de	827,3±47,73bc	1054,8±61,82bcde	1795,3±164,48a	1286,5±93,59de	1204,1±137,71bde	1334,0±112,03de	1132,9±182,03bcde	1410,3±125,81d
Специфична густина врхова финог корења SFRTD (n/g)	5116,4±555,33a	1601,1±127,71de	1329,2±97,25e	2704,1±300,36c	1334,6±114,06e	1660,4±96,19de	4056,7±436,85b	1921,6±153,31cde	1744,2±226,91de	1957,6±183,87cde	1776,6±342,89de	2249,5±228,59cd

Табела 40. Наставак

Table 40. Continuation

Дужина финог по дужини матичног корења FRL/MRL (cm/cm)	37,7±5,05bc	12,3±1,21a	29,0±3,58bcd	32,0±3,36bcd	16,8±0,99ad	18,5±2,24ad	43,5±7,31b	30,1±9,01bcd	35,4±9,06bc	29,5±4,01bcd	25,0±5,01acd	22,6±2,46acd
Број врхова финог по дужини матичног корења FRT/MRL (n/cm)	92,5±12,83a	25,1±2,34c	39,3±4,58c	69,7±9,20ab	27,1±2,33c	28,4±2,63c	94,6±15,23a	43,7±12,88bc	49,9±11,34bc	44,4±7,06bc	35,4±6,23c	35,5±4,03c
Сува маса финог по дужини матичног корења FR dry weight/MRL (g/cm)	0,020±0,004ab	0,017±0,002b	0,031±0,004a	0,027±0,004ab	0,021±0,001ab	0,018±0,002b	0,024±0,003ab	0,023±0,006ab	0,028±0,004ab	0,024±0,003ab	0,023±0,004ab	0,017±0,002b
Дужина финог по сувој маси матичног корења Fine root length per dry weight of mother roots (cm/g)	470,4±45,65b	101,3±12,10f	153,9±16,57def	225,6±30,26cdef	103,09±8,63f	133,6±10,83ef	665,4±122,03a	251,8±21,32cde	307,0±38,57c	280,4±45,66cd	145,2±21,79def	206,8±28,28cdef
Специфична површина финог корења Specific Fine Root Surface Area (cm <sup>2</sup> /g)	261.0±22.97a	128.8±9.53d	143.6±6.10cd	169.4±9.36bcd	133.5±5.35d	157.6±7.05bcd	254.1±23.91a	181.9±9.40bc	170.3±16.49bcd	185.0±13.62bc	170.1±20.40bcd	201.8±17.48b

cam=*Phytophthora cambivora*; plu=*P. plurivora*; pol=*P. polonica*; que=*P. quercina*; xser=*P. xserendipita*;

SFRL- Specific Fine Root Length; SFRTD- Specific Fine Root Tip Density; FRL- Fine Root Length; MRL- Mother Root Length; FRT- Number of Fine Root Tips

Код **запремине корена** у случају храста лужњака, најмање вредности су забележене *P. cambivora*, са статистички значајним разликама у односу на контролну групу и *P. polonica* (табела 40). Код храста китњака, најмања вредност овог параметра је забележена код *P. ×serendipita*. На основу Duncan теста, била је значајно различита у односу на контролну групу биљака и *P. polonica*. Између контролних група китњака и лужњака, утврђене су статистички значајне разлике код овог параметра (табела 40).

Следећи анализирани параметар је био **број врхова финог корења**. Код храста лужњака, статистички значајне разлике у односу на контролну групу су забележене код *P. quercina*, *P. plurivora*, *P. quercina* и *P. ×serendipita* и међу овим врстама није било разлика (припадају истој хомогеној групи) (табела 40). Значајне разлике у односу на контролну групу су забележене и код *P. polonica*, с тим што су вредности овог параметра код *P. polonica* биле сигнификантно веће у односу на остале врсте *Phytophthora*. Код храста китњака, статистички значајне разлике у односу на контролну групу, на основу Duncan теста су забележене код свих врста, док међу њима није било статистички значајних разлика. Између контролних група китњака и лужњака, утврђене су статистички значајне разлике код овог параметра (табела 40).

Код **броја врхова по дужини матичног корена** код храста лужњака, статистички значајне разлике у односу на контролну групу нису забележене једино код *P. polonica*, која је спадала у исту хомогену групу са контролном групом биљака (табела 40). Код храста китњака, најмање вредности овог параметра су забележене код *P. quercina* и *P. ×serendipita* и биле су на основу Duncan теста статистички значајно различите у односу на контролну групу, док су са осталим врстама припадале истој хомогеној групи, статистички различитој од контролне групе биљака (табела 40). Између контролних група китњака и лужњака нису утврђене статистички значајне разлике код овог параметра.

**Укупна дужина корена** код храста лужњака је имала најмању вредност у случају *P. cambivora* и била је статистички значајно различита (Duncan) у односу на контролну групу, док се од осталих врста није разликовала једино од *P. quercina* (табела 40). Код храста китњака, најмање вредности овог параметра су забележене код *P. quercina* и *P. ×serendipita* и биле су на основу Duncan теста

статистички значајно различите у односу на контролну групу, док се нису значајно разликовале од *P. cambivora* и *P. plurivora*, са којима су градиле исту хомогену групу (табела 40). Између контролних група китњака и лужњака, утврђене су статистички значајне разлике код овог параметра (табела 40).

Најмање вредности **дужине финог корења** код храста лужњака су забележене у случају *P. cambivora* и биле су статистички значајно различите у односу на контролну групу, као и у односу на *P. plurivora*, *P. polonica* и *P. ×serendipita*, док је са *P. quercina* градила исту хомогену групу (табела 40). Код храста китњака, најмање вредности овог параметра су забележене код *P. quercina* и *P. ×serendipita*. На основу Duncan теста, ове вредности су чиниле хомогену групу са *P. cambivora* *P. plurivora* која је била статистички значајно различита у односу на *P. polonica* и контролну групу биљака. Између контролних група китњака и лужњака, нису утврђене су статистички значајне разлике код овог параметра и њихове вредности су спадале у исту хомогену групу (табела 40).

Најмање вредности **специфичне дужине финог корења** су у случају лужњака забележене код *P. cambivora*. На основу Duncan теста, ова вредност је била статистички значајно различита у односу на *P. polonica* и контролну групу биљака (табела 40). У случају храста китњака, најмања вредност је забележена код *P. quercina* (табела 40) и била је статистички значајно различита у односу на контролну групу, али се није статистички значајно разликовала у односу на остале врсте. Између контролних група китњака и лужњака, нису утврђене статистички значајне разлике код овог параметра (табела 40).

У случају **специфичне густине врхова финог корења** код храста лужњака, најмање вредности овог параметра су забележене код *P. quercina* и *P. plurivora* и на основу Duncan теста су биле значајно различите у односу на контролну групу и *P. polonica*, док се нису разликовале у односу на остале врсте (табела 40). Код храста китњака су такође забележене најмање вредности овог параметра у случају истих врста и биле су статистици сигнификантно различите само у односу на контролну групу (табела 40). Између контролних група китњака и лужњака, утврђене су статистички значајне разлике код овог параметра (табела 40).

Најмања вредност дужине **финог по дужини матичног корена** у случају храста лужњака је забележена код *P. cambivora* (табела 40) и била је статистички значајно различита у односу на контролну групу и *P. polonica*. У случају китњака, најмање вредности овог параметра су забележене код *P. ×serendipita* и *P. quercina* и на основу Duncan теста су биле значајно различите у односу на контролну групу (табела 40), док у односу на остале врсте нису забележене значајне разлике. Између контролних група китњака и лужњака, нису утврђене статистички значајне разлике код овог параметра (табела 40).

**Број врхова финог по дужини матичног корена** је следећи тестирани параметар и у случају лужњака, најмање вредности су забележене код *P. cambivora*, *P. quercina*, *P. plurivora* и *P. ×serendipita* међу којима није било статистички значајних разлика на основу Duncan теста, док су значајне разлике забележене у односу на контролну групу и *P. polonica* (табела 40). У случају китњака, најмање вредности су забележене код *P. quercina* и *P. ×serendipita*, са статистички значајном разликом једино у односу на контролну групу (табела 40). Између контролних група китњака и лужњака, нису утврђене статистички значајне разлике код овог параметра (табела 40).

Код **суве масе финог по дужини матичног корена**, најмање вредности у случају лужњака су забележене код *P. cambivora*, међутим ове вредности нису биле статистички сигнификантне у односу на контролну групу и друге врсте осим у односу на *P. plurivora* (табела 40). У случају китњака, најмање вредности овог параметра су забележене код *P. ×serendipita*, али се није статистички разликовала у односу на остале врсте и контролну групу (табела 40). Између контролних група китњака и лужњака, нису утврђене статистички значајне разлике код овог параметра (табела 40).

Код параметра **дужине финог по сувој маси матичног корена** у случају лужњака, најмање вредности су забележене код *P. cambivora* и *P. quercina*, које су биле статистички значајно различите од контролне групе, али нису биле различите у односу на остале врсте са којима су градиле исту хомогену групу (табела 40). Код китњака су најмање вредности овог параметра забележене код *P. quercina* и статистички су се разликовале у односу на контролну групу и *P. plurivora*, на основу Duncan теста (табела 40). Између контролних група китњака и



лужњака, утврђене су статистички значајне разлике код овог параметра (табела 40).

Код **специфичне површине финог корена** у случају храста лужњака, најмање вредности су забележене код *P. cambivora* и *P. quercina* и ове вредности су се статистички значајно разликовале у односу на контролну групу биљака, на основу Duncan теста, док разлике нису забележене у односу на остале врсте (табела 40). Код храста китњака, најмање вредности овог параметра су забележене код *P. plurivora* и *P. quercina* и оне су биле статистички значајно различите једино у односу на контролну групу, на основу Duncan теста (табела 40). Између контролних група китњака и лужњака нису утврђене статистички значајне разлике (табела 40).

На основу статистичке анализе тестраних параметара, најагресивније врсте код храста лужњака су биле *P. cambivora* и *P. quercina*, а иза њих одмах долазе *P. plurivora* и *P. ×serendipita*. Најмање агресивна врста је била *P. polonica*, код које у неколико тестраних параметара није било значајних разлика у односу на контролну групу биљака (табела 40).

У случају храста китњака, најагресивније врсте су биле *P. quercina* и *P. ×serendipita*, а за њима долазе *P. cambivora* и *P. plurivora* (табела 40). Најмање агресивна врста и у овом случају је била *P. polonica* (табела 40).

### **7.3. Закључци**

На основу резултата добијених у тестовима патогености могу се извести следећи закључци:

- Реизолације код избојака су биле успешне из некротираних ткива, као последица инфекције ових избојака, док су реизолације са контролних избојака биле негативне;
- у тестовима са инокулацијом избојака букве, врста која је изазвала највеће некрозе је била *P. plurivora* и изазвала је 6,8 пута веће некрозе у односу на *P. europaea*, која је изазвала најмање некрозе;

- код избојака китњака, највеће некрозе је проузроковала *P. plurivora*, чије су некрозе биле 6 пута веће од *P. taxon 'pg chlamydo'*, као врсте са најмањим некрозама;
- у тесту инокулације под кору на живим биљкама, утврђене су разлике међу тестираним изолатима и дефинисане су четири хомогене групе;
- највеће некрозе је изазвала хомогена група 4, коју чине изолат *P. plurivora* са китњака и изолат *P. plurivora* са лужњака, док је најмање некрозе изазвала хомогена група коју чине изолати *P. europaea* и *P. polonica*;
- реизолације су код овог теста биле успешне код 86% биљака, док су контролне биљке биле негативне у тестовима реизолације;
- узимајући у обзир најзначајније параметре који репрезентују губитак кореновог система, као и забележен проценат некроза и трулежи на матичном и фином корену, све тестиране врсте су биле агресивне према тестираним домаћинима и изазвале различита оштећења и губитак кореновог система;
- у случају храста лужњака најагресивније врсте су биле *P. cambivora* и *P. quercina*, а иза њих долазе *P. plurivora* и *P. ×serendipita* и вредности већине тестираних параметара код ових врста су биле статистички значајно различите у односу на контролну групу биљака;
- дужина финог корена храста лужњака, инфицираног са *P. cambivora* је износила  $340,4 \pm 31,36$  cm и била је 3,8 пута мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака, док је специфична дужина финог корена износила  $784 \pm 68,73$  cm/g била 2,6 пута мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака;
- укупна дужина корена храста лужњака, инфицираног са *P. cambivora* је износила  $378,1 \pm 34,34$  cm и била је 3,6 пута мања и статистички значајно различита у односу на контролну групу;
- дужина финог корена храста лужњака, инфицираног са *P. quercina* је износила  $460,7 \pm 24,64$  cm и била је 2,8 пута мања у поређењу са контролном групом биљака, док је специфична дужина финог корена износила  $827,3 \pm 47,73$  cm/g и била је 2,4 пута мања и статистички значајно различита у односу на контролну групу биљака;

- укупна дужина корена храста лужњака, инфицираног са *P. quercina* је износила  $499,4 \pm 26,06$  cm и била је 2,7 пута мања у односу на контролну групу;
- код *P. polonica* у неколико тестираних параметара није било разлике у односу на контролну групу биљака;
- у случају храста китњака, најагресивније врсте су биле *P. quercina* и *P. ×serendipita*, а за њима долазе *P. cambivora* и *P. plurivora* и вредности тестираних параметара код ових врста су биле статистички значајно различите у односу на контролну групу биљака;
- дужина финог корена храста китњака, инфицираног са *P. quercina* је износила  $272,8 \pm 36,40$  cm и била 3 пута мања у поређењу са контролном групом биљака, док је специфична дужина финог корена износила  $1132,9 \pm 182,03$  cm/g и била је 1,6 пута мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака;
- укупна дужина корена храста китњака, инфицираног са *P. quercina* је износила  $293,1 \pm 38,09$  cm и била је 2,9 пута мања и статистички значајно различита у односу на контролну групу биљака;
- дужина финог корена храста китњака, инфицираног са *P. ×serendipita* је износила  $278,1 \pm 20,75$  cm и била је ~3 пута мања у поређењу са контролном групом биљака, док је специфична дужина финог корена износила  $1410,3 \pm 125,81$  cm и била је 1,3 пута мања мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака;
- укупна дужина корена храста китњака, инфицираног са *P. ×serendipita* је износила  $295,1 \pm 21,08$  cm и била је ~2,9 пута мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака;
- најмање агресивна врста према биљкама храста китњака је била *P. polonica* и није се разликовала у више параметара у односу на контролну групу.

## 8. ДИСКУСИЈА

*Phytophthora* врсте су често изоловане из различитих лишћарских екосистема у Србији и добијено је 15 различитих врста са стабала у шумским састојинама, плантажама и вештачки подигнутим састојинама, расадницима и парковима, чиме је потврђена прва постављена хипотеза. Неке од изолованих врста су биле везане искључиво за поједине домаћине, док су друге изоловане са више различитих родова и домаћина као што је приказано у табелама (24 и 25), чиме је потврђена друга постављена хипотеза. Такође, овим истраживањима су проширени познати ареали распрострањења и спектар домаћина за поједине добијене врсте као што ће бити приказано у наставку.

Прва врста која ће овде бити приказана је познати патоген и једна од првоописаних врста из овог рода *P. cactorum*. У литератури се ова врста наводи као патоген великог броја домаћина (ERWIN and RIBEIRO 1996) и према тим особинама спада у космополитске врсте. Према КАРАЦИЋ (2010), ова врста се наводи као паразит на подмладку и у расадницима букве и других лишћарских врста у Србији. Међутим, током ових истраживања само један изолат је добијен са букових стабала, а најчешће изолована врста са овог домаћина је била *P. plurivora*. Ово може бити објашњено тиме што до сада нису спровођена детаљнија истраживања, везана за присуство и улогу *Phytophthora* врста у различитим шумама у Србији, укључујући и букву. Такође, JUNG *et al.* (2005, 2013 b) и JUNG (2009) када говоре о улози ових патогена у пропадању стабала букве наводе *P. plurivora* као примарног патогена на овом домаћину, чему одговарају и налази наших истраживања. Ово донекле може бити објашњено и тиме да су поједини изолати *P. cactorum* у прошлости мешани са *P. citricola sensu lato* изолатима као што су приказали JUNG and BURGESS (2009). Међутим, WEILAND *et al.* (2010) наводе *P. cactorum* поред *P. citricola* I и *P. plurivora* као једног од узрочника појаве некроза и пропадања стабала букве. Присуство *P. cactorum* на различитим домаћинима у Србији представља велики ризик по стабилност шумских и других екосистема и њено присуство треба и у будућности пратити и проширити на друге домаћине, нарочито на биљке у расадницима, украсне дрвенасте биљке и цвеће.

*P. cambivora* је изолована у Србији са четири различита домаћина. Спада у врсте које се такође јављају на већем броју различитих домаћина (ERWIN and RIBEIRO 1996), а најпознатија је по опасном обољењу корена и приданка стабала које изазива на питомом кестену, такозваној „мастиљавој болести питомог кестена“ (ink disease of chestnuts) (ERWIN and RIBEIRO 1996). Такође, VANNINI and VETTRAINO (2001) наводе *P. cinnamomi* и *P. cambivora* као главне узрочнике мастиљаве болести и пропадања питомог кестена, а VETTRAINO *et al.* (2001) поред ове две врсте наводе још и *P. citricola*, *P. cactorum* и *P. gonapodyides*, које су изоловане испод стабала питомог кестена у Италији. РАДУЛОВИЋ (2013) је поред *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Bar наводи као једног од главних узрочника пропадања питомог кестена у Србији.

*P. cambivora* је врло агресивна и осим на кестену, велике штете изазива на букви на којој проузрокује сличну трулеж приданка и некрозе у вишим партијама стабла (aerial cankers) са цурењем тамног ексудата (HARTMAN *et al.* 2006; ORLIKOWSKI *et al.* 2006; JUNG 2009; NELSON *et al.* 2010; WEILAND *et al.* 2010), а њене изолације из некротичног ткива и земље и корења букве у Србији су приказане у овим истраживањима (табела 4 и 22). Такође, PERNEK *et al.* (2011) наводи *P. cambivora* као узрочника штета на букви и тополама у Хрватској. Поред букве, у Србији је још изолована са ловорвишње, дивљеог кестена и китњака, а њену изолацију и улогу у пропадању храстова су приказали JUNG *et al.* (2000), VETTRAINO *et al.* (2002) и BALCI *et al.* (2008). Такође, ORLIKOWSKI and OSZAKO (2005) извештавају о изолацији и колонизацији *P. cambivora* на црној јови, а BRASIER *et al.* (2004) је наводе као једног од родитеља хибрида *P. alni*, опасног проузроковача пропадања јове.

У изведеним тестовима патогености у овим истраживањима на храстовима китњаку и лужњаку, врста је била веома агресивна и изазвала је 3,8 пута мању дужину финог корена и 3,6 пута мању дужину укупног корена у односу на контролну групу код лужњака, при чему је била најагресивнија од свих тестираних врста. Код китњака је изазвала 2 пута мању дужину укупног и финог корена у поређењу са контролном групом.

Главне морфолошке карактеристике *P. cambivora* су спорангије са равним врхом и појавом угњеждења, хетероталичност и појава двоћелијских антеридија и

оогонија са типичним јастучастим украсима на површини. Ове карактеристике су приликом тестова спаривања регистроване код свих изолата добијених у Србији, а просечно је забележено око 70% двоћелијских антеридија и око 50% оогонија са дискретним или израженим украсима по површини, што се поклапа са резултатима Но *et al.* (1977). Ово је први налаз *P. cambivora* на ловорвишњи у Србији.

Наредна изолована врста је била *P. cryptogea* чијих је укупно четири изолата добијено са храста китњака. Ова врста спада у космополите и јавља се на домаћинима из више од 23 фамилије (ERWIN and RIBEIRO 1996). Изазива пропадање цвећа, нижих украсних и различитих биљака у природи при том проузрокујући различите симптоме (BUDDIN 1938; ERWIN and RIBEIRO 1996; AMPUERO *et al.* 2008; OLSON *et al.* 2011). Такође, VETTRAINO *et al.* (2002) и BALCI and HALMSCHLAGER (2003 b) је наводе као део комплекса врста изолованих испод симптоматичних стабала храста. Врста је у прошлости мешана нарочито са *P. drechsleri* Tucker, а делимично и са *P. erythroseptica* Pethybr., које иначе нису забележене у Србији, али су MOSTOWFIZADEN-GHALAMFARSA *et al.* (2010) јасно раздвојили ове врсте на основу филогенетских истраживања, што је потврђено и од стране MARTIN *et al.* (2014). Осим максималне температуре пораста (ERWIN and RIBEIRO 1996), неки од детаља који се разликују код ове две врсте су облик основне спорангије, симетричност у односу на спорангиофор и положај спорангија после унутрашњег клијања. *P. cryptogea* је тренутно регистрована само на подручју НП „Фрушка Гора“. Такође, потребно је обратити пажњу на њено присуство и евентуално спречавање њеног ширења у незаражена подручја, нарочито у подручја са осетљивим домаћинима, као и на украсне врсте и цвеће. Ово је први налаз *P. cryptogea* на храсту китњаку у Србији.

По један изолат *P. citrophthora* је добијен са китњака и дивљег кестена. Према ERWIN and RIBEIRO (1996) врста је изворно описана као узрочник штета на лимуну, а касније и на веома широком спектру домаћина. AKILI *et al.* (2012) је описују као узрочника пропадања дивљег кестена у Турској. Такође, HOLUB *et al.* (2012) су приказали способност ове врсте да колонизује ткива и изазове оштећења на младим садницама храстова, букве и других домаћина. Врста је космополитска и изразита полифагна и њено присуство свакако повећава ризик по стабилност

различитих осетljivих домаћина. Карактеристика ове врсте је хетероталичност у комбинацији са брадавичастим спорангијама. Још једна особина која издваја ову врсту је ретко образовање оогонија са ооспорама (ERWIN and RIBEIRO 1996) што нам указује на то да ови органи или немају или имају врло мали значај у животном циклусу овог патогена. У овим морфолошким истраживањима је уочено свега неколико оогонија при тестовима спаривања на СА подлози и добијени изолати припадају А1 типу спаривања. Овоме можда треба посветити пажњу у будућности како би се разјаснила улога оогонија и ооспора у животном циклусу овог организма.

*Phytophthora citricola* је позната од 1927. када је описана *P. citricola sensu stricto* Sawada. Каснијим истраживањима и растом броја добијених изолата ове врсте, примећене су одређене разлике код добијених изолата и велика варијабилност у морфолошким и физиолошким, а касније и молекуларним карактеристикама што је навело велики број истраживача да детаљније истражи ову врсту. Тако је из овог комплекса врста описан низ нових врста које су морфолошки мање или више сличне, а различите по својим молекуларним карактеристикама, спектру домаћина и патогености. Прво детаљније истраживање ове врсте су извели OUDEMANS *et al.* (1994), где су у изозимским анализама 125 изолата издвојили 10 различитих типова у оквиру пет група. Каснијим истраживањима уз помоћ различитих молекуларних техника потврђено је присуство неколико различитих група у оквиру ове врсте при чему је издвојен низ нових врста у оквиру овог комплекса, као на пример *P. multivora* Scott and Jung, *P. plurivora*, *P. menzei* Browne, Gallegly and Hong, *P. capensis* Bezuidenhout, Denman, McLeod and Kirk, *P. pini*, *P. acerina* Ginetti *et al.*, *P. pachypleura* и друге врсте (HONG *et al.* 2009, 2011; JUNG and BURGESS 2009; SCOTT *et al.* 2009; BEZUIDENHOUT *et al.* 2010; GINETTI *et al.* 2013; HENRICOT *et al.* 2014).

У Србији су до сада изоловане три врсте из овог комплекса врста укључујући *P. citricola*, *P. plurivora* и *P. pini*. *P. citricola* је изолована из земљишта ризосфере испод једног стабла пољског јасена у дрвореду код зграде СИВ-а у Београду. Према својим морфолошким карактеристикама, овај изолат се разликује у односу на *P. plurivora* по својој већој брзини раста на оптималној температури (25°C) и изгледу колоније на свим тестираним подлогама. Такође, забележене су и

одређене разлике у изгледу и димензијама полних и бесполних структура, као што је приказано у поглављу 4.2.3. и табели 7. У филогенетским анализама, овај изолат је јасно раздвојен од *P. plurivora*, чиме су потврђени налази морфолошких анализа. Међутим, овај изолат се у филогенетским анализама није значајно разликовао од друге јасно издвојене врсте овог комплекса, *P. pini*, предходно познате као *P. citricola* I (KONG *et al.* 2003; GALLEGLY and HONG 2008; Jung and BURGESS 2009; HONG *et al.* 2011), али су у односу на ову врсту забележене разлике у брзини пораста на оптималној температури, односа дужине и ширине спорангија (L/B однос), као и мањим димензијама ооспора (поглавље 4.2.3.; табела 7). Могло би се рећи да је, осим брзине пораста ( $8,22 \pm 0,33$  mm/дан код *P. citricola* и  $7,96 \pm 0,36$  mm/дан код *P. plurivora*), овај изолат морфолошки сличнији са *P. plurivora*, а молекуларно са *P. pini*.

Врста која је најчешће изолована у овим истраживањима и која је забележена на највећем броју позитивних домаћина је *P. plurivora*. Ова врста је типична полифагна и космополитска врста и једна је од најраспрострањенијих врста *Phytophthora* рода у свету, при чему се јавља на великом броју домаћина из различитих родова и фамилија, углавном као патогена и причињава огромне штете (JUNG and BURGESS 2009). У Србији је до сада изолована са укупно 19 различитих домаћина (табела 22) и добијено је 165 изолата, што је убедљиво сврстава у најраспрострањенију и најчешће изоловану врсту из овог рода у нашој земљи. Дистрибуција ове врсте на до сада истраживаним локалитетима је приказана у табели 18 и на слици 42. Највише изолата ове врсте (40) је добијено са храста лужњака, затим следе храст китњак (23), буква (17), горски јавор, дивљи кестен и тополе са по 14 и пољски јасен са кога је добијено 12 изолата (табела 24).

*P. plurivora* је најчешће изолована на различитим домаћинима у шумама китњака и хигрофилних пратилаца, из којих је добијено укупно 46 изолата, док је из шума букве добијено 24 изолата (табела 26). Ова врста је изолована на различитим надморским висинама у Србији. Најнижа надморска висина је била око 73 m на подручју Доњег Срема, а највиша на преко 1200 m на Јастрепцу (табела 29). JUNG and BURGESS (2009) наводе 870 m надморске висине, као границу вертикалног распрострањења *P. plurivora* у Баварским Алпима. Међутим, у обзир треба узети мању северну географску ширину на којој је *P. plurivora* забележена у



Србији, те стога овај налаз није изненађујућ. Такође, ова врста је изолована и на дубинама од 1 и 1,5 m у истраживањима присуства *Phytophthora* врста кроз земљишни профил у Доњем Срему (табела 28). На овим локалитетима доминирају глина и песковита иловаста глина (табела 28), које су јако повољне за развој *Phytophthora* врста (JUNG *et al.* 2000), чиме може бити објашњено присуство ових организама у профилу земљишта.

Под ранијим називом као *P. citricola*, ова врста је често навођена као патоген на храстовима и заједно са *P. quercina*, а у мањем обиму и са другим врстама, значајно повезана са пропадањем храстова у Европи (JUNG *et al.* 1996, 1999, 2000; HANSEN and DELATOUR 1999; VETTRAINO *et al.* 2002; BALCI and HALMSCHLAGER 2003 a, b). Узимајући у обзир напред наведено, честа изолација испод симптоматичних стабала храстова у Србији се поклапа са резултатима приказаним у горе наведеним истраживањима. Највише изолата ове врсте је добијено испод стабала са симптомима проређености круне и одумирања круне од врха (табела 22). Такође, ова врста се показала патогеном у сва три спроведена теста патогености и имала је способност да инфицира кору и камбијум избојака и живих биљака, где је изазвала највеће некрозе (поглавље 7.2.1. и 7.2.2.), као и корен храста лужњака и храста китњака где је изазвала различита оштећења (поглавље 7.2.3.). Такође, у различитим тестовима патогености спроведеним на већем броју различитих домаћина, приказана је способност ове врсте да инфицира различите биљне делове и ткива и да проузрокује различите симптоме и оштећења на тестираним биљкама (JUNG *et al.* 2005; JUNG and NECHWATAL 2008; FLEISCHMAN *et al.* 2002, 2004; WEILAND *et al.* 2010; MRAZKOVA *et al.* 2011; ORLIKOWSKI *et al.* 2011; PORTZ *et al.* 2011). Њено присуство на букви и улога у пропадању букових стабала биће касније у тексту дискутовани. У досадашњим истраживањима на јавору у Србији, ова врста је најчешће изолована из ткива и земљишта ризосфере испод стабала различитих врста јавора.

Трећа врста изолована у Србији из *P. citricola* комплекса је *P. pini*. Ова врста је првобитно описана од стране LEONIAN (1925), где су приказане њене морфолошке и физиолошке карактеристике, али није дат њен опис на латинском језику. Врста је касније прикључена изолатима *P. citricola*, којој је дата предност у односу на *P. pini* иако је описана две године раније од *P. citricola*, као што су

приказали HONG *et al.* (2011). Од четири *P. citricola* групе, дефинисаних од стране KONG *et al.* (2003), *P. pini* одговара првој групи (*P. citricola* I) и као такву су је описали HONG *et al.* (2011) и дали јој формални опис на латинском уз детаљан приказ свих морфолошких, физиолошких и молекуларних карактеристика. Такође, исти аутори су задржали Leonian-a као аутора врсте, узимајући у обзир да је он први извршио опис ове врсте 1925. године (HONG *et al.* 2011).

Ова врста је регистрована као патоген најмање на седам родова у Северној Америци и Европи, а јавља се и као проузроковач штета на украсним биљкама и букви (JUNG *et al.* 2005; HONG *et al.* 2008 b, 2011; WEILAND *et al.* 2010). Према HONG *et al.* (2011) ова врста је забележена и у различитим водотоковима и резервоарима за наводњавање у Северној Америци. Исти аутори наводе да су многе штете које су у прошлости приписиване *P. citricola s.l.* у ствари највећим делом узроковане са *P. plurivora* и *P. pini*. Сличне закључке изводе и JUNG and BURGESS (2009). Такође, RYTKÖNEN (2011) наводи ову врсту као једну од добијених *Phytophthora* врста у расадницима у Финској. У Србији је за сада изолована на подручју Доњег Срема са два домаћина и то у плантажама топола (11 изолата) и испод стабала лужњака (1 изолат). Налази ове врсте у хигрофилним шумама и плантажама у Србији се поклапају са њеним особинама које наводе HONG *et al.* (2011), где истичу да врста преферира влажна и плавна станишта и водотокове. За сада је *P. pini* присутна једино у Сремском шумском подручју (ШУ Купиново), а узимајући у обзир њену агресивност, брз пораст и постојаност трајних структура, њено присуство представља веома велики ризик и потребно је извршити и испитивање других станишта на присуство ове врсте у Србији. Према доступној литератури, ово је први налаз на тополама у свету и први налаз на храсту лужњаку у Србији.

*Phytophthora europaea* је изолована испод симптоматичних стабала храста лужњака, на једном локалитету у Горњем Срему (табела 18; прилог А) и добијена су свега три изолата ове врсте. Изолована је и описана 2002. године (JUNG *et al.* 2002) испод стабала храста у Француској, Аустрији и Немачкој и типични је представник врста које се развијају у земљишту и на корену. Такође, ова врста је изолована из земљишта ризосфере испод стабала храста у Северној Америци (BALCI *et al.* 2006). REESER *et al.* (2011) су изоловали ову врсту из шумских

водотокова у Аљасци. Према JUNG *et al.* (2002), ова врста је благо или незнатно патогена за корење храста лужњака. Међутим, истраживањима BALCI *et al.* (2008) у различитим изведеним тестовима патогености, ова врста је била јако агресивна за корење храста лужњака и осредње патогена у инфекцијама под кору на живим биљкама и корену других врста храста. Исти аутори, осврћући се на резултате других истраживања, наводе да је ово можда последица различите агресивности појединих изолата унутар исте врсте, у овом случају Европских и Америчких изолата *P. europaea* (BALCI *et al.* 2008). Са једним изолатом *P. europaea* из Србије извршене су инфекције избојака китњака и букве и младих, живих биљака храста лужњака под кору. Овај изолат је проузроковао некрозе, али је припадао хомогеној групи која је показала најмању вирулентност и која је била статистички значајно различита од најагресивније *P. plurivora* (табела 34 и 36). Тестови са инфекцијом кореновог система нису вршени са овом врстом, а овај вид провере патогености, заједно са даљим истраживањем распрострањења ове врсте у Србији је потребно урадити у неком будућем периоду. Иако улога ове врсте у пропадању храстова није до краја расветљена, JUNG *et al.* (2002) је наводе као потенцијални део комплекса фактора у пропадању храстова, што је свакако потребно проверити додатним истраживањима.

Ова врста је морфолошки јако занимљива јер је хомоталична са глатким оогонијама и округлим ооспорама које по некада испуњавају садржај оогоније, као и са спорангијама са равним врхом. Врста припада ITS „clade“-у 7, а из ове групе у Србији је још присутна *P. cambivora* и секвенцирани изолати ове две врсте су се јасно и значајно раздвајали у филогенетским анализама у обе спроведене анализе у овим истраживањима. Такође, наведене две врсте из овог „clade“-а су и добар пример да предходна подела овог рода на морфолошке групе од стране WATERHOUSE (1963) није била природна. Наиме, *P. cambivora* је хетероталична са спорангијама са равним врхом и припада морфолошкој групи VI, док је *P. europaea* хомоталична са спорангијама са равним врхом и припада морфолошкој групи V. Ово је први налаз *P. europaea* на храсту лужњаку у Србији.

Следећа изолована врста у нашој земљи је *P. lacustris* и добијено је укупно 32 изолата са 10 домаћина (табела 24). Врста је предходно била широко позната у свету као *Phytophthora taxon 'Salixsoil'* (BRASIER *et al.* 2003), а изолати ове врсте

су на основу детаљних морфолошких и молекуларних истраживања формално описани као *P. lacustris* (NECHWATAL *et al.* 2012). Врста припада ITS „clade“-у 6 (COOKE *et al.* 2000; KROON *et al.* 2004; MARTIN *et al.* 2014), а у филогенетским истраживањима секвенцираних изолата из Србије јасно је раздвојена од сродне *P. gonapodyides*, такође изоловане у Србији у овим истраживањима. Такође, наведене две врсте су се јасно разликовале и по већини морфолошких карактеристика забележених у овим истраживањима и оптималној температури и брзини раста. Углавном је стерилна и не образује полне елементе како у чистим културама, тако и при спаривању са тестер изолатима познатих полних типова, мада NECHWATAL *et al.* (2012) наводе да се понекада благо понаша и као А1 тип спаривања. У овим истраживањима није забележено присуство полних елемената при спаривању са тестер изолатима *P. cambivora*. Такође, спорангије ове врсте су јако занимљивог, понекада и живописног изгледа јер се често јављају издужени облици и облици спорангија са сужењима у средини, такозвани облици ампуле (слика 25 д). Врста је везана за влажна станишта и водену средину и опстаје и остварује инфекције константним самообнављањем и образовањем великог броја нових спорангија, при чему су честе појаве вишеструког унутрашњег клијања и угњеждења спорангија. Прегледом старијих чистих култура ове врсте, гајених на око 8°C у фрижидеру, у пар случајева је забележена појава спорангија које су се највероватније образовале услед формирања кондензата у затвореним Петри шољама, док у старијим културама гајеним на собној температури спорангије нису забележене.

Домаћин са највише изолата ове врсте је пољски јасен (15), затим лужњак (6) и тополе (4). Са осталих позитивних домаћина је добијен по један изолат ове врсте (табела 24). Према индексу везаности ( $F=0,50$ ) за различита станишта у Србији, *P. lacustris* се налази на граници између убиквиста и акциденталних врста (табела 26). Присуство ове врсте на плавним и влажним стаништима у Србији (табела 26) се уклапа у предходне налазе више аутора, који ову врсту наводе као честу на влажним и приобалним стаништима река у Европи, Северној Америци и Аустралији, као и на појединим шумским стаништима и расадницима (NECHWATAL and MENDGEN 2006; JUNG *et al.* 2011; ORLIKOWSKI *et al.* 2011; REESER *et al.* 2011; NECHWATAL *et al.* 2012). Иако се у литератури наводи као углавном

слабо патогена врста, у недавним истраживањима AKILLI *et al.* (2013 a) ова врста је повезана са пропадањем пољског јасена у Турској, што је приказано кроз изведене тестове патогености. Слични симптоми које ови аутори наводе су забележени и на пољском јасену на природним стаништима у Србији (слика 32), испод којих је ова врста константно изолована од 2009. године. Тестови патогености са овом врстом нису извођени у овим истраживањима. Узимајући у обзир изолације ове врсте испод симптоматичних стабала и патогеност приказану у горе наведеним истраживањима, њено присуство носи веома велики ризик по стабилност екосистема, нарочито на влажним стаништима. Ово је први налаз *P. lacustris* на више различитих домаћина у Србији.

Следећа врста из ITS „clade“-а 6, добијена са више различитих домаћина у Србији је *P. gonapodyides*. Укупно је добијено 19 изолата ове врсте са девет различитих домаћина (табела 24). Ова врста је такође као и предходна најчешће изолована на свежим и влажним стаништима у Србији што се уклапа у налазе предходних истраживања (HANSEN and DELATOUR 1999; BALCI *et al.* 2003 a). Међутим, CORCOVADO *et al.* (2010) су ову врсту довели у везу са пропадањем *Quercus ilex* L. у ксеричним условима у Шпанији. Ако посматрамо позитивне домаћине на сувљим стаништима у Србији, ова врста је изолована са храста сладуна у природној састојини и из земљишта испод црвеног храста и дивљег кестена у украсним и дрворедним засадима. Као што је раније наведено, у филогенетским анализама је забележено значајно раздвајање ове врсте у односу на сродну *P. lacustris*, а забележено је и више морфолошких разлика као што је приказано у поглављу 4.2.3. Ово је први налаз *P. gonapodyides* на више различитих домаћина у Србији.

Последња врста из ITS „clade“-а 6 изолована у Србији је *Phytophthora taxon 'Pg Chlamydo'*. Свега два изолата ове врсте су добијена из влажне земље и воде испод стабала букве на Гочу. Ова неформално описана врста је идентификована 70-их година прошлог века, а као део *P. gonapodyides*-*P. megasperma* комплекса је издвојена од стране BRASIER *et al.* (2003). HANSEN *et al.* (2014), предлажу *P. chlamydospora* као нови назив за ову врсту (taxon). Према HANSEN *et al.* (2007), ова врста је једна од најраспрострањенијих *Phytophthora* врста у свету и често је у прошлости мешана са *P. gonapodyides*, *P. lateralis*, *P. drechsleri* и *P. cryptogea*, као

узрочник различитих штета у шумским екосистемима, плантажама и расадницима. Исти аутори наводе да је ова врста једном изолована и из рак рана на *Notholithocarpus densiflorus* (Hook. and Arn.) Manos, Cannon and S.H.Oh (HANSEN *et al.* 2007). Такође, JUNG *et al.* (2007) наводе више домаћина и извора изолација ове врсте, укључујући врсте рода *Prunus*, букву, дуглазију, различиту земљу у расадницима и влажна станишта у Европи, Аргентини и Северној Америци. У истраживањима REESER *et al.* (2011), *Phytophthora* taxon 'Pg Chlamydo' је изолована из шумских водотокова у западном делу Северне Америке, док у водотоковима у Аљасци није забележена. Према NAGEL *et al.* (2013), *P.* taxon 'Pg chlamydo' ступа у хибридизацију у приобалним екосистемима и гради три различита хибрида (A-PG, PG-A, T-PG) са *P. amnicola* Burgess and Jung и *P. thermophila* Jung, Stukely and Burgess. Такође, YANG *et al.* (2014) описују нови хибрид *Phytophthora* ×*stagnum* nothosp. nov. Yang and Hong, чији је један од родитеља *P.* taxon 'Pg chlamydo'. Изолација *P.* taxon 'Pg chlamydo' из влажног приобалног дела и воде шумског водотока у Србији се уклапа у предходна истраживања и потребно је извршити додатне изолације ради регистравања и других станишта са овом врстом или њеним хибридима у Србији.

Ова врста је коришћена у тестовима патогености на избојцима букве и китњака, где је на китњаку изазвала најмању дужину некроза (табела 34), док је на букви једино у поређењу са *P. europaea* изазвала дуже некрозе (табела 34), али овај однос није био статистички значајан.

Као што је раније у тексту наведено, *Phytophthora* taxon 'Pg Chlamydo' се може помешати са неколико различитих врста, нарочито ако се узима у обзир изглед спорангија. Наиме, узимајући у обзир стерилитет, брзину пораста, облик колоније и изглед спорангија, њој најсличнија врста је *P. gonpodyides*, али се од ове врсте разликује по томе што образује хламидоспоре и карактеристичне украсе хифа у ланцима, који се никада не јављају код *P. gonpodyides*. Такође, њен изглед спорангија понекада може јако да подсећа на *P. lateralis* Tucker and Millbrath, *P. drechsleri*, *P. cryptogea* и *P. polonica*, али су прве три наведене врсте хетероталичне, док је *P. polonica* хомоталична а *P.* taxon 'Pg Chlamydo' стерилна. Ово је први налаз *P.* taxon 'Pg Chlamydo' у шумама букве у Србији.

Наредна добијена врста у Србији која је добијена са три домаћина је *P. polonica*. Поседује скоро све морфолошке карактеристике које се могу посматрати, па се слободно може је назвати „школским“ примером врсте из овог рода. *P. polonica* припада „clade“-у 9, једном од базичних ITS „clade“-ова (COOKE *et al.* 2000; KROON *et al.* 2004; VELVANI *et al.* 2006; MARTIN *et al.* 2014).

Описана је од стране VELVANI *et al.* (2006), као врста изолована испод пропадајућих стабала јове на влажним стаништима у Пољској. У тестовима патогености је била слабо патогена или уопште непатогена према избојцима јове и непатогена у тестовима под кору на пољском јасену и три врсте храста (VELVANI *et al.* 2006). Недавно је ова врста изолована у пропадајућим састојинама црног ораха у Мађарској (KOVACS *et al.* 2012). У Србији је *P. polonica* прво изолована испод симптоматичних стабала храста лужњака на подручју Купинова. Каснијим истраживањима изолати ове врсте су добијени и из земљишта ризосфере стабала пољског јасена и топола. У тестовима патогености са инфекцијом кореновог система преко земљишта ова врста је коришћена за инфекције хрстова китњака и лужњака. У оба наведена случаја *P. polonica* је проузроковала некрозе и губитак финог корења, али далеко мање од осталих тестираних врста у овим експериментима. У тесту под кору на живим биљкама, ова врста је изазвала незнатне некрозе на младим биљкама храста лужњака и није се статистички значајно разликовала од *P. europaea*, док су коришћени *P. plurivora* изолати били значајно патогенији. Такође, узимајући у обзир изолације са пољског јасена и топола, потребно је извести тестове патогености и са овим врстама. На основу честих изолација испод симптоматичних стабала и добијених резултата у изведеним тестовима патогености, може се извести закључак да је ова врста део комплекса фактора у пропадању хрстова у Србији.

Према доступним литературним изворима, ово је први налаз *P. polonica* на храсту лужњаку, пољском јасену и тополама у Србији и у свету, чиме је проширен познати спектар домаћина ове врсте.

*Phytophthora quercina* је изолована са три различите врсте храста у Србији, укључујући лужњак, китњак и сладун. Ова врста је заједно са *P. citricola* (= *P. plurivora*) по први пут забележена на храсту китњаку у Србији почетком прошле декаде (Т. Jung и М. Главендекић, необјављено), док је ГЛАВЕНДЕКИЋ (2005) и

GLAVENDEKIĆ and MEDAREVIĆ (2010) наводе као врсту присутну у неким симптоматичним састојинама китњака и других храстова у Србији. У овим истраживањима је чешће изолована са храста лужњака, уз напомену да је са овог домаћина укупно узето више узорака (прилог А). Описана је 1999. године као главни патоген кореновог система већине Европских храстова (JUNG *et al.* 1999). Спада у спорорастуће врсте и врло је компликована за изолацију јер захтева додатну пажњу и стрпљење при извођењу ових тестова. Такође, када се добије чиста култура на селективној подлози, захтева моментално пресејавање на свежу подлогу јер у супротном бива сустигнута са хифама бржих врста овог рода или врстама из рода *Pythium*. Ово је у неким ситуацијама вероватно допринело да се њене штете припишу неким другим врстама овог рода, или чак другим организмима. Несумњиво је да број њених изолата приказан у овим истраживањима није коначан, јер је више добијених изолата изгубљено управо из наведених разлога прерастања са другим врстама, а најчешће са *P. plurivora*. Хомоталична је са дебелозидним ооспорама и различитим обликом оогоније. Формира брадавичасте спорангије. Изазива некрозе и озледе на матичном корењу, трулеж и губитак финог корења, а због својих дебелозидних ооспора и високог индекса зида ооспоре, способна је да преживи веома дуг период неповољних услова и да задржи виталност и способност клијања (Jung, лична комуникација).

Њена улога у пропадању храстова, нарочито лужњака и китњака је приказана у више различитих истраживања (JUNG *et al.* 1999, 2000; VETTRAINO *et al.* 2002; JÖNSSON *et al.* 2003 a, b; BALCI *et al.* 2003 a, b; JÖNSSON-BELYAZIO and ROSENGREN 2006). У тестовима патогености спроведеним у овим истраживањима изазвала је пропадање кореновог система храстова китњака и лужњака, које је било праћено некрозама на матичном, трулежи и губитком финог корења (поглавље 7.2.3.). Дужина финог корена храста лужњака, инфицираног са *P. quercina* је била 2,7 мања, а корена храста китњака 3 пута мања у односу на контролну групу биљака. На основу резултата добијених у тестовима патогености и изолација испод симптоматичних стабала храста лужњака и китњака, ова врста представља једног од најважнијих патогених организама на кореновом систему храстова и има веома велику улогу у комплексу фактора који узрокују пропадање храстових стабала.



*Phytophthora syringae* је изолована из земљишта сакупљеног испод стабала китњака на Фрушкј Гори.

Последња, можда и најзанимљивија врста из овог рода изолована у Србији је хибрид *P. hedraiandra*×*P. cactorum*, недавно формално описана као *P. ×serendipita* (MAN IN' T VELD *et al.* 2012). Ова врста је описана 2007. године као један од природно насталих хибрида у оквиру рода *Phytophthora* (MAN IN' T VELD *et al.* 2007) и до сада је била позната као паразит углавном на зељастим биљкама и жбуновима, укључујући родове *Idesia*, *Penstemon*, *Allium*, *Rhododendron*, *Kalmia* и *Dicentra* (MAN IN' T VELD *et al.* 2007, 2012). У Србији је ова врста изолована из земљишта ризосфере испод стабала китњака и сладуна и испод симптоматичних стабала дивље крушке. Локалитети на којима је изолована се налазе у природним шумама где нису уношене саднице из расадника.

Узимајући у обзир да се радило о хомоталичној врсти која образује мноштво оогонија у култури, са спорангијама са равним врхом и карактеристичном колонијом средње брзине пораста, ове изолате смо прелиминарно идентификовали као *P. cactorum*. Међутим, током детаљне морфолошке анализе и мерења структура, примећен је велики број стерилних оогонија са деформисаним ооспорама, који се у неким случајевима кретао и преко 50%. На основу великог броја јалових оогонија, одсуства хламидоспора и присуства дуплих база на позицијама 74, 100, 101 и 686, ове изолате смо идентификовали као хибрид *P. ×serendipita*, предходно познатог као *P. hedraiandra*×*P. cactorum* (MAN IN' T VELD *et al.* 2007, 2012). Добијене секвенце ових изолата су прослеђене у банку гена и за њих су добијени приступни кодови (KM272259, KM272260, KM272261, KM272262).

Као што је раније наведено, ова врста заједно са својим другим родитељом *P. hedraiandra* за сада је забележена на зељастим и украсним жбунастим биљкама. Међутим, MAN IN' T VELD *et al.* (2007, 2012) наводе да је ова врста забележена и на домаћинима на којима нису предходно забележене родитељске врсте, нарочито *P. hedraiandra*, што указује на то да је овај хибрид потенцијално агресивнији од својих родитеља. Такође, VAN ROUSKE *et al.* (2013) указују на већу агресивност овог хибрида у односу на своје родитеље у изведеним тестовима инокулације листова *Rhododendron*-а. Исти аутори наводе да је у настанку ове врсте дошло до

различитих праваца хибридизације и да је овај хибрид много више заступљен него што се раније мислило и да је највероватније у прошлости мешан са својим родитељима (VAN ROUSKE *et al.* 2013). У овим истраживањима, овај хибрид је пронађен на потпуно новим домаћинима на којима раније није забележен, тако да је проширен познати спектар домаћина и ареал распрострањења овог опасног патогена. Такође, у тестовима патогености путем инфекције кореновог система, ова врста је изазвала драстичан губитак и трулеж финог корена, као и изразите некрозе на матичном корену на обе тестиране врсте храста. Дужина финог корена храста китњака, инфицираног са *P. ×serendipita*, је била 3 пута мања у односу на контролну групу биљака, а добијене вредности су се статистички значајно разликовале у односу на контролну групу и *P. polonica* (табела 40). У случају храста лужњака, дужина финог корена је била 2,4 пута мања од контролне групе, а добијене вредности су се значајно разликовале од најагресивније *P. cambivora* и најслабије *P. polonica*, као и од контролне групе биљака (табела 40). Оштећења кореновог система су у неким случајевима била чак израженија од других тестираних врста *Phytophthora*, које се у литератури наводе као опасни патогени тестираних врста домаћина.

Занимљиво је и то да је ова врста код нас по први пут изолована 2010. године, а MAN IN' T VELD *et al.* (2007) истичу да је у том тренутку ова врста била присутна једино у Холандији. Остаје непознато да ли је врста унета у нашу земљу у облику хибрида или је унет њен други родитељ *P. hedraiandra*, који је касније ступио у хибридизацију са *P. cactorum*, чије је присуство код нас раније забележено (нпр. КАРАЦИЋ 2010). Такође, могуће је да је ова врста и од раније била присутна (на пример на роду *Allium*), али је ниво инокулума био пренизак за детекцију или су коришћене неодговарајуће технике за изолацију. Када се о свему овоме говори, треба напоменути да у прошлости није било довољно студија које су се бавиле проблематиком ових организама у нашој земљи, па је стога изостала детекција појединих патогена из рода *Phytophthora*, укључујући и ову хибридну врсту. У било ком од наведених случајева, пажњу треба посветити и присуству *P. hedraiandra* и евентуално увести нове методе за детекцију обе наведене врсте, као што су приказали VAN ROUSKE *et al.* (2013). Свакако, у даљим истраживањима

треба наставити и са тестовима патогености ради утврђивања најосетљивијих домаћина и адекватних мера борбе.

Према доступним литературним изворима, ово је први налаз *P. ×serendipita* на храстовима китњаку и сладуну и дивљој крушци у свету и први налаз ове врсте на наведеним домаћинима у Србији.

Највећа фреквенција изолације је била из земље и финог корења сакупљених око симптоматичних и асимптоматичних стабала, што је било и очекивано узимајући у обзир чињеницу да већина врста проузроковача некроза и пропадања корена припада групи земљишних патогена, такозваној „soilborne“ групи, што значи да свој животни циклус углавном обављају у влажном земљишту и на корену осетљивих домаћина (ERWIN and RIBEIRO 1996). Представници ове групе се углавном налазе у базичним clade-овима (KROON *et al.* 2012; THINES 2013). Од 11 до сада дефинисаних „clade“-ова *Phytophthora* врста (MARTIN *et al.* 2014), неки аутори су извршили провизорну поделу на вршне, средишње и базичне „clade“-ове (нпр. KROON *et al.* 2012; THINES 2013), у односу на главне морфолошко-физиолошке и еколошке карактеристике које одликују представнике појединих „clade“-ова.

Такође, већина до сада изолованих врста у Србији припада групи земљишних патогена или прелазним групама, а типични представници који су до сада код нас изоловани су *Phytophthora quercina*, *P. polonica* и *P. europaea*. Поред ове групе, постоје још и „airborne“ и „waterborne“ врсте. Првопоменуто имају могућност разношења спора ветром, а ова особина није једино оружје код њих јер разношење ветром представља само додатну особину поред могућности развоја и инфекција на кореновом систему и у камбијуму биљака домаћина (ERWIN and RIBEIRO 1996). Типични представници ове групе су врсте из вршних ITS „clade“-ова (KROON *et al.* 2012; THINES 2013), а у Србији би то биле *P. cactorum* и хибрид *P. ×serendipita*. Последња група обухвата врсте које су везане за јако влажне и акватичне екосистеме „waterborne“ (ERWIN and RIBEIRO 1996). Велики број представника ове групе је изгубио способност полног размножавања па је постао стерилан или са тенденцијом стерилитета, а према KROON *et al.* (2012) и THINES (2013) представници ове групе припадају средишњим „clade“-овима. Стерилне врсте изоловане до сада у Србији, које по својим особинама одговарају овој групи,

или прелазној групи са „soilborne“ су *P. taxon 'pg chlamydo'*, *P. lacustris* и *P. gonapodyides*, а последње две су често изоловане из земљишта ризосфере. Такође, KROON *et al.* (2012) и THINES (2013) наводе и низ врста и „clade“-ова са прелазним особинама међу наведеним групама, као и потпуно различите особине код представника појединих група.

Из узорака воде и влажне земље је добијено укупно 54 изолата и то из шума и вештачки подигнутих састојина и плантажа (прилог А и Б; табела 4). У расадницима и испитиваним зеленим површинама није узоркована вода. Изолација из узорака воде је такође била очекивана узимајући у обзир да је њена улога као извора и преносника инокулума *Phytophthora* раније описивана, како у системима и резервоарима за наводњавање (HONG *et al.* 2008 а, 2010, 2012; HULVEY *et al.* 2010 а; YANG *et al.* 2013, 2014 а, с; YANG and HONG 2013), тако и у природним водотоковима и приобалним екосистемима (BRASIER *et al.* 2003; ORLIKOWSKI *et al.* 2007; REESER *et al.* 2011; JUNG *et al.* 2011). Детаљније истраживање је вршено на ушћу Западне и Јужне Мораве, где је вршено сакупљање воде и влажне земље, као и узорака ткива са симптомима инфекција патогенима из рода *Phytophthora*. Најкарактеристичније некрозе су забележене на стаблима ораха у непосредној близини обале реке и огледали су се у некрозама у приданку уз обилно цурење тамног ексудата (слика 40), некрозама на стаблима и вишим партијама стабла. После тестова изолације из некротичних ткива је изолована *P. plurivora*, док су из воде и влажне земље изоловане *P. plurivora* и *P. lacustris*. Узимајући у обзир да је *P. plurivora* агресивни патоген, њено присуство у води представља велики ризик, нарочито по приобалне екосистеме.

Ово је посебно забрињавајуће ако узмемо у обзир и недавне поплаве које су задесиле нашу земљу током пролећа 2014. године. Због чињенице да је надошла вода која је изазвала поплаве пореклом из различитих региона наше земље, па чак и из различитих држава у окружењу, велика је вероватноћа да је одређена количина инокулума различитих нових и предходно регистрованих врста транспортована у различита подручја у нашој земљи и то је потребно посебно истражити.

Вода која се користи за заливање у расадницима је такође један од праваца које је потребно у будућности детаљније истражити у Србији јер се и она наводи

као један од узрока присуства и увећања нивоа инокулума у расадницима (HULVEY *et al.* 2010 а), а посредно и у различитим другим екосистемима преко уношења тог истог зараженог материјала из расадника (PÉREZ-SIERRA and JUNG 2013).

Овим истраживањима је забележена јака веза између појаве симптома и изолација врста из рода *Phytophthora* (табела 22). Наиме, 234 изолата 14 различитих врста је добијено са стабала са различитим симптомима, док је 79 изолата 9 различитих врста изоловано испод стбала без симптома, чиме је потврђена трећа тестирана хипотеза. Врсте које су показале најмању везаност у овим истраживањима су биле *P. lacustris* и *P. plurivora* (табела 22), при чему је *P. plurivora* најчешће изолована у оквиру свих типова симптома.

Поред изолација из земље са корењем и воде, овим истраживањима је добијено најмање изолата из некротичних ткива (табела 4). Добијене су укупно три врсте, укључујући *P. cambivora*, *P. lacustris* и *P. plurivora*, од којих је најзаступљенија била *P. plurivora* (табела 4). Главни домаћини са којих су изоловане *Phytophthora* врсте из некротичних ткива су били буква, дивљи кестен, орах и горски јавор. Различите некрозе са цурењем тамног ексудата су још примећене и на храстовима лужњаку, китњаку, церу и сладуну, као и на црној јови, трешњи, грабу и другим домаћинима.

Овде је битно напоменути и указати на случај појаве некроза и цурења тамног ексудата на стаблима букве и храстова као наших најважнијих и најзаступљенијих врста. Наиме, појава некроза на кори стабала букве је у прошлости приписивана узрочницима такозване „болести коре букве“ (beech bark disease) чији су изазивачи инсект *Cryptococcus fagisuga* и гљива *Neonectria coccinea* (MARINKOVIĆ i KARADŽIĆ 1985; МИНАЛЛОВИЋ 2008; КАРАЦИЋ 2010). Међутим, једна група аутора је на основу изолација и јаке везе између изолованих врста и забележених симптома указала на *Phytophthora* врсте као део патогенезе болести коре букве (HARTMAN *et al.* 2006; JUNG *et al.* 2005; JUNG 2009; JUNG and BURGESS 2009; WEILAND *et al.* 2010; NELSON *et al.* 2010), а улога ових патогених организама је потврђена у различитим тестовима патогености (FLEISCHMAN *et al.* 2002, 2004; WEILAND *et al.* 2010; PORTZ *et al.* 2011). У прилог овоме иду и налази KARADŽIĆ *et al.* (2012) који су доказали да дејство инсекта *C. fagisuga* није

обавезан услов за инфекције гљивом *N. coccinea* и настанак болести коре букве, већ да су и неки други фактори потенцијално укључени у настанак ове болести и да било које оштећење коре и камбијума доводи до инфекција гљивом *N. coccinea*. Према JUNG *et al.* (2013 b), симптоми инфекције на букви често нису одмах видљиви, јер се врсте рода *Phytophthora*, нарочито *P. plurivora* и *P. cambivora*, често неприметно развијају у камбијуму улазећи балго у одрвенела ткива и излазе касније на површину на одређеним местима у вишим партијама стабла, где се после њихове инфекције јављају друге врсте које колонизују места озлеђена инфекцијама.

Овде ће бити издвојене две ситуације забележене на два различита локалитета на букви у Србији. Прва је везана за локалитет Јаворак, на коме је у 2012. години вршено сакупљање узорака и изолација. Иако су забележене карактеристичне некрозе са цурењем тамног ексудата, све изведене изолације су биле негативне на присуство врста из рода *Phytophthora*. Што је најзанимљивије, из узорака некротичног ткива који су постављени на селективну подлогу и стављени на инкубацију на око 22-25°C у мраку, после 10 дана инкубације добијене су чисте културе *N. coccinea*. Такође, на овом локалитету су испод симптоматичних стабала букве забележене јаке некрозе на матичном корену и губитак финог корења за исхрану (слика 29) при чему су из узорака узете земље и корена изоловане обе врсте агресивне за букву *P. plurivora* и *P. cambivora*, што се уклапа у предходна истраживања других аутора (HARTMAN *et al.* 2006; JUNG *et al.* 2005, 2013 b; JUNG 2009), а ситуација је била слична и на другим локалитетима у састојинама букве у Србији (MILENKOVIĆ *et al.* 2012 a, b). Други интересантан локалитет је у ГЈ Трстеничке шуме, одељење 64 а, где је забележен висок проценат стабала са појавом сушења и више различитих симптома. Најкарактеристичније је било присуство некроза на већини нападнутих стабала које су се јављале на јачим жилама, приданку и у вишим партијама стабла. После уклањања коре на некрозама у приданку, забележене су типичне пламенасте и језичасте некрозе (слика 38 и 39) и из њих су изоловане *P. plurivora* и *P. cambivora*. Некрозе на вишим партијама стабла су имале карактеристичан изглед болести коре букве, а после изолација на селективној подлози нису добијени изолати *Phytophthora* врста, док је на кори неколико стабала забележено и

присуство плодоносних тела *N. coccinea*. Све ово указује на заједничко дејство ова два патогена, а у неким случајевима *Phytophthora* врсте могу и да предиспонирају стабла за лакшу колонизацију другим паразитним организмима, укључујући и *N. coccinea*, што засигурно увећава штете и смањује шансу за опстанак нападнутих стабала.

У случајевима храстових стабала, некрозе су забележене на наше четири најважније врсте храста, укључујући лужњак, китњак, цер и сладун. *Phytophthora* врсте су врло ретко или скоро уопште нису директан узрочник ових некроза на храстовим стаблима у Србији и у овим истраживањима су из некротичног ткива и камбијума изоловане само у једном случају када је добијена *P. plurivora* са храста китњака (прилог А). Овде треба напоменути да је овај изолат добијен из приданка стабла и да је нападнути део био у контакту са земљом. Према Jung (лична комуникација), врсте из рода *Phytophthora* су индиректни узрочници појаве некроза са цурењем ексудата на храстовим стаблима, јер изазивањем некроза на матичном корењу и трулежи и губитка финог корења, асимилати који су створени у лисној маси немају где да оду и потроше се на раст корена па се у том случају стабло понаша као пробушена вертикална цев. Овоме посебно доприноси напад *Agrilus biguttatus* Fab., *Coroebus bifasciatus* Ol. и других инсеката (МИНАЛЛОВИЋ 2008; КАРАЦИЋ *et al.* 2011). Исти механизам доводи и до пропасти делова круне и сушења избојака и грана јер стабло тежи да успостави равнотежу масе оштећеног подземног и надземног дела, при чему се константно исцрпљује формирањем изнова финог корења у адсорптивном комплексу (JUNG *et al.* 2013 b).

Када се уопштено говори о појави некроза, узрокованих патогенима из рода *Phytophthora* на различитим домаћинима у Србији, треба напоменути да је њихово присуство ређе него што се то наводи у литератури (ERWIN and RIBEIRO 1996; JUNG *et al.* 2005, 2013 b; JUNG and BLASCHKE 2004; HARTMAN *et al.* 2006; JUNG 2009; JUNG and BURGESS 2009; NELSON *et al.* 2010; WEILAND *et al.* 2010). Разлог за ово може да буде висока просечна температура у нашој земљи, која је нарочито изражена током лета и јесени, а чији смо сведоци у последњих неколико година. Наиме, већина стабала са некрозама, регистрованих у овим истраживањима у Србији су забележена на свежијим и влажним до врло влажним стаништима, осим неколико изузетака у парковима и некроза на дивљем кестену.

Од укупно 49 узоркованих, 24 домаћина је било позитивно на присуство врста из рода *Phytophthora*. Овом броју треба додати још једног домаћина *Picea omorika* (Pančić) Purkyně, иако није лишћарска врста, са кога је током јесени 2014. (септембар/октобар) добијено неколико изолата врста из рода *Phytophthora*, чија ће се идентификација обавити у будућем периоду. Ови узорци нису обрађени па стога нису ни укључени у анализе ових истраживања, али су у прилогу Б дати њихови локалитети и други детаљи.

Ако се посматрају појединачни домаћини, највише изолата је добијено са храста лужњака, на коме је регистровано укупно осам врста (табела 24). Овом анализом је делимично испуњена четврта постављена хипотеза, јер је осам врста изоловано и са храста китњака, али је са овог домаћина добијено знатно мање изолата у односу на хрст лужњак (табела 24). Као најчешће изолована врста *Phytophthora* на обе наведене врсте храста је била *P. plurivora*, док је *P. quercina* знатно чешће изолована са храста лужњака (84% од укупног броја изолата ове врсте), уз напомену да је са овог домаћина сакупљено и знатно више узорака (прилог А). По питању заступљености и броја нађених врста на храстовима у Србији, налази ових истраживања се уклапају у налазе већине аутора који су се у Европи бавили овом проблематиком (JUNG *et al.* 1996, 2000, 2002; VETTRAINO *et al.* 2002; BALCI *et al.* 2003 a, b). Симптоми на врстама из рода храста су били различити, а најзаступљеније су биле некрозе на матичном корену и губитак финог корена (слика 30), одумирање стабала од врха (слика 31), делова круне и проређеност круне (слика 33 и 34), појава водених избојака (слика 33) и жутило и блага хлороза лишћа (слика 35). Најчешће забележен симптом је био одумирање стабала од врха и испод стабала са овим симптомима је добијено највише изолата (табела 22).

Такође, као што је раније приказано, овим истраживањима је проширен спектар познатих домаћина за поједине врсте *Phytophthora*, а у нове комбинације спадају и домаћини из рода *Quercus*. Тестовима патогености је доказана агресивност неких изолованих врста према храстовима лужњаку и китњаку и њихова способност да узрокују некрозе и оштећења на корену. Такође, при анализи кореновог система код већине узоркованих стабала забележили смо прогресиван губитак и трулеж финог корења уз појаву некроза и рак рана на



матичном корену (слика 30). Наведене симптоме наводе и други аутори који су се озбиљно бавили овом проблематиком (JUNG *et al.* 1996, 2000, 2002; VETTRAINO *et al.* 2002; BALCI *et al.* 2003 a, b). Овакве озледе и рак ране представљају одличан улаз за друге агресивне организме присутне у земљишту, нарочито из групе опортуниста, при чему долази до синергистичког дејства између *Phytophthora* врста и других патогена, а нападнута стабла имају мање изгледе за одбрану и опоравак (Jung, лична комуникација). На терену је при отварању и анализи кореновог система забележено присуство великог броја ризоморфи врста из рода *Armillaria* и то на скоро свим врстама храста, којима горе наведене озледе свакако погодују за напад и олакшавају пенетрацију у ткива домаћина (KEČA *et al.* 2009).

Следећи домаћин према броју добијених изолата је била буква, са које је добијено 46 изолата и шест различитих врста (табела 24). Овим резултатима је оповргнута пета поствљена хипотеза, јер су у поређењу са китњаком само три врсте биле заједничке (табела 24), иако је добијен сличан број изолата. Са овог домаћина су изолати добијени из земљишта ризосфере, некротичних ткива и из воде која просеца истраживане састојине (прилог А). Улога врста из рода *Phytophthora* у пропадању стабала букве је раније описивана у више различитих студија (JUNG *et al.* 2005; JUNG 2009; HARTMAN *et al.* 2006; WEILAND *et al.* 2010; NELSON *et al.* 2010), а тестовима патогености је потврђена њихова агресивност (FLEISCHMAN *et al.* 2002, 2004; WEILAND *et al.* 2010; PORTZ *et al.* 2011). Такође, наши налази и добијене врсте у буковим састојинама се уклапају у налазе ових истраживања, а као што је раније наведено најзаступљенија врста је била *P. plurivora*.

У истраживањима присуства *Phytophthora* врста у буковим шумама у Србији (MILENKOVIĆ *et al.* 2012 a), доказана је патогеност наших и Пољских изолата на младим клијавцима букве и ово је добар показатељ за будућа истраживања.

Посебно треба нагласити изразиту појаву симптома у виду некроза на стаблима и повећану транспарентност крошње, одумирање врхова и грана у крошњама и некрозе и трулеж корена, који су у великом обиму забележени у последњем периоду на различитим локалитетима (прилог А). Испод стабала са наведеним симптомима су изоловане изразито агресивне *P. plurivora* и *P.*

*cambivora*, као и мање агресивна *P. gonapodyides*, док су остале врсте забележене у знатно мањем обиму (табела 19). Свакако да честа изолација врста из рода *Phytophthora* испод симптоматичних стабала и из некротичних ткива на букви указује на њену улогу у пропадању стабала ове врсте на шта су указала и предходна истраживања.

Следећи домаћини са 42 добијена изолата и шест различитих врста су биле врсте из рода топола (*Populus* spp.), при чему је већина изолата добијена из земљишта ризосфере ових домаћина. Пошто се радило о вештачки подигнутим састојинама топола и клоновима који су се плантажно гајили, ови клонови нису раздвајани, већ су сви вођени као плантаже топола. Такође, остале узорковане врсте рода топола у природним састојинама су засебно приказане (прилог А). У литератури су ретки наводи присуства врста из рода *Phytophthora* на тополама и један од налаза долази из Хрватске (PERNEK *et al.* 2011), који су забележили опасног патогена *P. cambivora* на стаблима тополе и букве.

Најчешће изоловане врсте у плантажама топола у нашим истраживањима су биле *P. plurivora* и *P. pini* (табела 24 и 26). Поред њих, битно је споменути и налаз *P. polonica*, *P. lacustris* и *P. gonapodyides*, као и налаз *P. cactorum*. Све наведене врсте су први налази врста из рода *Phytophthora* на тополама у Србији, а према доступној литератури налази *P. pini* и *P. polonica* спадају у прве налазе у свету, при чему је проширен познати спектар домаћина ових врста.

При изолацији ових патогена испод стабала топола у плантажама није примећена веза између појаве симптома и изолације ових врста, јер су изолати добијени како испод симптоматичних, тако и испод стабала без видљивих симптома. Свакако, осетљивост ових домаћина треба проверити у будућем периоду кроз различите тестове патогености, нарочито ако се узме у обзир изолација агресивних патогена испод стабала топола.

Следећи домаћин са значајним бројем добијених изолата је био пољски јасен са кога је добијено 36 изолата од пет различитих врста (табела 24). Током обиласка терена и сакупљања узорака, забележени су различити карактеристични симптоми на пољском јасену који су укључивали одумирање стабала од врха (dieback тип пропадања) (слика 32), одумирање грана, хлорозу и жутило лишћа, некрозе и губитак финог корена, а у јако малом броју случајева и појаву некроза у

основи стабала. Проузроковач опасног обољења на јасену *Hymenoscyphus fraxineus* (Kowalski) Baral, Queloz and Hosoya, познатији по својој бесполној форми *Chalara fraxinea* Kowalski није до датума регистрован у Србији и сви досадашњи покушаји изолације овог патогена из симптоматичних органа и ткива су били негативни. Према Карацић (лична комуникација), један од горућих проблема на пољском јасену у Србији је појава бактеријског рака и шуге на јасену, коме до сада није посвећена посебна пажња, као и значајне штете које изазива јасенов сурлаш (*Stereonychus fraxini* Deg.).

Међутим, две врсте из рода *Phytophthora* су константно изоловане из земље и корења испод симптоматичних стабала пољског јасена у Србији, укључујући *P. lacustris* и *P. plurivora*. На значај *P. plurivora* у пропадању јасена је указивано у предходним истраживањима (JUNG and BURGESS 2009; ORLIKOWSKI *et al.* 2011), а овде је занимљиво истаћи *P. lacustris*. Наиме, раније је наведено да се ова врста сматра благо патогеном или непатогеном према више различитих домаћина (NECHWATAL *et al.* 2012). Међутим, недавно је ова врста доведена у везу са пропадањем пољског јасена у Турској, а њена агресивност је демонстрирана у изведеним тестовима патогености (AKILLI *et al.* 2013 a). *P. lacustris* је у овим истраживањима најчешће изолована испод стабала пољског јасена са „dieback“ типом симптома (табела 21 и 22), а њена, као и улога друге по реду *P. plurivora* у комплексу фактора пропадања јасена је свакако несумњива. Сви надземни симптоми су били слични симптомима који настају при недостатку воде, иако се већина узоркованих стабала налази у плавном подручју равног Срема. На анализираном кореновом систему више симптоматичних стабала јасена испод којих су изоловане ове патогене врсте, уочене су карактеристичне некрозе и рак ране на матичном корену, уз губитак и трулеж финог корења. Даље, у неколико случајева је забележено и присуство ризоморфи врста из рода *Armillaria*. Све напред наведено указује на потенцијални комплекс фактора у пропадању стабала пољског јасена у Србији, који укључује *Phytophthora* врсте, јасеновог сурлаша, осцилацију нивоа подземних вода, *Armillaria* врсте, бактеријски рак и шугу јасена и температуру.

Од врста заступљених у шумама у Србији још треба издвојити горски јавор са кога је добијен 21 изолат и црну јову са 17 изолата. Јавор се сматра осетљивом

врстом на инфекције патогенима из рода *Phytophthora* (ERWIN and RIBEIRO 1996; BRASIER and JUNG 2006; JUNG and BURGESS 2009; GINETTI *et al.* 2014), а угрожена стабла показују различите симптоме инфекције. У Србији су забележени различити симптоми на врстама из рода јавора, а најкарактеристичнији и најзаступљенији су били на горском јавору, као што је приказано у MILENKOVIĆ *et al.* (2014). Наиме на појединим стаблима су забележене изразите некрозе из којих је изолована *P. plurivora* (слика 36 и 37). Уједно, ово је био први домаћин у овим истраживањима из чијих су некроза изоловане врсте из рода *Phytophthora*. Агресивност ових патогена према стаблима јавора није приказана у овим истраживањима, а узимајући у обзир економску и еколошку вредност јавора, као и његову велику осетљивост, овом проблему је потребно посветити већу пажњу у будућности.

Опасно обољење на јови *P. alni* Brasier and Kirk (BRASIER *et al.* 2004) није до датума регистровано у Србији, иако су на стаблима јове примећени симптоми карактеристични за ово обољење. Из ткива и испод земље симптоматичних стабала јове изоловане су *P. plurivora* и *P. gonapodyides*, а у мањој мери и остале врсте (табела 24) и као што је приказано у MILENKOVIĆ *et al.* (2013). Узимајући у обзир ширење сушења стабала јове, нарочито у приобалним екосистемима поред река у Србији, потребно је извршити праћење ове појаве.

Домаћин из паркова и дрвореда са највећим бројем добијених изолата (25) је био дивљи кестен. Доминантна врста на овом домаћину је била *P. plurivora* (табела 22) и изолована је из рак рана и земљишта ризосфере испод симптоматичних стабала. Овај домаћин спада у осетљиве према патогенима из рода *Phytophthora* и на ту тему је објављено више публикација (BRASIER and STROUTS 1975; GRÜNWARD *et al.* 2011; AKILLI *et al.* 2012).

Према истраживаним шумским заједницама, највише изолата је добијено из шума храста лужњака са јасеном (*Fraxino-Quercetum roboris*), са различитим хигрофилним пратиоцима на подручју Срема. Ово је било очекивано, јер су у наведеним шумама у алувијално хигрофилном комплексу присутна два осетљива домаћина лужњак и пољски јасен, а услови средине на овом подручју (тип и структура земљишта, водни и ваздушни режим земљишта, киселост) одговарају овим патогеним организмима за развој. Такође, већина истраживаних плантажа

топола се налази у овом комплексу, са којих је добијен значајан број изолата и врста (табела 24, 25 и 26).

У Србији је 2011. године започето истраживање везано за улогу подземних и плавних вода као извора инокулума за врсте из рода *Phytophthora* у хигрофилним шумама Сремског подручја. Наиме, према резултатима ових истраживања, утврђено је да површинска и подземна вода имају улогу као извор инокулума *Phytophthora* врста. Узорци чисте подземне воде су били негативни (табела 28), а највећа дубина са које су изоловане ове патогене врсте је била 1,5 m са које је у више наврата изолована *P. plurivora*. Ниво подземне воде у тренутку узорковања за изолације је био 1,8 m. Овим резултатима је потврђена шеста постављена хипотеза. У сличним истраживањима CORCOBADO *et al.* (2010) наводе да су изоловали *P. gonapodyides* са дубине од 1 m, док је ниво подземне воде у том тренутку износио 4,6 m. Иако је земљиште састављено од текстурних класа песковите глине и песковите иловасте глине, погодних за развој *Phytophthora* врста (JUNG *et al.* 2000) у истраживаним шумама, висок садржај песка, нарочито у дубљим слојевима спречава значајнији транспорт инокулума. На овом принципу су направљени филтери са песком и биофилмом за пречишћавање воде за потребе заливања расадника, стаклара и других објеката за производњу биљака (Slow Sand Filtration (SSF) метод (WONANKA *et al.* 1995; CLAVO BADO *et al.* 2003; WEBER-SHRINK and CHEN 2007). На ово указују и негативне изолације директно из узорак подземне воде, која је „пречишћена“ при проласку кроз слојеве песка. Изолације из слојева изнад нивоа подземне воде, а које је достигала у предходном периоду (табела 28), указују на то да се задржани инокулум при проласку кроз профил преобразио у неку од трајних структура за преживљавање (цитирано у уводу), што је позната појава код ових организама.

У неплавном подручју у горњем Срему нема површинских вода или су заступљене у мањем обиму услед многобројних насипа, изграђених поред река на овом подручју, као и шумских комуникација. У овој ситуацији ови организми су принуђени да се ослањају на воде које долазе од киша и на површинске воде које се задржавају после кише (ЛЕТИЋ *et al.* 2014). На ово су нам указале изолације током августа и септембра месеца испод симптоматичних стабала која се налазе у забареним деловима шума, као на пример у ГЈ Блата Малованци, одељење 13 а. За

ово подручје је карактеристичан и један тежак глиновити хоризонт који се налази на одређеним дубинама земљишта, а који уједно спречава и доток подземних вода до површине и до корена биљака (ЛЕТИЋ *et al.* 2013). Према Jung (лична комуникација), у оваквој ситуацији биљке пате и губе одређени део адсорптивног комплекса кореновог система, што се уједно одражава и на само стање круне и појаву симптома у виду жутила и већења лишћа, одумирања грана и делова крошњи и појаву водених избојака. При наступању кишног периода и повољног водног режима за биљке, оне донекле успеју да изграде ново фино корење и крену у усвајање хранљивих материја и воде, при чему долази и до благог опоравка круне. Међутим, повољни услови влаге за биљке, уједно су изузетно повољни услови и за развој врста из рода *Phytophthora* и оне инфицирају тек формирано младо корење које није успело да одрвени, а на коме такође још увек није формирана микориза.

У плавном подручју, ситуација је још тежа јер долази до вишеструког умножавања количине инокулума услед повољних услова, а самим тим и веће количине трајних структура које служе као основа за будуће инфекције. Такође, у условима сталне влаге присутне су и друге врсте *Phytophthora*, углавном везане за влажне и водне екосистеме, које се ређе срећу у неплавним и сушним пределима. Њихово присуство још више повећава ризик за настанак инфекција и опстанак стабала у посматраним састојинама, јер је већина њих осведочена као паразити слабости или чак прави паразити (*P. lacustris*, *P. gonapodyides* и друге, цитирано раније). Оваква ситуација је забележена током ових истраживања (прилог А), где су у плавном подручју у ШУ Кленак и Купиново чешће изоловане, на пример наведене *P. lacustris* и *P. gonapodyides*, него на подручју ШУ Моровић и Вишњићево које се налазе у неплавном делу (табела 18).

Ситуације сличне овој се срећу и у шумама китњака, букве и других домаћина, где су биљке осуђене на губитак адсорптивног комплекса финог корена како у условима без влаге услед суше, тако и у влажним условима услед дејства патогена из рода *Phytophthora* (JUNG *et al.* 2013 b). Чак и на стаништима која генерално нису повољна за развој ових патогених организама, штете настају услед дуготрајних киша и задржавања површинских вода као што су приказали JUNG *et al.* (2013 b), а ризик је још већи јер су ови патогени организми у једном латентном

стању у својим трајним, преживљавајућим структурама на ивици нивоа детекције где чекају повољне услове (JUNG *et al.* 2013 b). Претпоставља се да је поред компликоване изолације и ово један од разлога због чега су штете у прошлости приписиване искључиво другим организмима, а добрим делом су биле узроковане и врстама из рода *Phytophthora*.

Појава сушења и брзина пропадања зависе и од других фактора, пре свега услова средине, присуства других штетних организама и свих других учесника у комплексу фактора пропадања стабала у састојинама (КАРАЦИЋ *et al.* 2011, 2013). Генерално посматрано, запажањима у овим истраживањима је примећено да је брзина развоја симптома у састојинама захваћеним сушењем, из којих су изоловане врсте из рода *Phytophthora*, приближно једнака како на изразитије сушним, тако и на јако влажним стаништима, док је најкритичнија ситуација и највећа брзина развоја симптома на стаништима са прелазним особинама у погледу влаге. На смену сушних и кишних периода као идеалну за развој патогених организама из рода *Phytophthora* је у случају букве указао JUNG (2009).

Вишегодишњим наизменичним смењивањем сушних и влажних периода долази до прогресивне деструкције кореновог система на горе описан начин, где су на крају биљке услед исцрпљености све мање у стању да надоместе губитак корена, уништеног од стране патогена из рода *Phytophthora*, па је манифестација подземних и надземних симптома све изразитија (JUNG *et al.* 2013 b). Према истим ауторима, по некада су потребне и деценије од почетне инфекције корена до развоја видљивих симптома у крошњи и на стаблу и на крају до потпуног пропадања биљака, а на брзину овог процеса знатно утичу и други штетни фактори у виду промена нивоа подземних вода, промене климе, дефолијатори, паразити лишћа, корена и стабла и сви други фактори који делују у оквиру комплекса пропадања стабала (JUNG *et al.* 2013 b).

Угрожене биљке домаћини развијају различите стратегије одбране од напада патогена из рода *Phytophthora* (OWALD *et al.* 2014). Током овог процеса, све створене интеракције су укључене у карактеристичне домаћин-патоген (*Phytophthora*) интеракције. Један од начина одбране је и такозвана преосетљива реакција (*hypersensitive response*), чији су пример као механизам одбране на напад

патогена из класе Oomycetes, укључујући и *Phytophthora* приказали КАМOUN *et al.* (1999).

На напред наведеном принципу смене сушних и влажних периода се заснива и најпоузданији и материјално најскупљи тест за проверу патогености врста из рода *Phytophthora* и то путем инфекције кореновог система преко земљишта- „soil infestation test“ (JUNG *et al.* 1996). Он се заправо и огледа у смени кратког периода са потпуним плављењем тестираних биљака и са дужим периодом у коме су биљке без воде и једини је потпуно меродаван за процену агресивности различитих врста према кореновом систему биљака. У овим истраживањима при извођењу овог теста, одабрано је пет различитих *Phytophthora* врста, као што је описано у поглављу 7.1.3. После анализе корена и скенирања помоћу софтвера WinRhizo<sup>®</sup>, све тестиране врсте су изазвале оштећења кореновог система, а једино *P. polonica*, иако су и у њеном случају забележене некрозе и абнормалност развоја кореновог система није изазвала статистички значајне губитке у односу на контролну групу биљака. Овим резултатима је потврђена осма тестирана хипотеза.

Ако посматрамо храст лужњак и све у обзир узете параметре, најагресивније врсте у овим тестовима патогености су биле *P. cambivora* и *P. quercina*, а за њима долазе *P. plurivora* и *P. ×serendipita* (поглавље 7.2.3.; табела 40). Најмање агресивна је била *P. polonica* и у неколико анализираних параметара није било статистички значајне разлике у односу на контролну групу. Тестиране *P. cambivora*, *P. quercina* и *P. plurivora* су познати патогени и њихова агресивност на различитим домаћинима, укључујући и храстове је раније приказана (JUNG *et al.* 1996, 1999, 2002, 2005, 2013 b; VETTRAINO *et al.* 2001, 2002; BALCI *et al.* 2008; JUNG and BURGESS 2009; JUNG 2009; WEILAND *et al.* 2010). Међутим, као што смо раније навели занимљиво је споменути врсте *P. ×serendipita* и *P. polonica* за које у литератури не постоје подаци о агресивности према кореновом систему биљака, тако да су ово прва истраживања тог типа за наведене врсте. Такође, у овим истраживањима *P. cambivora* није изолована испод стабала храста лужњака.

У случају храста китњака, најагресивније врсте су биле *P. quercina* и *P. ×serendipita*, а за њима долазе *P. cambivora* и *P. plurivora* (поглавље 7.2.3.; табела 40). Агресивност *P. quercina* према храсту китњаку је била очекивана, јер се ова



врста у литератури наводи као опасни патоген на храстовима (JUNG *et al.* 1999). Међутим, агресивност хибрида *P. ×serendipita* је била по мало изненађујућа јер у доступној литератури нема података о агресивности ове врсте према шумским дрвенастим домаћинима. Овим тестовима је доказана повезаност *P. ×serendipita* са храстом китњаком, испод чијих стабала је првобитно и изолована у нашој земљи. Узимајући све ово у обзир, било би занимљиво проверити и остале врсте које су у мањем обиму забележене на храстовима китњаку и лужњаку (*P. cryptogea*, *P. citrophthora*, *P. lacustris*, *P. gonapodyides*) и испитати њихову агресивност према наведеним домаћинима.

У односу на упоредну патогеност појединих врста према биљкама лужњака и китњака, забележене су разлике на основу анализираних вредности код одређеног броја параметара. Наиме, у случају *P. cambivora* код специфичне дужине финог корена, дужине финог по дужини матичног корена, дужине финог по сувој маси матичног корена и специфичне површине финог корена, ова врста је показала већу патогеност према лужњаку, док је код запремине корена показала већу патогеност према китњаку (табела 40). Код осталих параметара нису забележене статистички значајне разлике између лужњака и китњака.

Код дужине финог по сувој маси матичног корена, *P. plurivora* је показала већу патогеност према лужњаку, док је код запремине корена показала већу патогеност према китњаку (табела 40). Код осталих параметара нису забележене статистички значајне разлике између лужњака и китњака (табела 40).

У односу на вредности запремине корена, броја врхова финог корена, укупне дужине корена и дужине финог корена, *P. polonica* је показала већу патогеност према китњаку у поређењу са лужњаком (табела 40).

Једине разлике код *P. quercina* су забележене код запремине корена, према којој је ова врста била патогенија према китњаку, док код осталих параметара нису забележене значајне разлике између лужњака и китњака (табела 40).

Код запремине корена, укупне дужине корена и дужине финог корена, *P. ×serendipita* је показала већу патогеност према тестираним садницама китњака, док код осталих параметара није било статистички значајних разлика између лужњака и китњака (табела 40).

У тестовима патогености под кору на избојцима и живим биљкама, приказана је способност ових организама да колонизују биљно ткиво и изазову некрозе различите величине (табела 34 и 36), чиме је потврђена седма тестирана хипотеза.

У тестовима са избојцима букве, од укупно шест тестираних врста најбржи развој некроза је изазвала *P. plurivora*, чије су некрозе биле 6,8 пута веће од некроза *P. europaea*, док су некрозе осталих врста биле занатно мање. На избојцима китњака, најбрже некрозе је такође изазвала *P. plurivora* и њене некрозе су биле 6 пута веће од некроза узрокованих са *P. taxon 'pg chlamydo'* Овај тест не спада у најпоузданије тестове и не представља праву агресивност тестираних врста, већ само указује на врсте које најбоље продиру кроз ткива и образују највеће некрозе у ткиву које је буквално без икакве отпорности на продор патогена.

У тесту под кору на живим биљкама храста лужњака, највеће некрозе је изазвао изолат *P. plurivora*, добијен испод стабла китњака (табела 36). Овај изолат је заједно са још једним изолатом *P. plurivora*, добијеним испод стабла лужњака, чинио хомогену групу која је статистички значајно била најагресивнија према тестираним биљкама (табела 36).

Поред агресивности и улоге ових организама у комплексу фактора који утичу на пропадање различитих лишћарских стабала, као и на чињеницу да различити штетни организми убрзавају развој симптома и пропадање нападнутих стабала (JUNG *et al.* 2013 b), остаје скоро непознато дејство других штетних организама на предиспозицију биљака домаћина за нападе врстама из рода *Phytophthora*. МІЛЕНКОВИЋ and КЕЋА (2010) су у прелиминарним истраживањима улоге ових организама у пропадању храста у Србији, указали на голобрст губара који може да поспеши инфекције са патогенима из рода *Phytophthora* и развој симптома на инфицираним стаблима. Утицај дефолијације, као стресног фактора на инфекције кореновог система различитим патогенима је приказан у истраживању MARÇAIS and BRÉDA (2006). Међутим, да би се овај утицај у потпуности разјаснио, неопходно је спровести обимнија истраживања и извести серију тестова патогености. Узимајући у обзир напред наведено, спроведено је прелиминарно истраживање кроз тестове патогености на белом јасену у које је

укључена патогена гљива *Hymenoscyphus fraxineus*, са којом су инфицирана стабла младих биљака, а корен је истовремено инфициран са три различите *Phytophthora* врсте, изоловане испод стабала белог јасена у Пољској (Миленковић, необјављени подаци). Резултати ових истраживања треба да покажу да ли постоји међусобни утицај *H. fraxineus* и *Phytophthora* врста, као и какав је њихов заједнички и појединачни утицај на инфициране биљке.

Такође, мало је познат утицај инфекција *Phytophthora* врста на испољавање штетних дејстава других фактора на биљке домаћине. MILANOVIĆ *et al.* (2015) су спровели истраживање са циљем да се утврди да ли стабала црвеног храста, инфицирана *Phytophthora* врстама погодују нападу губара више од стабала која нису инфицирана. На основу спроведених истраживања утврђено је да гусенице губара чешће бирају лишће црвеног храста стабала која су била инфицирана врстом *Phytophthora plurivora*. Сви параметри који карактеришу индивидуалну перформансу гусеница губара, сем количине конзумиране хране, били су значајно бољи код гусеница храњених лишћем црвеног храста са инфицираних стабала. У неким будућим истраживањима је потребно тестирати исте ове односе са буквом и другим врстама храста у Србији (лужњак, китњак, сладун и цер), испод којих су изоловане различите врсте из рода *Phytophthora*. Такође, исти аутори су сугерисали могућу двосмерну, позитивну интеракцију између голобрста губара и инфекција *Phytophthora* врстама, али ове односе такође треба детаљно истражити у будућности у циљу добијања јасније слике о међусобним интеракцијама на релацији: осетљиви домаћин-инфекције *Phytophthora* врстама-други штетни агенси.

На основу добијених резултата, намеће се неколико битних праваца које је потребно истражити у будућности, а везано за врсте из рода *Phytophthora* у Србији. Као прво, потребно је наставити са узорковањем у лишћарским, али и четинарским састојинама ради добијања потпуне слике о присуству и распрострањењу *Phytophthora* врста у Србији. Такође, детаљнија истраживања је потребно спровести сакупљањем узорака воде и влажне земље из приобалних екосистема у циљу разјашњења улоге воде као извора и транспорта инокулума ових патогених организама. Детаљнија истраживања је потребно спровести у плантажама и вештачки подигнутим састојинама, а посебно у расадницима који

обезбеђују садни материјал за ове састојине, ради детерминисања везе расадник-плантажа, као једног од најчешћих начина уношења патогених организама у незаражена подручја. Даље, потребно је серијама тестова патогености испитати везе стресних, стимулишућих фактора (температура, степени дефолијације, садржај различитих елемената, влага) за инфекције *Phytophthora* врстама у условима у Србији.

Такође, треба радити и на едукацији и указивању на значај врста из рода *Phytophthora* у пропадању стабала у различитим екосистемима, као и на изналажењима адекватних мера борбе. Посебно треба посветити пажњу измени листе штетних организама у Србији и у њу уврстити агресивне врсте, изоловане у природним екосистемима у овим истраживањима.

## 9. ОПШТИ ЗАКЉУЧЦИ

На основу добијених резултата везаних за сакупљање узорака, изолацију и морфолошку идентификацију врста из рода *Phytophthora* у Србији, можемо извести следеће закључке:

- Од укупног броја узоркованих састојина, 81 (74%) је била позитивна на присуство *Phytophthora* врста;
- од укупно 432 узорака, 240 (56%) је било позитивно после изолације;
- у шумским састојинама је било позитивно 179 узорака (56%), код шумских плантажа и вештачки подигнутих састојина позитивно је било 34 узорка (74%), код расадника 6 узорака (35%), док је у случају паркова и зелених површина 21 узорак (45%) био позитиван;
- укупно је добијено 378 изолата врста из рода *Phytophthora* и то 253 из шумских састојина, 78 из плантажа и вештачки подигнутих састојина, 20 из расадника и преосталих 27 из парковских и зелених површина;
- после извршених морфолошких анализа, добијени изолати врста из рода *Phytophthora* су разврстани у пет морфолошких група према Waterhouse (1963) и то у I, II, III, V и VI групу;
- укупно је добијено 15 различитих врста из рода *Phytophthora*, укључујући *P. cactorum* са 22 изолата, *P. cambivora* са осам изолата, *P. citricola* са једним изолатом, *P. citrophthora* са два изолата, *P. cryptogea* са четири изолата, *P. europaea* са три изолата, *P. gonapodyides* са 19 изолата, *P. lacustris* са 32 изолата, *P. plurivora* са 165 изолата, *P. pini* са 16 изолата, *P. polonica* са 16 изолата, *P. quercina* са 19 изолата, *P. syringae* са три изолата, *P. taxon 'Pg Chlamydo'* са два изолата и *P. ×serendipita* са пет изолата;
- за изолате врста *P. cambivora*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. taxon 'Pg Chlamydo'*, *P. gonapodyides* и *P. lacustris*, које нису образовале гаметангије у чистим културама извршено је спаривање са тестер изолатима са познатим типовима спаривања при чему је одређен стерилитет или хетеротализам наведених врста;

- после изведених тестова спаривања, потврђено је да су хетероталичне *P. cambivora* и *P. cryptogea* припадале А2 типу спаривања, док је *P. citrophthora* припадала А1 типу. *P. gonapodyides*, *P. taxon 'Pg Chlamydo'* и *P. lacustris* су биле стерилне и нису образовале гаметангије;
- први налаз *Phytophthora cryptogea*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. europaea*, *P. gonapodyides*, *P. lacustris*, *P. pini*, *P. polonica*, *P. syringae*, *P. taxon 'Pg Chlamydo'* и *P. ×serendipita* у Србији;
- први налаз *Phytophthora pini* и *P. polonica* на новим дрвенастим домаћинима и први налаз *P. ×serendipita* на шумским дрвенастим домаћинима у свету.

**На основу спроведених молекуларних истраживања, могу се извести следећи закључци:**

- Количина генске ДНК, екстраховане из 47 одабраних изолата се кретала од 0,81 до 8,73 ng/μl, док су за 123 изолата PCR реакције изведене методом директног PCR-а;
- количина пречишћених PCR продуката кретала у распону од 10,68 до 32,95 ng/μl, а дужина добијених PCR продуката је износила око 800 базних парова (bp);
- секвенцирањем је добијено 157 секвенци 12 различитих *Phytophthora* врста у Србији;
- после BLAST анализе секвенци у NCBI банци гена, потврђени су налази морфолошких анализа и присуство *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. cryptogea*, *P. citricola*, *P. europaea*, *P. lacustris*, *P. gonapodyides*, *P. plurivora*, *P. pini*, *P. polonica*, *P. quercina* и *P. ×serendipita* на различитим домаћинима у Србији;
- за 146 секвенци поређених *Phytophthora* изолата из Србије са секвенцама у NCBI бази утврђена је максимална идентичност (identities) од 100%, док је за преосталих 11 секвенци износила 99%;
- различитост (gaps) и „Е“ вредност су износили 0% за све поређене секвенце;

- анализом хроматограма у случају хибрида *P. ×serendipita* забележени су дупли пикови на позицијама 74, 100, 101 и 686 и то R, R, Y и K према IUPAC номенклатури у наведеном редоследу, чиме је недвосмислено потврђено присуство ове врсте у Србији;
- ITS1 регион је показао мању варијабилност и садржи 138 променљивих места (24 у оквиру очуваних и 114 варијабилних места), у односу на ITS2 регион који садржи 213 променљивих места (48 у оквиру очуваних и 165 варијабилних места);
- 5,8S ген је показао висок степен очуваности са свега два променљива места;
- раздвајање појединих врста је потврђено и у филогенетским анализама и код „Maximum Parsimony“ метода је минимално износило 78% код *P. ×serendipita*, 87% код *P. europaea* и 89% код *P. cactorum*, док се код осталих случајева кретало између 93 и 100%;
- код „UPGMA“ метода, раздвајање је минимално износило 67% код *P. ×serendipita* и 70% код *P. cactorum*, док се код осталих случајева кретало између 94 и 100%;
- у случају *P. citricola* није било статистички значајних разлика у односу на *P. pini* у обе спроведене филогенетске анализе, док значајне разлике забележене у односу на *P. plurivora* и *P. citricola sensu stricto*;
- *Phytophthora* врсте из Србије су после „UPGMA“ и „MP“ филогенетских анализа груписане у седам различитих ITS „clade“-ова, укључујући „clade“-ове 1, 2, 6, 7, 8, 9 и додатни „clade“ 11;
- раздвајање „clade“-ова, којима припадају поједине врсте је било уз максималан проценат значајности од 100% у свим случајевима у обе спроведене филогенетске анализе.

**На основу резултата истраживања неких еколошких карактеристика *Phytophthora* врста у Србији могу се извести следећи закључци:**

- *Phytophthora* врсте су изоловане на 30 од 33 истраживана локалитета у Србији;

- локалитет на коме је добијено највише изолата је Купиново са укупно 77 изолата седам различитих врста, затим следе НП Фрушка гора са 52 изолата осам врста, Кленак са 40 изолата пет врста, Београд са 37 изолата седам врста, Нови Пазар са 32 изолата шест врста и Вишњићево са 20 изолата пет врста, док је са осталих локалитета добијено мање изолата и врста;
- најчешће изолована врста на свим локалитетима је *P. plurivora* са 165 изолата на 24 различита локалитета у Србији;
- у односу на 16 груписаних локалитета, најмању везаност је показала *P. plurivora* ( $F=0,81$ ) и изолована је са 13 груписаних локалитета;
- седам врста према степену везаности спада у преференцијалне, у односу на груписане локалитете истраживања, укључујући *P. cryptogea*, *P. citricola*, *P. europaea*, *P. pini*, *P. polonica*, *P. syringae* и *P. taxon 'pg chlamydo'* ( $F=0,06$ ), а преосталих седам у акциденталне;
- максимална сличност ( $S_s=1,00$ ), као и максимална асоцираност ( $S_j=1,00$ ), у погледу изолованих врста на груписаним локалитетима, су забележене између Куршумлије и Лознице и између Јастрепца и Вршачког Брега, док су у осталим случајевима вредности индекса везаности биле знатно мање;
- током истраживања врста из рода *Phytophthora* у Србији, забележени су симптоми, који су груписани у пет различитих типова симптома, укључујући некрозе коре, жутило лишћа, проређеност крошње, одумирање грана и одумирање стабала од врха- „dieback“ тип пропадања;
- при анализи кореновог система, забележени су прогресиван губитак и трулеж финог корења, као и некрозе и озледе на матичном корењу;
- највише изолата је добијено испод стабала са симптомом проређености крошње, а домаћини са највећим бројем изолата у оквиру овог типа симптома су били буква са 19 и храст лужњак са 16 изолата;
- у случајевима појединачних домаћина у оквиру одређених типова симптома, највише изолата је добијено испод стабала храста лужњака у оквиру „dieback“ типа симптома;
- такође, 100 изолата је добијено испод стабала без регистрованих симптома;



- најчешће изолована врста у оквиру свих типова симптома је била *P. plurivora* са 45 изолата у оквиру симптома проређености крошње;
- највећа сличност између појединих типова симптома, на основу Sorensen-овог индекса, као и највећа асоцираност, на основу Jaccard-овог индекса су забележене између жутила лишћа и проређености круне;
- укупно 24 домаћина је било позитивно у тестовима изолације;
- домаћини са највише добијених изолата су били храст лужњак са 86, храст китњак са 50, буква са 46, тополе са 42 и пољски јасен са 36 добијених изолата, док је са осталих домаћина добијено знатно мање изолата;
- највише врста је добијено са храста лужњака и то 8, храста китњака такође 8, са букве и топола по 6 врста, са пољског јасена, храста сладуна, дивљег кестена по 5 врста, са црне јове 4 врсте, док је са осталих домаћина добијено мање врста;
- на седам различитих домаћина су забележене по две *Phytophthora* врста;
- *Phytophthora* врста је која је изолована на највише домаћина је била *P. plurivora* на 19 различитих домаћина, а затим следе *P. cactorum* са 12, *P. lacustris* са 10, *P. gonapodyides* са девет, *P. cambivora* са четири, *P. polonica*, *P. quercina* и *P. ×serendipita* са по три и *P. citrophthora* са два домаћина;
- пет врста је изоловано са по једног домаћина и то *P. europaea* испод стабала храста лужњака *P. cryptogea* и *P. syringae* испод стабала храста китњака, *P. citricola* испод стабала пољског јасена и *P. taxon 'pg chlamydo'* испод стабала букве;
- максимална сличност у паровима родова домаћина према Sorensen-овом индексу и максимална асоцираност према Jaccard-овом индексу су забележене између врста из рода јавора и црне јове, као и између граба и брезе;
- највише изолата, укупно 108 од осам различитих *Phytophthora* врста је изоловано на стаништима храста лужњака са хигрофилним пратиоцима;
- следећа по реду станишта су била вештачки подигнуте састојине топола са укупно 41 изолатом шест различитих *Phytophthora* врста, затим шуме букве са 37 изолата од шест различитих врста, шуме китњака и шуме сладуна и цера са по 30 изолата од по шест различитих врста, паркови и зелене

површине са 19 изолата од шест различитих врста, вештачки подигнуте састојине китњака са 13 изолата од пет различитих врста, вештачки подигнуте састојине лужњака са девет изолата од две различите врсте, вештачки подигнуте састојине осталих лишћара са шест изолата две различите врсте и шуме букве и јеле са два изолата једне *Phytophthora* врста;

- најмању везаност у односу на све објекте истраживања су показале *P. plurivora* ( $F=0,90$ ), *P. cactorum* и *P. gonapodyides* ( $F=0,70$ ) према чему се сврставају у убиквисте са широком еколошком валенцом;
- пет врста је према степену везаности за објекте истраживања било на граници између преференцијалних и акциденталних врста ( $F=0,10$ ), укључујући *P. citricola*, *P. europaea*, *P. syringae* и *P. taxon 'pg chlamydo'*;
- највећа сличност ( $S_s=0,83$ ), као и највећа асоцираност ( $S_j=0,71$ ) су забележене између шума сладуна и цера са шумама китњака и шума сладуна и цера са шумама букве;
- током истраживања присуства *Phytophthora* врста кроз земљишни профил, максимална дубина са које су изоловани ови патогени организми је била 1,5 m;
- сви узорци подземне воде и слоја земљишта на њеном тренутном нивоу су били негативни на присуство *Phytophthora* врста, иако је евидентна јака хидрауличка веза подземних вода на овом подручју са реком Савом;
- закључак је да су плавне воде, које су карактеристика овог подручја, главни извор инокулума *Phytophthora* врста;
- најнижа надморска висина на којој су изоловане *Phytophthora* врсте у Србији је била око 73 m (Купиново), док је највећа надморска висина била на око 1200 m (Јастребац).

**На основу резултата добијених у тестовима патогености могу се извести следећи закључци:**

- Реизолације код избојака су биле успешне из некротираних ткива као последица инфекције ових избојака, док су реизолације са контролних избојака биле негативне;
- у тестовима са инокулацијом избојака букве, врста која је изазвала највеће некрозе је била *P. plurivora* и изазвала је 6,8 пута веће некрозе у односу на *P. europaea*, која је изазвала најмање некрозе;
- код избојака китњака, највеће некрозе је проузроковала *P. plurivora*, чије су некрозе биле 6 пута веће од *P. taxon 'pg chlamydo'*, као врсте са најмањим некрозама;
- у тесту инокулације под кору на живим биљкама, утврђене су разлике међу тестираним изолатима и дефинисане су четири хомогене групе;
- највеће некрозе је изазвала хомогена група 4, коју чине изолат *P. plurivora* са китњака и изолат *P. plurivora* са лужњака, док је најмање некрозе изазвала хомогена група коју чине изолати *P. europaea* и *P. polonica*;
- реизолације су код овог теста биле успешне код 86% биљака, док су контролне биљке биле негативне у тестовима реизолације;
- узимајући у обзир најзначајније параметре који репрезентују губитак кореновог система, као и забележен проценат некроза и трулежи на матичном и фином корену, све тестиране врсте су биле агресивне према тестираним домаћинима и изазвале различита оштећења и губитак кореновог система;
- у случају храста лужњака најагресивније врсте су биле *P. cambivora* и *P. quercina*, а иза њих долазе *P. plurivora* и *P. serendipita* и вредности већине тестираних параметара код ових врста су биле статистички значајно различите у односу на контролну групу биљака;
- дужина финог корена храста лужњака, инфицираног са *P. cambivora* је износила  $340,4 \pm 31,36$  cm и била је 3,8 пута мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака, док је специфична дужина финог корена износила  $784 \pm 68,73$  cm/g била 2,6 пута мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака;

- укупна дужина корена храста лужњака, инфицираног са *P. cambivora* је износила  $378,1 \pm 34,34$  cm и била је 3,6 пута мања и статистички значајно различита у односу на контролну групу;
- дужина финог корена храста лужњака, инфицираног са *P. quercina* је износила  $460,7 \pm 24,64$  cm и била је 2,8 пута мања у поређењу са контролном групом биљака, док је специфична дужина финог корена износила  $827,3 \pm 47,73$  cm/g и била је 2,4 пута мања и статистички значајно различита у односу на контролну групу биљака;
- укупна дужина корена храста лужњака, инфицираног са *P. quercina* је износила  $499,4 \pm 26,06$  cm и била је 2,7 пута мања у односу на контролну групу;
- код *P. polonica* у неколико тестираних параметара није било разлике у односу на контролну групу биљака;
- у случају храста китњака, најагресивније врсте су биле *P. quercina* и *P. ×serendipita*, а за њима долазе *P. cambivora* и *P. plurivora* и вредности тестираних параметара код ових врста су биле статистички значајно различите у односу на контролну групу биљака;
- дужина финог корена храста китњака, инфицираног са *P. quercina* је износила  $272,8 \pm 36,40$  cm и била 3 пута мања у поређењу са контролном групом биљака, док је специфична дужина финог корена износила  $1132,9 \pm 182,03$  cm/g и била је 1,6 пута мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака;
- укупна дужина корена храста китњака, инфицираног са *P. quercina* је износила  $293,1 \pm 38,09$  cm и била је 2,9 пута мања и статистички значајно различита у односу на контролну групу биљака;
- дужина финог корена храста китњака, инфицираног са *P. ×serendipita* је износила  $278,1 \pm 20,75$  cm и била је ~3 пута мања у поређењу са контролном групом биљака, док је специфична дужина финог корена износила  $1410,3 \pm 125,81$  cm и била је 1,3 пута мања мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака;

- укупна дужина корена храста китњака, инфицираног са *P. ×serendipita* је износила  $295,1 \pm 21,08$  cm и била је  $\sim 2,9$  пута мања и статистички значајно различита у поређењу са контролном групом биљака;
- најмање агресивна врста према биљкама храста китњака је била *P. polonica* и није се разликовала у више параметара у односу на контролну групу.

## 10. ЛИТЕРАТУРА

1. ABAD G. Z., ABAD J. A., COFFEY M. D., OUDEMANS P. V., MAN IN'T VELD W. A., DE GRUYTER H., CUNNINGHAM J., LOUWS F. J. (2008): *Phytophthora bisheria* sp. nov., a new species identified in isolates from the Rosaceous raspberry, rose and strawberry in three continents. *Mycologia* 100: 99-110.
2. ABAD G. Z. (2014): The Taxonomy of *Phytophthora*: What is done and what is needed for the correct identification and diagnostics of species in the Genus. In: 7th International Union of Forest Research Organisations, IUFRO Working Party 7-02-09 Meeting, *Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems, Esquel, Chubut. Patagonia, Argentina, November, 10 – 14, 2014. pp. 28.
3. ADL S. M., SIMPSON A. G. B., FARMER M. A., ANDERSEN R. A., ANDERSON O. R., BARTA J. R., BOWSER S. S., BRUGEROLLE G., FENSOME R. A., FREDERICQ S., JAMES T. Y., KARPOV S., KUGRENS P., KRUG J., LANE C. E., LEWIS L. A., LODGE J., LYNN D. H., MANN D. G., MCCOURT R. M., MENDOZA L., MOESTRUP O., MOZLEY-STANDRIDGE S. E., NERAD T. A., SHEARER C. A., SMIRNOV A.V., SPIEGEL F. W., TAYLOR M. F. J. R. (2005): The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J. Eukaryot. Microbiol.* 52: 399–451.
4. ADL S. L., SIMPSON A. G. B., LANE C. E., LUKEŠ J., BASS D., BOWSER S. S., BROWN M. W., BURKI F., DUNTHORN M., HAMPL V., HEISS A., HOPPENRATH M., LARA E., LEE GALL L., LYNN D. H., MCMANUS H., MITCHELL E. A. D., MOZLEY-STANRIDGE S. E., PARFREY L. W., PAWLOWSKI J., RUECKERT S., SHADWICK L., SCHOCH C. L., SMIRNOW A., SPIEGEL F. W. (2012): The revised Classification of Eukaryotes. *J. Eucaryot. Microbiol.* 59 (5): 429-493.
5. AGHIGHI S., HARDY, G.E.St.J., SCOTT J.K. AND BURGESS T.I. (2012): *Phytophthora bilorbang* sp. nov., a new species associated with the decline of *Rubus anglocandicans* (European blackberry) in Western Australia. *European Journal of Plant Pathology* 133 (4): 841-855.
6. AGRIOS G. N. (2005): *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press.

7. AKILLI S., ULUBAŞ SERÇE Ç., KATIRCIOĞLU Y. Z., MADEN S. (2012): *Phytophthora citrophthora*, a new pathogen causing decline on horse chestnut in Turkey. *Forest Pathology* 42: 299–304.
8. AKILLI S., ULUBAŞ SERÇE Ç., KATIRCIOĞLU Y. Z., MADEN S. (2013 a): *Phytophthora* dieback on narrow leaved ash in the Black Sea region of Turkey. *Forest Pathology* 43: 252–256.
9. AKILLI S., ULUBAŞ SERÇE Ç., KATIRCIOĞLU Y. Z., MADEN S. (2013 b): Does *Pythium anandrum* contribute to the dieback of sessile oak (*Quercus petraea*) in Turkey? *Forest Pathology* 43 (6): 505–508.
10. AMPUERO J., LATORRE B. A., TORRES R. (2008): Identification of *Phytophthora cryptogea* as the Cause of Rapid Decline of Petunia (*Petunia × hybrida*) in Chile. *Plant Disease* 92 (11): 1529-1536.
11. BAKONYI J., NAGY Z. A., BURGESS T., SZIGETHY A., NECHWATAL J., KOLTAY A., WOODWARD S., BELBAHRI L., JUNG T. (2012): Characterization of the two informally designated ITS Clade 6 taxa *Phytophthora* taxon Forestsoil and *P. sp. hungarica*. In: 6th International Union of Forest Research Organisations, IUFRO Working Party 7-02-09 Meeting, Córdoba, Spain, September, 9 – 14, 2012. pp. 83.
12. BALCI Y., BALCI S., EGGERS J., MACDONALD W. L., JUZWIK J., LONG R., GOTTSCHALK K. W. (2006): First Report of *Phytophthora europaea* in Oak Forests in the Eastern and North-Central United States. *Plant Disease* 90 (6): 827-827.
13. BALCI Y., BALCI S., MACDONALD W. L., GOTTSCHALK K. W. (2008): Relative susceptibility of oaks to seven species of *Phytophthora* isolated from oak forest soils. *Forest Pathology* 38: 394-409.
14. BALCI Y., HALMSCHLAGER E. (2003 a): Incidence of *Phytophthora* species in oak forests in Austria and their possible involvement in oak decline. *Forest Pathology* 33: 157–174.
15. BALCI Y., HALMSCHLAGER E. (2003 b): *Phytophthora* species in oak ecosystems in Turkey and their association with declining oak trees. *Plant Pathology* 52: 694–702.

16. BALDAUF S. L., ROGER A. J., WENK-SIEFERT I., DOOLITTLE W. F. (2000): A kingdom-level phylogeny of eukaryotes based on combined protein data. *Science* 290: 972–977.
17. БАНКОВИЋ С., МЕДАРЕВИЋ М., ПАНТИЋ Д., ПЕТРОВИЋ Н. (2009): Национална инвентура шума Републике Србије. Прво издање, Министарство Пољопривреде, Шумарства и Водопривреде, Републике Србије-Управа за Шуме. Планета принт, Београд.
18. BEAKES G.W., GLOCKLING S.L, SEKIMOTO S. (2012): The evolutionary phylogeny of the oomycete "fungi". *Protoclasma* 249: 3–19.
19. BEAKES G. W., THINES M., HONDA D. (2015): Straminipile “Fungi” – Taxonomy. In: eLS. John Wiley and Sons, Ltd: Chichester, p. 1–9.
20. BELBAHRI L., MORALEJO E., CALMIN G., OSZAKO T., GARCIA J. A., DESCALS E., LEFORT F. (2006): *Phytophthora polonica*, a new species isolated from declining *Alnus glutinosa* stands in Poland. *FEMS Microbiology Letters* 261: 165-174.
21. BEZUIDENHOUT C.M., DENMAN S., KIRK S.A., BOTHA W.J., MOSTERT L., MCLEOD A. (2010): *Phytophthora* taxa associated with cultivated *Agathosma*, with emphasis on the *P. citricola* complex and *P. capensis* sp. nov. *Persoonia* 25: 32–49.
22. BLAIR, J.E., COFFEY, M.D., PARK, S.Y., GEISER, D.M., KANG, S.C., (2008): A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genet. Biol.* 45: 266–277.
23. BRASIER C. M. (1975): Stimulation of sex organ formation in *Phytophthora* by antagonistic species of *Trichoderma*. *New Phytologist* 74 (2): 195-198.
24. BRASIER C. M. (2008): The biosecurity threat to the UK and global environment from international plant trade. *Plant Pathology* 57: 792–808.
25. BRASIER C. M., COOKE D. E. L., DUNCAN J. M., HANSEN E. M. (2003): Multiple new phenotypic taxa from trees and riparian ecosystems in *Phytophthora gonapodyides* – *P. megasperma* ITS Clade 6, which tend to be high-temperature tolerant and either inbreeding or sterile. *Mycological Research* 107: 277–290.
26. BRASIER C. M., JUNG T. (2006): Recent developments in *Phytophthora* diseases of trees and natural ecosystems in Europe. In: *Progress in Research on*



- Phytophthora Diseases of Forest Trees. Proc. 3rd Int. IUFRO Working Party 7.02.09 Meeting, Freising, Germany, September 11 – 17, 2004. Ed. by Brasier C. M., Jung T., Osswald W. Farnham, UK: Forest Research, pp. 5–16.
27. BRASIER C. M., KIRK S. A., DELCAN J., COOKE D. E. L., JUNG T., MAN IN'T VELD W. A. (2004): *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. *Mycological Research* 108 (10): 1172-1184.
  28. BRASIER C. M., STROUTS R. G. (1975): New records of *Phytophthora* on trees in Britain, I. *Phytophthora* root rot and bleeding cankers of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). Forest Research Station, Alice Holt Lodge, Farnham, Surrey, England, 130-136.
  29. BRASIER C.M. (2009): *Phytophthora* biodiversity: how many *Phytophthora* species are there? In: *Phytophthoras in Forests and Natural Ecosystems* (eds.: E.M. Goheen, S.J. Frankel). Albany, USDA Forest Service. General Technical Report, PSW-GTR-221, 101–115.
  30. BRASIER C. M., BEALES P. A., KIRK S. A., DENMAN S., ROSE J. (2005): *Phytophthora kernoviae* sp. nov., an invasive pathogen causing bleeding stem lesions on forest trees and foliar necrosis of ornamentals in Britain . *Mycological Research* 109: 853-859.
  31. BUDDIN W. (1938): Root rot, shoot rot and shanking of tulip caused by *Phytophthora cryptogea* Pethybr. and Laff. and *P. erythro-septica* Pethybr. *Annals of Applied Biology* 25(4): 705-729.
  32. BULAJIĆ A., DJEKIĆ I., JOVIĆ J., KRNJAJIĆ S., VUČUROVIĆ A., KRSTIĆ B. (2010): *Phytophthora ramorum* occurrence in ornamentals in Serbia. *Plant Disease* 94: 703-708.
  33. BURKI F., SHALCHIAN-TABRIZI K., MINGE M., SKJAEVELAND A., NIKOLAEV S. I., JAKOBSEN K. S., PAWLOWSKI J. (2007): Phylogenomics reshuffles the eukaryotic supergroups. *PLoS ONE* 2: 790.
  34. BURKI F., SHALCHIAN-TABRIZI K., PAWLOWSKI J. (2008): Phylogenomics reveals a new ‘megagroup’ including most photosynthetic eukaryotes. *Biol Lett* 4: 366–369.

35. CALVANO T. P., BLATZ P. J., VENTO T. J., WICKES B. L., SUTTON D. A., THOMPSON E. H., WHITE C. E., RENZ E. M., HOSPENTHAL D. R. (2011): *Pythium aphanidermatum* infection following combat trauma. *Journal of Clinical Microbiology* 49 (10): 3710-3713.
36. CAVALIER-SMITH T. (1981): Eukaryote kingdoms: seven or nine? *BioSystems* 14: 461-481.
37. CAVALIER-SMITH T. (1986): The kingdom Chromista: origin and systematics. In: Round F. E. and Chapman D. J. (ed.) *Progress in Phycological Research*. Bristol Biopress, vol. 4, pp. 309-347.
38. CAVALIER-SMITH T. (1999): Principles of Protein and Lipid Targeting in Secondary Symbiogenesis: Euglenoid, Dinoflagellate, and Sporozoan Plastid Origins and the Eukaryote Family Tree. *J. Eukaryot. Microbiol.* 46 (4): 347-366.
39. CAVALIER-SMITH T. (2002): The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of Protozoa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 297–354.
40. CAVALIER-SMITH T., CHAO E. E.-Y. (2006): Phylogeny and megasystematics of phagotrophic Heterokonts (Kingdom Chromista). *J. Mol. Evolution* 62: 388-420.
41. CLAVO-BADO L. C., PETTITT T. R., PARSONS N., PETCH G. M., MORGAN J. A. W., WHIPPS J. M. (2003): Spatial and temporal analysis of the microbial community in slow sand filters used for treating horticultural irrigation water. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 2116-2125.
42. COOKE D. E. L., DRENTH A., DUNCAN J. M., WAGELS G., BRASIER C. M. (2000): A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. *Fungal Genetics and Biology*, 30: 17–32.
43. CORCOBADO T., CUBERA E., PÉREZ-SIERRA A., JUNG T., SOLLA A. (2010): First report of *Phytophthora gonapodyides* involved in the decline of *Quercus ilex* in xeric conditions in Spain. *New Disease Reports* 22: 33.
44. DE COCK A. W. A. M., LÉVESQUE A. C. (2004): New species of *Pythium* and *Phytophthora*. *Studies in Mycology* 50: 481-487.

45. DICE L. R. (1945): Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species. *Ecology* 26 (3): 297–302.
46. ĐOROVIĆ M., LETIĆ LJ. (2002): Merenje nivoa podzemnih voda na području šumskog gazdinstva "Sremska Mitrovica" tokom 2000-2001. godine. *Glasnik Šumarskog fakulteta, Univerzitet u Beogradu - Šumarskifakultet, Beograd* 86: 103-109.
47. EICHORN J. (1992): Wurzeluntersuchungen an sturmgeworfenen Bäumen in Hessen. *Forst un Holz* 47: 555-559.
48. ÉRSEK T., NAGY Z. Á. (2008): Species hybrids in the genus *Phytophthora* with emphasis on the alder pathogen *Phytophthora alni*: a review. *Eur. Jour. of Plant Pathology* 122: 31-39.
49. ÉRSEK T., MAN IN 'T VELD W. A. (2013): *Phytophthora* species Hybrids: a novel threat to crops and natural ecosystems. In: Lamour K. (eds) *Phytophthora A Global Perspective*. CABI, Plant protection series; 2, 37-47.
50. ERWIN D. C., RIBEIRO O.K. (1996): *Phytophthora* diseases worldwide. APS Press, American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
51. Evans H., Oszako T. 2006. Alien Invasive Species and International Trade. Forest Research Institute-IBL, Sekocin Stary, Poland, pp. 65.
52. FELSENSTEIN J. (1985): Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
53. FLEISCHMANN F., GÖTTLEIN A., RODENKIRCHEN H., LÜTZ C., OSSWALD W. F. (2004): Biomass, nutrient and pigment content of beech (*Fagus sylvatica*) saplings infected with *Phytophthora citricola*, *P. cambivora*, *P. pseudosyringae* and *P. undulata*. *Forest Pathology* 34: 79–92.
54. FLEISCHMANN F., SCHNEIDER D., MATYSSEK R., OSSWALD W. F. (2002): Investigations on Net CO<sub>2</sub> assimilation, transpiration and root growth of *Fagus sylvatica* infested with four different *Phytophthora* species. *Plant Biology* 4: 144–152.
55. GALLEGLY M. E., HONG C. X. (2008): *Phytophthora*: Identifying species by morphology and DNA fingerprints. St Paul, Minnesota: APS Press. p. 158.
56. GINETTI B., MORICCA S., SQUIRES J. N. COOKE D. E. L. RAGAZZI A., JUNG T. (2013): *Phytophthora acerina* sp. nov., a new species causing bleeding

- cankers of *Acer pseudoplatanus* trees in planted forests in northern Italy. *Plant Pathology* 63 (4): 858-876.
57. GLAVENDEKIĆ M. M., MEDAREVIĆ J. M. (2010): Insect defoliators and their influence on oak forests in the Djerdap National Park, Serbia. *Archive of Biological Science* 62 (4): 1137-1141.
  58. ГЛАВЕНДЕКИЋ М. (2005): Улога инсеката дефолијатора и патогена корена *Phytophthora quercina* H.S. Jung у сушењу храстових шума. Шумарство-УШИТС, бр. 3: 97-106.
  59. ГОЛУБОВИЋ ЋУРГУЗ В., МИЛЕНКОВИЋ И., СИКОРА К. (2014): Значај трахеомикозних гљива у процесу сушења стабала храста у србији. Шумарство-УШИТС, бр 3-4: 35-48.
  60. GOLUBOVIĆ ĆURGUZ, V., KARADŽIĆ, D. (2000): Health state of oaks in Serbia. Лесотехнически Университет юбилеен сборник научни доклади. 75 години Висше лесотехническо образование в Българија: Горско стопанство, Софија pp. 245-253.
  61. GOODALL D. W. (1973): Sample Similarity and Species Correlation. In: R.H. Whittaker (ed.) 536 .*Ordination and Classification of Communities*. W. Junk, New York, NY., pp. 105-156.
  62. GRÜNWARD N. J., WERRES S., GOSS E. M., TAYLOR C. R., FIELAND V. J. (2011): *Phytophthora obscura* sp. nov., a new species of the novel *Phytophthora* subclade 8d. *Plant Pathology* 61 (3): 610-622.
  63. HALL G. (1993): An integrated approach to the analysis of variation in *Phytophthoranicotianae* and redescription of the species. *Mycological Research* 97: 559–574.
  64. HANSEN E. M, REESER P., SUTTON W. (2007): The *Phytophthora* Species Known as “Pg chlamydo”. In: *Phytophthoras in Forests and Natural Ecosystems*. Proc. of the Fourth Meeting of the International Union of Forest Research Organizations (IUFRO) Working Party S07.02.09 August 26–31, 2007 (eds.: E. M. Goheen and S. J. Frankel), Monterey, California, 284-287.
  65. HANSEN E. M., DELATOUR C. (1999): *Phytophthora* species in oak forests of north-east France. *Ann. Sc. For.* 56: 539–547.

66. HANSEN E., GRUNWALD N., BRASIER C., REESER P., SIMS L., SUTTON W. (2014): Introducing...*Phytophthora chlamydospora* (née *P.* taxon Pgchlamydo), *P. obrutafolium* (née *P.* taxon oaksoil) and *P.* “himalsylva-like” (née *P.* taxon ceanothus). In: 7th International Union of Forest Research Organisations, IUFRO Working Party 7-02-09 Meeting, *Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems, Esquel, Chubut. Patagonia, Argentina, November, 10 – 14, 2014. poster, pp. 30.
67. HARTMANN G., BLANK R., KUNCA A. (2006): Collar rot of *Fagussylvatica* caused by *Phytophthora cambivora*: damage, site relations and susceptibility of broadleaf hosts. In: Progress in Research on *Phytophthora* Diseases of Forest Trees. Proc. 3rd Int. IUFRO Working Party 7.02.09 Meeting, Freising, Germany, September 11–17, 2004 (eds.: C.M. Brasier, T. Jung, W. Osswald). Forest Research, Farnham, UK, 135–138.
68. HENRICOT B., PÉREZ SIERRA A., JUNG T. (2014): *Phytophthora pachypleura* sp. nov., a new species causing root rot of *Aucuba japonica* and other ornamentals in the United Kingdom. *Plant Pathology* 63 (5): 1095-1109.
69. HO H. H., ZENTMYER G. A., ERWIN D. C. (1977): Morphology of sex organs of *Phytophthora cambivora*. *Mycologia* 69 (3): 641-646.
70. HOLUB V., ČERNÝ K., STRNADOVÁ V., MRÁZKOVÁ M., GREGOROVÁ B., GABRIELOVÁ Š. (2010): The survey of some factors affecting bark lesion development caused by *Phytophthora cactorum* on common beech and other broadleaved trees. *Journal of Forest science* 56 (3): 93-100.
71. HONG C. X., GALLEGLY M. E., RICHARDSON P. A., KONG P., MOORMAN G. W. (2008 a): *Phytophthora irrigata*, a new species isolated from irrigation reservoirs and rivers in Eastern United States of America. *FEMS Microbiol. Letters* 285: 203-211.
72. HONG C. X., RICHARDSON P. A., KONG P. (2008 b): Pathogenicity to ornamental plants of some existing species and new taxa of *Phytophthora* from irrigation water. *Plant Dis* 92: 1201–1207.
73. HONG C. X., GALLEGLY M. E., BROWNE G. T., BHAT R., RICHARDSON P. A., KONG P. (2009): The avocado subgroup of *Phytophthora citricola* constitutes a distinct species, *Phytophthora menzei* sp. nov. *Mycologia* 90: 833–840.

74. HONG C. X., GALLEGLY M. E., RICHARDSON P. A., KONG P., MOORMAN G. W. (2010): *Phytophthora hydropathica*, a new pathogen identified from irrigation water, *Rhododendron catawbiense* and *Kalmia latifolia*. *Plant pathology* 59: 913-921.
75. HONG C. X., GALLEGLY M. E., RICHARDSON P. A., KONG P. (2011): *Phytophthora pini* Leonian resurrected to distinct species status. *Mycologia* 103: 351-360.
76. HULVEY J., GOBENA D., FINLEY L., LAMOUR K. (2010 a): Co-occurrence and genotypic distribution of *Phytophthora* species recovered from watersheds and plant nurseries of eastern Tennessee. *Mycologia* 102: 1127–1133.
77. HULVEY J., TELLE S., NIGRELLI L., LAMOUR K., THINES M. (2010 b): Salisapilliacae – a new family of oomycetes from marsh grass litter of southeastern North America. *Persoonia* 25: 109-116.
78. ILIEVA E., MAN IN'T VELD W. A., VEENBAAS-RIJKS W., PIETERS R. (1998): *Phytophthora multivesiculata*, a new species causing rot in *Cymbidium*. *European journal of Plant Pathology* 104: 677-684.
79. IOOS R., PANABIÈRES F., INDUSTRI B., ANDRIEUX A., FREY P. (2007): Distribution and expression of elicitor genes in the interspecific hybrid Oomycete *Phytophthora alni*. *Applied and Environmental Microbiology* 73 (17): 5587-5597.
80. JOVIĆ N., TOMIĆ N., JOVIĆ D. (1991): Tipologija šuma. Šumarski fakultet, Univerziteta u Beogradu, p. 246.
81. JUNG T. (2009): Beech decline in Central Europe driven by the interaction between *Phytophthora* infections and climatic extremes. *Forest Pathology* 39: 73–94.
82. JUNG T., BLASCHKE H. (1996): *Phytophthora* root rot in declining forest trees. *Phyton (Austria)* 36: 95–102.
83. JUNG T., BLASCHKE H., NEUMANN P. (1996): Isolation, identification and pathogenicity of *Phytophthora* species from declining oak stands. *European Journal of Forest Pathology* 26: 253–272.

84. JUNG T., BLASCHKE H., OBWALD W. (2000): Involvement of soilborne *Phytophthora* species in Central European oak decline and the effect of site factors on the disease. *Plant Pathology* 49: 706–718.
85. JUNG T., BLASCHKE M. (2004): *Phytophthora* root and collar rot of alders in Bavaria: distribution, modes of spread and possible management strategies. *Plant Pathology* 53: 197–208.
86. JUNG T., BURGESS T. I. (2009): Re-evaluation of *Phytophthora citricola* isolates from multiple woody hosts in Europe and North America reveals a new species, *Phytophthora plurivora* sp. nov. *Persoonia* 22: 95–110.
87. JUNG T., COLQUHOUN I. J., HARDY G. E. ST. J. (2013 a): New insights into the survival strategy of the invasive soilborne pathogen *Phytophthora cinnamomi* in different natural ecosystems in Western Australia. *Forest Pathology*, 43: 266–288.
88. JUNG T., COOKE D. E. L, BLASCHKE H., DUNCAN J. M., OBWALD W. (1999): *Phytophthora quercina* sp. nov., causing root rot of European oaks. *Mycological Research* 103: 785–798.
89. JUNG T., HANSEN E. M., WINTON L., OBWALD W., DELATOUR C. (2002): Three new species of *Phytophthora* from European oak forests. *Mycological Research* 106: 397–411.
90. JUNG T., HUDLER G. W., JENSEN-TRACY S. L., GRIFFITHS H. M., FLEISCHMANN F., OBWALD W. (2005): Involvement of *Phytophthora* spp. in the decline of European beech in Europe and the USA. *Mycologist* 19: 159–166.
91. JUNG T., NECHWATAL J. (2008): *Phytophthora gallica* sp. nov., a new species from rhizosphere soil of declining oak and reed stands in France and Germany. *Mycological Research* 112: 1195–1205.
92. JUNG T., NECHWATAL J., COOKE D. E. L., HARTMANN G., BLASCHKE M., OBWALD W. F., DUNCAN J. M., DELATOUR C. (2003): *Phytophthora pseudosyringae* sp. nov., a new species causing root and collar rot of deciduous tree species in Europe. *Mycological Research* 107: 772–789.
93. JUNG T., STUKELY M. J., HARDY G. E., WHITE D., PAAP T., DUNSTAN W. A., BURGESS T. I. (2011): Multiple new *Phytophthora* species from ITS Clade 6

associated with natural ecosystems in Australia: evolutionary and ecological implications. *Persoonia* 26: 13-39.

94. JUNG T., VANNINI A., BRASIER C. M. (2007): Progress in Understanding *Phytophthora* Diseases of Trees in Europe 2004–2007. In: *Phytophthoras in Forests and Natural Ecosystems*. Proc. of the Fourth Meeting of the International Union of Forest Research Organizations (IUFRO) Working Party S07.02.09 August 26–31, 2007 (eds.: E. M. Goheen and S. J. Frankel), Monterey, California, 3-24.
95. JUNG T., VETTRAINO A. M., CECH T., VANNINI A. (2013 b): The impact of invasive *Phytophthora* species on European forests. In: Lamour K. (eds) *Phytophthora A Global Perspective*. CABI, Plant protection series; 2, 146-158.
96. JÖNSSON U., LUNDBERG L., SONESSON K., JUNG T. (2003 a): First records of soilborne *Phytophthora* species in Swedish oak forests. *Forest Pathology* 33: 175-179.
97. JÖNSSON U., JUNG T., ROSENGREN U., NIHLGÅRD B., SONESSON K. (2003 b): Pathogenicity of Swedish isolates of *Phytophthora quercina* to *Quercus robur* in two different soils. *New Phytologist* 158: 355-364.
98. JÖNSSON U., JUNG T., SONESSON K., ROSENGREN U. (2005): Relationships between *Quercus robur* health, occurrence of *Phytophthora* species and site conditions in Southern Sweden. *Plant Pathology* 54: 502-511.
99. JÖNSSON-BELYAZIO U., ROSENGREN U. (2006): Can *Phytophthora quercina* have a negative impact on mature pedunculate oaks under field conditions? *Ann. For. Sci.* 63: 661-672.
100. KAMOUN S., HUITEMA E., VIEESHOUWERS V. G. A. A. (1999): Resistance to oomycetes: a general role for the hypersensitive response? *Trends in plant science perspectives* 4 (5): 196-200.
101. КАРАЦИЋ Д. (2010): Шумска фитопатологија. Универзитет у Београду-Шумарски факултет, 1-774.
102. КАРАЦИЋ Д. (2012): Улога и значај патогених гљива у сушењу букве у Србији. Шумарство-УШИТС, бр 1-2: 1-16.



103. КАРАЦИЋ Д., МИХАЈЛОВИЋ Љ., МИЛАНОВИЋ С., СТАНИВУКОВИЋ З. (2011): Приручник Извештајне и Дијагнозно Прогнозне Службе. Шумарски факултет, Универзитета у Бања Луци и Агенција за шуме републике Српске, 1-517.
104. KARADŽIĆ D., MILANOVIĆ S., RADULOVIĆ Z., OBRADOVIĆ S. (2012): The important parasitic *Nectria* species and their role in killing trees of *Fagus* in Serbia and Republic of Srpska. In: Forestry Science and Practice for the purpose of sustainable development of forestry – 20 Years of the Faculty of forestry in Banja Luka, 1th-4th November 2012, Banja Luka, Republic of Srpska/BiH, Book of Abstracts, p. 66.
105. КАРАЦИЋ Д., МИХАЈЛОВИЋ Љ., ГОЛУБОВИЋ-ЋУРГУЗ В., МИЛЕНКОВИЋ И., МИЛАНОВИЋ С. (2013): Најзначајније болести и штеточине у изданацким шумама сладуна и цера. Обнављање храстових шума-Обнављање шума сладуна и цера, Зборник радова, Октобар 2013, Београд, 79-100.
106. KEČA N., KARADŽIĆ D., WOODWARD S. (2009): Ecology of *Armillaria* species in managed forests and plantations in Serbia. *Forest Pathology* 39 (4): 217-231.
107. KIRK P.M., CANNON P.F., MINTER D.W., STALPERS J.A. (2008): Dictionary of the Fungi. 10<sup>th</sup> Edition. CAB International, Oxon, UK, 1771.
108. KONG P., HONG C. X., RICHARDSON P. A., GALLEGLY M. E. (2003): Single-strand-conformation polymorphism of ribosomal DNA for rapid species differentiation in genus *Phytophthora*. *Fungal Genet Biol* 39: 238–249.
109. KOVACS J., LAKATOS F., SZABO I. (2012): The Role of *Phytophthora* Species in the Decline of Black Walnut Stands. International Scientific Conference on Sustainable Development and Ecological Footprint. Sopron, Hungary, 26-27 March 2012, pp. 1-5.
110. KREBS C. (1989): *Ecological Methodology*. Harper Collins, New York.
111. KROON L. P. N. M. (2010): The genus *Phytophthora*; phylogeny, speciation and host specificity. Thesis Wageningen University, Wageningen, 1-184.
112. KROON L. P. N. M., BAKKER F. T., VAN DEN BOSCH F. T., BONANTS P. J. M., FLIER W. G. (2004): Phylogenetic analyses of *Phytophthora* species based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Fungal Genetics and Biology* 41: 766-782.

113. KROON L. P. N. M., BROUWER H., DE COCK A. W. A. M., GOVERS F. (2012): The genus *Phytophthora* anno 2012. *Phytopathology* 102 (4) 348-364.
114. LATIJNHOUWERS M., DE WIT J. G. M. P., GOVERS F. (2003): Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants. *Trends in Microbiology* 11(10): 462-469.
115. LEONIAN L.H. (1925): Physiological studies on the genus *Phytophthora*. West. Virginia Agriculture Experiment Station Scientific Paper 11: 444-498.
116. ЛЕТИЋ Љ., НИКИЋ З., НИКОЛИЋ В., КНЕЖИЋ Б. (2013): Истраживање нивоа подземних вода на подручју ШГ „Сремска Митровица“ у току 2012. године. Извештај о резултатима осматрања. Универзитет у Београду-Шумарски факултет, Београд. Београд.
117. ЛЕТИЋ Љ., САВИЋ Р., НИКОЛИЋ В., ЛОЗЈАНИН Р. (2014): Утицај мелиоративних радова на стање шума храста лужњака у Равном Срему. Шумарство, УШИТС, Београд, 3-4: 117-129.
118. LUDWIG J. A., REYNOLDS J. F. (1988): Statistical ecology: a primer of methods and computing. Wiley Press, New York, New York. 337 pp.
119. MAN IN' T VELD W., DE COCK A. W. A. M., SUMMERBELL R. C. (2007): Natural hybrids of resident and introduced *Phytophthora* species proliferating on multiple new hosts. *European Journal of Plant Pathology* 117: 25-33.
120. MAN IN' T VELD W., ROSENDAHL K. C. H. M. (2012): *Phytophthora* ×*serendipita* sp. nov. and *P.* ×*pelegrandis*, two destructive pathogens generated by natural hybridization. *Mycologia* 104 (6): 1390-1396.
121. MARÇAIS B. and BRÉDA N. (2006): Role of an opportunistic pathogen in the decline of stressed oak trees. *Journal of Ecology* 94: 1214–1223.
122. MARINKOVIĆ P., KARADŽIĆ D. (1985): *Nectria coccinea* (Pers. ex Fr.) Fries uzrok sušenja bukve u Srbiji. *Zaštita bilja* 36 (3), br 173: 262-272.
123. MARGALEF R. (1951): Role des entomotraces dans la régénération des phosphates. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 11: 246-247.
124. MARTIN F. N. (2013): Molecular identification of *Phytophthora*. In: Lamour K. (eds) *Phytophthora A Global Perspective*. CABI, Plant protection series; 2, 19-27.

125. MARTIN F. N., BLAIR J. E., COFFEY M. D. (2014): A combined mitochondrial and nuclear multilocus phylogeny of the genus *Phytophthora*. *Fungal Genetics and Biology* 66: 19–32.
126. MCCUNE B., GRACE J. (2002): *Analysis of Ecological Communities*. Mjrn Software Design.
127. MIHAJLOVIĆ LJ. (2008): *Šumarska entomologija*. Univerzitet u beogradu-Šumarski fakultet.
128. MILANOVIĆ S., LAZAREVIĆ J., KARADŽIĆ D., MILENKOVIĆ I., JANKOVSKÝ L., VULETA A., SOLLA A. (2015): Belowground infections of the invasive *Phytophthora plurivora* pathogen enhance the suitability of red oak leaves to the generalist herbivore *Lymantria dispar*. *Ecological Entomology* 40 (2): DOI: 10.1111/een.12193
129. MILENKOVIĆ I., KEČA N. (2010): Role of *Phytophthora* Species in declining of Oak Forests in Serbia. *First Serbian Forestry Congress under slogan: "Future with Forests*, Faculty of Forestry, Belgrade, Serbia, 11-13 November 2010, Proceedings, pp. 1669-1678.
130. MILENKOVIC I., KECA N., JUNG T. (2011 a): Symptoms associated with *Phytophthora* species in forest ecosystems in Serbia. COST Action FP0801 Established and Emerging Phytophthora: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe. Program and abstracts of the Management Committee and Working Groups Meeting. 21-22 November 2011, Budapest, Hungary, p. 28.
131. MILENKOVIĆ I., KEČA N., JUNG T. (2011 b): Simptomi pojave *Phytophthora* vrsta na šumskom i parkovskom drveću u Srbiji (Different type of *Phytophthora* symptoms on forest and park trees in Serbia). Društvo za zaštitu bilja Srbije, XI Savetovanje o Zaštiti Bilja. Zlatibor, Srbija, od 28. novembra do 3. decembra 2011. Zbornik rezimeza, p. 54.
132. MILENKOVIC I., KECA N., LETIC LJ. NIKOLIC V. (2011 c): Presence of *Phytophthora* Species in alluvium of Sava River. *The XVI Congress of European Mycologists. Halkidiki, Porto Carras, 19-23 September 2011, Book of abstracts*, pp. 145.

133. MILENKOVIĆ I., KEČA N., KARADŽIĆ D., NOWAKOWSKA J. A., BORYS M., SIKORA K., OSZAKO T. (2012 a): Incidence of *Phytophthora* species in beech stands in Serbia. *Folia Forestalia Polonica*, series A 2012, Vol. 54 (4): 223-232.
134. MILENKOVIC I., KECA N., NOWAKOWSKA J., SIKORA K., BORYS M., OSZAKO T., JUNG T. (2012 b): *Phytophthora* species in Serbia. In: 6th International Union of Forest Research Organisations, IUFRO Working Party 7-02-09 Meeting, Córdoba, Spain, September, 9th - 16th, 2012. p. 57.
135. MILENKOVIĆ I., KEČA N., ZLATKOVIĆ M., NOWAKOWSKA J. A., OSZAKO T., KARADŽIĆ D. (2013): Pojava *Phytophthora* vrsta na području gazdinske jedinice „Turjak-Vršine“. *Glasnik Šumarskog fakulteta* 108: 109-128.
136. MILENKOVIĆ I., NOWAKOWSKA J. A., OSZAKO T., MLADENOVIĆ K., LUČIĆ A., RAKONJAC LJ., KARADŽIĆ D. (2014): Morphological and molecular identification of *Phytophthora* species from maple trees in Serbia. *Genetika* 46 (2), 553-568.
137. MOSTOWFIZADEH-GHALAMFARSA R., PANABIERES F., BANIHASHEMI Z., COOKE D. E. L. (2010): Phylogenetic relationship of *Phytophthora cryptogea* Pethybr. and Laff and *P. drechsleri* Tucker. *Fungal Biol.* 114: 325-339.
138. MRÁZKOVÁ M., ČERNÝ K., TOMAŠOVSKÝ M., STRANDOVA V. (2011): *Phytophthora plurivora* T.Jung&T.I. Burgess and other *Phytophthora* species causing important diseases of Ericaceous plants in the Czech Republic. *Plant Protect. Sci.* 47 (1): 13-19.
139. MUNTANOLA-CVETKOVIĆ M. M. (1990): *Opšta Mikologija*. Naučna knjga, Beograd, 1-320.
140. MURGUÍA M., VILLASEÑOR J.L. (2003): Estimating the effect of the similarity coefficient and the cluster algorithm on biogeographic classifications. *Ann. Bot. Fennici.*40: 415–421.
141. NAGEL J. H., GRYZENHOUT M., SLIPPERS B., WINGFIELD M. J., HARDY G. E., STUKELY M. J. BURGESS T. I. (2013): Characterization of *Phytophthora* hybrids from ITS clade 6 associated with riparian ecosystems in South Africa and Australia. *Fungal Biology* 117: 329-347.
142. NÄVEKE P., MEYER H. (1990): Feinwurzelsysteme unterschiedlich geschädigter Eichen im Lappwald. *Allgemeine Forstzeitschrift* 33: 382-4.

143. NECHAWATAL J., MENDGEN K. (2006): Widespread detection of *Phytophthora* taxon Salixsoil in the littoral zone of lake Constance, Germany. *European Journal of Plant Pathology* 114: 261-264.
144. NECHAWATAL J., BAKONYI J., CACCIOLA S. O., COOKE D. E. L., JUNG T., NAGY Z. A., VANNINI A., VETTRAINO A. M., BRASIER, C. M. (2012): The morphology, behaviour and molecular phylogeny of *Phytophthora* taxon Salixsoil and its redesignation as *Phytophthora lacustris* sp. nov. *Plant Pathology* 62: 355–369.
145. NEI M., KUMAR S. (2000): *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, new York.
146. NELSON A., WEILAND G. E., HUDLER G. (2010): Prevalence, distribution and identification of *Phytophthora* species from bleeding cankers on European beech. *Phytopathology* 28 (3): 150-158.
147. NELSON S. C., ABAD Z. G. (2010): *Phytophthora morindae*, a new species causing black flag disease on noni (*Morinda citrifolia* L) in Hawaii. *Mycologia*, 102 (1): 122-134.
148. НИКИЋ З., ЛЕТИЋ Љ., НИКОЛИЋ В., ФИЛИПОВИЋ В. (2010): Поступак прорачуна режима нивоа подземних вода на станишту храста лужњака у Равном Срему. *Гласник Шумарског Факултета, Београд* 101: 125-138.
149. NEWHOOK F. J., WATERHOUSE G. M., STAMPS D. J. (1978): Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers* 43.
150. НОВОТЕЛЬНОВА Н. С. (1974): Фитофторовые грибы (Сем *Phytophthoraceae*). Академия Наук, Ленинград, СССР, 1-206.
151. ODUM E. P., BARRETT G. W. (2005): *Fundamentals of Ecology*. 5th edition, Belmont, CA: Thomson/Brooks-Cole, p.1-598.
152. OLSON H. A., CARBONE I., BENSON D. M. (2011): Phylogenetic History of *Phytophthora cryptogea* and *P. drechsleri* Isolates from Floriculture Crops in North Carolina Greenhouses. *Phytopathology* 101 (11): 1373-1384.
153. ORLIKOWSKI L. B., OSZAKO T. (2005): *Phytophthora cambivora* on *Alnus glutinosa*: isolation and colonisation of plants. *Journal of Plant Protection Research* 45 (4): 267-272.

154. ORLIKOWSKI L. B., OSZAKO T., SZKUTA G. (2006): First record on *Phytophthora* spp. Associated with the decline of European beech in south-west Poland. *Phytopathol. Pol.* 42: 37-46.
155. ORLIKOWSKI L. B., TRZEWIKA., ORLIKOWSKA T. (2007): Water as potential source of *Phytophthora citricola*. *J. Plant Prot. Res.* 47: 125–132.
156. ORLIKOWSKI L.B., PTASZEK M., RODZIEWICZ A., NECHWATAL J., THINGGAARD K., JUNG T. (2011): *Phytophthora* root and collar rot of mature *Fraxinus excelsior* in forest stands in Poland and Denmark. *Forest Pathology* 41 (6): 510-519.
157. OSZAKO T. (2000): Oak declines in Europe's forests-history, causes and hypothesis. Recent advances on Oak health in Europe, Forest Research Institute, Warsaw, 11-40.
158. OSZAKO T., DELATOUR C. (2000): Recent advances on Oak health in Europe, Forest Research Institute, Warsaw, 1-281.
159. OUDEMANS P., FORSTER H., COFFEY M. D. (1994): Evidence for distinct isozyme subgroups within *Phytophthora citricola* and close relationships with *P. capsici* and *P. citrophthora*. *Mycol Res* 98: 189–199.
160. OBWALD W., FLEISCHMANN F., RIGLING D., COELHO A. C., CRAVADOR A., DIEZ J., DALIO R. J., HORTA JUNG M., PFANZ H., ROBIN C., SIPOS G., SOLLA A., CECH T., CHAMBERY A., DIAMANDIS S., HANSEN E., JUNG T., ORLIKOWSKI L. B., PARKE J., PROSPERO S., WERRES S. (2014): Strategies of attack and defence in woody plant-*Phytophthora* interactions. *Forest Pathology* 44: 169-190.
161. PARTRIDGE-METZ S., CHANDRA A. (2011): Culture Media Influence on vegetative growth and *In vitro* conidia production of *Magnaporthe oryzae*. *J. Cell and Plant Sci.* 2 (3), 9-11.
162. PATTERSON D. J. (1999): The Diversity of Eukaryotes. *The American Naturalist*, Vol. 154, No. S4, Evolutionary Relationships Among Eukaryotes A Symposium Organized by Laura A. Katz (Guest Editor) and Mitchell L. Sogin (October 1999), pp. 96-124.

163. PÉREZ-SIERRA A., JUNG T. (2013): *Phytophthora* in woody ornamental nurseries. In: Lamour K. (eds) *Phytophthora A Global Perspective*. CABI, Plant protection series; 2, 166-177.
164. PERNEK M., ŽUPANIĆ M., DIMINIĆ D., CECH T. (2011): Vrste roda *Phytophthora* na bukvi i topolama u Hrvatskoj. *Šumarski list – poseban broj* (2011): 130-137.
165. PETZ B. (1985): Osnovne statističke metode za matematičare. SNL, Zagreb, 235-258.
166. PORTZ R. L., FLEISCHMAN F., KOEHL J., FROMM J., ERNST D., PASCHOLATI S. F., OSSWALD W. F. (2011): Histological, physiological and molecular investigations of *Fagus sylvatica* seedlings infected with *Phytophthora citricola*. *Forest Pathology* 41: 202-211.
167. RADULOVIĆ Z., KARADŽIĆ D., MILENKOVIĆ I., MILANOVIĆ S. (2012): Most common diseases of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). *International Scientific Conference Forests in the Future – Sustainable Use, Risks and Challenges, 4-5 October 2012, Belgrade, Republic of Serbia, Proceedings*, pp. 675-682.
168. РАДУЛОВИЋ З. (2013): Најчешће микозе и псеудомикозе на питомом кестену у Србији са посебним освртом на *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Var. Универзитет у Београду-Шумарски факултет, докторска дисертација у рукопису.
169. REESER P. W., HANSEN E. M., SUTTON W., REMIGI P., ADAMS G. C. (2011): *Phytophthora* species in forest streams in Oregon and Alaska. *Mycologia* 103: 22–35.
170. RIBEIRO O. K. (2013): A historical perspective of *Phytophthora*. In: Lamour K. (eds) *Phytophthora A Global Perspective*. CABI, Plant protection series 2, 1-10.
171. ROSENBAUM J. (1917): Studies of the Genus *Phytophthora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 3: 159-163.
172. RYTKÖNEN A. (2011): *Phytophthora* in Finnish nurseries. *Dissertationes Forestales* 137, Helsinki University Print, Helsinki, 1-38.

173. SCHMITZ S., ZINI J., CHANDELIER A. (2007): Involvement of *Phytophthora* species in the decline of beech (*Fagus sylvatica*) in the southern part of Belgium. Poster presented at the 4th International IUFRO Working Party 7.02.09 Meeting on *Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems, Monterrey, California, 26th-31st August, 2007, pp. 320-323.
174. SCOTT P.M., BURGESS T.I., BARBER P.A., SHEARER B.L., STUKELY M.J.C., HARDY G. E. S. J., JUNG T. (2009): *Phytophthora multivora* sp. nov., a new species recovered from declining Eucalyptus, Banksia, Agonis and other plant species in Western Australia. *Persoonia* 22: 1–13.
175. SCOTT P. M., BURGESS T. I., HARDY G. E. S. J. (2013): Globalization and *Phytophthora*. In: Lamour K. (eds) *Phytophthora A Global Perspective*. CABI, Plant protection series; 2, 226-232.
176. SNEATH P. H. A., SOKAL R. R. (1973): *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco.
177. SØRENSEN T. (1948): A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species and its application to analyses of the vegetation on Danish commons". *Kongelige Danske Videnskabernes Selskab* 5 (4): 1–34.
178. STAMPS D. J., WATERHOUSE G. M., NEWHOOK F. J., HALL G. S. (1990): Revised tabularkey to the species of *Phytophthora*. CAB International Mycological Institute, Kew, Surrey, Mycol Pap 162: 28.
179. TAMURA K., NEI M., KUMAR S. (2004): Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101: 11030-11035.
180. TAMURA K., STECHER G., PETERSON D., FILIPSKI A., KUMAR S. (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 *Molecular Biology and Evolution* 30: 2715-2729.
181. THINES M. (2013): Taxonomy and Phylogeny of *Phytophthora* and Related Oomycetes. In: Lamour K. (eds) *Phytophthora A Global Perspective*. CABI, Plant protection series; 2, 11-18.
182. THOMPSON J. D., HIGGINS D. G., GIBSON T. J. (1994): CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence



- weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Research* 22(22): 4673-4680.
183. VAN POUCKE K., MAES M., HEUNGENS K. (2013): Genetic variability of *Phytophthora* × *serendipita* and pathogenicity on *Rhododendron*. *Acta Phytopathologica Sinica*, Vol. 43: 482
  184. VANNINI A., VETTRAINO A. M. (2001): Ink disease in chestnuts: impact on the European chestnut. *For.Snow Landsc. Res.* 76 (3): 345-350.
  185. VETTRAINO A. M., NATILI G., ANSELMINI N., VANNINI A. (2001): Recovery and pathogenicity of *Phytophthora* species associated with a resurgence of ink disease in *Castanea sativa* in Italy. *Plant pathology* 50: 90-96.
  186. VETTRAINO A. M., BARZANTI G. P., BIANCO M. C., RAGAZZI A., CAPRETTI P., PAOLETTI E., LUISI N., ANSELMINI N., VANNINI A. (2002): Occurrence of *Phytophthora* species in oak stands in Italy and their association with declining oak trees. *Forest Pathology* 32: 19–28.
  187. WATERHOUSE G. M. (1963): Key to the species of *Phytophthora* de Bary. CAB International Mycological Institute, Kew, Surrey Mycol. Papers No. 92: 22
  188. WATERHOUSE G. M. (1970): The genus *Phytophthora* de Bary. *Mycol Pap* 122: 1–59.
  189. WEBSTER J., WEBER R. W. S. (2007): Introduction to Fungi. Third Edition. Cambridge University Press, The Edinburgh Bul., Cambridge CB2 8RU, UK, 1-841.
  190. WEILAND G. E., NELSON A. H., HUDLER G. W. (2010): Aggressiveness of *Phytophthora cactorum*, *P. citricola* I and *P. plurivora* from European beech. *Plant Disease* 94 (8): 1009-1014.
  191. WHITTAKER R. H. (1972): Evolution and measurement of species diversity. *Taxon* 21: 213-251.
  192. WHITE T.J., BRUNS T., LEE S., TAYLOR J. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocols: a guide to methods and applications (eds.: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White). Academic Press, San Diego, California, USA, 315–322.

193. WEBER-SCHRINK M. L, CHAN K. L. (2007): The role of aluminium in slow sand filtration. *Water Research* 41 (6): 1350-1354.
194. WOHANKA W. (1995): Disinfection of recirculating nutrient solution by slow sand filtration. *Act Horticulturae*, 382: 246-255.
195. YANG X., COPES W. E., HONG C. X. (2013): *Phytophthora mississippiae* sp. nov., a new species recovered from irrigation reservoirs at a plant nursery in Mississippi. *Journal. of Plant Pathol. and Microbiol.* 4: 180 doi:10.4172/2157-7471.1000180
196. YANG X., HONG C. X. (2013): *Phytophthora virginiana* sp. nov., a high temperature tolerant species from irrigation water in Virginia. *Mycotaxon* 126: 167-176.
197. YANG X., COPES W. E., HONG C. X. (2014 a): Two novel species representing a new clade and cluster of *Phytophthora*. *Fungal Biology* 118 (1): 72-82.
198. YANG X., TYLER B. M., HONG C. (2014 b): A new multi-locus phylogeny for the genus *Phytophthora*. In: 7th International Union of Forest Research Organisations, IUFRO Working Party 7-02-09 Meeting, *Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems, Esquel, Chubut. Patagonia, Argentina, November, 10 – 14, 2014. pp. 29.
199. YANG X., RICHARDSON P. A., HONG C. (2014 c): *Phytophthora* ×*stagnum* nothosp. nov., a New Hybrid from Irrigation Reservoirs at Ornamental Plant Nurseries in Virginia. *PLoS ONE* 9(7): e103450. doi:10.1371/journal.pone.0103450.
200. ZHANG Z., SCHWARTZ S., WAGNER L., MILLER W. (2000): A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal of Computational Biology*, 7 (1/2): 203-214.

## ПРИЛОЗИ

### Прилог А Appendix A

Узорци из шумских екосистема- локалитети, домаћини, присуство симптома, датум сакупљања, порекло узорка и изоловане врсте

Samples from forest ecosystems- Localities, hosts, presence of symptoms, date of sampling, origin of samples and isolated species

Бр. No	Локалитет/ГЈ/ одељење Locality/Management Unit/department	Датум сакупљања Date of sampling	Домаћин Host	Присуство симптома Presence of symptoms	Узорак Sample	Позитивни узорци и добијени изолати Positive samples and obtained isolates
1	Фрушка Гора	2009/10	<i>Quercus petraea</i>	Одум. грана	Земља	-
2	Сремчица	2009/10	<i>Quercus robur</i> 1	Прор. круне	Земља	2009/Q.R.01=P.que*
3	Сремчица	2009/10	<i>Quercus robur</i> 2	Прор. круне	Земља	2009/Q.R.02=P.plu*; 2009/Q.R.03=Ph.spp.*
4	Сремчица	2009/10	<i>Quercus robur</i> 3	Прор. круне	Земља	-
5	Липовица, управа	2009/11	<i>Quercus frainetto</i>	Нема симпт.	Земља	2009/Q.F.01=P.que
6	Липовица	2009/11	<i>Quercus cerris</i>	Нема симпт.	Земља	-
7	Лозница, Борања	2009/11	<i>Q. petraea</i> 1	Нема симпт.	Земља	-
8	Лозница, Борања	2009/11	<i>Q. petraea</i> 2	Нема симпт.	Земља и корење	2009/Q.R.04=P.plu
9	Моровић, 9.	2009/11	<i>Quercus robur</i>	Некроза коре	Ткиво	-
10	Моровић, ВЖП 12	2009/11	<i>Quercus robur</i>	Некроза коре	Ткиво	-
11	Моровић, ВЖП 13.	2009/11	<i>Quercus robur</i>	Некроза коре	Ткиво	-
12	Моровић	2009/11	<i>Quercus robur</i>	Некроза коре	Земља и корење	2009/Q.R.05=Pyth.spp.
13	Трстеник, прив.	2009/11	<i>Q. frainetto</i>	Некроза коре	Ткиво	-
14	Трстеник, прив.	2009/11	<i>Carpinus betulus</i>	Нема симпт.	Земља	-
15	Трстеник, прив.	2009/11	<i>Prunus avium</i>	Нема симпт.	Земља	-
16	Трстеник	2009/11	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља и корење	2009/F.S.01=P.plu; 2009/F.S.02=P.spp.
17	Трстеник	2009/11	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	-
18	Београд, Кошутњак	2010/4	<i>Quercus frainetto</i>	Одум. грана	Земља и корење	2010/Q.F.01=P.plu; 2010/Q.F.02=Ph.spp.
19	Београд, Кошутњак	2010/4	<i>Quercus frainetto</i>	Одум. грана	Земља и корење	2010/Q.F.03=Pyth.spp.
20	Дебели луг, 60.	2010/5	<i>Quercus petraea</i> 1	Одум. врха	Земља и корење	2010/Q.P.01=P.cac; 2010/Q.P.02=Pyth.spp.
21	Дебели луг, 60.	2010/5	<i>Quercus petraea</i> 2	Нема симпт.	Земља и корење	-
22	Дебели луг	2010/5	<i>Acer spp.</i>	Некроза коре	Ткиво	-
23	Дебели луг, 60.	2010/5	<i>Quercus petraea</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2010/Q.P.03=Pyth.spp.
24	Дебели луг, 60.	2010/5	<i>Salix caprea</i>	Некроза коре	Ткиво	-
25	Дебели луг, 60.	2010/5	<i>Salix caprea</i>	Некроза коре	Ткиво	-
26	Дебели луг, 61.	2010/5	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
27	Дебели луг, 61	2010/5	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Прор. круне	Земља и корење	2010/F.S.01=P.plu
28	Дебели луг (Фељешана)	2010/5	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
29	Дебели луг	2010/5	<i>Sorbus torminalis</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
30	Дебели луг	2010/5	<i>Fagus sylvatica</i> 3	Прор. круне	Земља и корење	-
31	Београд, Кошутњак	2010/9	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Некроза коре	Ткиво	2010/A.P.01=P.plu 1; 2010/A.P.02=P.plu 2

32	Београд, Кошутњак	2010/9	<i>Quercus petraea</i>	Одум. грана	Земља и корене	2010/Q.P.04=P.plu
33	Београд, Кошутњак	2010/9	<i>Q. petraea</i> 2	Одум. грана	Земља и корене	2010/Q.P.05=Pyth.spp.; 2010/Q.P.06=Ph.spp.
34	Београд, Кошутњак	2010/9	<i>Q. petraea</i> 3	Жут. лишћа	Земља и корене	2010/Q.P.07=Pyth.spp.; 2010/Q.P.08=Ph.spp.
35	Трстеник, Т. шуме	2010/10	<i>Q. frainetto</i> 1	Нема симпт.	Земља	2010/Q.F.04=Ph.spp.
36	Трстеник, Т. шуме	2010/10	<i>Q. petraea</i>	Нема симпт.	Земља	-
37	Трстеник, Т. шуме	2010/10	<i>Q. frainetto</i> 2	Жут. лишћа	Влажна земља	2010/Q.F.Blato05=P.gon
38	Трстеник, Т. шуме	2010/10	<i>Q. petraea</i> 1	Прор. круне	Вода	-
39	Трстеник, Т. шуме	2010/10	<i>Q. petraea</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
40	Трстеник, Т. шуме	2010/10	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	-
41	Трстеник, Т. шуме	2010/10	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Влажна земља	2010/F.S.Blato.02=P.plu; 2010/FS.Blato.03=Ph.spp.
42	Лазаревац	2010/10	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Нема симпт.	Земља и корене	2010/F.A.01=P.plu 1;
43	Лазаревац	2010/10	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Некроза коре	Ткиво	-
44	Лазаревац	2010/10	<i>Fraxinus</i> sp. + <i>Quercus robur</i>	Прор. круне	Земља и корене	2010/F.A.02=P.plu 2; 2010/F.A.03=P.plu 3
45	Лазаревац	2010/10	<i>Fraxinus</i> sp.+ <i>Quercusrobur</i> + <i>Acer</i> spp.	Прор. круне	Земља	2010/F.A.04=P.plu; 2010/F.A.05=ph.spp.
46	Београд, Кошутњак	2010/10	<i>Q. petraea</i>	Нема симпт.	Земља	2010/Q.P.09=Pyth.spp.
47	Липовица / Сремчица	2010/11	<i>Q. frainetto</i>	Прор. круне	Влажна земља	-
48	Липовица / Сремчица	2010/11	<i>Q. cerris</i>	Нема симпт.	Земља и корене	2010/Q.C.01=Pyth.spp.
49	Липовица / Сремчица	2010/11	<i>Sorbus torminalis</i>	Нема симпт.	Земља	2010/S.T.01=Pyth.spp.
50	Липовица / Сремчица	2010/11	<i>Q. frainetto</i> 2	Нема симпт.	Влажна земља	-
51	Липовица / Сремчица	2010/11	<i>Fagus/Quercus</i> Шумски поточић	Нема симпт.	Вода	2010/Q.F.06=P.cac.; 2010/Q.F.07=Ph.spp.
52	Липовица / Сремчица	2010/11	<i>Q. petraea</i> 3	Прор. круне	Земља	2010/Q.P.10=Pyth.spp.
53	Липовица / Сремчица	2010/11	<i>Q. frainetto</i> 4	Одум. врха	Земља	-
54	Липовица / Сремчица	2010/11	<i>Ilex aquifolium</i>	Некр. лишћа	Ткиво	2010/I.A.01=Pyth.spp.
55	Кошутњак	2010/11	Мали водоток <i>Quercus frainetto</i>	Нема симпт.	Влажна земља	-
56	Кошутњак	2010/11	<i>Quercus frainetto</i> + <i>Quercus petraea</i>	Нема симпт.	Земља и корене	2010/MIX.01=P.serend; 2010/MIX.02=P.serend
57	Кошутњак	2010/11	<i>Quercus petraea</i>	Некроза коре	Ткиво	2010/Q.P.11=P.plu
58	Липовица	2011/3	<i>Quercus petraea</i>	Одум. грана	Земља	2011/Q.P.01=Pyth.spp.
59	Липовица	2011/3	<i>Prunus avium</i>	Нема симпт.	Земља	-
60	Липовица	2011/3	<i>Q. cerris</i>	Нема симпт.	земља	-
61	Авала, Улаз	2011/3	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Одум. грана	Земља	2011/A.P.01=P.plu; 2011/A.P.02=P.plu
62	Авала, Улаз	2011/3	<i>Q. petraea</i>	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.P.02=P.plu
63	Авала, Улаз	2011/3	<i>Q. petraea</i> 1	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.P.03=Pyth.spp:
64	Авала, Улаз	2011/3	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/A.P.03=P.plu; 2011/A.P.04=P.cac
65	Авала, Улаз	2011/3	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/A.P.05=P.plu; 2011/A.P.06=Ph.spp.
66	Авала, Улаз	2011/3	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
67	Авала, Улаз	2011/3	<i>Q. petraea</i>	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.P.04=Pyth.spp.; 2011/Q.P.05=P.plu
68	Бубањ поток, 13	2011/4	<i>Acer pseudoplatanus</i> 1	Одум. врха	Земља и	2011/A.P.07=P.plu;

					корене	2011/A.P.08=Ph.spp.
69	Бубањ поток, 13	2011/4	<i>Acer pseudoplatanus</i> 2	Прор. круне	Земља и корене	2011/A.P.09=P.plu
70	Бубањ поток, 13	2011/4	<i>Acer pseudoplatanus</i> 3	Одум. грана	Земља и корене	2011/A.P.10=P.plu
71	Бубањ поток, 17	2011/4	Блато и вода из потока који протиче кроз ове састојине	Нема симпт.	Блато и вода	2011/MIX.01=P.plu; 2011/MIX.02=P.gon; 2011/MIX.03=Ph.spp. (P.lac)
72	Кленак ГВО 81 а	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.01=P.plu; 2011/Q.R.02=P.que
73	Кленак ГВО 81 а	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.03=P.plu; 2011/Q.R.04=P.lac
74	Кленак ГВО 81 а	2011/4	<i>Quercus robur</i> + <i>Carpinus betulus</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/Q.R.05=P.que;
75	Кленак ГВО 81 а	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Прор. круне	Земља	2011/Q.R.06=P.plu;
76	Кленак ГВО 81 а	2011/4	<i>Quercus robur</i> 1	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.07=P.plu;
77	Кленак ГВО 81 а	2011/4	<i>Quercus robur</i> 2	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.08=Pyth.spp.;
78	Кленак ГВО 81 а	2011/4	<i>Quercus robur</i> 3	Одум. врха	Земља	2011/Q.R.09=Phytopyth.
79	Кленак ГВО 105 к	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i> 1	Одум. врха	Земља и корене	2011/F.A.01=P.plu; 2011/F.A.02=P.lac
80	Кленак ГВО 105 к	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i> 2	Прор. круне	Земља	2011/F.A.03=P.lac
81	Кленак ГВО 105 к	2011/4	<i>Carpinus betulus</i>	Нема симпт.	Земља	2011/C.B.01=P.plu
82	Кленак ГВО 105 к	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i> 3	Одум. врха	Земља	2011/F.A.04=P.plu; 2011/F.A.05=P.lac
83	Кленак ГВО 105 к	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i> + <i>Carpinus betulus</i>	Нема симпт.	Земља	2011/F.A.06=Pythium/Phytopythium spp.
84	Кленак ГВО 26 а	2011/4	<i>Quercus robur</i> + <i>Fraxinus angustifolia</i>	Прор. круне	Земља	2011/Q.R.11=P.lac; 2011/Q.R.12=P.plu
85	Кленак ГВО 26 а	2011/4	<i>Quercus robur</i> + <i>Fraxinus angustifolia</i>	Прор. круне	Земља	2011/Q.R.13=P.plu; 2011/Q.R.14=P.gon
86	Кленак ГВО 26 а	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.15=P.que
87	Кленак ГВО 24 ф	2011/4	<i>Quercus robur</i> + <i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. врха	Земља и корене	-
88	Кленак ГВО 24 ф	2011/4	<i>Quercus robur</i> + <i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. врха	Вода	2011/Q.R.16=Pyth.spp
89	Кленак ГВО 24 ф	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. врха	Земља и корене	2011/F.A.07=P.plu
90	Кленак ГВО 24 ф	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. врха	Земља и корене	2011/F.A.08=P.plu
91	Кленак ГВО 24 ф	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Нема симпт.	Земља	2011/F.A.09=P.lac
92	Кленак ГВО 24 ф	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Прор. круне	Земља	2011/F.A.10=P.lac 2011/F.A.11=P.gon
93	Гоч	2011/5	<i>Fagus sylvatica</i> + <i>Abies alba</i> , поток	Нема симпт.	Вода и влажна земља	2011/Fa-Ab.01=P.pgchl 2011/Fa-Ab.02=P.pgchl
94	Гоч	2011/5	<i>Fagus sylvatica</i> + <i>Abies alba</i> , поток	Нема симпт.	Вода	2011/Fa-Ab.03=Ph.spp.
95	Гоч	2011/4	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/F.S.01=Mort. 2011/F.S.02=Mort.
96	Вишњићево ВЦЦ 60 ф	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. грана	Земља и корене	2011/F.A.12=P.plu
97	Вишњићево ВЦЦ 60 ф	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. грана	Земља и корене	2011/F.A.13=Pyth.spp
98	Вишњићево ВЦЦ 60 ф	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Жут. лишћа	Земља и корене	2011/F.A.14=P.lac
99	Моровић Блата М. 27 г	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.17=Pyth.spp
100	Моровић Блата М. 27 г	2011/4	<i>Quercus robur</i> 2	Одум. врха	Земља	-
101	Моровић Блата М. 27 г	2011/4	<i>Quercus robur</i> 3	Одум. врха	Земља	2011/Q.R.18=Pyth.spp.

102	Моровић НВЛ 13 а	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Нема симпт.	Земља	-
103	Моровић Р. Смогвица 13 а	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Одум. грана	Земља	-
104	Моровић Р. Смогвица 13 а	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља	-
105	Моровић Р. Смогвица 13 а	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља	-
106	Вишњићево В.Ж. 17 б	2011/4	<i>Quercus robur</i> 1	Прор. круне	Земља и корене	-
107	Вишњићево В.Ж. 17 б	2011/4	<i>Quercus robur</i> 2	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.19=P.que; 2011/Q.R.20=P.plu
108	Вишњићево В.Ж. 17 б	2011/4	<i>Quercus robur</i> 3	Одум. врха	Земља	2011/Q.R.21=Phyt.spp.
109	Вишњићево С.Г.Г. 13 а	2011/4	<i>Quercus robur</i> 1	Прор. круне	Земља и корене	2011/Q.R.22=P.plu 2011/Q.R.23=P.que
110	Вишњићево С.Г.Г. 13 а	2011/4	<i>Quercus robur</i> 2	Прор. круне	Земља	2011/Q.R.24=P.plu
111	Вишњићево В.Ж. 39 е	2011/4	<i>Quercus robur</i> 1	Жут. лишћа	Земља и корене	2011/Q.R.25=P.plu
112	Вишњићево В.Ж. 39 е	2011/4	<i>Quercus robur</i> 2	Одум. грана	Земља и корене	2011/Q.R.26=P.plu
113	Вишњићево В.Ж. 39 е	2011/4	<i>Quercus robur</i> 3	Нема симпт.	Земља	2011/Q.R.27=Pyth.spp.
114	Вишњићево В.Ж. 20 г	2011/4	<i>Quercus robur</i> 1	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.28=P.eur; 2011/Q.R.29=P.plu
115	Вишњићево В.Ж. 20 г	2011/4	<i>Quercus robur</i> 2	Одум. врха	Земља	2011/Q.R.30=P.eur
116	Вишњићево В.Ж. 20 г	2011/4	<i>Quercus robur</i> 3	Одум. врха	Земља (1 метар)	2011/Q.R.31=P.eur
117	Вишњићево В.Ж. 60 а	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Прор. круне	Земља	2011/F.A.15=P.plu
118	Вишњићево В.Ж. 60 а	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. врха	Земља и корене	2011/F.A.16=Pyth.spp.
119	Вишњићево В.Ж. 60 а	2011/4	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
120	Купиново К. Греде 49 х	2011/4	<i>Quercus robur</i> 1	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.32=P.que; 2011/Q.R.33=P.pol 2011/Q.R.33=P.pol
121	Купиново К. Греде 49 х	2011/4	<i>Quercus robur</i> 2	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.34=P.pol; 2011/Q.R.35=P.pol 2011/Q.R.33=P.pol
122	Купиново К. Греде 49 х	2011/4	<i>Quercus robur</i> 3	Одум. врха	Земља и корене	2011/Q.R.36=P.plu; 2011/Q.R.33=P.pol 2011/Q.R.33=P.pol
123	Купиново К.Греде 22 а (подмладак)	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Нема симпт.	Земља	2011/Q.R.38=P.plu
124	Купиново К.Греде 22 а (подмладак)	2011/4	<i>Quercus robur</i>	Нема симпт.	Земља	2011/Q.R.39=Pyth.spp; 2011/Q.R.40=P.plu
125	Купиново К.Греде 22 а (подмладак)	2011/4	Блато из баре	Нема симпт.	Влажна земља и блато	2011/Blato.01=P.lac; 2011/Blato.02=Ph.spp.
126	Купиново Ј. Белило 23 ц	2011/4	<i>Quercus robur</i> + <i>Fraxinus angustifolia</i> + <i>Carpinus betulus</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/Q.R.41=P.lac; 2011/C.B.02=Ph.spp.
127	Авала	2011/4	<i>Fagus sylvatica</i> 1	Прор. круне	Земља и корене	-
128	Авала, 24	2011/4	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Прор. круне	Земља и корене	2011/F.S.03=P.cam
129	Авала, 24	2011/4	<i>Fagus sylvatica</i> 3	Прор. круне	Земља и корене	2011/F.S.04=P.cam; 2011/F.S.05=P.plu
130	Авала, 24	2011/4	<i>Fagus sylvatica</i> 4	Прор. круне	Земља и корене	-
131	Авала	2011/4	<i>Quercus petraea</i>	Нема симпт.	Земља	2011/Q.P.06=Pyth.spp.
132	Авала	2011/4	<i>Sorbus torminalis</i>	Нема симпт.	Земља	2011/ST.01=Pyth.spp.
133	Авала	2011/4	<i>Quercus petraea</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
134	Обедска бара	2011/5	<i>Juglans regia</i> 1	Прор. круне	Земља и	2011/J.R.01=P.cac;

	Ивица шуме				корене	2011/J.R.02=P.cac
135	Обедска бара Ивица шуме	2011/5	<i>Juglans regia</i> 2	Прор. круне	Земља и корене	2011/J.R.03=P.plu
136	Обедска бара	2011/5	<i>Malus sylvestris</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/M.S.01=P.plu; 2011/M.S.02=P.cac
137	Кленак-Сава Приобални део	2011/5	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. врха	Влажна земља	2011/F.A.17=P.lac; 2011/F.A.18=P.gon
138	Кленак-Сава Приобални део	2011/5	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Влажна земља	2011/Q.R.42=P.plu; 2011/Q.R.43=P.lac
139	Кленак Г.В.О. 17 б	2011/5	<i>Quercus robur</i> + <i>Carpinus betulus</i>	Прор. круне	Влажна земља	2011/Q.R.44=P.que; 2011/C.B.03=P.plu
140	Кленак Г.В.О. 17 б	2011/5	<i>Quercus robur</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/Q.R.45=P.que
141	Кленак Г.В.О. 25 б	2011/5	<i>Quercus robur</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/Q.R.46=P.que
142	Кленак Г.В.О. 25 б	2011/5	<i>Quercus robur</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/Q.R.47=P.plu
143	Купиново К. Греде 49 х	2011/6	<i>Fraxinus angustifolia</i> 1	Одум. врха	Земља и корене	2011/F.A.19=P.lac; 2011/F.A.19/1=P.lac
144	Купиново К. Греде 49 х	2011/6	<i>Fraxinus angustifolia</i> 2	Одум. грана	Влажна земља	2011/F.A.20=P.lac
145	Купиново К. Греде 22 а (Подмладак)	2011/6	Вода узета из баре	Нема симпт.	Вода	2011/Voda.01=Pythium/P hytopythium
146	Тимочка крајна	2011/6	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Некроза коре	Ткиво	2011/A.H.01=Ph.spp.*
147	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 1	Прор. круне	Земља и корене	2011/F.S.06=Ph.spp.*
148	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Прор. круне	Земља и корене	-
149	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 3	Жут. лишћа	Земља и корене	-
150	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 4	Прор. круне	Земља и корене	-
151	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 5	Прор. круне	Земља и корене	-
152	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 6	Прор. круне	Земља и корене	-
153	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 7	Прор. круне	Земља и корене	-
154	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 8	Нема симпт.	Земља и корене	-
155	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 9	Прор. круне	Земља и корене	-
156	Винатовача	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 10	Прор. круне	Земља и корене	2011/F.S.07=Ph.spp.*
157	Винатовача	2011/7	Вода из поточића	Нема симпт.	Вода	2011/Voda.02=Ph.spp.
158	Винатовача	2011/7	Вода и земља испод приобалних стабала	Нема симпт.	Вода и блато	2011/Voda.03=Pyth.spp.
159	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
160	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Pirus piraster</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
161	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Нема симпт.	Земља и корене	-
162	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 3	Одум. грана	Земља и корене	-
163	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 4	Прор. круне	Земља и корене	2011/F.S.08=Ph.spp.*
164	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Жут. лишћа	Земља и корене	2011/A.P.11=P.plu
165	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 5	Прор. круне	Земља и корене	-
166	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Acer campestre</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/A.C.01=P.plu*
167	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Прор. круне	Земља и корене	2011/A.P.12=Ph.spp.*
168	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 6	Прор. круне	Земља и корене	-

169	Јужни Кучај II, 48	2011/7	Вода из пооточића	Нема симпт.	Вода	-
170	Јужни Кучај II, 48	2011/7	<i>Acer platanoides</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2011/A.PL.01=P.plu*
171	Јужни Кучај II, 42	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
172	Јужни Кучај II, 41	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
173	Јужни Кучај II, 41	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Прор. круне	Земља и корење	2011/F.S.09=Ph.spp.*
174	Јужни Кучај II, 49, огледно поље I/I	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
175	Јужни Кучај, Богојево I, 46, приобална стабла	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
176	Јужни Кучај, Богојево I, 49	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Жут. лишћа	Земља и корење	-
177	Јужни Кучај, Богојево I, 26	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 1	Прор. круне	Земља и корење	-
178	Јужни Кучај, Богојево I, 26	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Прор. круне	Земља и корење	2011/F.S.10=Ph.spp.*
179	Јужни Кучај, Богојево I, 26	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 3	Нема симпт.	Земља и корење	-
180	Јужни Кучај, Богојево I, 38	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 1	Нема симпт.	Земља и корење	-
181	Јужни Кучај, Богојево I, 38	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Нема симпт.	Земља и корење	2011/F.S.11=Ph.spp.*
182	Јужни Кучај, Богојево I, 49, огледно поље I/I	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Нема симпт.	Земља и корење	-
183	Јужни Кучај, Богојево I, 49, огледно поље I/VI	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља и корење	-
184	Јужни Кучај, Богојево I, 49, огледно поље I/VIII	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља и корење	-
185	Јужни Кучај, Богојево I, 49, огледно поље I/XIX	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља и корење	2011/F.S.12=Ph.spp.*
186	Јужни Кучај, Богојево I, 49, огледно поље I/XIX	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља и корење	-
187	Јужни Кучај, Богојево I, 49	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 3	Одум. грана	Земља и корење	-
188	Јужни Кучај, Богојево I, 49, огледно поље I/XIX	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 4	Прор. круне	Земља и корење	2011/F.S.13=Ph.spp.*
189	Јужни Кучај, Богојево I, 48	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 1	Нема симпт.	Земља и корење	-
190	Јужни Кучај, Богојево I, 48	2011/7	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Прор. круне	Земља и корење	-
191	Јужни Кучај, Богојево I, 48	2011/7	Мали шумски извор	Нема симпт.	Вода и влажна земља	2011/Voda.04=Ph.spp.
192	Јастребац	2011/8	<i>Acer heldreichii</i> 1	Некроза коре	Ткиво	2011/A.HE.01=P.plu
193	Јастребац	2011/8	<i>Acer heldreichii</i> 2	Одум. врха	Земља и корење	-
194	Јастребац	2011/8	<i>Acer heldreichii</i> 3	Нема симпт.	Земља	2011/A.HE.02=P.lac
195	Јастребац	2011/8	<i>Acer heldreichii</i> 4	Одум. грана	Земља и корење	2011/A.HE.03=P.plu
196	Јастребац	2011/8	<i>Acer heldreichii</i> 5	Одум. грана	Земља и корење	-
197	Јастребац	2011/8	<i>Fagus sylvatica</i> 1	Нема симпт.	Земља и	-



					корене	
198	Јастребац	2011/8	<i>Prunus avium</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
199	Јастребац	2011/8	<i>Fagus sylvatica 2</i>	Нема симпт.	Земља и корене	2011/F.S.14=Ph.spp.*
200	Јастребац	2011/8	<i>Betula pendula</i>	Нема симпт.	Земља	-
201	Јастребац	2011/8	<i>Betula pendula 2</i>	Нема симпт.	Земља	2011/B.P.01=P.plu*
202	Јастребац	2011/8	<i>Abies alba</i>	Нема симпт.	Земља	
203	Јастребац, приобална стабла	2011/8	<i>Abies alba</i>	Нема симпт.	Вода и влажна земља	2011.Voda.05=Pyth.spp.
204	Јастребац	2011/8	<i>Abies alba + Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Вода и влажна земља	-
205	Јастребац	2011/8	<i>Prunus avium 2</i>	Жут. лишћа	Земља	2011.P.AV.01=Ph.spp.*
206	Јастребац	2011/8	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
207	Нови Пазар, Турјак, 71 б	2012/3	<i>Fagus sylvatica + Betula pendula + Salix caprea</i>	Нема симпт.	Вода и влажна земља	2012/Voda.01=P.lac; 2012/Voda.02=P.gon; 2012/Voda.03=P.plu
208	Нови Пазар, Турјак, 71 б	2012/3	<i>Fagus sylvatica 2</i>	Прор. круне	Земља и корене	2012/F.S.01=P.gon
209	Нови Пазар, Турјак, 71 б	2012/3	<i>Fagus sylvatica 3</i>	Прор. круне	Земља и корене	2012/F.S.02=P.plu; 2012/F.S.03=P.plu
210	Нови Пазар, Турјак, 71 б	2012/3	<i>Fagus sylvatica 4</i>	Прор. круне	Земља и корене	2012/F.S.04=P.plu; 2012/F.S.05=P.cam
211	Нови Пазар, Турјак, 71 б	2012/3	<i>Fagus sylvatica 5</i>	Прор. круне	Земља и корене	-
212	Нови Пазар, Турјак, 71 б	2012/3	<i>Fagus sylvatica 6</i>	Нема симпт.	Влажна земља и корене	2012/F.S.06=Pyth.spp.; 2012/F.S.08=Phytopyth.
213	Нови Пазар, Турјак, 71 б	2012/3	<i>Betula pendula</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
214	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Fagus sylvatica 7</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
215	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Pyrus pyraeaster</i>	Нема симпт.	Земља и корене	2012/P.PY.01=P.serend
216	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Pyrus pyraeaster 2</i>	Прор. круне	Земља и корене	2012/P.PY.02=P.serend
217	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Pyrus pyraeaster 3</i>	Одум. грана	Земља и корене	2012/P.PY.03=P.cac; 2012/P.PY.04=P.serend
218	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Вода и влажна земља	2012/F.S.09=P.plu; 2012/F.S.10=P.plu
219	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Quercus frainetto</i>	Нема симпт.	Земља и корене	2012/Q.F.01=P.cac; 2012/Q.F.02=P.plu
220	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Quercus cerris</i>	Нема симпт.	Земља и корене	-
221	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Quercus cerris</i>	Нема симпт.	Земља	-
222	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Quercus petraea</i>	Нема симпт.	Земља	2012/Q.P.01=P.cac
223	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Ulmus glabra</i>	Нема симпт.	Земља	-
224	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Ulmus glabra</i>	Нема симпт.	Земља	-
225	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Quercus petraea</i>	Нема симпт.	Земља	2012/Q.P.02=P.cac
226	Нови Пазар,	2012/3	<i>Alnus glutinosa</i>	Одум. врха	Вода и	2012/Voda.04=P.lac;

	Лукаре, обала				влажна земља	2012/Voda.05=P.gon
227	Нови Пазар, Лукаре, обала	2012/3	<i>Alnus glutinosa</i> 2	Некроза коре	Ткиво	2012/A.G.01=P.plu
228	Нови Пазар, Лукаре, обала	2012/3	<i>Alnus glutinosa</i> 3	Нема симпт.	Вода и влажна земља	2012/Blato.01=P.plu; 2012/Blato.02=P.plu
229	Нови Пазар, Лукаре, обала	2012/3	<i>Alnus glutinosa</i> 4	Одум. врха	Вода и влажна земља	2012/Blato.03=P.plu; 2012/Blato.04=P.plu 2012/Blato.04/1=P.cac
230	Нови Пазар, Лукаре, обала	2012/3	<i>Alnus glutinosa</i> 5	Прор. круне	Вода и влажна земља	2012/Blato.05=P.plu; 2012/Blato.06=P.gon
231	Нови Пазар, Лукаре, обала	2012/3	<i>Alnus glutinosa</i> 6	Прор. круне	Вода и влажна земља	2012/Blato.07=P.plu; 2012/Blato.08=P.plu; 2012/Blato.09=P.plu
232	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Populus tremula</i>	Нема симпт.	Земља	-
233	Нови Пазар, Мужевац Купусине	2012/3	<i>Quercus petraea</i>	Одум. грана	Земља	2012/Q.P.03=P.cac
234	Фрушка Гора	2012/4	<i>Quercus petraea</i>	Прор. круне	Земља	2012/Q.P.04=Ph.spp.
235	Фрушка Гора	2012/4	<i>Quercus petraea</i>	Прор. круне	Земља	2012/Q.P.05=P.cry; 2012/Q.P.06=P.plu
236	Фрушка Гора	2012/4	<i>Fagus sylvatica</i>	Нема симпт.	Земља	-
237	Стара планина	2012/4	<i>Fagus sylvatica</i> 1	Нема симпт.	Земља и корење	-
238	Стара планина	2012/4	<i>Fagus sylvatica</i> 2	Нема симпт.	Земља	-
239	Стара планина	2012/4	<i>Fagus sylvatica</i> 3	Нема симпт.	Земља	2012/F.S.11=Ph.spp.*
240	Трстеник, Љ.шуме, 77 б	2012/5	<i>Quercus petraea</i>	Одум. врха	Земља и корење	2012/Q.P.07=P.plu; 2012/Q.P.08=P.plu
241	Трстеник, Љ.шуме 77 б	2012/5	<i>Quercus petraea</i>	Жут. лишћа	Земља и корење	2012/Q.P.09=P.plu
242	Трстеник, Љ.шуме 77 б	2012/5	<i>Quercus frainetto</i>	Одум. грана	Земља и корење	-
243	Вршачки брег	2012/5	<i>Quercus petraea</i> 1	Нема симпт.	Земља	2012/Q.P.10=Ph.spp.*
244	Вршачки брег	2012/5	<i>Quercus petraea</i> 2	Нема симпт.	Земља	-
245	Вршачки брег	2012/5	<i>Acer platanoides</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2012/A.PL.01=P.lac.; 2012/A.PL.02=Pyth.spp.
246	Вршачки брег	2012/5	<i>Quercus petraea</i>	Одум. грана	Земља и корење	2012/Q.P.11=P.plu
247	Вршачки брег	2012/5	<i>Prunus avium</i>	Нема симпт.	Земља	2012/P.AV.01=P.plu
248	Вршачки брег	2012/5	<i>Quercus petraea</i> + <i>Carpinus betulus</i>	Нема симпт.	Земља	2012/Mix.01=Pyth.spp.; 2012/Q.P.12=Ph.spp.
249	Вршачки брег	2012/5	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Прор. круне	Земља и корење	2012/A.P.01=P.plu
250	Вршачки брег	2012/5	<i>Fraxinus excelsior</i>	Одум. врха	Земља	-
251	Вршачки брег	2012/5	<i>Fraxinus excelsior</i> + <i>Quercus petraea</i>	Жут. лишћа	Земља	2012/Mix.02=P.plu
252	Вршачки брег	2012/5	<i>Quercus petraea</i>	Одум. грана	Земља	-
253	Вишњићево ВЖ 8	2012/5	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корење	2012/Q.R.01=P.plu
254	Моровић	2012/5	<i>Pyrus pyraister</i>	Нема симпт.	Земља	2012/P.PY.05=P.plu
255	Моровић	2012/5	<i>Pyrus pyraister</i> 2	Нема симпт.	Земља	2012/P.PY.06=Ph.spp.
256	Вишњићево ВЦЦ 60	2012/5	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Жут. лишћа	Земља	2012/F.A.01=P.plu
257	Вишњићево ВЖ 17 б	2012/5	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корење	2012/Q.R.02=Phytophyt.; 2012/Q.R.03=P.que
258	Вишњићево ВЖ 17 б	2012/5	<i>Acer campestre</i>	Прор. круне	Земља и корење	2012/A.C.01=P.gon.; 2012/A.C.01/1=P.plu 2012/A.C.01/02=P.gon
259	Вишњићево ВЖ 17 б	2012/5	<i>Quercus robur</i>	Одум. грана	Земља и корење	2012/Q.R.04=P.plu
260	Вишњићево ВЖ 8 ц	2012/5	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља	2012/Q.R.05=P.plu;
261	Вишњићево ВЖ 8 ц	2012/5	<i>Quercus robur</i> 2	Некроза коре	Ткиво	

262	Моровић НВЛ 13 а	2012/5	<i>Quercus robur</i>	Прор. круне	Земља	2012/Q.R.06=Ph.spp.
263	Купиново К Греде 49 х	2012/5	<i>Fraxinus angustifolia</i> 1	Одум. врха	Земља и корене	2012/F.A.02=P.lac; 2012/F.A.03=P.gon
264	Купиново К Греде 49 х	2012/5	<i>Fraxinus angustifolia</i> 2	Одум. врха	Земља и корене	2012/F.A.04=P.plu; 2012/F.A.05=Ph.spp.
265	Купиново К Греде 49 х	2012/5	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корене	2012/Q.R.07=P.pol; 2012/Q.R.08=P.lac
266	Купиново К Греде 49 х	2012/5	<i>Fraxinus angustifolia</i> 3	Одум. грана	Земља и корене	2012/F.A.05/1=P.plu
267	Купиново К Греде 22 а (подмладак)	2012/5	<i>Quercus robur</i>	Нема симпт.	Земља	2012/Q.R.09=Pyth.spp.
268	Купиново, Ј. Белило 23	2012/5	<i>Quercus robur</i>	Прор. круне	Земља и корене	2012/Q.R.10=P.plu; 2012/Q.R.11=P.cit/pin
269	Купиново, Ј. Белило 23	2012/5	<i>Quercus robur</i>	Одум. грана	Земља и корене	2012/Q.R.12=Ph.spp (lac)
270	Купиново, Ј. Белило 23	2012/5	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. грана	Земља и корене	2012/F.A.06=P.plu
271	Купиново, Ј. Белило 23	2012/5	<i>Acer campestre</i>	Прор. круне	Земља и корене	2012/A.C.02=P.plu; 2012/A.C.03=P.plu 2012/A.C.03=P.gon
272	Купиново, Ј. Белило 23	2012/5	<i>Acer tataricum</i>	Нема симпт.	Земља и корене	2012/A.T.01=P.lac; 2012/A.T.02=Ph.spp.*
273	Купиново, Ј. Белило 23	2012/5	<i>Carpinus betulus</i>	Нема симпт.	Земља	2012/C.B.01=Ph.spp.; 2012/C.B.02=Pyth.spp.
274	Купиново, Ј. Белило 23	2012/5	<i>Fraxinus angustifolia</i> 1	Прор. круне	Земља	2012/F.A.07=P.pol; 2012/F.A.08=P.pol; 2012/F.A.09=P.lac
275	Купиново, Ј. Белило 23	2012/5	<i>Fraxinus angustifolia</i> 2	Жут. лишћа	Земља	2012/F.A.10=P.lac; 2012/F.A.11=P.pol
276	Сталаћ Јужна Морава, приобални део	2012/6	<i>Salix</i> spp.	Нема симпт.	Влажна земља	2012/Blato.10=Pyth.spp.
277	Сталаћ Јужна Морава	2012/6	Вода	Нема симпт.	Вода	2012/Voda.06=Pyth.spp.;2 012/Voda.07=Phytoph.
278	Сталаћ Јужна Морава	2012/6	Вода	Нема симпт.	Вода	-
279	Сталаћ Јужна Морава, приобални део	2012/6	<i>Juglans regia</i> 1	Некроза коре	Ткиво	2012/J.R.01=P.plu
280	Сталаћ Јужна Морава, приобални део	2012/6	<i>Juglans regia</i> 2	Некроза коре	Вода и влажна земља	2012/Voda.08=P.lac
281	Сталаћ Јужна Морава, приобални део	2012/6	<i>Juglans regia</i> 3	Некроза коре	Влажна земља	-
282	Сталаћ, Јужна Морава, приобални део	2012/6	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Нема симпт.	Земља	2012/F.A.12=P.lac
283	Сталаћ, Јужна Морава, приобални део	2012/6	<i>Ulmus campestris</i>	Нема симпт.	Земља	-
284	Сталаћ, Јужна Морава, приобални део	2012/6	<i>Alnus glutinosa</i>	Прор. круне	Вода и влажна земља	2012/Vl.zem.09=Ph.spp.
285	Сталаћ, Јужна Морава, приобални део	2012/6	<i>Alnus glutinosa</i>	Нема симпт.	Водаивлажна земља	2012/Voda.10=P.plu; 2012/Voda.11=Ph.spp.
286	Сталаћ, Јужна Морава, приобални део	2012/6	Вода и влажна земља, буква	Нема симпт.	Вода и влажна земља	2012/Voda.12=Ph.spp.; 2012/Voda.13=Pyth.spp.
287	Сталаћ, Јужна Морава, приобални део	2012/6	<i>Juglans regia</i> 4	Некроза коре	Земља	2012/J.R.02=P.plu
288	Сталаћ	2012/6	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља	-
289	Сталаћ	2012/6	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља	2012/F.S.12=Pyth.spp.
290	Сталаћ	2012/6	<i>Quercus frainetto</i>	Нема симпт.	Земља	2012/Q.F.03=Ph.spp.
291	Сталаћ	2012/6	<i>Pyrus pyraister</i>	Нема симпт.	Земља	2012/P.PY.07=Ph.spp.; 2012/P.PY.08=Ph.spp.

292	Сталаћ	2012/6	<i>Pyrus pyrastrer</i>	Одум. грана	Земља	2012/P.PY.09=P.plu
293	Сталаћ, шумски поточић	2012/6	<i>Quercus frainetto</i> + <i>carpinus betulus</i>	Нема симпт.	Земља	2012/Q.F.04=P.plu; 2012/C.B.03=Pyth.spp.
294	Моровић	2012/6	<i>Crataegus monogyna</i>	Нема симпт.	Земља	2012/C.M.01=P.cac
295	Куршумлија, Али ловица, 12	2013/9	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља и корење	2013/F.S.1=P.plu
296	Куршумлија, Али ловица, 12	2013/9	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2013/A.P.01=P.plu
297	Трстеник, Трстеничке шуме 64 а	2013/9	<i>Fagus sylvatica</i>	Одум. грана	Земља и корење	2013/F.S.02=P.plu; 2013/F.S.03=P.cam
298	Трстеник, Трстеничке шуме 64 а	2013/9	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	2013/F.S.04=P.plu
299	Трстеник, Трстеничке шуме 64 а	2013/9	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	-
300	Трстеник, Трстеничке шуме 64 а	2013/9	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	2013/F.S.05=P.plu; 2013/F.S.06=P.cam
301	Брус, Бруске Шуме, 121 б	2013/9	<i>Quercus cerris</i>	Жут. лишћа	Земља и корење	2013/Q.C.01=Ph.spp.
302	Брус, Бруске Шуме, 121 б	2013/9	<i>Quercus frainetto</i>	Прор. круне	Земља и корење	2013/Q.F.01=Ph.spp.
303	Крушевац, Срндаљска река 110 а	2013/9	<i>Quercus cerris</i>	Некроза коре	Ткиво	-
304	Блаце, Јаворац, 50	2013/9	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	2013/F.S.07=P.plu; 2013/F.S.08=Ph.spp.
305	Блаце, Јаворац 50	2013/9	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	-
306	Прокупље, Видојевица, 17 а	2013/9	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	-
307	Јаворак	2013/6	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	-
308	Јаворак	2013/6	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Ткиво	-
309	Јаворак	2013/6	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља	2013/F.S.09=P.plu
310	Јаворак	2013/6	<i>Fagus sylvatica</i>	Некроза коре	Корење	2013/F.S.10=P.plu 2013/F.S.11=P.cam
311	Ристовача	2013/9	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корење	2013/Q.R.01=P.plu; 2013/Q.R.02=P.que
312	Ристовача	2013/9	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корење	2013/Q.R.03=P.que
313	Ристовача	2013/9	<i>Quercus robur</i>	Некроза коре	Ткиво	-
314	Ристовача	2013/9	<i>Quercus robur</i>	Некроза коре	Ткиво	-
315	Купиново, К.Греде, 14	2013/9	<i>Quercus robur</i>	Одум. врха	Земља и корење	-
316	Купиново, К.Греде, 15	2013/9	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. врха	Земља и корење	2013/F.A.1=P.plu; 2013/F.A.2=P.lac
317	Купиново, Греде, 21	2013/9	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. грана	Земља и корење	-
318	Ђердап, Црни Врх, 15 д	2014/5	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља и корење	-
319	Ђердап, Црни Врх, 15 д	2014/5	<i>Fagus sylvatica</i>	Прор. круне	Земља и корење	-
Укупно позитивно узорака Total positive samples						177
Укупно добијено изолата Total number of obtained isolates						253

\*- изгубљени изолати; \*\*- идентификација изолата у току; P.cac=*P. cactorum*; P.cam=*P. cambivora*; P.cry=*P. cryptogea*; P.cit=*P. citricola*; P.citr=*P. citrophthora*; P.plu=*P. plurivora*; P.gon=*P. gonapodydes*; P.lac=*P. lacustris*; P.que=*P. quercina*; P.pin=*P. pini*; P.pgch=*P. taxon 'Pg Chlamydo'*; P.serend=*P. serendipita*; P.pol=*P. polonica*; P.eur=*P. europaee*; Ph.spp=изгубљен, неидентификован изолат; Pyth.spp= *Pythium* spp.

## Прилог Б Appendix Б

**Узорци из шумских плантажа и вештачки подигнутих састојина-** локалитети, домаћини, присуство симптома, датум сакупљања, порекло узорка и изоловане врсте  
**Samples from forest plantations and artificially established stands-** localities, hosts, presence of symptoms, date of sampling, origin of samples and isolated species

Бр No	Локалитет/Г/Ј/ одељење Locality/M. U./departeemen	Датум сакупљања Date of sampling	Домаћин Host	Присуство симптома Presence of symptoms	Узорак Sample	Позитивни узорци и добијени изолати Positive samples and obtained isolates
1	Дебели луг, Плантажа	2010/5	<i>Alnus glutinosa</i>	Нема симпт.	Земља	2010/A.G.01=Pyth.spp.
2	Дебели луг, Плантажа	2010/5	<i>Alnus glutinosa</i>	Нема симпт.	Влажна земља	2010/Blato.05=Ph.spp.
3	Дебели луг, Плантажа	2010/5	<i>Alnus glutinosa</i>	Нема симпт.	Влажна земља	2010/Blato.06=Pyth.spp.
4	Бубањ поток, Култура	2011/4	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Прор. круне	Земља и корење	2011/A.P.13=P.plu; 2011/A.P.14=P.cac
5	Бубањ поток, Култура	2011/4	<i>Pinus nigra</i>	Нема симпт.	Земља	2011/P.NI.01=Pyth.spp.
6	Бубањ поток, Култура	2011/4	<i>Corylus colurna</i>	Нема симпт.	Земља	-
7	Бубањ поток, Култура	2011/4	<i>Corylus colurna</i>	Нема симпт.	Земља	2011/C.CO.01=Pyth.spp.
8	Бубањ поток, Култура	2011/4	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Некроза коре	Ткиво	2011/A.HI.01=P.plu; 2011/A.HI.02=P.plu
9	Бубањ поток, Култура	2011/4	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прор. круне	Земља и корење	2012A.HI.03=P.cac
10	Бубањ поток, Култура	2011/4	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прор. круне	Влажна земља из поточића	2011/A.HI.Blato.03=P.plu
11	Кленак ГВО 53 д,	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Земља	2011/Pop.01=P.plu; 2011/Pop.02=P.cac
12	Кленак ГВО 53 д,	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Земља и вода	2011/Pop.03=P.lac
13	Кленак ГВО 53 д,	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Земља и вода	2011/Pop.04=P.gon
14	Кленак, ГВО 53 д, Плантажа	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Земља	2011/Pop.03=P.plu; 2011/Pop.04=P.cac
15	Кленак, ГВО 53 д, Плантажа	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Влажна земља	2011.Pop.Voda.01=P.gon
16	Кленак, ГВО 53 д, Плантажа	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Земља	-
17	Купиново, К. кут 9 ц, Плантажа	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Влажна земља	2011/Pop.Blato.01=P.gon; 2011/Pop.Blato.02=P.cac
18	Купиново, К. кут 9 ц, Плантажа	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2011/Pop.05=P.plu
19	Купиново, К. кут 9 ц, Плантажа	2011/5	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Земља и корење	20117Pop.06=Pyth.spp.
20	Купиново, К. кут 36 а, Плантажа	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Влажна земља	2011/Pop.Blato.03=P.lac
21	Купиново, К. кут 36 а, Плантажа	2011/5	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2011/Pop.07=P.plu; 2011/Pop.08=P.cac
22	Купиново, Ј. белило 24 и, Плантажа	2011/4	<i>Populus spp.</i>	Нема симпт.	Земља	-
23	НовиПазар, Турјак, 71 б, Култура	2012/3	<i>Picea abies 1</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
24	НовиПазар, Турјак, 70 а, Култура	2012/3	<i>Picea abies 2</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2012/P.Ab.01=Pyth.spp.
25	НовиПазар, Турјак, 71 д, Култура	2012/3	<i>Picea abies 3</i>	Нема симпт.	Вода	-
26	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 1	2012/4	<i>Quercus robur 1</i>	Одум. врха	Земља и корење	2012/Q.R.13=plu; 2012/Q.R.14=plu; 2012/Q.R.15=gon
27	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 1	2012/4	<i>Quercus robur 2</i>	Одум. врха	Земља и корење	2012/Q.R.16=plu; 2012/Q.R.17=plu; 2012/Q.R.18=plu
28	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 1	2012/4	<i>Quercus robur 3</i>	Одум. врха	Земља и корење	2012/Q.R.19=plu; 2012/Q.R.20=plu; 2012/Q.R.21=Ph.spp.; 2012/Q.R.22=plu
29	Фрушка Гора,	2012/4	<i>Quercus</i>	Одум. врха	Земља и	2012/Q.P.13=P.plu;

	Вештачки под. саст. 2		<i>petraea</i> 1		корeње	2012/Q.P.14=P. cry; 2012/Q.P.15=Ph.spp.
30	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 2	2012/4	<i>Quercus petraea</i> 2	Одум. врха	Земља и корeње	2012/Q.P.16=P.plu; 2012/Q.P.17=P.que; 2012/Q.P.18=P.Ph.spp.
31	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 2	2012/4	<i>Quercus petraea</i> 3	Одум. врха	Земља и корeње	2012/Q.P.19=P.syr*; 2012/Q.P.20=P.syr*
32	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 2	2012/4	<i>Quercus petraea</i> 4	Одум. врха	Земља и корeње	2012/Q.P.21=P.citr; 2012/Q.P.22=P.plu
33	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 2	2012/4	<i>Quercus petraea</i> 5	Одум. врха	Земља и корeње	-
34	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 2	2012/4	<i>Quercus petraea</i> 6	Одум. врха	Земља и корeње	2012/Q.P.23=P.syr*; 2012/Q.P.24=P.plu; 2012/Q.P.25=P.Ph.spp.
35	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 3	2012/4	<i>Quercus petraea</i> 1	Одум. врха	Земља и корeње	2012/Q.P.26=P.plu; 2012/Q.P.27=P.plu; 2012/Q.P.28=Ph.spp.
36	Фрушка Гора, Вештачки под. саст. 3	2012/4	<i>Quercus petraea</i> 2	Одум. врха	Земља и корeње	2012/Q.P.29=P.plu; 2012/Q.P.30=Ph.spp.; 2012/Q.P.31=Ph.spp.
37	Купиново, К. кут 9 ц, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Нема симпт.	Земља и корeње	2012/Pop.01=P.pin; 2012/Pop.02=P.pin; 2012/Pop.03=P.plu; 2012/Pop.04=P.lac
38	Купиново, К. кут 9 ц, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Нема симпт.	Земља	2012/Pop.05=P.lac; 2012/Pop.06=P.plu
39	Купиново, К. кут 36 а, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Нема симпт.	Земља и корeње	2012/Pop.07=P.plu; 2012/Pop.08=P.cit; 2012/Pop.09=P.cit; 2012/Pop.10=P.pin
40	Купиново, К. кут 36 а, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Нема симпт.	Земља и корeње	2012/Pop.11=P.pin/cit; 2012/Pop.12=P.pin/cit
41	Купиново, К. кут 36 а, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Нема симпт.	Земља	2012/Pop.13=P.plu; 2012/Pop.14=P.plu; 2012/Pop.15=P.pin
42	Купиново, К. кут 9 ц, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Нема симпт.	Земља	2012/Pop.16=P.plu; 2012/Pop.17=P.cit; 2012/Pop.18=P.plu/cit
43	Купиново, К. кут 9 ц, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Прор. круне	Земља	2012/Pop.19=P.plu; 2012/Pop.20=P.pin
44	Купиново, Ј. белило, 24 и, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Жут. лишћа	Земља	2012/Pop.21=P.plu; 2012/Pop.22=P.pol
45	Купиново, Ј. белило, 24 и, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Жут. лишћа	Земља	-
46	Купиново, Ј. белило 24 и, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Жут. лишћа	Земља	2012/Pop.23=P.pol; 2012/Pop.24=P.pol
47	Купиново, Ј. белило 24 и, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Прор. круне	Земља	2012/Pop.25=P.pol; 2012/Pop.26=P.plu
48	Купиново, Ј. белило 24 и, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Прор. круне	Земља и корeње	2012/Pop.27=P.plu; 2012/Pop.28=P.pol
49	Купиново, Ј. белило 24 и, Плантажа	2012/5	<i>Populus</i> spp.	Жут. лишћа	Земља и корeње	2012/Pop.29=Ph.spp.
50	Пожега, Венац-Благаја 20 ц	2014/9	<i>Picea omorika</i>	Сушење стаб.	Земља и корeње	Ph. spp.**
51	Пожега, Венац-Благаја 20 ц	2014/9	<i>Picea omorika</i>	Сушење стаб.	Земља и корeње	Ph. spp.**
52	Пожега, Венац-Благаја 20 ц	2014/9	<i>Picea omorika</i>	Сушење стаб.	Земља и корeње	Ph. spp.**
Укупно позитивно узорака Total positive samples						36
Укупно добијено изолата Total number of obtained isolates						78

\*- изгубљени изолати; \*\*- идентификација изолата у току; P.cac=*P. cactorum*; P.cry=*P. cryptogea*; P.cit=*P. citricola*; P.citr=*P. citrophthora*; P.plu=*P. plurivora*; P.gon=*P. gonapodydes*; P.lac=*P. lacustris*; P.que=*P. quercina*; P.pin=*P. pini*; P.syr=*P. syringae*; P.pol=*P. polonica*; Ph.spp=изгубљен, неидентификован изолат; Pyth.spp= *Pythium* spp.

## Прилог B Appendix B

**Узорци из расадника-** локалитети, домаћини, присуство симптома, датум сакупљања, порекло узорка и изоловане врсте

**Samples from nurseries-** localities, hosts, presence of symptoms, date of sampling, origin of samples and isolated species

Бр. N	Локалитет/расадник Locality/Nursery	Датум сакупљања Date of sampling	Домаћин Host	Присуство симптома Presence of symptoms	Узорак Sample	Позитивни узорци и добијени изолати Positive samples and obtained isolates
1	Београд, Расаdник 1	2009/11	<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	Некроза коре	Ткиво	2009/C.L.01=Pyth.spp.
2	Београд, Расаdник 1	2009/11	<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	Некроза коре	Ткиво	2009/C.L.02=Pyth.spp.
3	Београд, Расаdник 1	2009/11	<i>Thuja</i> spp.	Одум. врха	Земља	-
4	Фрушка Гора, Расаdник 2	2011/5	<i>Quercus petraea</i>	Жут. лишћа	Земља и корење	2011/Q.P.Ras.01=P.cam; 2011/Q.P.Ras.02=P.plu
5	Крушевац, Расаdник 3	2010/9	<i>Salix</i> spp.	Нема симпт.	Земља и корење	2010/Sal.01=Pyth.01
6	Крушевац, Расаdник 3	2010/9	<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2010/C.L.01=Pyth.spp.
7	Трстеник, Расаdник 4	2010/11	<i>Malus</i> spp.	Нема симпт.	Земља	-
8	Трстеник, Расаdник 4	2010/11	<i>Malus</i> spp.	Нема симпт.	Земља	2010/Mal.01=Pyth.spp.
9	Трстеник, Расаdник 4	2010/11	<i>Malus</i> spp.	Нема симпт.	Земља	2010/Mal.02=Pyth.spp.
10	Фрушка Гора, Расаdник 6	2012/4	<i>Quercus petraea</i>	Одум. врха	Земља и корење	2012/Ras.Q.P.01=P.plu; 2012/Ras.Q.P.02=P.cry; 2012/Ras.Q.P.03=P.plu; 2012/Ras.Q.P.04=P.plu
11	Фрушка Гора, Расаdник 6	2012/4	<i>Quercus robur</i>	Жут. лишћа	Земља и корење	2012/Ras.Q.R.01=P.que*; 2012/Ras.Q.R.02=Ph.spp; 2012/Ras.Q.R.03=Pyth.; 2012/Ras.Q.R.04=P.plu
12	Фрушка Гора, Расаdник 6	2012/4	<i>Quercus robur</i>	Жут. лишћа	Земља и корење	2012/Ras.Q.R.05=P.cac; 2012/Ras.Q.R.06=Ph.spp; 2012/Ras.Q.R.07=P.plu; 2012/Ras.Q.R.08=P.plu; 2012/Ras.Q.R.09=P.plu
13	Фрушка Гора, Расаdник 6	2012/4	<i>Quercus robur</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2012/Ras.Q.R.10=P.plu; 2012/Ras.Q.R.11=P.plu; 2012/Ras.Q.R.12=P.que*
14	Фрушка Гора, Расаdник 6	2012/4	<i>Quercus petraea</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2012/Ras.Q.P.05=P.cry 2012/Ras.Q.P.06=P.plu; 2012/Ras.Q.P.07=P.que*
15	Сомбор, Расаdник 7	2012/6	<i>Albicia</i> spp.	Некроза коре	Ткиво	-
16	Сомбор, Расаdник 7	2012/6	<i>Albicia</i> spp.	Одум. врха	Земља	-
17	Сомбор, Расаdник 7	2012/6	<i>Albicia</i> spp.	Одум. врха	Земља	-
Укупно позитивно узорак Total positive samples						6
Укупно добијено изолата Total number of obtained isolates						20

\*- изгубљени изолати; P.cac=*P. cactorum*; P.cam=*P. cambivora*; P.cry=*P. cryptogea*; P.cit=*P. citricola*; P.plu=*P. plurivora*; P.que=*P. quercina*; Ph.spp=изгубљен, неидентификован изолат; Pyth.spp=*Pythium* spp.

## Прилог Г Appendix Г

**Узорци из паркова и зелених површина-** локалитети, домаћини, присуство симптома, датум сакупљања, порекло узорка и изоловане врсте

**Samples from parks and green areas-** localities, hosts, presence of symptoms, date of sampling, origin of samples and isolated species

Бр. No	Локалитет/Објект Locality/Object	Датум сакупљања Date of sampling	Домаћин Host	Присуство симптома Presence of symptoms	Узорак Sample	Позитивни узорци и добијени изолати Positive samples and obtained isolates
1	Београд, Арборетум шумарског факултета	2009/9	<i>Castaneasativa</i>	Некроза коре	Ткиво	2009/C.S.01=Pyth.01
2	Београд, Арборетум шумарског факултета	2009/9	<i>Juglans regia</i>	Некроза коре	Ткиво	2009/J.R.01=Ph.spp.*
3	Београд, Кошутњак, Башта, украсно дрвеће	2009/9	<i>Thuja</i> spp.	Одум. врха	Земља	2009/TH.01=Pyth.spp.*
4	Београд, Чукарица, Украсни засади	2009/10	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Некроза коре	Ткиво	2009/A.HI.01=P.plu
5	Београд, Чукарица, Украсни засади	2010/4	<i>Prunus laurocerasus</i>	Прор. круне	Ткиво и земља	2010/P.LA.0.1=P.cam
6	Београд, Калемегдан, Парковска стабла	2010/4	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прор. круне	Ткиво	2010/A.HI.01=Pyth.spp.
7	Београд, Калемегдан, Парковска стабла	2010/4	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прор. круне	Земља и корење	2010/A.HI.02=P.plu
8	Београд, Калемегдан, Парковска стабла	2010/4	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прор. круне	Земља и корење	2010/A.HI.03=P.plu; 2010/A.HI.04=Ph.spp.
9	Београд, Калемегдан, Парковска стабла	2010/4	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Одум. врха	Земља и корење	-
10	Београд, Калемегдан, Парковска стабла	2010/4	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Некроза коре	Ткиво	2010/A.HI.05=Ph.spp.*
11	Београд, Украсни засад	2010/5	<i>Forsythia</i> spp.	Некроза коре	Ткиво	2010/For.01=Pyth.spp.
12	Београд, Приватна башта 1	2010/5	<i>Rhododendron</i> spp.	Некроза листа	Лисно ткиво	-
13	Београд, Приватна башта 1	2010/5	<i>Asalea</i> spp.	Некроза листа	Лисно ткиво	-
14	Београд, Украсна стабла	2010/5	<i>Juglans regia</i>	Некроза коре	Ткиво	-
15	Београд, Украсна стабла	2010/6	<i>Q. petraea</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
16	Парк 2, Украсно дрвеће	2010/6	<i>Castanea sativa</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
17	Парк 2, Украсно дрвеће	2010/6	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Некроза коре	Ткиво	2010/A.HI.06=P.plu
18	Београд, СИВ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Cerrcis siliquastrum</i>	Нема симпт.	Земља	-
19	Београд, СИВ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Acer negundo</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2010/A.N.01=Pyth.spp.
20	Београд, СИВ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Quercus robur</i>	Одум. грана	Земља и корење	-
21	Београд, СИВ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Прор. круне	Земља и корење	2010/F.Ang.01=P.cit
22	Београд, СИВ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Одум. грана	Земља и корење	-
23	Београд, СИВ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Одум. грана	Земља и корење	2010/A.HI.07=P.plu
24	Београд, СИВ,	2010/9	<i>Aesculus</i>	Некроза	Ткиво	2010/A.HI.08=P.plu;



	Парковско дрвеће		<i>hippocastanum</i>	коре		2010/A.HI.09=Ph.spp.
25	Београд, СИБ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Некроза коре	Ткиво	-
26	Београд, СИБ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Одум. грана	Земља и корење	2010/A.HI.10=P.plu
27	Београд, СИБ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прор. круне	Земља и корење	2010/A.HI.11=P.gon
28	Београд, СИБ, Парковско дрвеће	2010/9	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прор. круне	Земља и корење	2010/A.HI.12=P.plu
29	Београд Чукарица, Вртић-Зелена површина	2010/10	<i>Thuja occidentalis</i>	Одум. грана	Ткиво и земља	-
30	Београд Чукарица, Вртић-Зелена површина	2010/10	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2010/A.PS.01=P.plu; 2010/A.PS.02=P.cac
31	Београд аутопут Украсно дрвеће	2013/9	<i>Quercus rubra</i>	Прор. круне	Земља и корење	2013/Q.RU.01=P.plu
32	Београд аутопут Украсно дрвеће	2013/9	<i>Quercus rubra</i>	Прор. круне	Земља и корење	2013/Q.RU.02=P.gon; 2013/Q.RU.03=Ph.spp.
33	Београд центар, Црквено двориште	2012/6	<i>Taxus bacata</i>	Одум. грана	Земља и корење	-
34	Београд центар, Црквено двориште	2012/6	<i>Taxus bacata</i>	Одум. грана	Земља и корење	2012/T.B.01=Pyth.spp.; 2012/T.B.02=Ph.spp.*
35	Београд центар, Црквено двориште	2012/6	<i>Taxus bacata</i>	Прор. круне	Земља и корење	-
36	Обреновац	2013/5	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Некроза коре	Ткиво	2010/A.HI.13=P.plu; 2010/A.HI.14=P.citr*
37	Обреновац	2013/5	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Некроза коре	Ткиво	2010/A.HI.15=P.plu; 2010/A.HI.16=Ph.spp.
38	Обреновац	2013/5	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Некроза коре	Земља	2012/A.HI.17=P.cam* 2012/A.HI.18=Pyth.spp.
39	Борча, Канал	2010/9	<i>Betula pendula</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2010/B.P.01=Pyth.spp.
40	Ресник, Приватна башта 2	2013/5	<i>Thuja spp.</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
41	Ресник, Приватна башта 2	2013/5	<i>Thuja spp.</i>	Нема симпт.	Земља и корење	-
42	Ресник, Приватна башта 2	2013/5	<i>Thuja spp.</i>	Одум. грана	Земља и корење	-
43	Ресник, Приватна башта 2	2013/5	<i>Thuja spp.</i>	Одум. грана	Земља и корење	-
44	Београд Шумице	2013/6	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Некроза коре	Ткиво	-
45	Београд Шумице	2013/6	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Одум. грана	Земља и корење	2013/A.P.02=Ph.spp.
46	Београд Шумице	2013/6	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Одум. врха	Земља и корење	2013/A.P.03=Pyth.spp.
47	Београд Шумице	2013/6	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Нема симпт.	Земља и корење	2013/A.P.04=Pyth.spp.
Укупно позитивно узорака Total positive samples						21
Укупно добијено изолата Total number of obtained isolates						27

\*- изгубљен изолат; P.cac=*P. cactorum*; P.cam=*P. cambivora*; P.cit=*P. citricola*; P.citr=*P. citrophthora*; P.plu=*P. plurivora*; P.gon=*P. gonapodyides*; Ph.spp=изгубљен, неидентификован изолат; Pyth.spp=*Pythium spp.*

## БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА

Иван Миленковић је рођен 28. 06. 1984 године у Крушевцу. Основну школу је завршио у Трстенику, а средњу шумарску школу је завршио у Краљеву (смер Шумарски техничар).

Шумарски факултет, смер Шумарство уписао је школске 2004/2005 године. Дипломирао је 2009. године на катедри за Гајење шума са темом: „Стање и предлог узгојних захвата у изданачкој шуми китњака и букве у Газдинској Јединици „Трстеничке шуме“.

Докторске студије на Универзитету у Београду-Шумарском факултету, смеру Шумарство, на катедри „Заштита шума“, на предмету Шумска фитопатологија, уписао је школске 2009. године (број индекса 14/2009).

Маја 2013. године му је од стране Универзитета у Београду и Наставно Научног Већа Шумарског факултета одобрена тема под називом: „Диверзитет врста рода *Phytophthora* и њихова улога у пропадању стабала у лишћарским шумама у Србији“, а за менторе су му одређени др. Ненад Кеча, ван.проф. и Dr Tomasz Oszako, ван. проф.

Од 01.02.2011. године до 28.02.2013. године био је запослен на Универзитету у Београду-Шумарском факултету као истраживач сарадник на пројекту ТР 37008, финансираном од стране Министарства Просвете, Науке и Технолошког Развоја, Републике Србије. Од 01.03.2013. године запослен је на Институту за шумарство у Београду, на одељењу за Заштиту шума у звању Истраживач-сарадник.

Као истраживач учествовао је у реализацији неколико пројеката Министарства Пољопривреде и Заштите Животне Средине (Управа за шуме), а тренутно је ангажован је на горе споменутом пројекту ТР 37008 Министарства Просвете, Науке и Технолошког Развоја. Такође, учествовао је у реализацији ФП7 пројекта из програма ERA NET PLUS (PHYSEE-ERA NET+138/1). Такође, учесник је на три пројекта из ФП7 програма COST акција, укључујући FP 0801-*Phytophthora*, FP 1103-FRAXBACK и FP 1002-PERMIT.

До сада је објавио 43 научна рада и саопштења на домаћим и међународним скуповима.

Није ожењен и нема деце.

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а Миленковић Иван

број уписа 14/2009

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Диверзитет врста рода *Phytophthora* и њихова улога у пропадању стабала у  
лишћарским шумама у Србији

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

**Потпис докторанда**

У Београду, 12.05.2015. године

---

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Миленковић Иван

Број уписа 14/2009

Студијски програм Шумарство-Заштита шума

Наслов рада Диверзитет врста рода *Phytophthora* и њихова улога у пропадању стабала у лишћарским шумама у Србији

Ментор др Ненад Кеча, ванредни професор

Ментор Dr Tomasz Oszako, ванредни професор

Потписани Миленковић Иван

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанда**

У Београду, 12.05.2015. године

---

### Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Диверзитет врста рода *Phytophthora* и њихова улога у пропадању стабала у лишћарским шумама у Србији

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

**Потпис докторанда**

У Београду, 12.05.2015. године

---

1. Ауторство - Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.