

ПРВИ НАЛАЗ ПАРАЗИТСКЕ ГЉИВЕ *HYMENOSCYPHUS FRAXINEUS* (T. Kowalski) Baral, Queloz, Hosoya НА БЕЛОМ ЈАСЕНУ У БОСНИ И ХЕРЦЕГОВИНИ

ЗОРАН СТАНИВУКОВИЋ¹
ДРАГАН КАРАЦИЋ²
ИВАН МИЛЕНКОВИЋ³

Извод: *Hymenoscyphus fraxineus* (n.f. *Chalara fraxinea*) је паразитска гљива која се развија на *Fraxinus* врстама (пре свега на *F. excelsior* L. и *F. angustifolia* Vahl.). Посебно су велике штете забележене у неким земљама централне и северне Европе. У Босни и Херцеговини први пут забележена је 2009. године, у култури белог јасена, подигнутој у периоду од 2004. до 2007. У току петогодишњег периода праћен је развој паразита, са циљем да се утврде неке његове биоеколошке карактеристике. Према доступној литератури, ово је први налаз гљиве у Босни и Херцеговини.

Кључне речи: *Hymenoscyphus fraxineus*, *Chalara fraxinea*, бели јасен, значај.

THE FIRST RECORD OF THE PARASITIC FUNGUS *HYMENOSCYPHUS FRAXINEUS*
(T. Kowalski) Baral, Queloz, Hosoya ON THE COMMON ASH IN
BOSNIA AND HERZEGOVINA

Abstract: *Hymenoscyphus fraxineus* (n.f. *Chalara fraxinea*) is a parasitic fungus that grows on *Fraxinus* species (primarily on *F. excelsior* L. and *F. angustifolia* Vahl.). Substantial damage has been recorded in some countries of central and northern Europe. In Bosnia and Herzegovina it was first recorded in 2009, in a common ash plantation established in the period from 2004 to 2007. During the five-year period, the development of the parasite was monitored in order to determine some of its bio-ecological characteristics. According to the available literature, this is the first record of the fungus in Bosnia and Herzegovina.

Keywords: *Hymenoscyphus fraxineus*, *Chalara fraxinea*, Common Ash, importance

1. УВОД

Бели јасен (*Fraxinus excelsior* L.) распрострањен је скоро у целој Европи. Према Јовановић, Б. (1971), у планинама Немачке пење се 100-800 m надморске висине, у Алпима до 1500 m, а слично је и на Балканском полуострву. Код нас најчешће расте у брдским и планинским шумама, изван

- 1 др Зоран Станивуковић, доцент, Универзитет у Бањој Луци, Шумарски факултет, Бања Лука, Република Српска
- 2 др Драган Караџић, ред. проф., Универзитет у Београду, Шумарски факултет, Београд
- 3 Иван Миленковић, дипл. инж., истраживач сарадник, Институт за шумарство, Београд

речних и поточних долина. У Србији се најчешће јавља у асоцијацији *Acero-Fraxinetum serbicum*. Осим значаја који има у шумарству, бели јасен се често среће у парковима.

Паразитна гљива *Hymenoscyphus fraxineus* (= *Hymenoscyphus pseudoalbidus*) причињава велике штете на белом и пољском јасену, и забележена је у великом броју земаља у централној и северној Европи (Аустрији, Белгији, Чешкој Републици, Словачкој, Француској, Немачкој, Швајцарској, Мађарској, Румунији, Словенији, Хрватској, Данској, Холандији, Шведској, Норвешкој, Финској, Литванији, Естонији, Великој Британији, Ирској).

Anamorph стадијум гљиве, под називом *Chalara fraxinea*, као нову врсту, први пут је описао Kowalski, Т. (2006). Ову гљиву је Kowalski, Т. у Пољској често изоловао из стабљика и грана, а понекад чак и из корена недавно убијених (осушених) стабала белог јасена (*Fraxinus excelsior* L.). Убрзо после описа несавршене форме, Kowalski Т., Holdenrieder, О. (2009b) идентификовали су *Hymenoscyphus albidus* као *teleomorph* стадијум ове гљиве. Идентификација је извршена на основу чистих култура добијених из аскоспора и касније морфолошких поређења и секвенцирања ITS региона рибозомалне DNA. Присуство гљиве *H. albidus* познато је у Европи још од 1851. године. Недавно су Queloz, V. et al. (2011) утврдили да постоје два морфолошки врло слична таксона, *H. albidus* и *H. pseudoalbidus*, који се разликују у локусима calmodulin (Cal), translation elongation factor 1- α (EF1- α) и Internal Transcribed Spacer (ITS) рибозомалне DNA и јака диференцијација је била добијена са ISSR - PCR маркерима. Ови аутори сматрају да је *H. albidus* непатогена врста (сапрофитска врста), док је *H. pseudoalbidus* вирулентна врста која доводи до "die-back" симптома и сушења јасена. Болест коју изазива ова гљива карактерише се брзим изумирањем круне, присуством некроза и рак рана на стаблима и увенућем, пре свега, млађих стабала.

У току 2009. године, на локалитету Јелашиновци (Босна и Херцеговина), први пут је у култури белог јасена констатована паразитна гљива *Hymenoscyphus fraxineus* (тј. њена несавршена форма *Chalara fraxinea*). На младим стаблима констатовани су типични симптоми заразе и увенуће јасена (слика 1. Б-Ж).

Циљ овог рада био је опис ове гљиве и указивање на неке резултате до којих смо дошли у проучавању биоэкологије гљиве на подручју Босне и Херцеговине.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Материјал за спроведена истраживања сакупљен је на локалитету Јелашиновци (Босна и Херцеговина). Са оболелих стабала узети су узорци са симптомима обољења. Са ивице рак рана (из некротираних делова, слика 4-А), узимани су фрагменти коре и ксилема, величине 3-4 mm, који су после површинске стерилизације, стављани у петри посуде са хранљивом подлогом малц-екстракт-агар (МЕА), припремљеној по рецепту Booth, С. (1971). Фрагменти су стерилисани на два начина: а) први начин се састојао у потапању фрегмената 3 минута у 1% натријум хипохлорит са садржајем 4%

активног хлора, а затим су фрагменти испирани у стерилној дестилованој води (у 3 понављања) и стављани на хранљиву подлогу; δ) други начин са састојао у томе што су фрагменти потапани у 60% етил-алкохол, а затим, преко пламена шпиритусне лампе, стављани на хранљиву подлогу. Подлоге са фрагментима су чуване 48 сати у мраку, на температури од 6°C, а затим су пребациване у политермостат где је била стална температура 20°C, и овде су држани док се није потпуно развила чиста култура гљиве.

Идентификација гљиве извршена је на основу симптома обољења, изгледа чистих култура гљиве после 3 недеље, величине фиалида образованих у култури (слика 4 Б-В: слика 3 А-Г), изгледа и величине апотеција, аскуса и аскоспора (слика 3 Д-Ж).

3. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА И ДИСКУСИЈА

Гљива *Hymenoscyphus fraxineus* (односно њена несавршена форма *Chalara fraxinea*) констатована је први пут у Босни и Херцеговини 2009. године, на локалитету Јелашиновци (координате: 44°41'22,71"; 16°32'0,72"), у култури белог јасена (*F. excelsior*). Култура је подигнута у периоду од 2004. до 2007. године, површине је 0,5 ha, број садница је 2200, а густина садње 1,5 x 1,5 m. Саднице су узимане из непосредног окружења (удаљености око 200 метара), а 100 садница је донесено из суседног села Дабар (из подручја које није изложено јаким мразевима у току зимских месеци).

Надморска висина на локалитету Јелашиновци (на ком је подигнута култура) износи 410-420 m, а само место је, током зиме, изложено јаким мразевима (мразиште). Апсолутне минималне температуре ваздуха за период 2005-2012. године наводе се у табели 1.

Табела 1. Апсолутне минималне температуре ваздуха за период 2005-2012
Table 1. Absolute minimum air temperatures for the period 2005-2012

Месеци	Температуре минималне	Датум мерења
Јануар	-30,3	25.01.2006.
Фебруар	-31,5	09.02.2012.
Март	-31,0	02.03.2005.
Април	-6,2	08.04.2006.
Мај	-4,0	21.05.2005.
Јун	-1,0	11.06.2005.
Јул	+3,7	17.07.2005.
Август	-1,2	09.08.2005.
Септембар	-2,5	22.09.2007.
Октобар	-10,3	19.10.2005.
Новембар	-14,0	22.11.2008.
Децембар	-29,1	21.12.2009.

Паразитна гљива *Hymenoscyphus fraxineus* (syn. *Hymenoscyphus pseudoalbidus*) констатована је први пут 2009. године, и довела је до увенућа 6% садница и то скоро искључиво, садница донешених из оближњег Дабра.

Зараза на садницама са локалитета Јелашиновци била је веома блага. Праћењем здравственог стања у овој култури, у периоду од 2009 до 2014. године, констатовано је да је проценат новозаражених садница био свега 1%. Другим речима, после изненадне појаве гљиве током 2009. године, на садницама донетим из Дабра дошло је до наглог заустављања ширења заразе и гљива је прешла у стање мировања (ендофит). Нема сумње да су саднице из Дабра, када су се нашле на неповољном станишту, доживеле стрес и постале подложне нападу паразитне гљиве, која је овде већ била присутна (не испољавајући патогена својства). За разлику од њих, саднице са локалитета Јелашиновци, које су се већ од раније развијале у условима мразишта и прилогодиле се овим условима, показале су већу виталност а, самим тим, и већу отпорност према паразитној гљиви.

3. 1. Опис паразитне гљиве

3. 1.1. Симптоми обољења

Прва спољна манифестација болести на јасену је појава наглог увенућа лишћа, које се спаруши и често остаје закачено на стаблу током летњих месеци. Код млађих стабала, на месту где је остварена инфекција, долази до промене боје коре. Кора благо улегне и постаје наранџаста до смеђа. Убрзо затим долази до јаке некрозе ткива и формирања типичних рак рана (слика 1 Б, Г, Ђ, Е, Ж). Рак ране су издужене, тј. гљива се брже шири у уздужној оси стабла. Уколико се некроза прошири на цео обим стабла, иста се суше и јавља се типични симптом “die-back” јасена.

Мртви део стабла изнад места инфекције убрзо насељавају паразити слабости или сапрофити, а посебно су честе гљиве из рода *Cytospora* spp. и *Diplodia mutila*.

Код активних рак рана некрозе се често шире у ксилем и доводе до промене боје дрвета (слика 1 Д).

Неки аутори наводе да је један од симптома заразе од *Chalara fraxinea* појава некротичних флека у основи стабала. Овакве симптоме смо налазили на оболелим стаблима на локалитету Јелашиновци (слика 2). Међутим, сви покушаји да се из ових некроза изолује гљива *Chalara fraxinea* били су неуспешни, тј. нисмо успели да докажемо присуство ове гљиве. Углавном су добијани изолати гљива из рода *Armillaria*, *Phytophthora* и *Fusarium*.

Enderle, R. *et al.* (2013) наводе да је у некротираним деловима у основи стабала врло често присутна гљива *Armillaria galica*.

Orlikowski, L. B. *et al.* (2011) су навели присуство 4 врсте *Phytophthora* у девастираним стаништима јасена у Пољској и Данској. Из ризосфере земљишник узорака и некротиране коре на стаблима и корену осушених стабала јасена изоловане су *Phytophthora cactorum*, *Ph. plurivora*, *Ph. lacustris* и *Ph. gonapodyides*. Ови аутори сматрају да су *Phytophthora* врсте активно укључене у текући феномен сушења јасена широм Европе. Вероватно оне играју улогу предиспонирајућих фактора за касније инфекције јасена са *Chalara fraxinea*.



Слика 1. *Nuptenoscyphus fraxineus* А - састојина јасена; Б - сушење белог јасена; В, Г, Ђ, Е и Ж - некрозе и рак ране на младим стаблима ; Д - попречни пресек кроз рак рану и стабло

Figure 1. A - a healthy stand of common ash; Б - a declining stand of common ash; В, Г, Ђ, Е and Ж - necrosis and cankers at the stem of young trees; Д - cross-section through the canker on the stem



Слика 2. А-Г - Некрозе у основи стабала (некрозе кореновог врата)
Figure 2. А-Г - Necrosis at the base of the trees (root collar necrosis)

3. 1.2. *Opis teleomorfh stadiјума гљиве*

Апотеције се образују на петељкама опалог лишћа и особито су честе у току септембра и октобра. **Апотеције** су разбацане по петељки листа (понека и на самом листу), дискоидне, у почетку беле, а касније жућкасте, у пречнику 1 до 3mm, са дршком која је сужена у основи; хименијум раван, бео до окербеличаст и са старости постаје прљаваосветлосмеђ (слика 3-Д-Ж). **Аскуси** цилиндрично батинасти, дршкасти, 80-100 (90) x 8-11 μm , осмоспори, поре се доје у плаво са јодом. **Аскоспоре** распоређене у два неправилана реда у аскусу, неправилно вретенасто елиптичне, праве или благо савијене, глатке, хиалинске, обично са 1 или ређе 2 уљане капљице, величине 13-17 x 3-5 μm . Парафизе кончасте, септиране, на врху благо проширена, пречника 2-2,5 μm . Према Breitenbach, J., Kränzlin, F. (1981), величина асуса је 90 x 9-11 μm , а аскоспора 13-18 x 3-5 μm . Kowalski, T., Holdenrieder, O. (2009b) наводе да је величина асуса 80-107 x 8-10 μm , а аскоспора 13-17(21) x 3,5-5 μm .

3. 1.3. *Opis чисте културе гљиве*

Гљива је изолована из обода активних рак рана (слика 4). Добили смо два типа култура, које су се делимично разликовале по боји, док је брзина раста била скоро идентична. Један тип чисте културе (после 21 дана раста у мраку на 20°C) раширен је по подлози, компактан, памучасто бео или светлонаранцаст, а касније постаје кожаст, са интензивним наранџастим или смеђим пигментом (често је чак тамножута или мркозеленкаста). Агар испод мицелије је светлонаранцасто са нијансом жуте боје, а испод самог инокулума тамносмеђ.

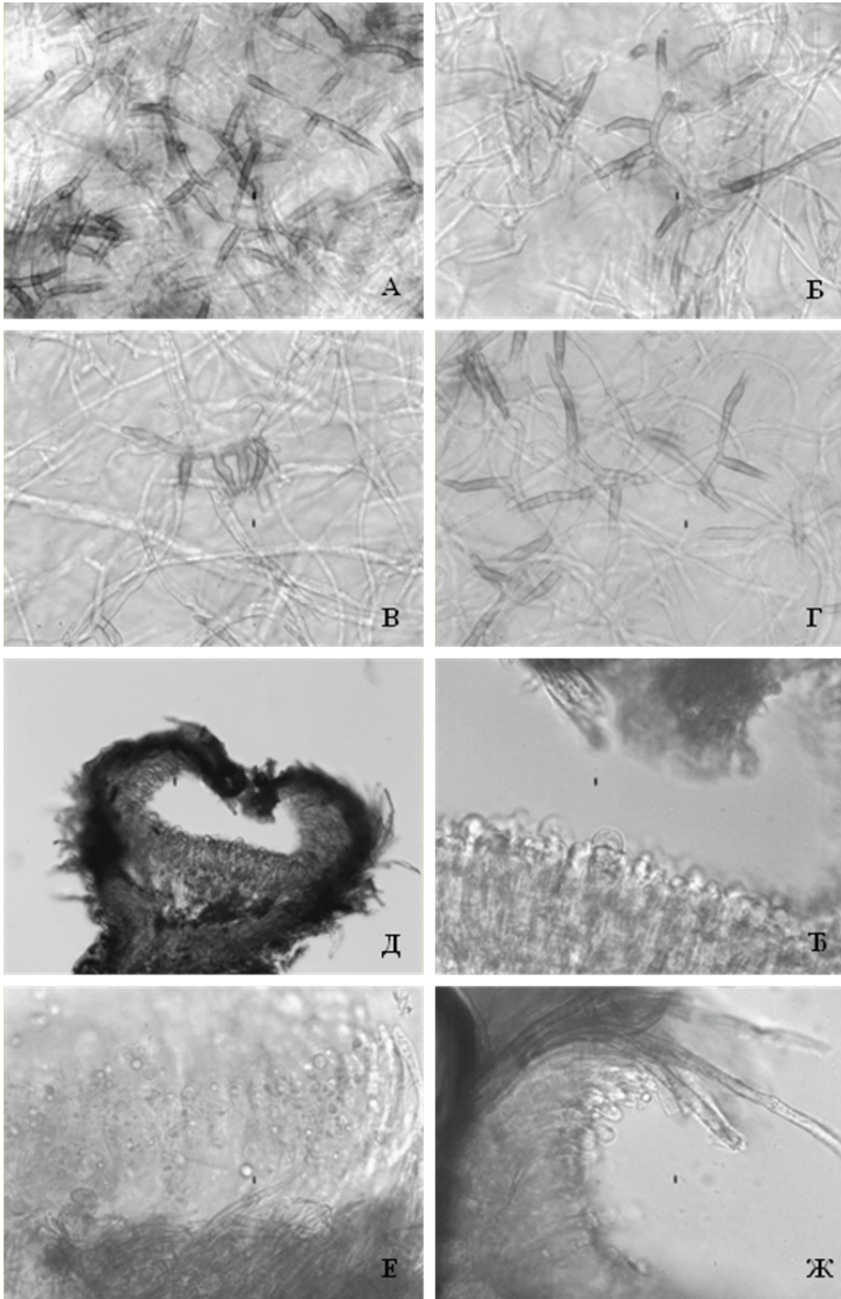
Други тип колоније је памучасто бео или светлонаранцаст, са хиалинским напредујићем делом и понекад, у старости, са сивкастим флекама по површини. Агар испод колоније светлонаранцасто смеђ.

Веgetативне хифе су субхилинске до маслинастосмеђе, пречника 1,5 до 4 μm . На културама старим од 4 недеље формирају се псеудопаренхиматичне строге састављене од ћелија са задебљалим, мркосмеђим зидовима.

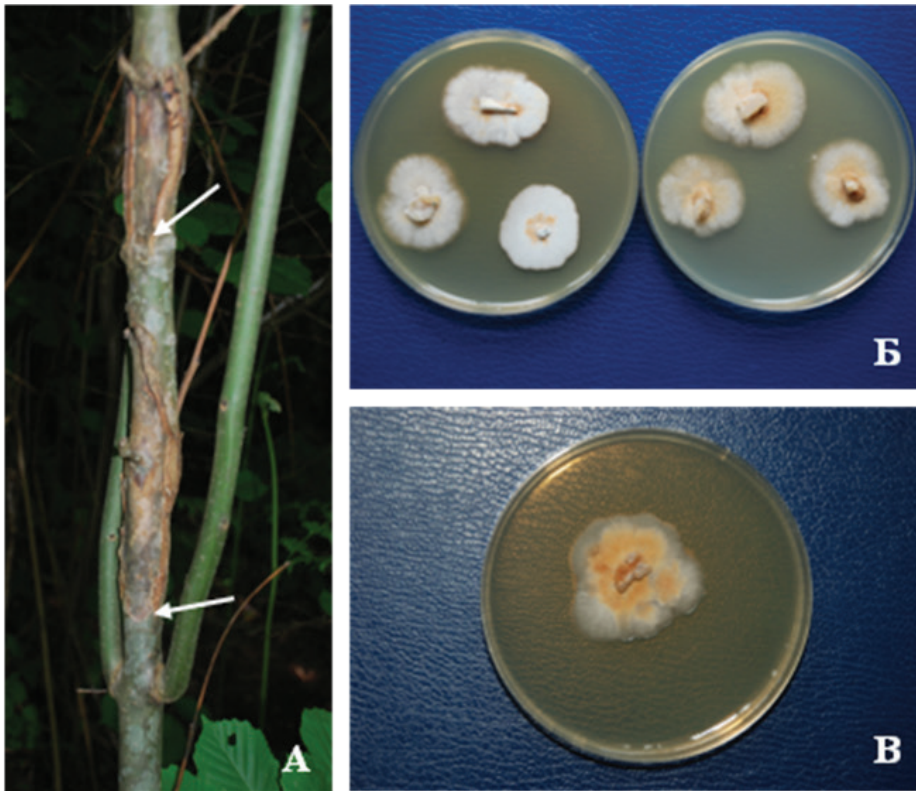
Пораст колоније оба изолата је приближно исти и колоније расту релативно споро, 1,4 mm по дану (односно 3 cm за 21 дан).

У чистој култури се после 3 недеље формирају бројне фиалиде (слика 3. А-Г). Фиалиде су најчешће јављају на терминалним хифама. Фиалиде су субцилиндричне, обрнуто топузасте, понекад вретенасте, величине 13-25 x 3,5-5 μm . Фиалоконидије се образују у ланцима или мутним капљицама, ситне, цилиндричне, на крајевима заобљене, 1-ћелијске, хиалинске, са 1 или 2 уљане капљице, глатких зидова, 3,2 – 4 x 2-2,4 μm .

Kowalski, T., Bartnik, Cz. (2010), такође су запазили морфолошке варијације у колонијама гљиве *Chaalara fraxinea*, изоловане из белог јасена (*Fraxinus excelsior* L.). Ови аутори су из некротираних ткива стабала јасена изоловали 3 главна типа колоније. Ове колоније су се разликовале у боји, структури, брзини раста, присуству строма и интензитету спорулације. На истим температурама, статистички значајне разлике су биле у брзини раста изолата.



Слика 3. *Hymenoscyphus fraxineus*: А-Б-В-Г - фиалиде образоване у култури (x400);
 Д - пресек кроз апотецију (x100); Ђ-Е-Ж - аскуси са аскоспорама
Figure 3. *Hymenoscyphus fraxineus*: А-Б-В-Г - phialides formed in the culture (x400);
 Д - cross section through the apothecium (x100); Ђ-Е-Ж - asci with ascospores



Слика 4. *Hymenoscyphus fraxineus*: А - стабло са симптомима заразе (стрелицама означена места из којих је изолована гљива); Б-Б - чиста култура гљиве после три недеље раста на 20°C (подлога МЕА)

Figure 4. *Hymenoscyphus fraxineus*: А - a tree with the symptoms of infection (the places from which the fungus was isolated are marked with arrows); Б-Б - a pure culture of the fungus after a three-week growth at 20°C (MEA medium)

Озбиљно обољење белог јасена (*Fraxinus excelsior* L.) први пут је забележено у Европи 1995. године. Десетак година касније, Kowalski, Т. (2006) је утврдио да ову болест изазива једна нова патогена гљива коју је описао под називом *Chalara fraxinea*. Неколико година након публикавања рада о *Ch. fraxinea*, Kowalski, Т., Holdenrieder, О. (2009b) су савршени (*teleomorph*) стадијум гљиве, преко молекуларних метода, идентификовали као *Hymenoscyphus albidus*. Према овим ауторима, ITS секвенце апотеција са петељки лишћа из Пољских колекција и култура добијених од аскоспора (Gen Bank FJ 597976) биле су индентичне са секвенцама од типа културе *Chalara fraxinea* (CBS 122504, Gen Bank FJ 597975), а такође и са секвенцом АУ787704 од Литванског соја *Chalara fraxinea* (Lygis, V. *et al.*, 2005). Међутим, гљива *Hymenoscyphus albidus* позната је у Европи још од 1850. године и била је описана под називом *Peziza albida* Roberge ex Desm. (цит. Rehm, Н. 1896; Baral, Н. *et al.*, 2014.) Према Dennis, R.W.G. (1978), ова гљива је под називом *Helotium albidum* (Roberge & Dezmazières) Patouillard описана 1885.

године, а 1887. године, под називом *Hymenoscyphus albidus* (Roberge) Phillips. Сви поменути аутори ову гљиву наводе као сапрофита на опалом лишћу, а плоносна тела се образују на црнкастим зонама на петелци или самом лишћу јасена.

Dennis, R.W.G. (1978) сматра да је гљива *Hymenoscyphus caudatus* (Karsten) Dennis врло слична гљиви *H. albidus*. *H. caudatus* се развија као сапрофит на лишћу *Acer*, *Alnus*, *Berberis*, *Corylus*, *Fagus*, *Populus*, *Quercus*, *Salix* и *Tilia*. Ове две гљиве се разликују, осим по домаћину, и по величини аскоспора (аскоспоре код гљиве *H. caudatus* су 16-20 x 4-5 μm , а код гљиве *H. albidus* 13-17 x 3-5 μm).

Пошто је овим истраживањима јасно доказано да је гљива природно и широко распрострањена већ дуже време у Европи, нагло повећање вируленције гљиве било је тешко објашњиво. Kowalski, T., Holdenrieder, O. (2009b) сматрају да је то можда нови таксон који се сада појавио у Европи (морфогенезом *Hymenoscyphus albidus* створен је нови мутант) или је хибрид са неком непознатом интродукованом врстом или неком егзотичном врстом која се морфолошки не разликује од *H. albidus*. На пример, у прелаз између ендифитног и патогеног понашања укључен је само један ген, како је то констатовано код гљиве *Glomerella magna*. Друга хипотеза је да су предиспозиција домаћина или повећање вируленције патогена условљени променом спољних услова средине.

На основу наших запажања у петогодишњем периоду, утврдили смо да спољни услови и стање домаћина играју велику улогу у појави епидемије болести на белом јасену. Зараза се појавила у јачем интензитету само на садницама донешеним из Дабра, дакле са локалитета где владају сасвим други станишни услови. Када је подигнута култура, скоро све саднице су доживеле температурни стрес (мразиште) и страдале су од паразитне гљиве. Међутим, на садницама са локалитета Јелашиновци задељена је врло блага зараза, тј. гљива је присутна, али се развија као ендифит. Chakraborty, S. et al. (2008) и La Porta, N. et al. (2008), такође наводе да се мења предиспозиција домаћина и повећава вируленција патогена под утицајем фактора спољне средине. Queloz, V. et al. (2011) наводе да *Ch. fraxinea* узрокује сушење *Fraxinus* врста у већем делу Европе и да су штете особито изражане на врстама *F. excelsior* и *F. angustifolia*. Недавно је откривен *telemorph* стадијум у развоју гљиве и окарактерисан као *Hymenoscyphus albidus*, која је присутна у Европи још од 1851. године. Ови аутори су у својим истраживањима дошли до закључка да постоје два морфолошки врло слична таксона: *Hymenoscyphus albidus* и *Hymenoscyphus pseudoalbidus* sp. nov. Разлика између врста ја нађена у локусима Cal, EF1- α и ITS rDNA гена са јаком диференцијацијом добијеном са ISSR-PCR маркерима. Према овим ауторима вероватно је *H. albidus* непаразитска врста, док је *H. pseudoalbidus* вирулентни сој који узрокује "die-back" јасена. Генотипски хербарски примерци показали су да је *H. pseudoalbidus* био присутан у Швајцарској бар 30 година пре него што је дошло до епидемије гљиве. Прама Queloz, V. et al. (2011), појава нове болести може бити објашњена са ендемик патогеном хипотезом или са новом патоген хипотезом. Прва хипотеза предпоставља да под утицајем

неповољних спољних услова за самог домаћина, долази до промена у патогенитету у неког до тада нешкодљивог гљивичног симбионта који прелази у патогени организам. Друга хипотеза предпоставља да је дошло до уношења новог инвазивног патогена. Такође, познати су и случајеви да се у случају хибридизације може створити нови агресивни хибрид, како се то десило са *Ophiostoma novo-ulmi* (Brasier, C.M., Kirk, S.A., 2010). Queloz, V. et al. (2011) су у Швајцарској сакупили *H. albidus* са јасена из станишта где се није испољавала болест и ове узорке су поредили са примерцима гљиве сакупљеним из региона где је владала епидемија, а такође су анализирали и ранији хербарски материјали. Закључак је био да се све колекције *H. albidus* могу поделити у две групе. Ове две групе се скоро морфолошки не разликују, али се јасно разликују са DNA секвенцама локуса Cal, EF1- α и ITS rDNA гена. Аутори нису забележили хибридизацију између две врсте. Ови аутори су закључили да *H. albidus*, иако је присутна и на стаништима где се јавља болест, не узрокује болест на јасену, већ се развија као сапрофит. Насупрот томе, новоописана врста *H. pseudoalbidus*, изолована из некротичних пега (флека) на стаблу белог јасена и апотеција образованих на петелци опалог лишћа, развија се као прави паразит. Патогеност ове гљиве демонстрирана је у радовима Kowalski, T., Holdenrieder, O. (2009a) и Bakys, R. et al. (2009). Према Engesser, R. et al. (2009), епидемије болести на јасену у Швајцарској нису примећене пре 2007. године, а, такође, у великом делу земље болест још није забележена. Изненађење је било у томе што су два примерка из швајцарских колекција, из 1978. и 1987. године, припадала паразитној гљиви *H. pseudoalbidus*. Аутори предпостављају да се гљива *H. pseudoalbidus* јављала на јасену на овим локалитетима и раније, али је изазивала само локалне заразе, тако да то није било забележено. Друго објашњење је да су можда климатске промене условиле промену осетљивости домаћина према патогену. Према Queloz, V. et al. (2011), појава епидемије на јасену повезана је са високом густином патогена и креће се, мање-више, у фронту од истока према западу. Из тог разлога ови аутори сматрају да *H. pseudoalbidus* (или вирулентни мутант *H. pseudoalbidus*) је унесен у Европу из још непознатог региона. Имајући у виду да је *Fraxinus ornus* L. (црни јасен) мање осетљив него друге европске врсте јасена и да је ближи у вези са азијским врстама јасена него *F. excelsior* и *F. angustifolia*, ови аутори су закључили да је болест пропадања јасена пореклом из Азије и да би се ово доказало, неопходне су популационо генетичке студије.

Ову хипотезу тешко можемо прихватити и сматрамо је бесмисленом, поготову ако се има у виду ареал распрострањења врсте *Fraxinus ornus* L. Црни јасен је раширен на много мањем ареалу него бели и пољски јасен. Према Јовановић, Б. (1971), црни јасен припада субмедитеранско-брдском флорном елементу и распрострањен је у јужној Европи; западно од Шпаније, северно од Провансе и јужно од обода Алпа, Мађарске; на истоку захвата само западне делове Мале Азије. Према томе, нема никав контакт са источноазијским врстама јасена, односно, његова отпорност на болест не може се на овакав начин објаснити.

Посматрајући понашање болести на локалитету Јелашиновци (веро-

ватно једном уском локалитету), дошли смо до следећег закључка. Гљива је вероватно већ дуже време присутна на овом локалитету као ендофит на стаблима белог јасена, али тек када су донесене саднице са другог локалитета (Дабра), и када су се нашле на неповољном станишту, дошло је до стреса и саднице су постале подложне нападу паразитне гљиве. За разлику од њих, саднице са локалитета Јелашиновци, које су се већ од раније развијале у условима мразишта и прилагодиле се овим условима, показале су већу виталност, а самим тим и већу отпорност према паразитној гљиви.

Претпостављамо да је узрочник болести белог и пољског јасена (*Hymenoscyphus* sp.) присутан и у другим подручјима не само Босне и Херцеговине већ и Србије, али да не постоји опасност од појаве епидемије. Другим речима ситуација на овом подручју се много разликује од ситуације у земљама централне и северне Европе. Прави проблем на јасену на овом подручју (пре свега на стаблима пољског јасена) је *Pseudomonas savastanoi* var. *fraxini* (Br.) Dow – узрочник рака и шуге јасена. Нажалост овом озбиљном и великом проблему за сада се мало поклања пажња.

Анализирајући светску литературу, такође износимо хипотезу да су врсте *Hymenoscyphus albidus* и *H. pseudoalbidus* једна те иста врста (без обзира на извесне разлике до којих се дошло молекуларним истраживањима). *Hymenoscyphus albidus* је присутна у Европи још од средине 19. века. Мада нема података о њеној паразитној активности из тог доба, вероватно је она кроз овај дуги период времена мутирала и прилагодила се домаћину, тј. понашала се као прави ендофит (присутна, а не причињава економске штете). Међутим, у последње време услед разних промена, пре свега спољних услова (климатске промене, полутанти и сл.), домаћин је постао осетљив и пријемчив за гљиву, тако да се она активирала и довела до епидемије. Временом ће и ова епидемија постепено прећи у стање стагнација. Врсте се временом мењају, на крају, и то је у суштини Darwin-ове теорије еволуције: “*Врсте свих организама, биљака и животиња, да би преживеле, временом еволуирају и адаптирају се на промене у њиховој околини*” (Darwin, С. 1859). О овоме ћемо можда добити више података након секвенцирања читавих генома обе наведене врсте (*Hymenoscyphus albidus* и *H. pseudoalbidus*).

У наслову овог рада користили смо најновији назив гљиве *Hymenoscyphus fraxineus*, предложен од стране Baral, H. et al. (2014), у складу са *The International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants* (Mc Neill, J. et al., 2012).

4. ЗАКЉУЧЦИ

На основу спроведених истраживања дошло се до следећих закључака:

- паразитна гљива *Hymenoscyphus fraxineus* (syn. *H. pseudoalbidus*, anamorph *Chalara fraxinea*) први пут је констатована у Босни и Херцеговини, на локалитету Јелашиновци, координате: 44°41'22,71"; 16°32'0,72";
- паразитна гљива је забележена на стаблима белог јасена (*Fraxinus excelsior* L.), у култури подигнутој у периоду од 2004. до 2007. године;
- идентификација гљиве извршена је на основу симптома обољења, из-

гледа чисте културе гљиве после три недеље, величине фиалида образованих у култури, изгледа и величине апотеција, аскупа и аскопора. Апотеције су посебно често налажене на петељци сувог лишћа (такође су присутне и на самој лиски) у току септембра;

- гљива је вероватно већ дуже време присутна на овом локалитету као ендодит на стаблима белог јасена, али тек уношењем садница са другог локалитета (Дабра), којом су се приликом саднице нашле на неповољном станишту (мразиште), доживеле су стрес и постале подложне нападу паразитне гљиве. За разлику од њих, саднице са локалитета Јелашиновци које су се већ од раније развијале у условима мразишта и прилагодиле се овим условима, показале су већу виталност, а самим тим, и већу отпорност према паразитној гљиви;

- предпостављамо да је узрочник болести белог и пољског јасена (*Hymenoscyphus* sp.) присутан и у другим подручјима, не само Босне и Херцеговине, већ и Србије, али да не постоји опасност од појаве епидемије. Другим речима, ситуација на овом подручју разликује се много од ситуације у земљама централне и северне Европе.

Напомена: Овај рад је реализован у оквиру пројекта „Одрживо издвајање укућним пошеницијалима шума у Републици Србији” (ТР 37008, Финансира Министарство за просвету, науку и технолошки развој Републике Србије)

ЛИТЕРАТУРА

- Bakys, R., Vasaitis, R., Barklund, P., Ihrmark, K., Stenlid, J. (2009): Investigations concerning the role of *Chalara fraxinea* in declining *Fraxinus excelsior*. Plant Pathol. 58, 284-292.
- Baral, H., Queloz, V., Hosoya, T. (2014): *Hymenoscyphus fraxineus* the correct scientific name for the fungus causing ash dieback in Europa. IMA Fungus, Volume 5, No. 1, 79-80.
- Booth, C. (1971): Methods in microbiology. Vol. 4, Academic Press, London, 1-795.
- Braiser, C.M., Kirk, S.A. (2010): Rapid emergence of hybrids between the two subspecies of *Ophiostoma novo-ulmi* with a high level of pathogenic fitness. Plant Pathol. 59, 186-199.
- Breitenbach, J., Kränzlin, F. (1981): Champignons de Suisse. Tome 1 Les Ascomycètes. Edition Mycologia, CH-6000 Lucerne 9, 1-310.
- Darwin, Ch. (1859): The Origin of Species by Means of Natural Selection. London: John Murray, Albemarle Street, 1-502.
- Dennis, R. W. G. (1978): British Ascomycetes. J. Kramer – Vaduz, 1-585.
- Enderle, R., Peters, F., Nakou, A., Metzler, B. (2013): Temporal development of ash dieback symptoms and spatial distribution of collar rots in a provenance trial of *Fraxinus excelsior*. Eur. J. Forest Res. 132, 865-876.
- Engesser, R., Queloz, V., Meier, F., Kowalski, T., Holdenrieder, O. (2009): Das Triebsterben der Esche in der Schweiz (Ash dieback in Switzerland). Wald und Holz 6, 24-27, (in German).
- Jovanović, B. (1971): Dendrologija sa osnovima fitocenologije. II neizmenjeno izdanje. Naučna knjiga, Beograd, 1-576.
- Kowalski, T. (2006): *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. For. Path. 36, p. 264-270.

- Kowalski, T., Bartnik, Cz. (2010): Morphological variation in colonies of *Chalara fraxinea* isolated from ash (*Fraxinus excelsior* L.) stems with symptoms of die-back and effects of temperature on colony growth and structure. *Acta Agrobotanica*, Vol. 63 (1), 99-106.
- Kowalski, T., Holdenrieder, O. (2009a): Pathogenicity of *Chalara fraxinea*. *For. Path.* 39, 1-7.
- Kowalski, T., Holdenrieder, O. (2009b): Teh teleomorph of *Chalara fraxinea*, The causal agent of Ash dieback. *For. Path.* 39, 304-308.
- La Porta, N., Capretti, P., Thomsen, I.M., Kasanen, R., Hietala, A.M., Von Weissenberg, K. (2008): Forest Pathogens with higher damage potential due to climate change in Europe. *Can. J. Plant Pathol.* 30, 177-195
- Lygis, V., Vasiliauskas, R., Larsson, K.-H., Stenlid, J. (2005): Wood inhabating fungi in stems of *Fraxinus excelsior* in declining Ash stands of Northern Lithuania, with particular reference to *Armillaria cepistipes*. *Scand. J. For. Res.* 20, 337-346.
- Mc Neill, J., Barrie F. F., Buck, W. R., Demoulin, V., Greuter, W., Hawksworth, D. L., Herendeen, P.S., Knnap, S., Marthold, K., Prado, J., Prudhomme, Van., Reine, W.F., Smith, G.F., Wiersema, J., Turland, N.J. (2012): *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants* (Melbourn Code). (Regnum vegetabile no. 154). Königstein: Koeltz Scientific Books.
- 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. *For. Path.* 41, 510-519.
- Queloz, .V., Grüning, C.R., Berndt, R., Kowalski, T., Sieber, T.N., Holdenrieder (2011): Cryptic speciation in *Hymenoscyphus albidus*. *For. Path.* 41, 133-142.
- Rehm, H. (1896): Ascomyceten: Hysteriaceen und Discomyceten. In *Kryptogamen – Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*. Bd.3, Ed.by Rabenhorst's, Leipzig: Eduard Kummer, pp. 1-1275 S.
- Chakraborty, S., Luck, J., Hollaway, G., Freeman, A., Norton, R., Garrett, K., Percy, K., Hopkins, A., Davis, C., Karnovsky, D.F. (2008): Impact of global change on diseases of Agricultural crops and Forest trees. *CAB Rev.* 3, 1-15.

THE FIRST RECORD OF THE PARASITIC FUNGUS HYMENOSCYPHUS FRAXINEUS (T. Kowalski) Baral, Queloz, Hosoya ON THE COMMON ASH IN BOSNIA AND HERZEGOVINA

Zoran Stanivuković
Dragan Karadžić
Ivan Milenković

S u m m a r y

The fungus *Hymenoscyphus fraxineus* (or its imperfect form *Chalara fraxinea*) was first recorded in Bosnia and Herzegovina in 2009, on the locality Jelašinovci (coordinates: 44° 41'22, 71"; 16°32'0, 72") in a common ash (*F. excelsior*) plantation. The plantation was established in the period from 2004 to 2007. It was 0.5 ha in size and numbered 2 200 seedlings, with the planting density of 1.5 x 1.5m. The seedlings were taken from the immediate environment (not farther than 200 meters) and 100 seedlings were brought from the neighbouring village of Dabar (in an area not exposed to severe frosts in winter).

The fungus was identified based on: the disease symptoms, the appearance of the pure fungus culture after three-week growth, the size of the phialides formed in the culture, the appearance and size of apothecia, asci and ascospores. Apothecia are especially often found on the petioles of dry leaves (they are also present on the laminas) in September.

During 2009, the fungus *H. fraxineus* (syn. *H. pseudoalbidus*) caused wilting of 6% of seedlings and those were almost exclusively the seedlings that had been brought from Dabar. The infection that affected the seedlings from the locality Jelašinovci was very mild. Monitoring of the health status of this culture in the period from 2009 to 2014 showed that the percentage of newly-infected seedlings was only 1%. In other words, after the sudden occurrence of the fungus in 2009 on the seedlings brought from Dabar, the spread of the infection was halted and the fungus became dormant (endophyte). The fungus had probably been present as an endophyte in white ash trees at this locality for a considerable time before the seedlings from another locality (Dabar) were introduced. The newly-introduced seedlings were subjected to unfavourable site conditions (frosty site) and experienced stress which made them more susceptible to the attack of the parasitic fungus. On the other hand, the seedlings from Jelašinovci site, which had been growing under such conditions, were adapted to frost and showed more vitality and greater resistance to the parasitic fungus. We assume that the agent of disease in common and narrow-leaved ash (*Hymenoscyphus* sp.) is present not only in other areas of Bosnia and Herzegovina, but also in Serbia, although there is no danger of an outbreak. In other words, the situation in this area is very different from the situation in the countries of central and northern Europe.

Having studied the literature that has been published worldwide, we can also propose a hypothesis that the species *Hymenoscyphus albidus* and *H. pseudoalbidus* are one and the same species (regardless of some differences that molecular studies revealed). *Hymenoscyphus albidus* has been present in Europe since the mid-19th century. Although there is no information about its parasitic activities from that period, it is likely that during this long period it has mutated and adapted to the host. However, in recent times due to various changes, above all, in environmental conditions (climate change, pollutants, etc.), the host has become sensitive and susceptible to fungus, which in turn got activated and an epidemic broke out. Eventually the epidemic will gradually reach the state of stagnation. All organisms, whether plant and animal, must evolve and adapt to changes in their environment in order to survive (Darwin, Ch., 1859).

