

Оригинални научни рад

Original scientific paper

UDK: 635.649-24:635.649-184.73(497.11)

Иван Миленковић¹

Драган Караџић²

НАЈЧЕШЋЕ РНУТОРНТОРА ВРСТЕ НА БУКВИ У СРБИЈИ: МОРФОЛОШКЕ И КОЛОНИЈАЛНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ

Апстракт: У раду су приказани резултати истраживања главних морфолошких и карактеристика колонија изолованих *Phytophthora* врста у буковим шумама у Србији. Након примећених симптома у различитим буковим састојинама у Србији, извршено је сакупљање узорака и изолације *Phytophthora* врста. Затим се приступило одређивању карактеристика колонија добијених изолата и њихово груписање према познатим параметрима и кључевима. Највише је било изолата који су имали полуваздушасту мицелију у средини а благо приљубљену на крајевима и различитог, углавном хризантемастог облика, са брзим порастом. Ова врста је хомоталична, образује округласте оогоније са ооспорама и антеридије различитог облика. Спорангије су биле полубрадавичасте, различитог облика и ова врста је идентификована као *Phytophthora plurivora*. Група изолата са ваздушном разређеном мицелијом, хетероталичном културом и спорангијама са равним врхом је идентификована као *P. sambivora*. Две групе изолата су биле јако сличне како у култури, тако и у карактеристикама спорангија које су биле са равним врхом. Обе су стерилне са колонијама средње брзог пораста, међутим прва врста није формирала хламидоспоре и украсе хифа у ланцима и идентификована је као *P. gonapodyides*, док је друга врста, морфолошки веома слична првој али је формирала хламидоспоре и украсе хифа у ланцима, идентификована као *Phytophthora taxon 'Pg chlamydo'*. Изоловане врсте представљају велики ризик по шумарство и биодиверзитет па је потребно спровести детаљнија истраживања везана за присуство и улогу ових врста у пропадању стабала у различитим буковим шумама у Србији.

Кључне речи: *Fagus sylvatica*, *Phytophthora* spp., изглед колонија, морфологија структура, симптоми

1 Институт за шумарство, Београд

2 Универзитет у Београду, Шумарски факултет

THE MOST COMMON *Phytophthora* SPECIES ON BEECH IN SERBIA: MORPHOLOGICAL AND COLONY GROWTH PATTERNS

Abstract: The paper presents the results of the studies of the main morphological and colony growth and shape patterns of isolated *Phytophthora* species in beech stands in Serbia. After the recorded symptoms in different beech stands in Serbia, sampling and isolation of *Phytophthora* species was performed. The next step was determination of colony growth characteristics of obtained isolates and their grouping according to known patterns and keys. The most numerous were the isolates with semi-aerial, petaloid mycelium and with chrysanthemous shape, relatively fast growing. This species is homothallic and form globose oogonia and oospores and antheridia with different shapes. Sporangia are semipapillate with very variable shapes and this species was identified as *Phytophthora plurivora*. Group of isolates with aerial, velvety and with no special shape of colony, heterothallic and with nonpapillate sporangia were identified as *P. cambivora*. Two groups of isolates were very similar in cultures, as well as in nonpapillate sporangia shape. Both are sterile with medium growth rate colonies, however the first species did not formed the chlamydospores and hyphal swellings in chains and it was identified as *P. gonapodyides*, while the second species has produced chlamydospores and hyphal swellings in chains and was identified as *Phytophthora* taxon 'Pg chlamydo'. Isolated species are posing great risks to forestry and biodiversity and future studies on occurrence and the role of these pathogens in beech trees decline are required.

Key words: *Fagus sylvatica*, *Phytophthora* spp., colony morphology structures morphology, symptoms

1. УВОД

Phytophthora врсте су гљивама слични организми у оквиру царства *Chromista* (Kirk *et al.* 2008). Од правих гљива (царство Fungi) разликују се по присуству специјалних полних структура-ооспора, присуству диплоидних хифа и формирању посебних спороносних органа званих зооспорангије. Према Beakes *et al.* (2012), *Phytophthora* врсте су заједно са другим гљивама сличним организмима, алгама и протистама сврстани у суперцарство Chromalveolate.

Главни разлог за њихову широку дистрибуцију у свету је пораст међународне трговине садним материјалом (Evans and Oszako 2006; Brasier 2008), као и уношење зараженог садног материјала из расадника у паркове, шуме и друге вештачке и природне екосистеме (Brasier and Jung 2006).

Буква (*Fagus sylvatica* L.) је у Србији једна од најраспрострањенијих и најважнијих врста шумског дрвећа и чини око 29% свих шума у Србији (Banković *et al.* 2009). Током последње три деценије примећени су различити процеси пропадања букових стабала, како у чистим тако и у мешовитим шумама у Србији, чији је главни узрочник била болест коре букве-, „beech bark disease“ (Marinković i Karadžić 1985; Karadžić 2010; Karadžić *et al.* 2012). У литератури се ова болест наводи као последица дејства два главна фактора и то штетног шумског инсекта *Cryptococcus fagisuga* Lind. и гљиве *Neonectria coccinea* (Pers.) Rossman and Samuels. Међутим, у истраживањима Караџића (2012) доказано је да присуство наведеног инсекта није обавезно за инфекцију букових стабала гљивом *N. coccinea*, као и да у одређеним случајевима где је инсект био присутан није долазило до инфекције.

Такође, истраживањем већег броја букових састојина широм Европе и Северне Америке изолован је читав низ *Phytophthora* врста, како са кореновог система тако и из некротичних ткива и улога ових патогена у пропадању букве и у комплексу болести коре букве је навођена у више студија (Brasier *et al.* 2005; Jung *et al.* 2005; Jung 2009; Jung and Burgess 2009; Orlikowski *et al.* 2006; Schmitz *et al.* 2007; Munda *et al.* 2007; Weiland *et al.* 2010).

Истраживања везана за присуство *Phytophthora* врста у буковим састојинама у Србији су започета 2009 године, а према прелиминарним резултатима забележено је неколико врста из овог рода на кореновом систему и на некротичним ткивима букве (Milenković *et al.* 2011a,b, 2012).

Узимајући у обзир да је података о присуству и диверзитету ових врста у различитим буковим и другим шумама у Србији веома мало, ово истраживање је имало за циљеве да (i) прикаже неке од најчешће забележених симптома на буковим стаблима узрокованих или директно овим или у садејству са другим организмима; (ii) наведе најчешће изоловане *Phytophthora* врсте у буковим шумама у Србији и (iii) прикаже главне морфолошке и колонијалне карактеристике добијених врста, као основе за карактеризацију и идентификацију.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

2.1. Сакупљање узорака и изолације

Прикупљање узорака је вршено према познатој методологији (Jung 2009; Jung *et al.* 1996, 2000). Узорци из некротичних ткива су узимани са прелаза здравих у некротичне зоне, испирани у дестилованој води и постављани директно на селективну агар подлогу (V8A-PARPNH). Земља заједно са кореновим

системом је прикупљана у облику земљишних блокова, приближних димензија 25×25×25 cm и то два таква блока по стаблу, затим је пакована у пластичне вреће запремине 10 l и ношена у лабораторију ради даљих анализа. Узоркована су како симптоматична, тако и на изглед здрава стабла.

Изолација је вршена помоћу методе мамака (Jung 2009; Jung *et al.* 1996, 2000), а за мамчење је коришћено младо лишће храста, букве и ловорвишње. После појаве првих некротичних пега на површини младог лишћа, ти делови су одвајани скалпелом, стерилисаним у 70% алкохолу и на отвореном пламену, и постављани на горе поменути V8A-PARPNH селективну подлогу. Након појаве првих хифа, оне су пресејаване на свежу шаргарепа агар подлогу (СА), припремљену са 900 ml/l дестиловане воде, 100 ml/l свежег сока од шаргарепа (Biotta®, Swiss), 18 g/l агара (Torlak, Србија) и 3 g/l CaCO₃, и чуване на собној температури ради даљих анализа.

2.2. Одређивање карактеристика колонија

За сврхе одређивања најважнијих карактеристика колонија изолати су пресејавани на пет различитих хранљивих подлога, укључујући шаргарепа агар подлогу-СА; затим малц-екстракт-агар-МЕА, припремљену са 48 g/l малц екстракт агара (MERCK, Germany); V8-агар подлогу припремљену са 900 ml/l дестиловане воде, 100 ml/l V8 сока (сок припремљен од минимално 8 различитих врста поврћа (Biotta®, Swiss), и 3 g/l CaCO₃; кромпир-декстроза-агар-PDA и шљивин-агар-Prune agar, припремљену са 40 g/l органских сувих шљива и 20 g/l агара. Инкубација пресејаних изолата је вршена на око 18-20°C у мраку. Најважније карактеристике колонија су одређиване након 7-10 дана раста према познатој методологији (Erwin and Ribeiro 1996; Brasier *et al.*, 2003; Jung *et al.*, 2002, 2003).

2.3. Одређивање морфолошких карактеристика

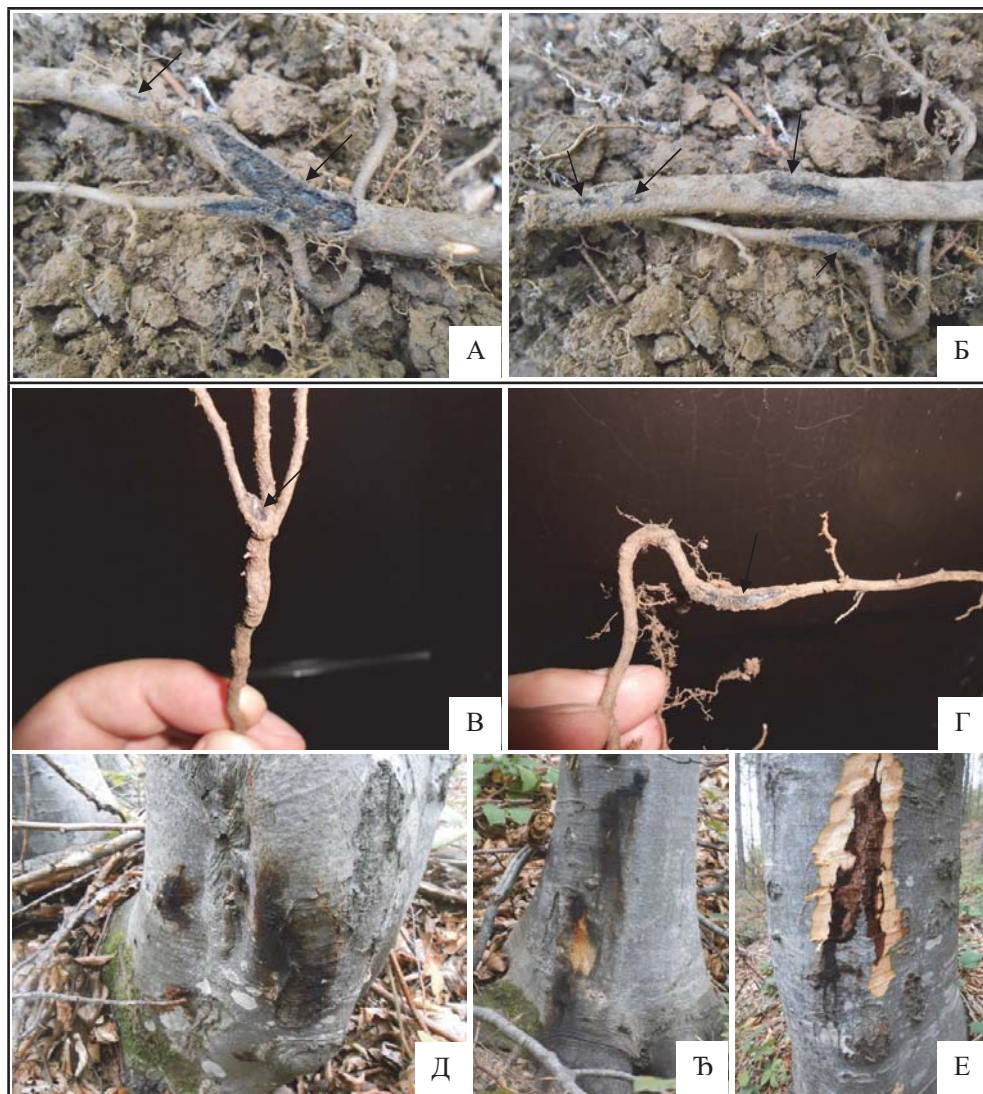
За сврхе одређивања морфолошких карактеристика изолата вршено је развијање и посматрање полних и бесполних структура. Прво је припремљен нестерилни земљишни раствор према методологији Erwin and Ribeiro (1996). Изолати су затим пресејани на горе описану шаргарепа агар подлогу, а после 3-5 дана раста у мраку, са ивице младе колоније су узимани делови агара са мицелијом приближне величине 1×1 cm, постављани у чисте петри шоље и преливани са горе поменути нестерилним земљишним раствором. Комади агара и мицелије су испирани дестилованом водом након 4-6 часова, а испирање у дестилованој води је понављано након наредних 6 и 12 часова (Jung and Burgess 2009). Полне и бесполне структуре, типичне за врсте из рода *Phytophthora* су посматране под светлосним микроскопом (CETI®MAGNUM-T/Trinocular Microscope, UK), на увећању ×400 и мерене са камером Si3000® (UK) и софтвером XliCap® (UK).

Забележене структуре су поређене са познатим кључевима за идентификацију *Phytophthora* врста (Waterhouse 1963; Stamps *et al.* 1990; Erwin and Ribeiro 1996), као и са подацима из новијих оригиналних радова у којима су описане поједине врсте (Jung *et al.* 1999, 2002, 2011; Jung and Nechwatal 2008; Jung and Burgess 2009; Hong *et al.* 2011; Nechwatal *et al.* 2012).

3. РЕЗУЛТАТИ

3.1. Регистровани симптоми

Током прикупљања узорака у различитим буковим састојинама широм Србије примећени су различити симптоми на стаблима букве који су укључивали проређеност круне, жутило и атрофију лишћа, трулеж и губитак финог корења, некрозе и озледе на матичном корењу, некрозе у приданку и некрозе и рак ране у вишим партијама стабла уз пропраћено цурење тамног ексудата. Неки од регистрованих симптома су приказани на слици 1.



Слика 1. Регистровани симптоми током сакупљања узорака: А, В и Г-некрозе и озледе на матичном корењу уз трулеж и недостатак финог корења из адсорптивног комплекса; В-абнормалност у развоју финог и матичног корења; Д, Ђ и Е-некрозе у приданку и на кореновом врату уз цурење тамног ексудата.

Figure 1. Symptoms recorded during the sampling: А, В и Г-necrosis and wounds on mother roots with decay and loss of fine roots from adsorption complex; В-abnormality in mother and fine root development; Д, Ђ и Е-necrosis at the stem base and collar rot with dark exudates. (фото: Иван Миленковић; photo: Ivan Milenković)

3.2. Изоловане врсте

Током истраживања *Phytophthora* врста у различитим састојинама у Србији, изоловано је и идентификовано четири врсте, док пар изолата чека на коначну идентификацију. Такође, добијено је и више *Pythium* spp. изолата и њихова идентификација у току. Листа изолованих врста и порекло изолата приказани су у табели 1.

Табела 1. Изоловане *Phytophthora* врсте и порекло изолата
Table 1. Isolated *Phytophthora* species and origin of isolates

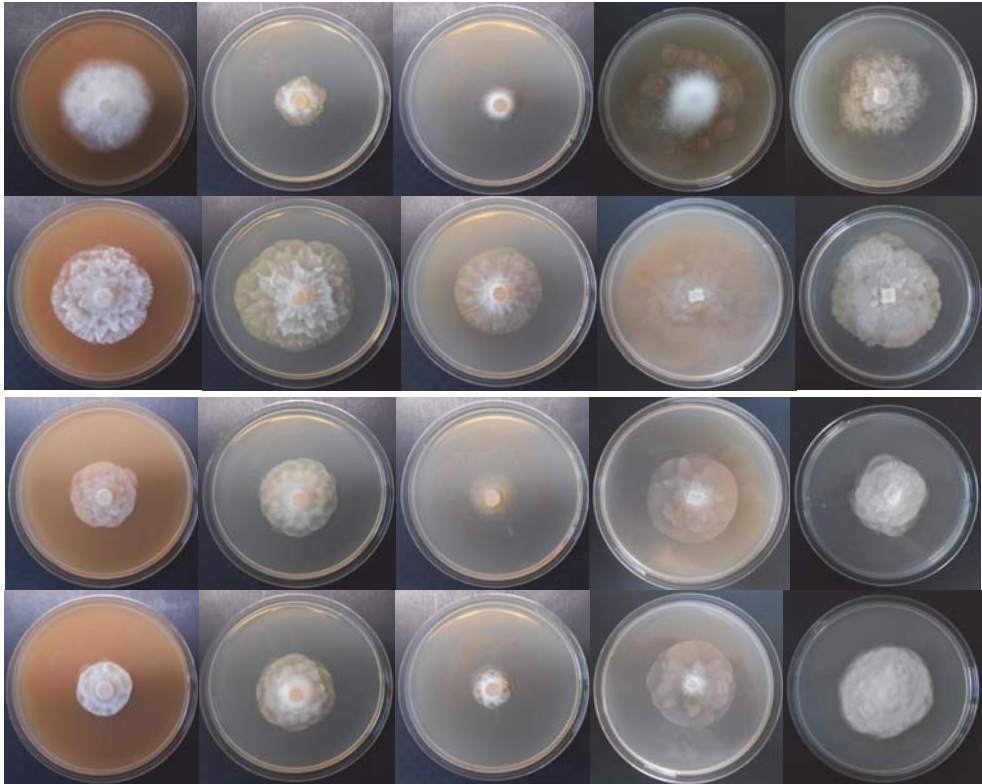
Врста Species	Порекло изолата Origin of isolates		
	Земља и корење Soil and roots	Некротично ткиво Necrotic tissue	Вода и влажна земља Water and mold
<i>Phytophthora cambivora</i>	+	+	-
<i>Phytophthora plurivora</i>	+	+	+
<i>Phytophthora gonapodyides</i>	+	-	+
<i>Phytophthora</i> taxon 'Pg chlamydo'	+	-	+

3.2. Карактеристике колонија

На основу познатих карактеристика колонија извршена је прелиминарна класификација типова колонија добијених изолата чији је опис приказан у табели 2, а изглед колонија на различитим подлогама је приказан на слици 2.

Табела 2. Прелиминарна класификација изолата на основу изгледа колоније
Table 2. Preliminary classified types of isolates according to colony patterns

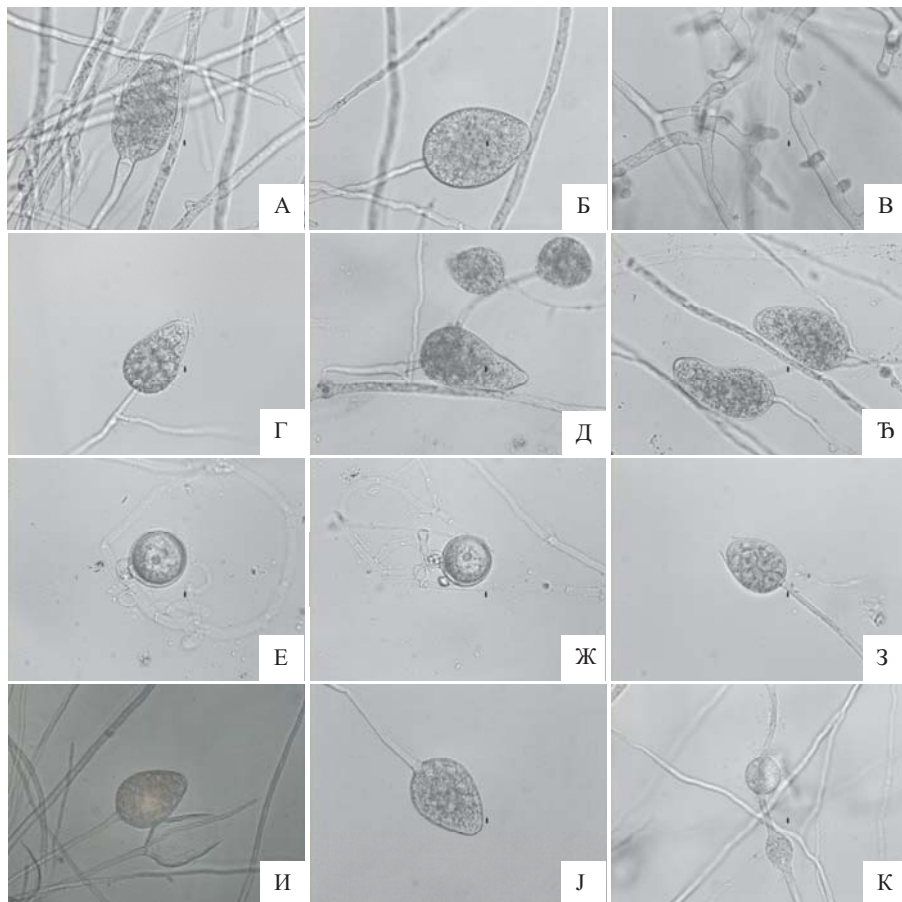
Тип колоније Colony type	Талус Thallus	Карактеристике колонија Colony patterns	Врста Species
Тип 1	Хетероталична	Памучаста до вунаста без посебног облика, на СА и PDA делимично приљубљена, баршунаста, разређена ваздушна мицелија, неправилног обода	<i>Phytophthora cambivora</i>
Тип 2	Хомоталична	Полуваздушаста у средини, благо приљубљена по крајевима, густа до полугуста, правилног обода и облика хризантеме	<i>Phytophthora plurivora</i>
Тип 3	Стерилна	Свиленкаста на СА, приљубљена за супстрат до разређена ваздушаста, облика је розете до неправилно зракаста и равног обода до неправилног на шљивином агару и PDA	<i>Phytophthora gonapodyides</i>
Тип 4	Стерилна	Свиленкаста до провидна на СА, благо хризантемастог или неправилно зракастог облика и благо ваздушаста у средини, густа и приљубљена на V8 и PDA, обод правилан	<i>Phytophthora</i> taxon 'Pg chlamydo'



Слика 2. Карактеристике колонија добијених *Phytophthora* врста на различитим подлогама - Одозго на доле: *Phytophthora cambivora*, *P. plurivora*, *P. gonapodyides* и *Phytophthora* taxon 'Pg Chlamydo'; Слева на десно: V8-агар, Малц-екстракт агар-МЕА, шљивин агар, шаргарепа агар-CA и кромпир-декстроза-агар-PDA.
Figure 2. Colony patterns of obtained *Phytophthora* species on different media: from top to bottom-*Phytophthora cambivora*, *P. plurivora*, *P. gonapodyides* и *Phytophthora* taxon 'Pg Chlamydo'; From left to right-V8-agar; Maltz-extract-agar-MEA, Prune-agar, carrot-agar-CA and potato-dexrose-agar-PDA. (фото: Иван Миленковић; photo: Ivan Milenković)

3.3. Морфолошке карактеристике полних и бесполних структура

После развијања полних и бесполних структура према горе описаној методологији и њиховог посматрања под светлосним микроскопом извршена је идентификација гљива према посебним кључевима и уз помоћ новијих радова са скоро описаним врстама. Група изолата са постојаним спорангијама са равним врхом, ваздушастом и баршунастом мицелијом и типичним коралоидним хифама је идентификована као *Phytophthora cambivora* (Petri) Buisman. Следећа група изолата са хомоталичном врстом, постојаним полубрадавичастим спорангијама веома варијабилног облика, формираним на симподијалним конидиофорима и хризантемастом правилном колонијом брзог раста је идентификована као *Phytophthora plurivora* Jung and Burgess. Група стерилних изолата са спорангијама са равним врхом, обовоидног облика, које се формирају једна унутар друге, са свиленастом и приљубљеном колонијом средње брзог пораста је идентификована као *Phytophthora gonapodyides* (Petersen) Buisman. Последња група изолата добијених из воде и влажне земље је такође била са спорангијама са равним врхом, правилног овоидног облика и са многобројним хламидоспорама, колонијом средњег пораста, приљубљеном за супстрат и благо ваздушастом око инокулума је идентификована као *Phytophthora* taxon 'Pg Chlamydo' Brasier *et al.* Забележене структуре су приказане на слици 3.



Слика 3. Забележене структуре *Phytophthora* врста под светлосним микроскопом: А и Б-*Phytophthora cambivora*-изглед спорангије са равним врхом; В-*P. cambivora*-карактеристичне коралоидне хифе; Г и Д-*P. plurivora*-спорангија са полубрадавичастим врхом на симподијално гранатом спорангиофору; Ђ-*P. plurivora*-полубрадавичасте спорангије у облику кикирикија; Е и Ж-*P. plurivora*-антеридије и оогоније са ооспорама; З-*P. gonapodyides*-спорангија са равним врхом формирана унутар друге; И-*P. gonapodyides*-спорангија; Ј-*Phytophthora* taxon 'Pg chlamydo'-спорангија са равним врхом; К-*Phytophthora* taxon 'Pg chlamydo'-у-краси хифа у ланцима.

Figure 3. Recorded structures of *Phytophthora* species under the light microscope: А and Б-*Phytophthora cambivora*-nonpapillate sporangia; В-*P. cambivora*-coralloid hypha; Г and Д-*P. plurivora*-semipapillate sporangia on sympodially branched sporangiophores; Ђ-*P. plurivora*-semipapillate peanuts-shape sporangia; Е and Ж-*P. plurivora*-antheridia and oogonia with oospores; З-*P. gonapodyides*-nonpapillate sporangia; И-*P. gonapodyides*-sporangia; Ј- *Phytophthora* taxon 'Pg chlamydo'-nonpapillate sporangia; К-*Phytophthora* taxon 'Pg chlamydo'-hyphal swellings. (фото: Иван Миленковић; photo: Ivan Milenković)

4. ДИСКУСИЈА

Буква је за шумарство Србије веома битна врста, како са еколошког аспекта градећи бројне чисте и мешовите заједнице, тако и са економског јер заузима значајан удео у дрвној запремини. Проучавање главних узрочника пропадања букве се намеће као један од најбитнијих задатака узимајући у обзир значај ове врсте.

Током сакупљања узорака регистровано је више карактеристичних симптома који су се огледали у проређености круне, атрофији лишћа, заостајању у расту избојака, трулежи и губитку финог корења и некрозама на матичном корењу, некрозама у приданку и на стаблима уз цурење црног ексудата (слика 1).

Најбитнија болест на буковим стаблима у Србији је ван сваке сумње болест коре букве-„beech bark disease“ (Marinković i Karadžić 1985; Karadžić 2010; Karadžić *et al.* 2012), чији је узрочник дејство два главна фактора и то штетног шумског инсекта *Cryptococcus fagisuga* и гљиве *Neonectria coccinea*. Према истраживањима Караџића *et al.* (2012), присуство инсекта није обавезно да би дошло до инфекције. Такође, забележени су и случајеви када инсект није био присутан али су забележене изражене инфекције што нам указује да су и неки други фактори неопходни за инфекцију гљивом *N. coccinea*. Као резултат заразе овом гљивом настају типичне некрозе на кори стабала уз цурење тамног ексудата. Када се уклони кора, на инфицираном камбијуму су приметне карактеристичне зоне са некротираним прелазима различите боје.

Из оваквих некроза су у одређеним ситуацијама изоловане и различите *Phytophthora* врсте којима је појава ових некроза приписана као примарном узрочнику (Hartmann *et al.* 2006; Jung *et al.* 2005; Jung 2009; Weiland *et al.* 2010). Међутим, ово је потребно проверити директном изолацијом из некротичних ткива на селективним и обичним подлогама и раздвојити узрочника у појединим случајевима. У тестовима патогености са различитим врстама, буква се показала као осетљива на инфекције *Phytophthora* врстама (Fleischmann *et al.* 2002, 2004; Portz *et al.* 2011).

Присуство и изоловане агресивне врсте у буковим шумама у Србији представљају велики ризик по шумарство и биодиверзитет. Стога су брза детекција и идентификација веома битне у предузимању одређених мера борбе против ових патогених организама. Са тим у вези морфолошка идентификација је и поред доступних молекуларних техника у већини случајева неопходна и јефтинија метода за дискриминацију врста. Добро познавање морфологије и екологије појединих врста омогућује нам брзо разликовање присутних врста и комплекса врста, док је у одређеним случајевима неопходно укључити и молекуларне технике ради коначне идентификације и раздвајања морфолошки сличних и идентичних врста и таксона.

Такође, неопходно је наставити истраживања везана за присуство и диверзитет ових патогених организама како у буковим, тако и у различитим другим састојинама са осетљивим домаћинима и утврдити њихову улогу у попадању стабала букве у различитим шумама у Србији.

5. ЗАКЉУЧЦИ

На основу спроведених истраживања и добијених резултата можемо извући следеће закључке:

- Током обиласка терена и сакупљања узорака примећени су различити симптоми који су указивали на могуће инфекције са патогенима из рода *Phytophthora*;
- Изолати су на основу изгледа колоније на различитим подлогама класификовани у групе изолата и извршен је опис добијених култура;
- Извршена је детаљна анализа развијених полних и бесполних структура под светлосним микроскопом и посматране структуре су забележене уз помоћ микроскопске камере;
- Комбинацијом детаљних морфолошких карактеристика и изгледа колонија извршена је идентификација врста;
- Из прикупљених узорака изоловано је и идентификовано четири врсте.

Захвалница: Овај рад је реализован у оквиру пројеката: „Одрживо газдовање укупним потенцијалима шума у Републици Србији“ – ЕВБ: ТР 37008, финансираном од стране Министарства Просвете и Науке Републике Србије, и PHYSEE-ERA NET+138/1.

ЛИТЕРАТУРА

- Banković S., Medarević M., Pantić D., Petrovic N. 2009. National forest inventory of the Republic of Serbia: forest fond of the Republic of Serbia. 1th Edition, Ministry of agriculture, forestry and water management, Republic of Serbia, directorate of forestry. Planet print, Belgrade.
- Beakes G.W., Glockling S.L., Sekimoto S. 2012. The evolutionary phylogeny of the oomycete “fungi”. *Protoplasma* 249: 3–19.
- 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 (eds.: C. M. Brasier, T. Jung, W. Osswald). Forest Research, Farnham, UK, 5–16.
- Brasier C.M. 2008. The biosecurity threat to the UK and global environment from international plant trade. *Plant Pathology*, 57, 792–808.
- 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.
- 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.
- 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.
- Erwin D.C., Ribeiro O.K. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. APS Press, American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Evans H., Oszako T. 2006. Alien Invasive Species and International Trade. Forest Research Institute-IBL, Sekocin Stary, Poland, pp. 65.
- 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.
- Fleischmann F., Schneider D., Matyssek R., Osswald W.F. 2002. Investigations

- on Net CO₂ assimilation, transpiration and root growth of *Fagus sylvatica* infested with four different *Phytophthora* species. *Plant Biology*, 4, 144–152.
- Hartmann G., Blank R., Kunca A. 2006. Collar rot of *Fagus sylvatica* 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.
- Hong C., Gallegly M.E., Richardson P.A., Kong P. 2011. *Phytophthora pini* Leonian resurrected to distinct species status. *Mycologia* 103, 351–360.
- Jung T. 2009. Beech decline in Central Europe driven by the interaction between *Phytophthora* infections and climatic extremes. *Forest Pathology*, 39, 73–94.
- 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.
- Jung T., Blaschke H., Osswald 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.
- 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.
- Jung T., Cooke D.E.L., Blaschke H., Duncan J.M., Osswald W. 1999. *Phytophthora quercina* sp. nov., causing root rot of European oaks. *Mycological Research*, 103, 785–798.
- Jung T., Hansen E.M., Winton L., Osswald W., Delatour C. 2002. Three new species of *Phytophthora* from European oak forests. *Mycological Research*, 106, 397–411.
- Jung T., Hudler G.W., Jensen-Tracy S.L., Griffiths H.M., Fleischmann F., Osswald W. 2005. Involvement of *Phytophthora* spp. in the decline of European beech in Europe and the USA. *Mycologist*, 19, 159–166.
- 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).
- 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, 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/B&H, Book of Abstracts, p 66.
- Караџић Д. 2010. Шумска фитопатологија. Универзитет у Београду-шумарски факултет, Универзитет у Бања Луци Шумарски факултет, 1-774.
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. 2008. Dictionary of the Fungi. 10th Edition. CAB International, Oxon, UK, pp. 1771.
- Marinković P., Karadžić D. 1985. *Nectria coccinea* (Perse. x Fr.) Fries uzrok sušenja bukve u Srbiji. *Zaštita bilja*, Vol 36(3) Br. 173, (263-272).
- Milenkovic I., Keca N., Jung T. 2011a. 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, Budapest, Hungary, 21-22 November 2011, 28.
- Milenković I., Keča N., Jung T. 2011b. 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 rezimeea, 54-56.
- Milenković I., Keča N., Karadžić D., Nowakowska J. A., Borys M., Sikora K., Oszako T. 2012. Incidence of *Phytophthora* species in beech stands in Serbia. *Folia Forestalia Polonica*, series A 2012, Vol. 54 (4), pp. 223-232.
- Munda A., Zerjav M., Schroers H-J. 2007. First report of *Phytophthora citricola* occurring on *Fagus sylvatica* in Slovenia. *Plant Disease*, 91, 907.
- Nechwatal 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).
- Orlikowski L.B., Oszako T., Szkuta G. 2006. First record on *Phytophthora* spp. associated with the decline of European beech stand in south-west Poland. *Phytopathologia Polonica*, 42, 37-46.
- 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.

- 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.
- Stamps D.J., Waterhouse G.M., Newhook F.J., Hall G.S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Mycological Papers 162. CAB International Mycological Institute, Kew, Surrey.
- Waterhouse G.M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycol. Papers No. 92. CAB International Mycological Institute, Kew, Surrey.
- Weiland J.E., Nelson A.H., Hudler G.W. 2010. Aggressiveness of *Phytophthora cactorum*, *P. citricola* I, and *P. plurivora* from European beech. *Plant Disease*, 94, 1009–1014.

THE MOST COMMON *PHYTOPHTHORA* SPECIES
ON BEECH IN SERBIA: MORPHOLOGICAL
AND COLONY GROWTH PATTERNS

Ivan Milenković

Dragan Karadžić

Summary

Phytophthora species are serious pathogens of deciduous tree species, including the European beech. It was shown in many studies that these pathogens can cause various damages to beech trees in different mixed and clear woody stands, and that there is significant threat to forestry and biodiversity posed by the presence of these organisms. Also, several pathogenicity tests with young beech seedlings have shown that these pathogens caused deterioration and loss of root systems.

*After registered symptoms in different beech stands in Serbia, sampling and isolation methods on selective nutrient media was performed. The detailed morphological and physiological identification have been performed and four different Phytophthora species were confirmed including *P. cambivora*, *P. gonapodyides*, *P. plurivora* and *Phytophthora* taxon '*Pg chlamydo*'. In addition, several *Pythium* spp. isolates were obtained. The most frequent isolated species was homothallic, semipapillate, and with very variable sporangia shape *P. plurivora*, followed by heterothallic *P. cambivora* and sterile *P. gonapodyides*. Observed sexual and asexual structures were recorded under the light microscope camera as a part of morphological identification. Also, colony growth and shape patterns were recorded as well.*

Additional field surveys in different clear and mixed stands and in different ecosystems are required, as well as determining the role of these pathogens in trees decline through different pathogenicity tests.