

МУЛТИДИСЦИПЛИНАРНА ИСТРАЖИВАЊА ПРОЦЕСА СУШЕЊА ШУМА

Уговором број: 401-00-1423/2015-10 од 24.07.2015. године који је склопљен између Министарства пољопривреде и заштите животне средине (давалац средстава) и Института за низијско шумарство и животну средину Универзитета у Новом Саду (корисник средстава) дата је сагласност за израду развојно-истраживачког пројекта на тему *Мултидисциплинарна истраживања процеса сушења шума*. По наведеном Уговору број: 401-00-1423/2015-10 од 24.07.2015. године, достављамо вам коначан извештај о извршеним активностима на Пројекту.

1. УВОД

Сушење шума је дугогодишњи деградациони процес који није заобишао ни нашу земљу. Највећи број досадашњих истраживања узрока сушења шума указује да је оно узроковано деловањем већег броја фактора, док се примарни утицај углавном приписује абиотичким штетним факторима (суша, загађење ваздуха, режим подземних и поплавних вода, површинских вода и падавина и др.)

Сушење шума смрче на Копаонику је процес који, у континуитету, траје дуги низ година. Од 2011. године па до данас констатовано је значајније сушење смрче као најзначајније врсте дрвећа на подручју Националног парка Копаоник. Сушење се најчешће јавља на појединачним стаблима и мањим или већим групама стабала. На стабалима која се налазе у процесу сушења констатовано је присуство различитих болести и штеточина, које највероватније имају секундарни значај. Сушење смрчевих шума је забележено у истом посматраном периоду и на другим планинама у Србије где се налази природни ареал смрче.

Генерално, значај смрчевих шума за шумарсто у Србији је велики, како са економског тако и са еколошког аспекта. Сушење се у смрчево шумама најчешће јавља на доминантним стаблима чиме се њихова вредност у економском смислу знатно смањује. У исто време ова стабла су важна и као носиоци будуће обнове састојина па су штете и у еколошком смислу врло велике. Откривање примарних узрока сушења ових шума нам може омогућити избор одговарајућих мера газдовања којима ћемо моћи да умањимо њихово негативно дејство. Нарочито је важно применити адекватне мере адаптације у циљу ублажавања негативног утицаја очекиваних климатских промена.

Основно питање које се намеће при реализацији овог пројекта је „Који су примарни узроци сушења смрчевих шума у НП Копаоник“?

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Циљ истраживања је да се на основу истраживања климатских карактеристика, станишних услова, здравственог стања, екофизиолошких, биохемијских и дендроеколошких параметара као и генетичког диверзитета утврде примарни узроци сушења, а на основу њих дефинише предлог смерница и мера за даље газдовање смрчевим шумама на Копаонику.

Постизање циља истраживања у реализацији овог пројекта је омогућено проучавањем:

- а) станишних карактеристика (климатских карактеристика и особина земљишта)
- б) екофизиолошких и биохемијских параметара смрче
- в) дендроеколошких параметара
- г) здравственог стања
- д) генетичког диверзитета
- е) анализе виталности смрче на основу даљинске детекције

То подразумева да се примене мултидисциплинарна истраживања процеса сушења шума са применом великог броја различитих метода истраживања и применом различитих теренских и лабораторијских инструмената и апарата. Детаљанији приказ различитих метода које су коришћене у реализацији овог пројекта је дат по поглављима у резултатима истраживања.

Теренска истраживања на реализацији овог пројекта су спроведена у 2015. и 2016. години на шест локалитета (слика 1).

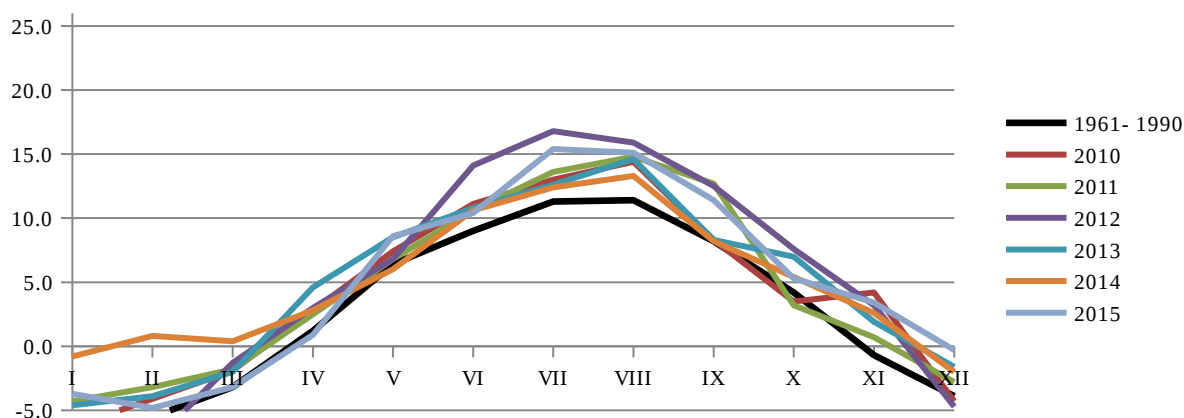
Такође у циљу поређења добијених резултата са резултатима истраживања смрчевих шума на Копаонику истраживање је спроведено и на локалитету Газдинска јединица Самоковска река, одељење 47 (координате 43° 18' 45,3" и 20° 47' 14,4", надморска висина 1530 метара) на коме није констатовано сушење ни појединачних стабала.

3. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

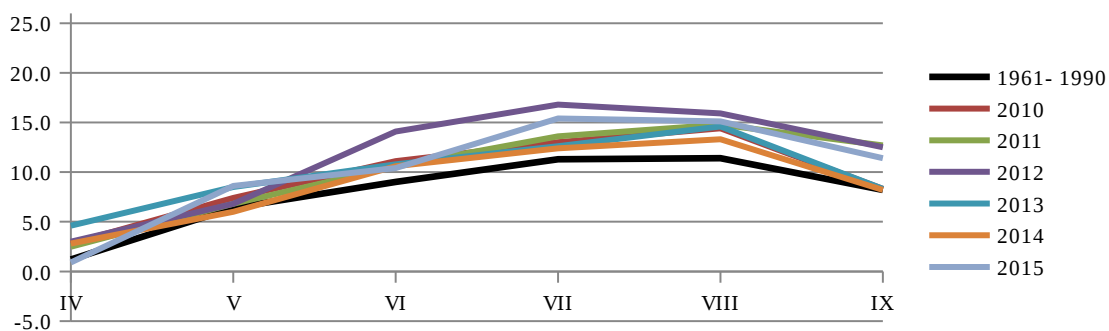
3.1. Истраживање станишних карактеристика (климатских карактеристика и особина земљишта)

Приказивање климатских прилика подручја је везано за податке метеоролошких мерења основних климатских елемената (средње годишње и средње месечне вредности температуре) на климатолошкој станици Копаоник за референтни период 1960-1991, те за период од 2010 до 2015. године (подаци преузети из метеоролошких годишњака РХМЗ за 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 и 2015. годину). Анализа климатских индекса је извршена на основу сређених података из метеоролошких годишњака.

Средња годишња температура ваздуха је у периоду од 2010 до 2015 године била већа од 1,3 до 2,3°C у односу на нормалу 1961-1990. (Слика 2). У вегетационом периоду је средња температура ваздуха била већа од 1,0 до 3,6°C (Слика 3).

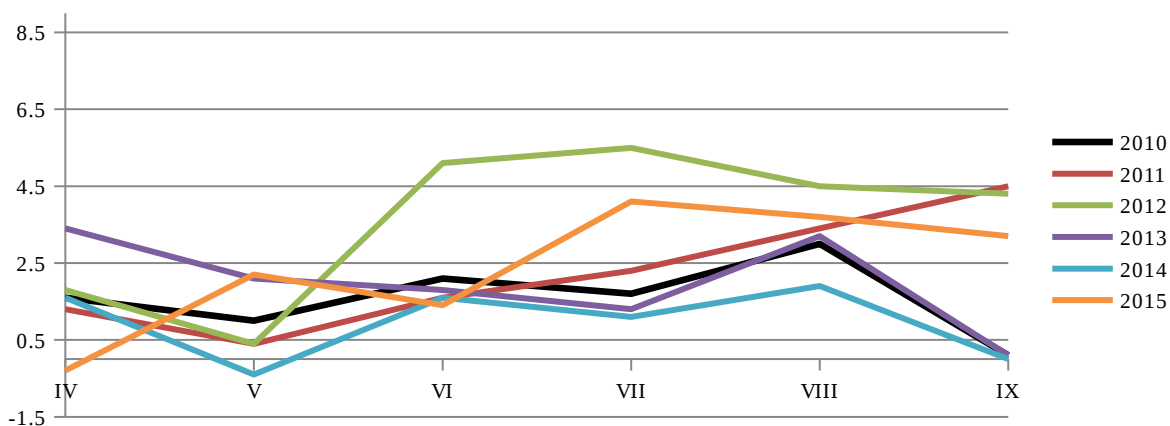


Слика 2. Средње месечне вредности температуре ваздуха у периоду од 2010 до 2015.године у односу на нормалу за метеоролошку станицу Копаоник



Слика 3. Средње месечне вредности температуре ваздуха у вегетационом периоду од 2010 до 2015. године у односу на нормалу за метеоролошку станицу Копаоник

Највећа одступања су забележена за 2012. годину где је од јуна до септембра забележена већа температура од 4,5 до 5,5°C (Слика 4).



Слика 4. Одступање средњих месечних вредности температуре ваздуха у вегетационом периоду од 2010 до 2015. године у односу на нормалу за метеоролошку станицу Копаоник

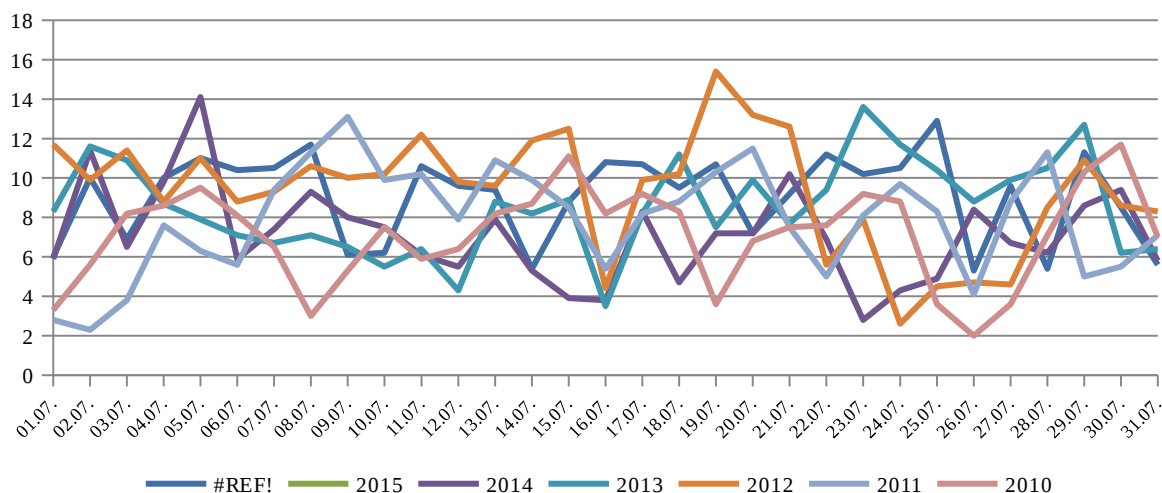
На наведену аномалију упућује и FAI индекс где је за 2012. годину утврђена највећа вредност, а одмах затим и за 2015. годину (Табела 1).

Табела 1. FAI индекс за период од 2010 до 2015. године у односу на период 1961-1990

1961-1990	2015	2014	2013	2012	2011	2010
2.22	5.00	2.00	2.89	5.56	2.77	3.01

На локалитету резервата Метође (координате 43° 18' 16,8'' и 20° 50' 38,6'', надморска висина 1470 метара) од 2010. до 2016. године вршено је детаљно истраживање микроклиматских карактеристика једне састојине у којој није утврђено сушење стабала смрче. Мониторинг температурних услова и релативне влаге је извршен у састојини смрче

коришћењем термо сензора. На слици 5 је приказано дневно колебање средње дневне температуре ваздуха током јула у састојини смрче у периоду од 2010. до 2015. године.



Слика 5. Колебање средње дневне вредности температуре ваздуха у месецу јулу у састојини смрче

И колебање дневних температура нам јасно показује о постојању метеоролошке суше у 2011. и 2012. години.

Мањак влаге је током вегетационог периода био најизраженији током 2012. године, па после тога и у 2015. године (табела 2).

Табела 2. Мањак влаге у вегетационом периоду

Мањак влаге у вегетационом периоду	2015	2014	2013	2012	2011	2010
	55	0	18	159	0	8

На наведену констатацију упућује и релативна влажност ваздуха у вегетационом периоду за период истраживања (табела 3), као и моментална влажност земљишта – месец септембар (табела 4).

Табела 3. Релативна влажност у вегетационом периоду

Релативна влажност ваздуха у вегетационом периоду	2015	2014	2013	2012	2011	2010
	83.3	91.5	85.2	77.7	86.1	88.9

Табела 4. Моментална влажност земљишта (% vol) на 30 см – месец септембар

Моментална влажност земљишта у вегетационом периоду	2015	2014	2013	2012	2011	2010
	12.14	18.81	14.61	7.01	9.6	12.04

Претпостављамо да с обзиром да се ови последњи резултати односе на састојину која се налази на потпуној северној експозицији са природним хумидним микроклиматом и у којој није утврђено сушење, на локалитетима на којима је изражено значајније сушење резултати би били још екстремнији.

Закључно, на основу општих климатских података са Метеоролошке станице Копаоник се јасно види да период после 2010. године се значајно разликује у односу на климатску нормалу (1961-1990), а нарочито екстремна је 2012. година. Ову последњу констатацију јасно потврђују и резултати микроклиматских и микростанишних показатеља за једну смрчеву састојину на којој имамо мерења од 2010. до данас.

3.2. Истраживање екофизиолошких и биохемијских параметара смрче

3.2.1. Екофизиологија

Транспирација је један од кључних физиолошких процеса који указују на водни статус биљке, с обзиром да управо транспирација омогућава усвајање и кретање воде. Овај процес зависи од бројних фактора, као што су климатски параметри, водни потенцијал земљишта, стоматална проводљивост, итд.

Сушење одраслих стабала смрче је широко распрострањена појава у Европи. Симптоми који прате ову појаву су, углавном, сушење врхова крошњи, проређивање крошње и хлороза четина. Истраживања су показала да од момента појаве првих симптома па до комплетног сушења стабла углавном прође једна до четири године. Поједини аутори сматрају да се симптоми сушења јављају као последица физиолошке ослабљености стабала, која у каснијим фазама резултира у повећаној осетљивости стабала на различите биотичке и абиотичке факторе стреса.

Услед вишегодишњег трајања овог процеса и даље је нејасно када стабла заправо улазе у неповратну фазу која води ка потпуном сушењу. Из тог разлога, поједини аутори виде процес транспирације као ефикасно средство у праћењу првих сигнала сушења стабала. На пример, истраживање спроведено у Норвешкој је показало да је интензитет транспирације значајно опадао код стабала смрче чак и пре појаве видљивих симптома сушења.

У оквиру овог пројекта континуирано је крајем 2015. и у вегетационом периоду 2016. године праћена транспирације на одраслим стаблима смрче (која немају видљиве симптоме сушења), што је прво истраживање ове врсте у Србији. Главни циљ истраживања

јесте да се преко овог процеса прати утицај различитих еколошких фактора, а пре свега суше, на смрчу.

С обзиром да се поменути утицаји могу сагледати само уколико се мерења спроведу током читавог вегетационог периода, то је крајем вегетационог периода 2015. године (септембар месец) извршено издвајање огледне површине, као и тестирање мерне опреме. Огледна површина је постављена на подручју Газдинске јединице "Самоковска река", одељење 33, на надморској висини од 1530 метара. Координате огледне површине су: С $43^{\circ}18'56,7''$; И $20^{\circ}46'52,6''$. Површина се налази на рубу прогале која је настала као резултат санитарне сече и уклањања сувих стабала смрче на месту интензивног сушења. Стабла која су одабрана, да се на њима раде мерења, немају видљивих симптома сушења.

Прелиминарна истраживања су показала да је инсталирана опрема несметано функционисала, те да су се главна мерења могла започети у пролеће наредне године. У 2016. години, опрема је инсталирана поново током маја месеца тј. пре почетка вегетационог периода на овој висини, и мерења спроведено континуирано, преко целог вегетационог периода, закључно са октобром месецом (Слика 6 и 7).



Слика 6 и 7. Постављање и калибрација опреме за праћење транспирације

Проток воде кроз стабла, односно транспирација мерена је помоћу система "EMS51" у временским интервалима од 10 минута. Добијене вредности протока воде кроз стабло (изражене у $\text{kg cm}^{-1} \text{h}^{-1}$) су затим бити прерачунате, на бази одређених таксационих елемената стабала, чиме ће бити добијена укупна транспирација по једном стаблу ($\text{kg stablo}^{-1} \text{h}^{-1}$). Следећи корак је био прерачунавање транспирације на површину од 1 ha, што је учињено из података мерења транспирације и инвенторних података за састојину у којима

се огледна површина налази. На основу дистрибуције стабала по дебљинским степенима (броја стабала по дебљинским степенима) и одређених таксационих елемената стабала, на којима је транспирација мерена, извршено је прерачунавање транспирације по 1 ha и изражено у килограмима по хектару, по једном сату ($\text{kg stablo}^{-1} \text{ h}^{-1}$), а затим и у милиметрима (mm). Последње у низу јесте прерачунавање транспирације са 10-о минутних вредности на једночасовне, а затим и на 24 часовне вредности.

Да би се видело који од еколошких фактора има највећи утицај на транспирацију, извршено је и детаљно праћење влажности земљишта, водног потенцијала земљишта, температуре и влажности ваздуха, као и сунчеве радијације. Влажност и температура земљишта су мерени помоћу "ThetaProbe ML3" сонди (три комада), док су за мерење водног потенцијала коришћени "Gypsum block Delmgorst GB2" сензори, који су постављени на дубинама од 10, 30 и 50 cm. Температура, релативна влажност ваздуха и сунчева радијација су праћени преко "EMS33E" сензора, који су постављени изван огледне површине, на отвореном пољу.

Недостатак ових наших истраживања је што је опрема на локалитету постављена тек прошле године па немамо никакав увид у интензитет транспирације у годинама метеоролошке суше од 2011.-2013. године. Ова истраживања је потребно наставити у континуитету већи број година како би истраживањем биле обухваћене све екстремне и оптималне године за раст стабала смрче на Копаонику (сушне, кишне, топле, хладне, итд.)

Истраживања екофизиолошких параметара у циљу добијања информације о сушењу шума су обухватила су мерења кружења угљен диоксида и воде у испитиваним екосистемима смрче кроз одређивања интензитета дисања и транспирације земљишта на датим локалитетима. Разлог мерења ових параметара је био условљен чињеницом да су испитивана стабла на локалитету који је погођен сушењем у зрелој фази због чега се није могло приступити одређивању интензитета фотосинтезе самих стабала са земље, док скидање грана са стабала и мерење физиолошких параметара на њима не би дало реалну слику о стању самих стабала. Друга чињеница због које је изабрана ова методологија гласи да су процеси кружења материје у земљишту уско повезани са условима спољашње средине као и са стањем вегетације чији коренов систем представља једну веома значајну компоненту у биолошким процесима земљишта.

Дисање земљишта представља скуп комплексних процеса који доприносе одавању угљен-диоксида (CO_2) са површине земљишта, односно ослобађање CO_2 услед његове продукције од стране кореновог ситема (аутотрофно дисање), земљишних организама и, у мањој мери, хемијске оксидације угљеникових једињења (хетеротрофно дисање). Дисање земљишта је једна од главних компонената кружења угљеника у биосфери и може да износи и до три четвртине укупног дисања екосистема. Нето продуктивност екосистема

(NEP) представља осетljivу равнотежу између фотосинтезе и дисања који су уско повезани са кружењем воде у екосистему. Земљиште представља главно складиште угљеника у копненим екосистемима и садржи веће количине органског угљеника од све копнене вегетације и атмосфере. Шуме играју значајну улогу као складиште за 80% надземног и 40% подземног угљеника, тако да мала промена у понору угљеника у шумском земљишту може значајно утицати на глобално кружење угљеника. Иако представљају главни понор угљеника, шуме су посебно осетљиве на климатске промене јер дуговечност стабала не дозвољава њихово брзо прилагођавање променама услова средине.

Истраживања у подручју интензивног сушења шума на Копанику у 2015. и 2016. години су вршена на огледној површини која је постављена на подручју Газдинске јединице Самоковска река, Резерват Јанкове баре (координате 43° 19' 05,1" и 20° 47' 37,6", надморска висина 1520 метара). Као референтна састојина у којој нема процеса сушења је изабрана природна шума смрче са бекицом (*Picea excelsa serbica luzuletosum*) у ГЈ Метође, 79/6, на смеђем подзластом земљишту, на врло стрмом терену (21-25°), надморске висине 1450-1500 м, североисточне експозиције. У свакој састојини је постављена огледна површина димензија 25x25м која је подељена на поља димензија 5x5м. У центру сваког поља су насумично одабране тачке на којима је извршено мерење дисања земљишта.

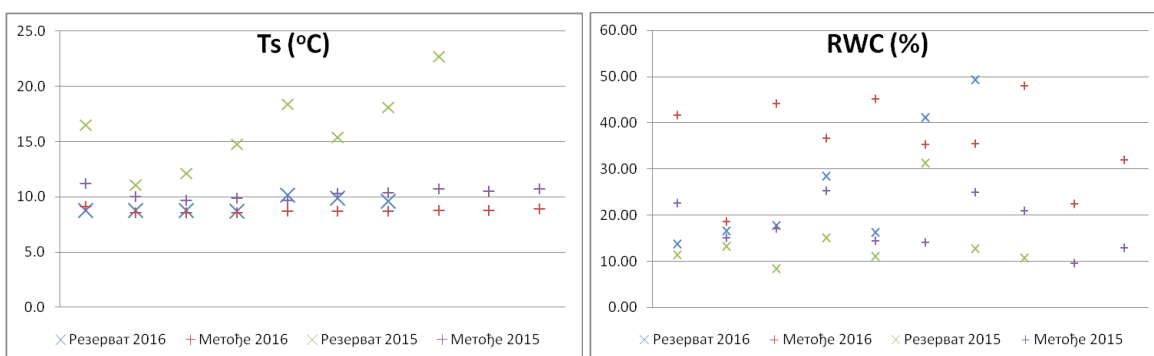
Мерење дисања земљишта је урађено помоћу преносног апарата за измену гасова ADC Bioscientific LCPro+ који се најчешће користи за одређивање интензитета фотосинтезе и транспирације у биљкама. На апарат је уместо коморе за одређивање фотосинтезе стављена комора за мерење дисања земљишта. Приликом мерења, инструмент бележи податке о дисању земљишта, евапорацији H₂O, и температури ваздуха у комори. Поред мерења дисања и евапорације земљишта извршена су и мерења садржаја влаге и температуре у земљишту помоћу уређаја Delta-T Devices ML3 Kit (Слика 8).

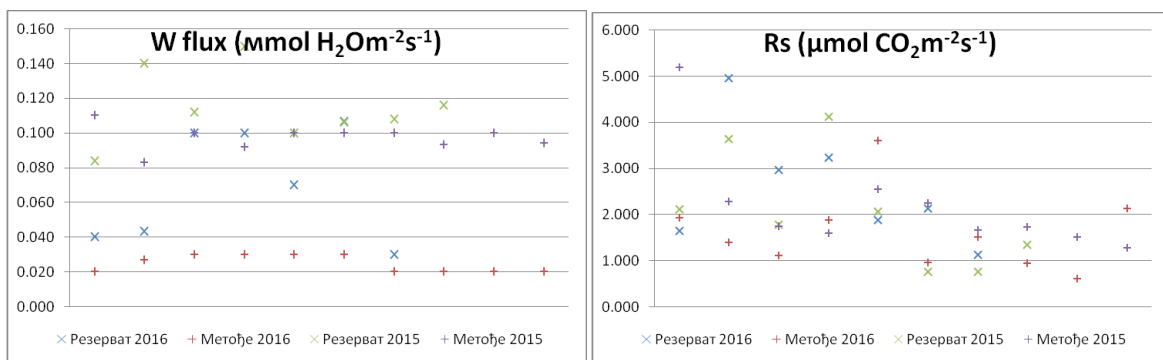


Слика 8. Мерење фотосинтезе на смрчи и дисања земљишта

С обзиром на претходна искуства у мерењу дисања земљишта у различитим лишћарским, четинарским и мешовитим састојинама и чињеници да су активности на овом пројекту почеле у касно лето 2015.године, закључено је да се најбоље упоређење стања екосистема може добити упоређивањем локалитета у исто време у 2 различите године. С обзиром да је кумулативни ефекат климатских услова на екофизиолошки статус најизраженији у касно лето, мерења су извршена почетком септембра 2015. и 2016. године.

Резултати мерења у обе сезоне су показали различите вредности у испитиваним састојинама, као и различите вредности у климатски различитим сезонама (Слика 9).



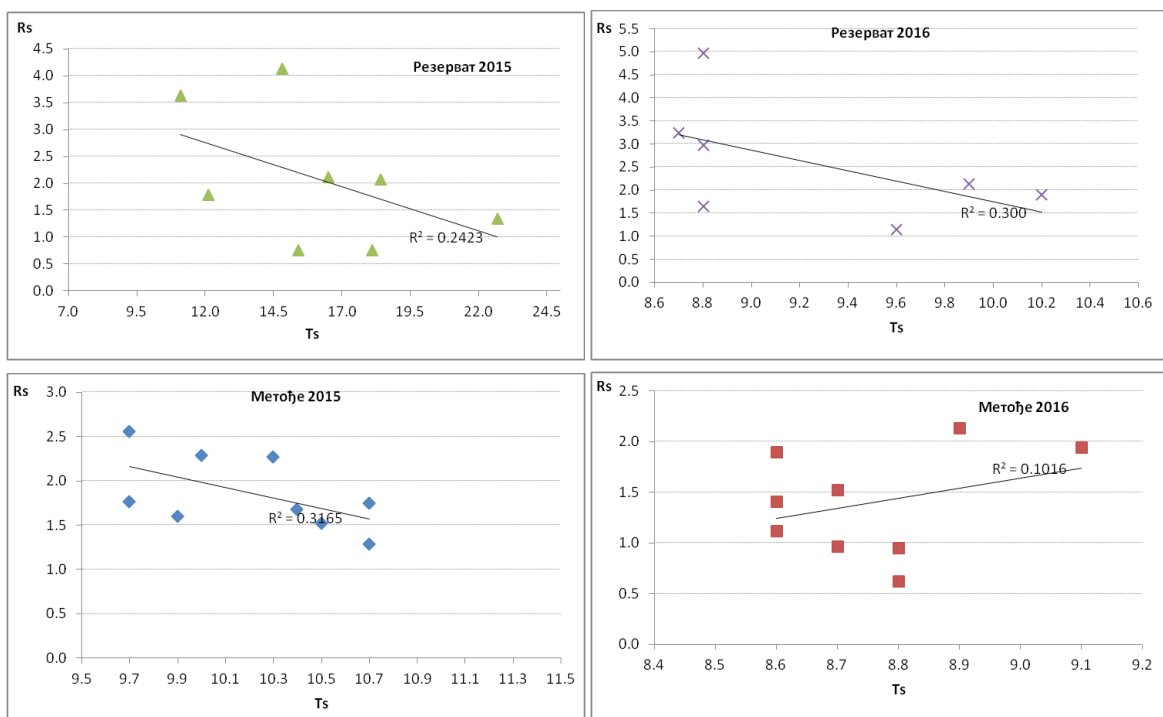


Слика 9. Температура (Ts) и садржај воде (RWC), евапорација (Wflux) и дисање земљишта (Rs) у испитиваним састојинама смрче

Добијени резултати (Слика 9.) су показали утицај суше у касно лето 2015. године која је била израженија у резервату где је забележено сушење стабала. Температуре земљишта у резервату су биле знатно више (16,1 °C) од температура на локалитету Метође (10,4°C). Ове вредности су узроковале веће вредности евапорације земљишта на оба локалитета (Метође 0,097; Резерват 0,115 ммолН₂Ом⁻²с⁻¹), као и мањи садржај воде у 2015. години (Метође 18,07%; Резерват 14,24%).

Резултати мерења у 2016. години су показали да је влажнији период у августу утицао на добијене вредности. Садржај воде у земљишту је на оба локалитета (Метође 35,58%; Резерват 27,11%) био већи него у истом периоду 2015. године, што је узроковало и нижу температуру земљишта на оба локалитета (Метође 8,8°C; Резерват 9,2°C) него што је била 2015. године. Температура земљишта је била пресудан фактор који је утицао на евапорацију, тако да су и ове вредности биле мање у 2016. (Метође 0,097; Резерват 0,115 ммолН₂Ом⁻²с⁻¹)

Резултати дисања земљишта су такође показали различите вредности, како на испитиваним локалитетима, тако и у 2015. и 2016. години (Слика 10). Повећана температура земљишта је утицала на вредности дисања земљишта у 2015. години на оба локалитета, мада различито зависно од локалитета. Тако је на локалитету Метође вредност интензитета у 2015. години (2,495 μмолСО₂м⁻²с⁻¹) била већа него у 2016.години (1,650 μмолСО₂м⁻²с⁻¹). Насупрот Метођама, у резервату је сушни период утицао на смањење интензитета дисања земљишта који је у 2015. години (2,080 μмолСО₂м⁻²с⁻¹) био мањи него у 2016. години (2,640 μмолСО₂м⁻²с⁻¹).



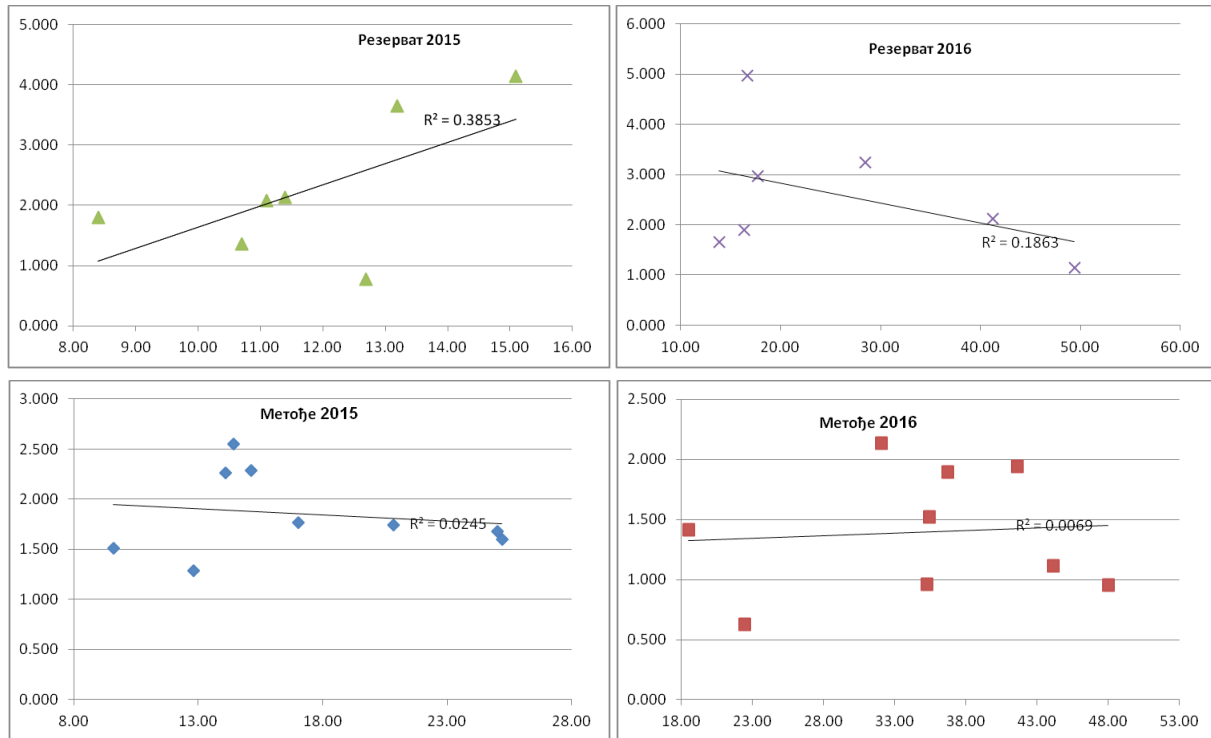
Слика 10. Зависност дисања земљишта (Rs) од температуре земљишта (Ts) на испитиваним локалитетима у 2015. и 2016.

Анализа зависности дисања земљишта од температуре земљишта је показала да је на локалитету резервата интензитет дисања у обе године био у слабој негативној корелацији са температуром земљишта ($R^2=0,2423$ у 2015. и $R^2=0,300$ у 2016. години). Насупрот овом локалитету, на Метођама су различите године различито утицале на корелацију ова два фактора, тако да је у 2015 години забележена средња негативна корелација дисања и температуре земљишта ($R^2=0,316$), док је у 2016. години ова зависност била слабо позитивна ($R^2=0,1016$).

Приликом анализе зависности интензитета дисања од садржаја влажности (Слика 11), на локалитету Метође је забележена незнатна негативна корелација између дисања и влажности земљишта у 2015. години ($R^2=0,0245$), док је у 2016 години забележена незнатна позитивна корелација ($R^2=0,0069$).

Ови резултати указују на негативан утицај суше на локалитету на коме су забележена сушења стабала. С обзиром на чињеницу да се дисање земљишта дели на две главне компоненте: аутотрофно које представља дисање корена биљака и хетеротрофно које је последица деградације органске материје помоћу микророганизама зависност оба процеса од климатских услова је непобитна. Обе ове компоненте су јако зависне од спољашњих фактора температуре и влажности земљишта које комплексно утичу на сам процес дисања. Повећање садржаја воде повећава хетеротрофну компоненту дисања

земљишта, али само при температурама које су константне и изнад 10°C јер су при ниским варирајућим температурама физиолошки процеси у земљишту веома ниског интензитета. При константној температури земљишта интензитет дисања



Слика 11. Зависност дисања земљишта (у оса) од садржаја воде (х оса) на испитиваним локалитетима у 2015. и 2016.

земљишта је условљен садржајем воде, док је при вишим константним влажностима (60%), ослобађање CO_2 зависи од садржаја органске материје у земљишту.

Резултати дисања земљишта на Метођу су показали већу зависност од температуре, највероватније због чињенице да је овај локалитет у обе године био влажнији и на њему нису забележена сушења стабала смрче. По правилу, већина модела и истраживања зависности R_s од других фактора, првенствено истиче линеаран или експоненцијалан утицај температуре земљишта. Регресиона анализа у овом истраживању је показала значајан утицај суше и њеног утицаја на водни флуks земљишта на добијене вредности R_s на локалитету на коме је забележено сушење стабала. Утицај садржаја воде на ослабађање CO_2 из земљишта је компликован због утицаја на дисање корена, дисање микроорганизама и транспорт гаса кроз земљишта. Врло често смањење дисања услед промене влажности земљишта је изражено само при екстремним ситуацијама ниске и високе влажности, док између тих вредности влажност земљишта нема значајан ефекат на интензитет дисања.

Разна истраживања су показала да је дисање земљишта у нелинеарној корелацији са садржајем влаге у земљишту и да је највећи интензитет дисања забележен при $0,25 \text{ м}^3/\text{м}^3$ док су вредности дисања земљишта при већем или мањем садржају влаге у земљишту биле мање. Повећање влажности земљишта утиче на приступачност угљеника за деградацију који није доступан при условима ниже влажности што потврђују и резултати истраживања који су забележили веће хетеротрофно дисање у годинама са више падавина. Значај суше на смањење хетеротрофног дисања у састојинама смрче су упркос сличној годишњој температури земљишта може објаснити чињеницом да корена стабала различитих врста дрвећа различито реагује на појаву суше. Врсте са дубљим кореновим системом су у могућности да пасивно премештају воду у више слојеве земљишта и тиме поспешују аутотрофно дисање, док смрча као врста са изразито плитким кореном суберификацијом коренових длачица спречава одавање воде у ризосферу у условима суше. Овом појавом се такође могу објаснити мале вредности дисања у сушним периодима овога истраживања.

Добијени резултати, као и наведене чињенице из овог и других истраживања везаних за дисање земљишта нам указују на значај суше као главног фактора за смањење дисања земљишта на испитиваном локалитету, који због специфичности самог локалитета, особина кореновог система смрче је сигурно допринео сушењу стабала.

Имајући у виду добијене резултате мерења дисања земљишта на оба локалитета, долази се до констатације да недостатак мерења у сушном периоду (2011-2013) на локалитету резервата у коме су забележена сушења стабала смрче представља велики хендикеп. Ако се узме у обзир да су на локалитету Метође ова мерења вршена од 2011.године, и да су резултати показали утицај сушног периода на дисање земљишта на том локалитету, добијени подаци мерења у резервату у коме је забележено сушење били би веома значајни за добијање боље слике и појашњење утицаја суше на сушење стабала на овом локалитету.

3.2.2. Биохемија

У циљу расветљавања феномена сушења стабала смрче на планини Копаноник примењени су биохемијски параметри процене оксидативног стреса *in vitro*. Један од пропратних, али у исто време и узрочних фактора суше је свакако и оксидативни стрес. Оксидативни стрес представља појаву неконтролисане пропагације реактивних кисеоничних врста, које због своје високе реактивности имају способност да изазову оксидацију основних биомолекула попут протеина и липида, али и нуклеинских киселина, изазивајући тиме поремећаје нормалног метаболизма који за последицу могу имати и нарушавање осмотске равнотеже и довести до сушења. Свакако да појави оксидативног

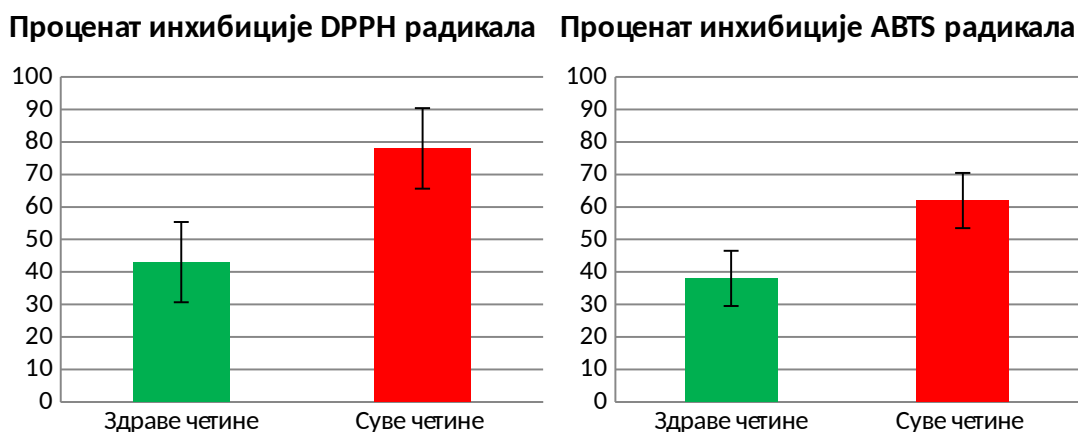
стреса доприносе и да микроклиматски, едафски као и земљишни фактори локалитета. Унутар ове фазе истраживања извршена је квантитативна анализа производа секундарног метаболизма биљака у првом реду садржају фенолних и флавоноидних једињења који се одликују изразитом великом антиоксидантном активношћу и који се сматрају најважнијим једињењима којима се биљка бори против суше и оксидативног стреса. У зависности од садржаја ове две групе једињења, можемо доћи до података који су од круцијалног значаја за разликовање адаптивности, пластичности и прилагодљивости врсте на променљиве услове животне средине и климатских промена. Да би се биљка одбранила од неповољних климатских услова пре свега суше, долази до активације метаболичких путева који доприносе повећаној биосинтези метаболита који имају осмопротективну улогу и способност да за своје хидроксилне и друге поларне групе везују молекуле воде. Нека од једињења са осмопротивномулогом су алкохолни шећери, као ксилитол и трехалоза, док као аминокиселински индикатор суше може да послужи и слободна иминокиселина пролин, која је позната да повећава своју концентрацију у условима суше. Друга група једињења за коју је доказано да има велику улогу у ублажавању оксидативног стреса су фенолна једињења која захваљујући својој структури и бројним хидроксидним групама као и способности резонантне стабилизације на прстену А и Б имају изразито јака антиоксидантна својства и могу да „гасе“ и хватају (енг. scavenge) хидроксил радикале као и супероксид анјон радикал. Нека од бројних фенолних једињења су чак активнија и ефикаснија од витамина Ц који је познат по својој антиоксидантној активности па чак и да стопирају процесе липидне пероксидације, те су ова истраживања стога врло иновативна и важна, јер садржај ових једињења може послужити као основни критеријум за селекцију оних врста, клонова и јединки које имају већу способност преживљавања у сушним условима управо захваљујући овим једињењима.

У 2016. години, анализирани су биохемиски параметри оксидативног стреса на лишћу које је узорковано у претходној години са 15 здравих стабала смрче као и лишћу са 15 стабала који су показивали драстичне симптоме сушења, где су оштећења захватала више од 50% крошње. Сви узорци су узорковани на огледној површини која је постављена на подручју Газдинске јединице "Самоковска река", одељење 33, на надморској висини од 1530 метара. Координате огледне површине су: С 43°18'56,7"; И 20°46'52,6".

Од биохемијских параметара примењени су тзв. DPPH тест (Soler-Rivas, 2000), ABTS тест (Arnao et al., 2001) као и одређивање садржаја укупних фенола (Sigleton et al., 1999) и флавоноида (Chang et al., 2002) као и иминокиселине полин (Bates et al., 1974) као и интензитета липидне пероксидације (Devasagayam et al., 2003) изражене као концентрације малонилдиалдехида као крајњег продукта, по стандардним спектофотометријским протоколима наведених аутора. Сва читања вршена су на спектрофотометријском читачу

микроплата Multiscan plate reader Thermoscientific у три понављања. DPPH тест (Soler-Rivas, 2000) и ABTS тест (Arnao et al., 2001) представљају способност екстраката да врше неутрализацију комерцијалних стабилних слободно радикалских хромофора, 2,2'-дифенилпикрил хидразил радикала и 2,2'-азинобис (3-етилбензотиазолин-6-сулфонске киселине, која је пропорционална промени боје из љубичасте односно плаве у жуту, респективно.

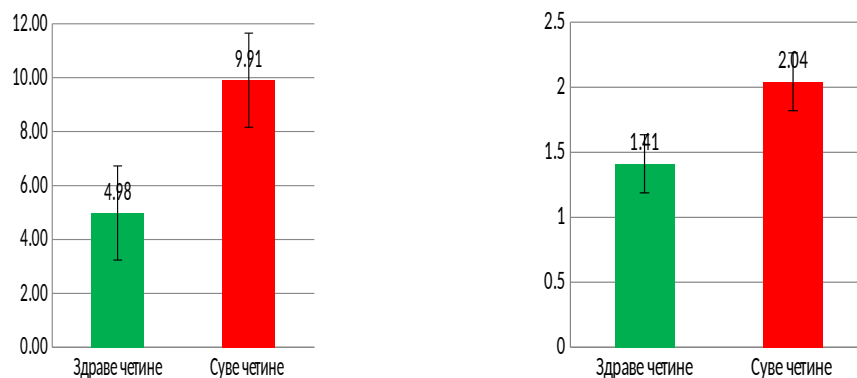
Резултати инхибиције DPPH и ABTS радикала указују да је у четинама сувих стабала повећана инхибиција оба радикала, што надаље указује да је у тим узорцима повећан антиоксидантни капацитет, односно да су сушни услови довели до повећане синтезе једињења са антиоксидантном улогом (слика 12).



Слика 12. Проценат инхибиције DPPH и ABTS радикала

Даљим тестовима доказали смо да је управо концентрација фенолних једињења и најистакнутијих из групе флавоноида значајно повећана у сувим четинама у односу на четине здравих стабала. Тако се концентрација укупних фенолних једињења у здравим четинама кретала око 4.98 mg еквивалената галне киселине у g свеже материје, док је у осушеним износила скоро дупло више. Слично томе, и концентрација флавоноида је порасла у сувим четинама порасла са око 70% у односу на здраве четине. Може се закључити да је активација биосинтезе управо ових фенолних једињења међу којима су флавоноиди најзначајнији један од механизма којим се четине смрче боре са сушом, те која су заслужна за ублаживање последица суше и оксидативног стреса (слика 13).

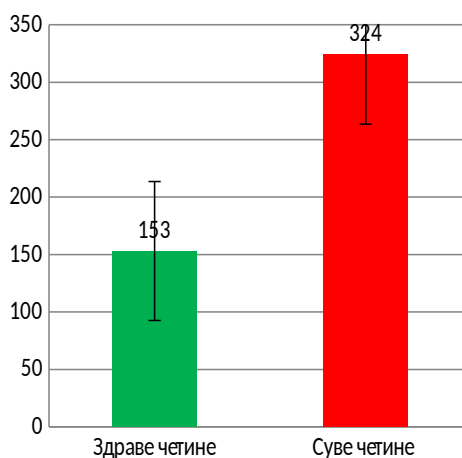
Садржај укупних фенолних једињења (mg екв.галне киселине/ g свежe масе) Садржај укупних флавоноида (mg Quercetin equivalent/ g свежe масе)



Слика 13. Садржај укупних фенолних једињења и флавоноида

Доказ да је суша довела несумњиво и до оксидативног стреса је и драстично повећан интензитет пероксидације липида, који је доказан повећаном концентрацијом малонилдиалдехида, једним од крајњих продуката липидне пероксидације, а чија је концентрација у сувим четинама износила око 324 nmol по граму суве масе, док је у здравим била драстично нижа и износила око 153 nmol (слика 14).

Интензитет липидне пероксидације (nmol MDA/g свежe масе)

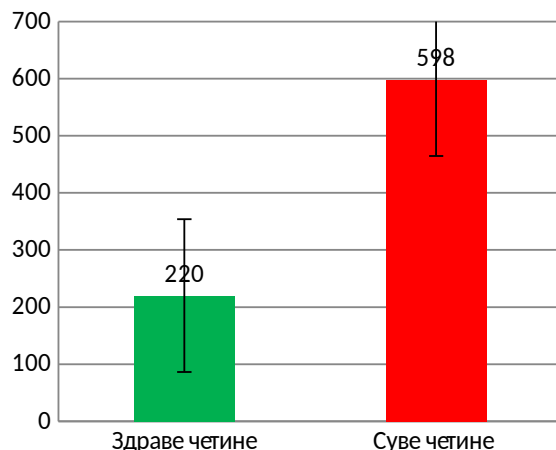


Слика 14. Интензитет липидне пероксидације

Такође, један од најзначајнијих механизма којима се биљке па и смрча штите од дехидратације и суше је акумулација осмопротективних једињења, међу којима се аминокиселина пролин показала као значајан индикатор суше. Штавише, аминокиселина пролин поред осморегулаторне улоге показује и значајну антиоксидантну активност као и модулаторну улогу у сигналингу током суше. У овом истраживању, четине смрче су

акумулирале у условима суше значајно већу концентрацију слободног пролина (око 600 $\mu\text{mol/ g}$ свежје масе) у поређењу са здравим четинама (220 $\mu\text{mol/ g}$ свежје масе) (слика 15).

Садржај слободног пролина ($\mu\text{mol/ g}$ свежје масе)

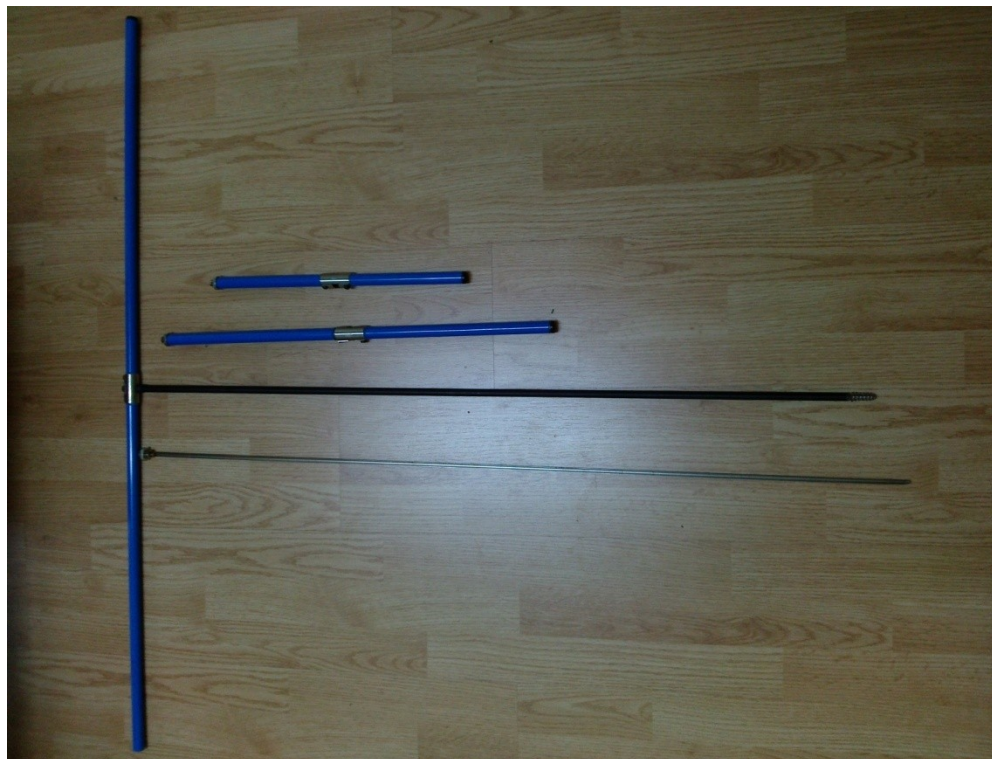


Слика 15. Садржај слободног пролина

Сви наведени резултати указују да биохемијски параметри могу да послуже као изврстан дијагностички метод којим би се препознали рани симптоми сушења стабла, али и извршила процена и поређење јединки које имају већу отпорност на сушу. Тиме би се ови параметри могли увести у системе мониторинга шума као поуздани показатељи суше, али и природног потенцијала врста и јединки да се са суђним стаништима и окрутним условима животне средине и изборе.

3.3. Истраживање дендроеколошких параметара (дендрохронолошка истраживања)

У 2016. години су извршена теренска дендрохронолошка истраживања. Узорковање је вршено коришћењем Преслерових сврдала различите дужине (Слика 16).



Слика 16. Преслерова сврдла дужине 30, 50 и 100 цм

Узорковање је извршено на 4 локалитета:

1. Газдинска јединица Самоковска река, одељење 33 (координате $43^{\circ}18' 56,7''$ и $20^{\circ}46'52,6'$ надморска висина 1530 метара) – локалитет на коме је констатовано сушење јачег интензитета, а на коме је постављена опрема за праћење транспирације и на коме се у 2015. и 2016. години спроводе мултидисциплинарна истраживања процеса сушења. Узети су узорци са 15 здравих стабала (по два извртка до центра стабла).
2. Газдинска јединица Самоковска река, одељење 19 (координате $43^{\circ}19'21,5''$ и $20^{\circ}46'09,8''$, надморска висина 1450 метара) – локалитет на коме је констатовано сушење јачег интензитета, а на којој се у 2015. и 2016. години спроводе мултидисциплинарна истраживања процеса сушења. Узети су узорци са 15 здравих стабала (по два извртка до центра стабла).
3. Газдинска јединица Самоковска река, Резерват Јанкове बारे (координате $43^{\circ} 19' 05,1''$ и $20^{\circ} 47' 37,6''$, надморска висина 1520 метара). Узети су узорци са 15 сувих стабала (КР 1 до 15) и 15 здравих стабала (КР 16 до 30).
4. Газдинска јединица Самоковска река, одељење 47 (координате $43^{\circ} 18' 45,3''$ и $20^{\circ} 47' 14,4''$, надморска висина 1530 метара). Локалитет на коме није констатовано сушење јачег интензитета, а одликује се сличним станишним карактеристикама

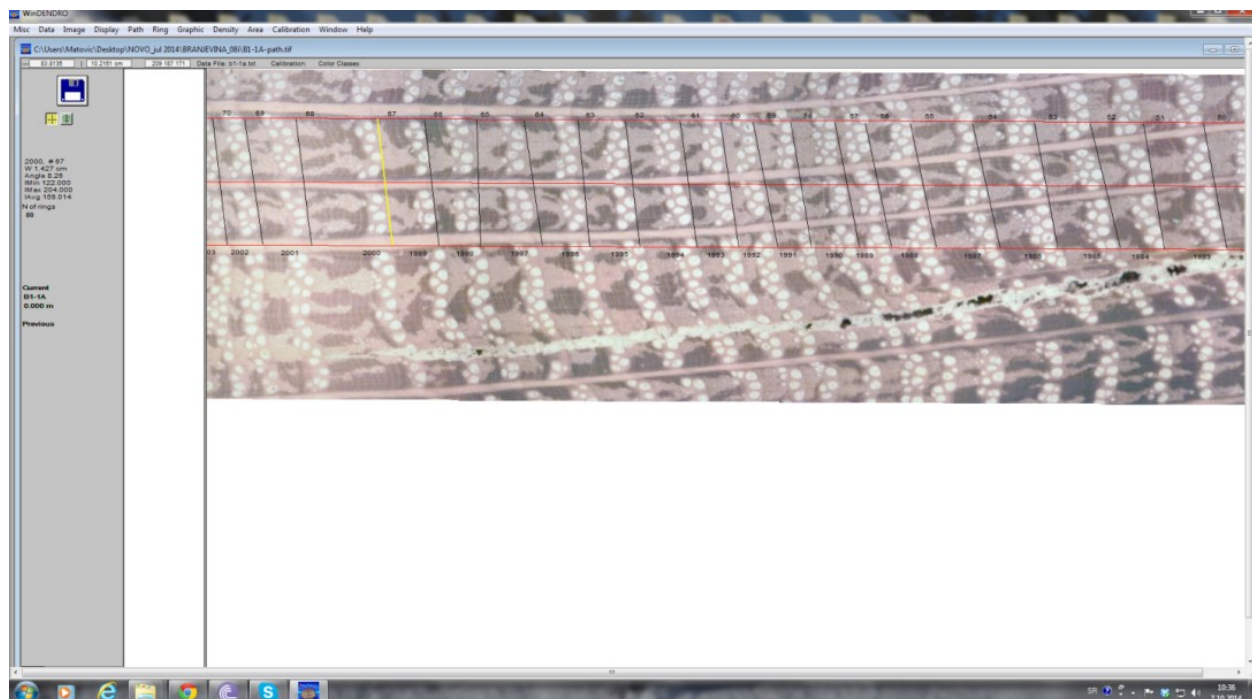
као и локалитети на који је било сушења. Узети су узорци са 15 здравих стабала (по два извртка до центра стабла).

Узорци су осушени, фиксирани, изравнати и полирани. Скенирање дендрохронолошких узорака урађено је са ATRICS напредним системом (Слика 17).

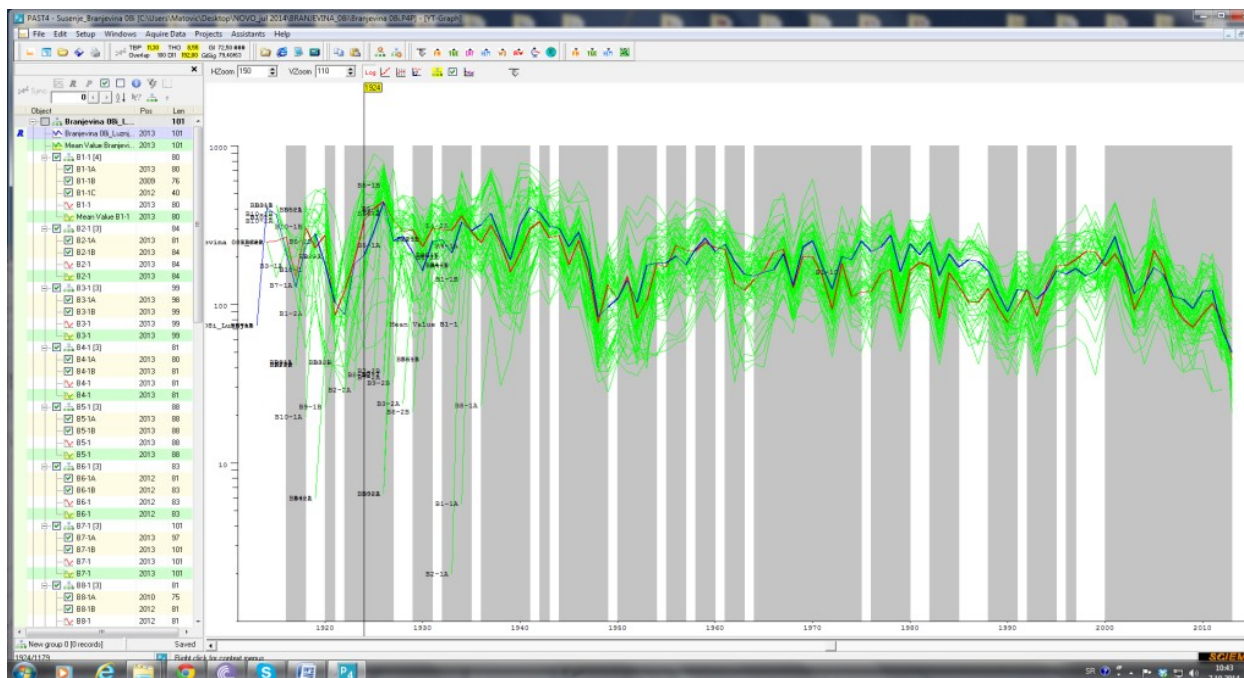


Слика 17. ATRICS систем за скенирање дендрохронолошких узорака

За мерење ширине година коришћен је WinDENDRO софтвер (Слика 18). Ширине година су измерене прецизношћу од 0,01 милиметара. Статистичке обраде и провере дендрохронолошких мерења извршене су помоћу *PAST-4*TM и тестова *t-value* по *Baillie and Pilcher (tBP)* (Baillie и Pilcher 1973) и одрђивање *Gleichläufigkeit* коефицијента (*GLK%*) (Eckstein и Bauch, 1969) (Слика 19). Контрола квалитета извршена је помоћу *COFECHA* програма за откривање грешака у мерењима (Holmes, 1983).



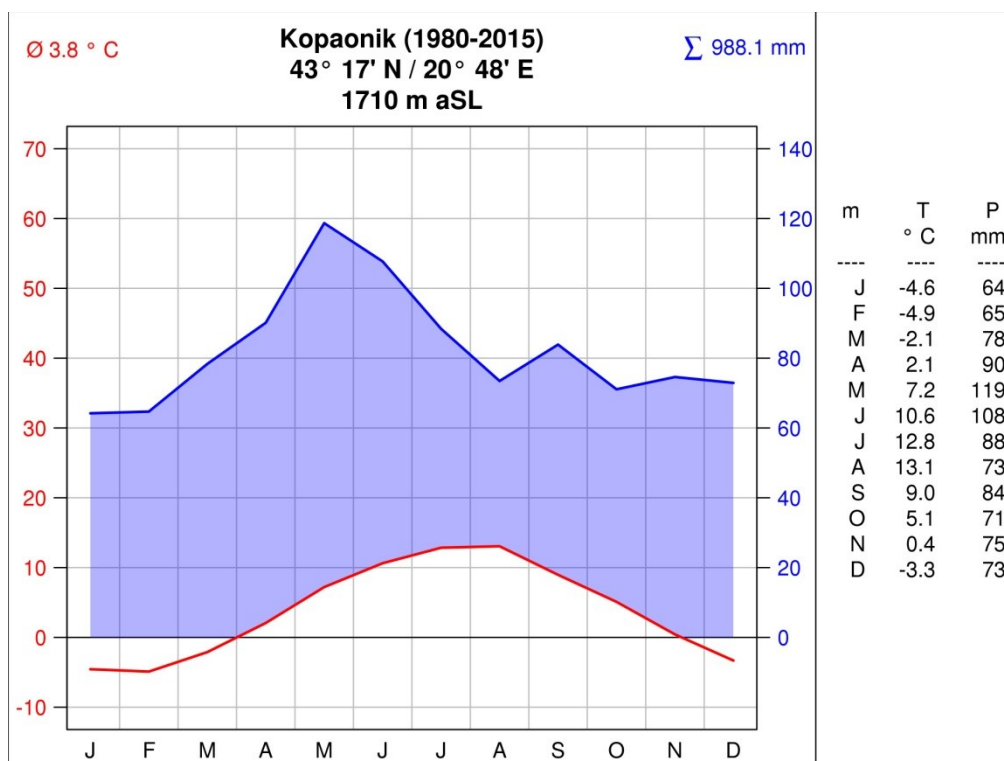
Слика 18. WinDendro софтвер



Слика 19. Рад са PAST4 софтвером

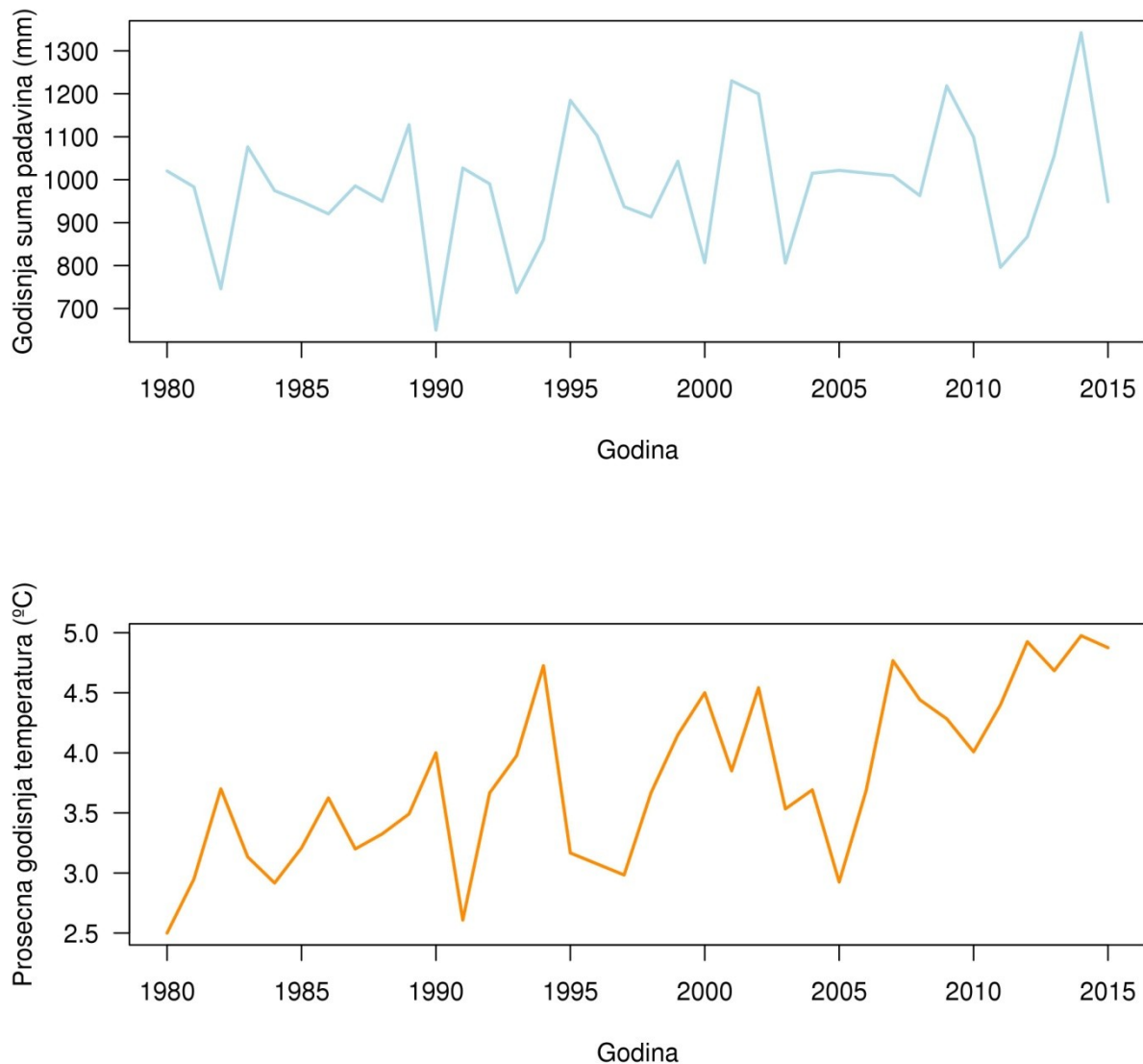
Дендроеколошка истраживања (истраживање утицаја климатских и других еколошких фактора на ширину година стабала и њихове хронологије) у монодоминантним шумама смрче на Копаонику су релевантна због постојања Метеоролошке станице првог реда на Копаонику, и у овом случају није била потребна екстраполација климатских података, јер се ова станица налази управо у зони распрострањења монодоминантних шума смрче на Копаонику. Једини недостатак је релативно кратак период метеоролошких осматрања за потребе дендроеколошких анализа.

На слици 20 су приказани просечне годишње и месечне вредности основних климатских података за Копаоник за период 1980-2015. Као што је познато, Копаоник има планинску климу са малом просечном годишњом температуром која на метеоролошкој станици (1710 m.n.v.) за посматрани период износи 3,8 °C. Просечна годишња сума падавина, за прилике Србије, је релативно висока и износи 988,1 mm.



Слика 20. Клима дијаграм за Метеоролошку станицу Копаник за период 1980-2015.

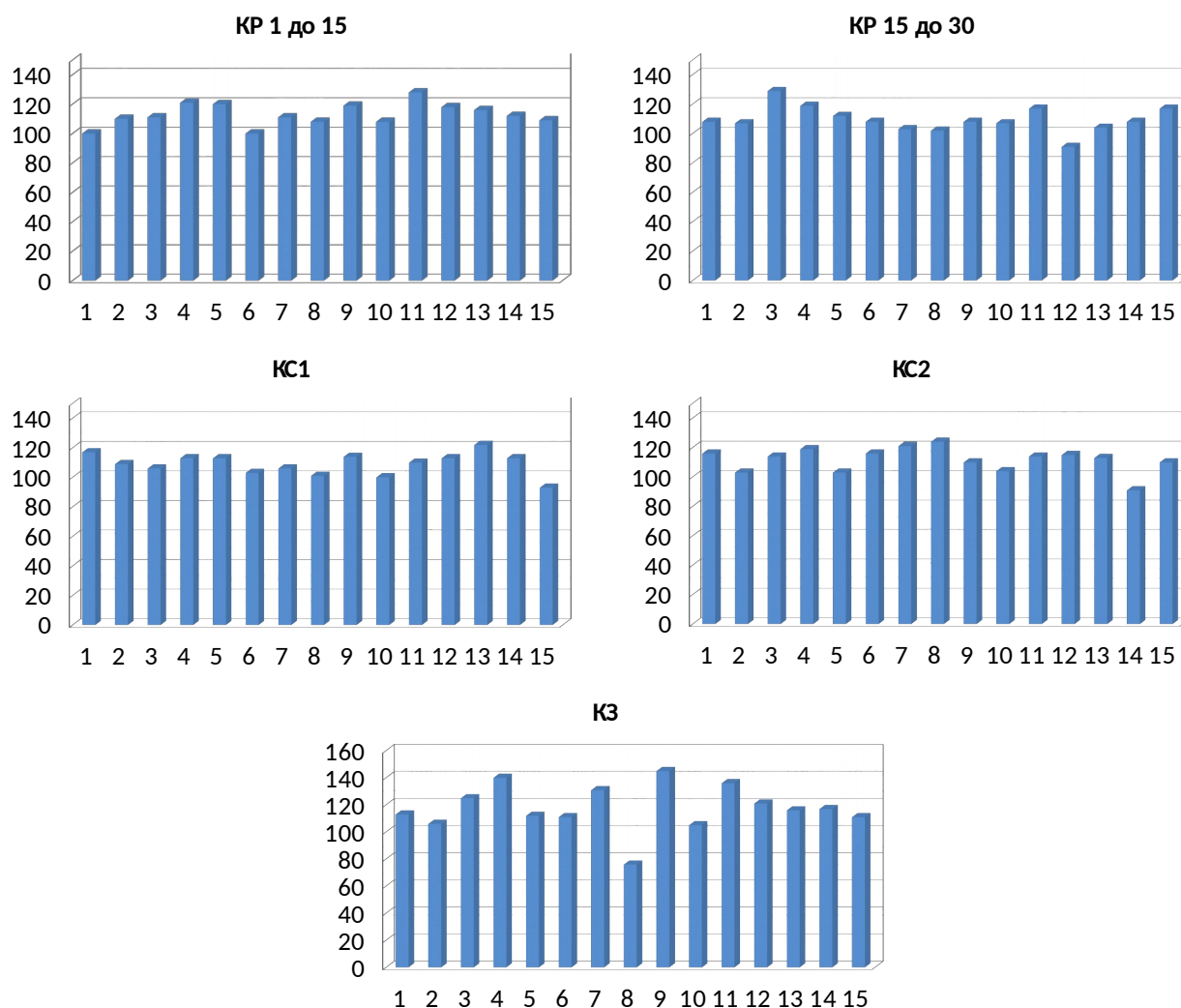
На слици 21 су приказане годишња сума падавина и просечна годишња температура за период 1980-2015. године. Код просечне годишње температуре се уочава умерена тенденција повећања. Нарочито је забрињавајућа тендеција у последњих девет година (2007-2015), где средња годишња температура за тај период је 4,6°C, док на почетку посматраног периода за првих девет година (1980-1988) средња годишња температура је била 3,2 °C. У посматраном периоду се уочава блага тенденција повећања годишње суме падавина али са значајним варирањем између година. Аналогно са температуром просечна годишња сума падавина за последњих девет година (2007-2015) је 1033,3mm а за првих девет година (1980-1988) 956,1 mm.



Слика 21. Годишња сума падавина и просечна годишња температура за Метеоролошку станицу Копаоник за период 1980-2015. године

Извртци Преслеровим сврдлом су узимани са по 15 стабала по локалитету која у састојини имају доминантан положај, да би се избегао превелики утицај положаја стабла у састојини на дебљински прираст односно ширину година. Од 4 истраживана локалитета само на локалитету 4 (КЗ) који се налази у одељењу 47 а на коме није утврђено сушење стабала био је утврђен значајнији структурни димензиони диверзитет (прсни пречници и висине), док на три локалитета (два у газдованим састојинама и у резервату Јанкове баре) је изражена структурна димензиона хомогеност најчешће карактеристична за једнодобне

састојине. Након спроведених дендрохронолошких истраживања и утврђивања старости свих појединачних стабала потврђено је да је и старосни диверзитет једино био значајније изражен на локалитету 4, где је утврђена варијациона ширина старости од око 70 година (76. до 145. година) (слика 22). На два локалитета (КС1 и КС2) у састојинама којима се редовно газдује а на којима је констатовано сушење варијациона ширина старости доминантних стабала је око 30 година (92. до 123. година). На локалитету 3 у резервату Јанкове баре варијациона ширина старости доминантних стабала је око 40 година (91. до 129. година). И поред релативно мале варијационе ширине старости на три наведена локалитета истраживане састојине су структурно разнородне али са слабо израженим димензионим и старосним диверзитетом.



Слика 22. Статост стабала са истраживаних локалитета

У нашем конкретном случају потврђује се опште прихваћено научно мишљење данас у свету да у димензионо и старосно структурираним шумама се може очекивати већа еколошка стабилност у односу на старосно и димензионо хомогене састојине. Наравно, за потврду овог закључка истраживање би требало проширити на знатно већи број локалитета, што није било могуће реализовати у овом пројекту, у првом реду због његове кратке реализације.

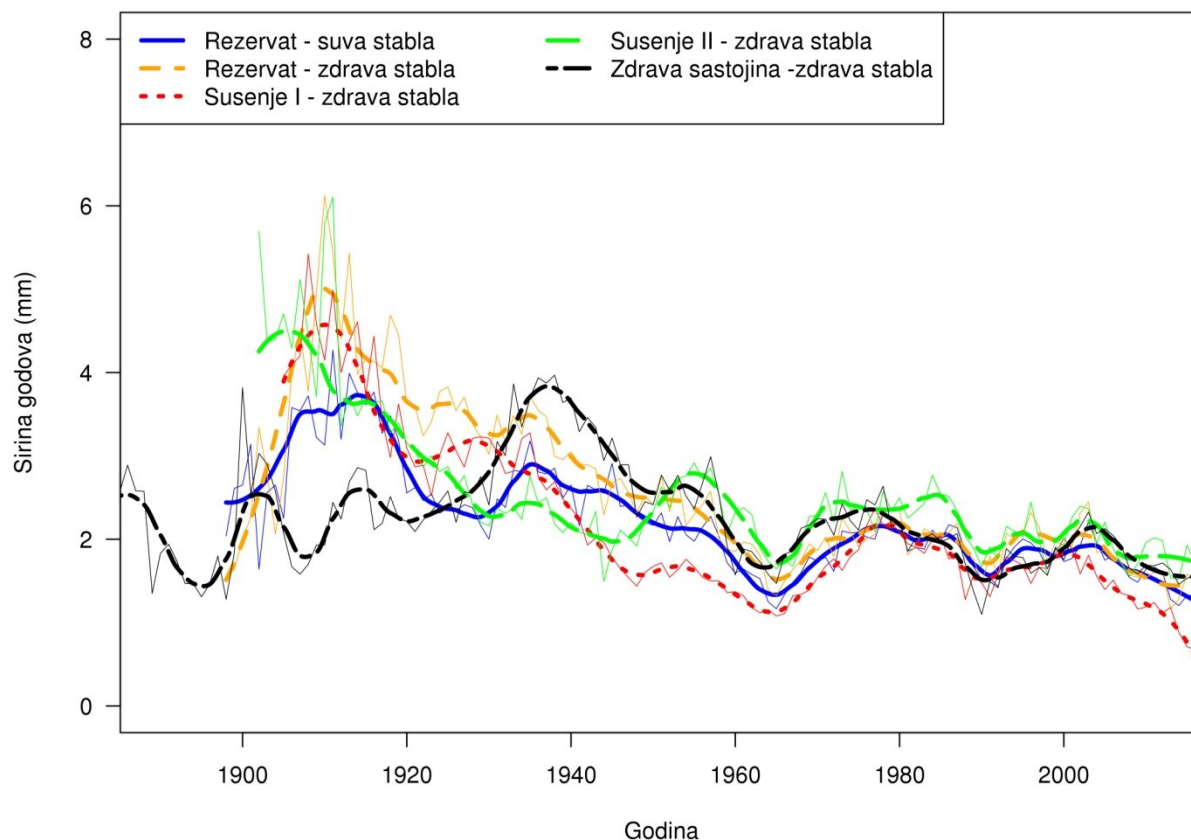
Мале апсолутне старости и структурна димензиона хомогеност у резервату Јанкове баре нам јасно говоре да суштински нису испуњени основни услови за еколошку стабилност овако издвојених резервата у дужем временском периоду. Напротив, они могу услед различитих негативних утицаја станишних фактора, а због не могућности провођења неопходних газдинских мера, постати простор за појаву каламитета инсеката и епифитоција гљива. Ове појаве ће угрозити и шуме које се налазе око овако издвојених резервата. Суштински, овако издвојени резервати представљају привремену конзервацију газдованих шума до појаве прве велике дистурбанце.

Нажалост, наша је претпоставка да и остали резервати на Копаонику где су заступљене монодоминантне смрчеве шуме су такође са слабо израженим структурним старосним и димензионим диверзитетом, чиме нису испуњени основни услови за еколошку стабилност овако издвојених резервата у дужем временском периоду.

Са нашег гледишта издвајање резервата није спорно само у шумским екосистемима изражене еколошке стабилности. У првом реду мислимо на разнородне састојине и шуме (са јасно израженим структурним старосним и димензионим диверзитетом), за шта су добар пример букове прашуме у Србији (Винатовача, Кукавица и др.) и ако су уз то и мешовите (најбољи пример је Перућица у Републици Српској). У тим резерватима и прашумама имамо успостављену природну равнотежу и најшеће су еколошки стабилне у дужем временском периоду. Издвајање резервата у шумама са слабо израженим структурним старосним и димензионим диверзитетом, монодоминантним шумама од еколошки нестабилних врста (а смрча је типичан пример) најчешће се завршава са појавом различитих дистурбанца које имају негативан утицај на шумарство као привредну делатност а и шире на целу друштвену заједницу. У сушењу смрче на Копаонику од 2012. године до данас не треба занемарити ни ове чињенице. Ми сматрамо да је решење да се законски омогући спровођење адекватних газдинских мера у резерватима на Копаонику, у циљу ублажавања даљих негативних деловања најчешће секундарних штеточина и болести и њиховог даљег ширења.

На слици 23. су приказане хронологије за пет анализираних група стабала са 4 истраживана локалитета. За већину истраживаних стабала са локалитета на којима је

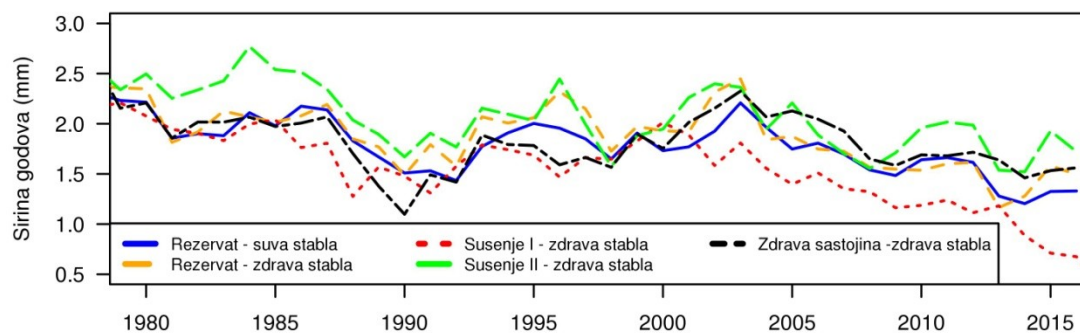
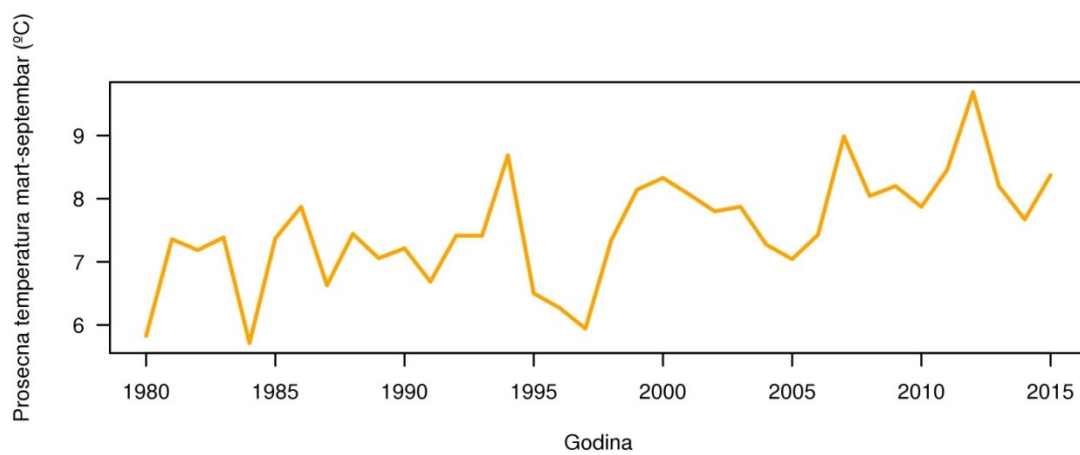
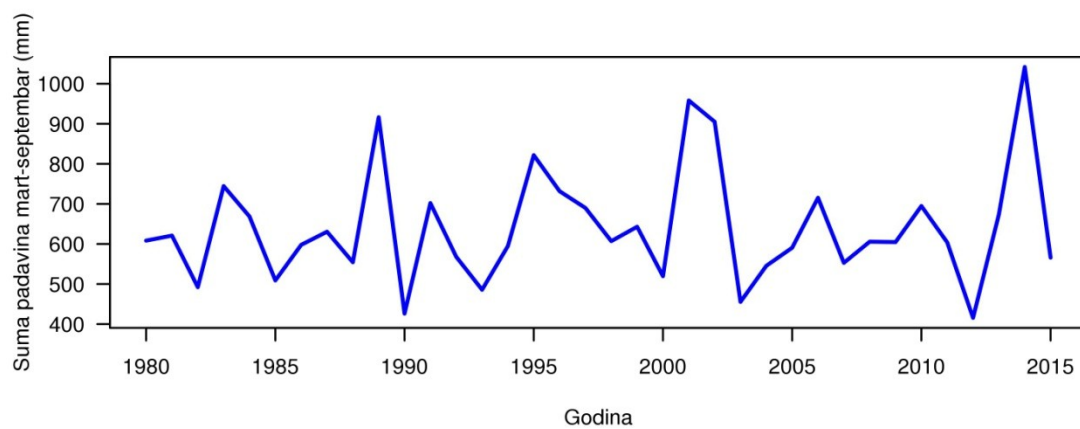
утврђено сушење може се констатовати јувенилни раст у периоду између 1900. – 1920. године. У здравој састојини ова појава није изражена у највећој мери због изражене разнородности састојине у којима иначе положај за раст стабала у младости је неповољан. Посматрано на целим хронологијама од јувенилног раста до данас је уочен пад ширине година, што је и очекивано с обзиром да са повећањем старости стабала после кулминације дебљинског прираста његова величина се најчешће континуирано смањује са старошћу нарочито у структурно хомегеним састојинама. Међутим, постоје и три карактеристична периода (оријентационо од краја тридесетих до почетка шездесетих, од осамдесетих до деведесетих и после 2002. године) констатовано је значајније смањење ширине година. За прва два периода немамо увид како се ово смањење одразило на девитализацију стабала и њихово сушење. Треба имати у виду да су стабла тада била млађа и отпорнија и да у тим периодима ширине година су још увек биле изнад или око два милиметра. Наравно, немамо ни увид у спроведене сече које су имале јасан утицај на дебљински прираст и ширину година. После 2002. године на свим локалитетима ширина година се смањила на 2 или мање милиметара. Посебно је алармантна ситуација са стаблима са локалитета 1 (КС1) где се код здравих стабала утврђује потпуна девитализација.



Слика 23. Хронологије пет састојина смрче на Копанику (танке линије) са изравнатим вредностима (дебље линије)

У овој дендроеколошкој анализи истраживали смо утицај средње температуре у вегетационом периоду и на месечном нивоу и суме падавина у вегетационом периоду и по месецима на ширину година стабала смрче на 5 група стабала са 4 локалитета.

На слици 24. су приказани сума падавина и просечна температура у вегетационом периоду и хронологије 5 група стабала у периоду 1980-2015. Као и код годишњих вредности и у вегетационом периоду просечне годишње температуре карактерише умерена тенденција повећања. У последњих девет година (2007-2015), средња годишња температура за тај период је $8,4^{\circ}\text{C}$, док на почетку посматраног периода за првих девет година (1980-1988) средња годишња температура је била $7,0^{\circ}\text{C}$. У посматраном периоду се уочава блага тенденција повећања годишње суме падавина. Аналогно са температуром просечна годишња сума падавина за последњих девет година (2007-2015) је 639,9 mm а за првих девет година (1980-1988) 602,9 mm.



Слика 24. Сума падавина и просечна температура у вегетационом периоду и хронологије 5 група стабала у периоду 1980-2015.

Податке за вегетациони период смо користили јер у ранијем истраживању (Копривица, ет ал. 2009) смо утврдили јаку корелацију између падавина у вегетационом периоду и ширине година код стабала црног бора из вештачки подигнутих састојина у Ибарској клисури. У овом истраживању нисмо утврдили значајнију везу између падавина у вегетационом периоду и ширине година код стабала смрче. Када се посматрају три карактеристичне сушне године код којих је у вегетационом периоду утврђена мања сума падавина од 500 mm (1990., 2003., и 2012. година), значајније смањење ширине година код већине група стабала је утврђено само за 1990. годину. Наше мишљење је да смрчеве састојине на Копаонику и у најсушнијим годинама стабла имају довољно потребне влаге за несметане физиолошке активности (фотосинтеза, дисање, транспирација, и др.) и да директан утицај падавина није изражен ни на дебљински прираст и ширину година. Такође, не треба занемарити ни релативно дубока земљишта на вулканским стенама на Копаонику која добро чувају влагу. Наравно, утицај падавина у садејству са другим климатским факторима можда и постоји. Ову законитост потврђују и Пирсонова корелациона анализа (табела 5). За разлику од Копаоника у Ибарској Клисури смо утврдили изразито јаку везу утицаја падавина на дебљински прираст јер раст црног бора на изразито плитким и сувим земљишима веома зависи од количине падавина у вегетационом периоду.

Пирсонова корелациона анализа **показује слабу везу** између суме падавина у вегетационом периоду и ширине година за свих пет анализираних група стабала смрче са четири локалитета (ниске вредности коефицијента корелације r и високе вредности p).

Табела 5. Утицај падавина на ширину година (Пирсонова корелациона анализа)

	KC1	KC2	KP 1 до 15	KP 16 до 30	K3
r	-0,11	-0,03	-0,13	-0,02	-0,06
p	0,54	0,84	0,44	0,90	0,71

Међутим, Пирсонова корелациона анализа нам показује јасну везу између средње температуре у вегетационом периоду и ширине година за четири групе стабала са три локалитета на којима је констатовано сушење стабала (релативно високе вредности коефицијента корелације r и вредности $p < 0,05$) (табела 6.). Полазећи од овог закључка, а са обзиром да је на ова три локалитета дошло до масовног сушења појединачних стабала а и читивах састојина наше је мишљење да изразито високе температуре у вегетационом периоду у три повезане године (2011., 2012. и 2013. године) представљају примарни иницијални узрок сушења шума на Копаонику. Само на локалитету K3 на коме није констатовано сушење веза између средње температуре у вегетационом периоду и ширине година није статистички значајна. Наша је претпоставка да поред „повољније“ структурне

изграђености ове састојине значај за ову појаву имају и повољнији микроклиматски услови.

Ова истраживања је потребно проширити на већи број локалитета како би смо могли потврдити наше досадашње закључке.

Табела 6. Утицај температура на ширину година (Пирсонова корелациона анализа)

	КС1	КС2	КР 1 до 15	КР 16 до 30	КЗ
r	0,41	-0,41	-0,41	-0,45	-0,10
p	0,01	0,01	0,01	0,01	0,56

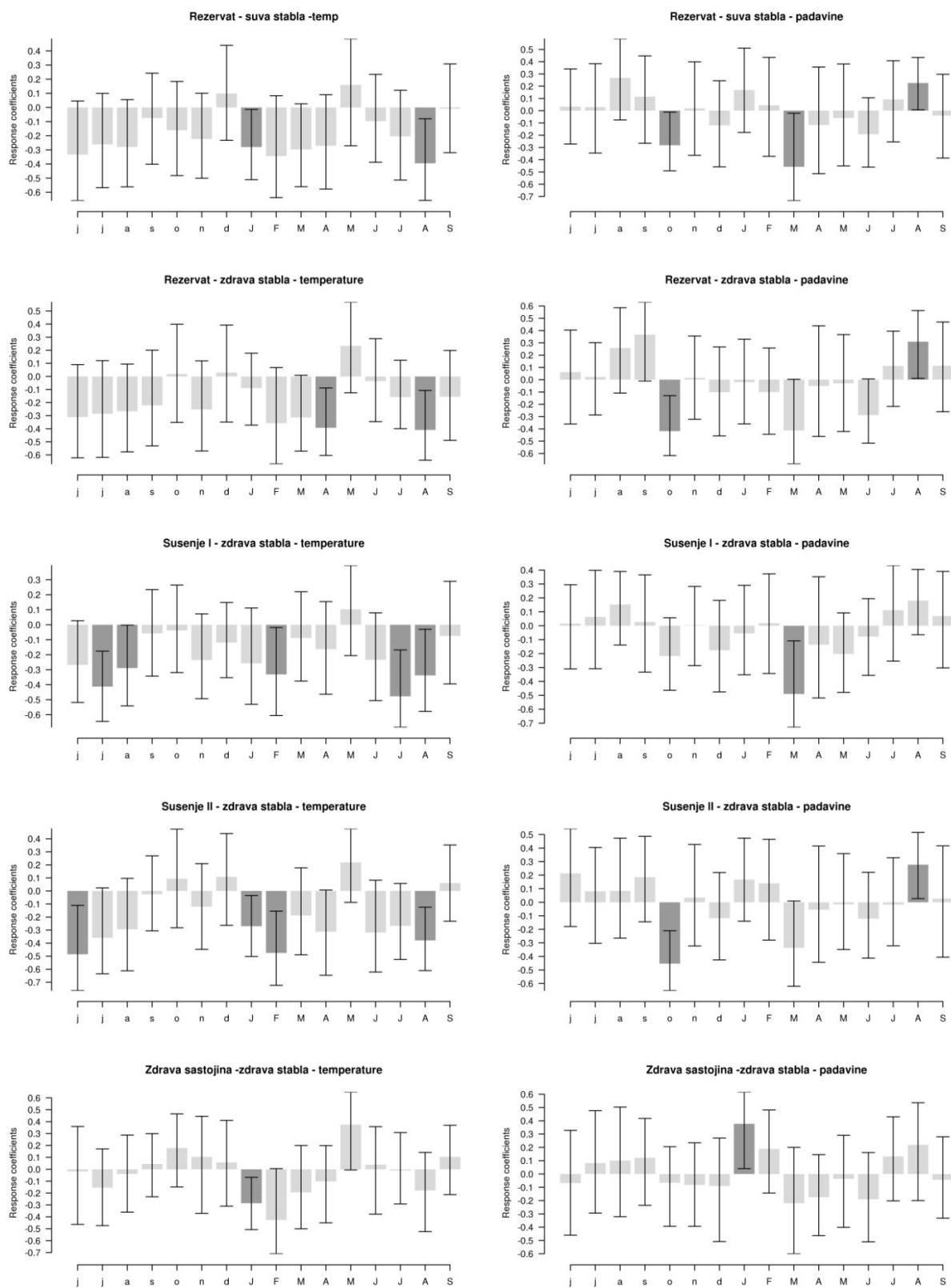
Поред истраживања за вегетациони период, истраживали смо и утицај средње температуре на месечном нивоу и суме падавина по месецима на ширину година стабала смрче на 5 група стабала са 4 локалитета.

Пирсонова корелација (слика 25.) показује да постоје карактеристични месеци у којима сума месечних падавина и средња месечна температура имају директан утицај на ширину година.

И у овом случају средња температура се показује као важнији показатељ од падавина.

Такође, и у овом случају локалитет КЗ на коме није било сушења треба посматрати одвојено од остала три локалитета на којима је утврђено сушење. На овом локалитету утврђено је да само велике јануарске количине падавина у текућој години имају статистички значајан позитиван утицај на повећање ширине года, док повећане јануарске и фебруарске средње температуре имају негативан утицај на смањење ширине года.

На три локалитета на којима је утврђено сушење Пирсонова корелација показује да повећана летња температура (јун, јул и август) у претходној години имају утицај на смањење ширине года у наредној години. Слично повећане температуре од јануара до априла у текућој години имају негативан утицај на ширину года. Занимљиво је да повећане мајске температуре позитивно утичу на повећање ширине года, а затим повећане јунске и нарочито јулске и септембарске температуре у текућој години поново имају негативан утицај на смањење ширине года. Са повећањем падавина у октобру претходне године се смањује ширина года у текућој години. Иста законитост важи и за месец март текуће године. Међутим, за месец август текуће године законитост је обрнута, са повећањем суме падавина у августу повећава се и ширина года у тој години.



Слика 25. Пирсонова корелација између ширине година и температура и падавина за период 1980-2015.

3.4. Истисраживање здравственог стања састојина (болести и оштећења од инсеката)

Прегледом стања на локалитету Газдинска јединица Самоковска река, одељење 33 (координате N43 18 56,7 и E20 46 52,6, надморска висина 1530 метара) у 2015. години констатовано је да је извршена санитарна сеча у облику неправилних кружних површина. На тај начин уклоњена су сва сува и заражена стабла смрче. Одабрано је једно стабло смрче на коме су били јасно уочљиви симптоми деколоризације четина у крошњи. На том посеченом стаблу као и на делу раније посечених трупаца који су се налазили на шумском стоваришту која су такође прегледана, утврђен је јак напад *Ips typographus* (велики смрчин поткорњак) и *Pityogenes chalcographus* (мали смрчин поткорњак). Јак напад ових поткорњака констатован је и на неким од рубних стаба која су преостала после сече. Све ово упућује на пренамножење поткорњака.

Све напред навено упућује на пренамножење поткорњака. Узроци за ово могу бити многобројни али на основу изјава стручњака ЈП НП „Копаоник“ могући узрок и окидач би биле јаке суше претходних година као и ветроизвале на делу смрчевих састојина на којима нису на време уклоњена поломљена и оштећена стабла.



Слика 26. Преглед дубећег рубног стабла смрче на локалитету I преосталог после чисте сече са бројном популацијом поткорњака



Слика 27. Преглед дебала смрче на шумском стоваришту
у непосредној близини локалитета I

На другом локалитету Газдинска јединица Самоковска река, одељење 19 (координате N 43 19 21,5 и E 20 46 09,8, надморска висина 1450 метара) који је прегледан извршена је санитарна сеча али је дошло до напредовања сушења и до сушења рубних стабала. Једно такво стабло са израженом дисколоризацијом четина али без симптома сушења је оборено. Скидањем коре утврђено је да је оно јако нападнуто са *Ips typographus* (велики смрчин поткорњак) и *Pityogenes chalcographus* (мали смрчин поткорњак). Кора се љуштила у великом комадима дужине више од 1,5м.



Слика 28. Изглед рубних стабала смрче просталих после чисте сече са израженим симптомима сушења и дисколоризације четина у крошњама на другом локалитету



Слика 29. Ходнични систем *Ips typographus*



Слика 30. Изразито јак напад великог смрчиног поткорњака - *Ips typographus* на стаблу смрче

На оба локалитета потребно је било потребно извршити сузбијање поткорњака. Тачније неопходно је било што пре извршити уклањање свих сувих и полусувих стаба као и свих стабала на којима се утврди и најмањи симптоми сушења или присуства поткорњака. Применом опште познатих мера сузбија извршити сузбијање поткорњака.

Почетком септембра 2016. године извршен је ентомолошки преглед истих површина захваћених процесом сушења смрче на Копаонику на локалитетима Г.Ј. Самоковска река (Оделење 33) и Г.Ј. Самоковска река (Оделење 19) констатован је наставак процеса сушења шума по ободу сечина насталих претходних година. У току лета на оба локалитета извршена је санитарна сеча осушених стабала док су на првом локалитету на сечини присутни неокорани трупци на којим је утврђен јак напад поткорњака *Ips typographus* L. и *Pityogenes chalcographus* L. На делу стабала по рубу сечине јасно су уочљиви напади поткорњака у виду излива смоле на местима убушивања и у виду промене боје крошњи стабала. Ово указује на недовољан захват приликом сече нападнутих стабала јер сва стабла са симптомима напада поткорњака морају бити посечена.

Поткорњаци су секундарне штеточине које нападају физиолошки ослабљена стабла, када су климатске прилике адекватне, нема ванредних ситуација (снеголоба, ветроизвала), а газдовање је адекватно нема услова за појаву пренамножења поткорњака. Када је у шуми присутан већи број физиолошки ослабelih стабала поткорњаци се пренамноже и даље се понашају као примарне штеточина које нападају потпуно здрава стабла. Опасност од напад поткорњака је увек већа у чистим састојинама какве су управо смрчеве састојине на Копаонику.

На основу стања утврђеног на терену јасно је да је непосредни узрок сушења смрче на прегледаних локалитетима у 2015. и 2016. години пренамножење наведених поткорњака па се све снаге требају усмерити на сузбијање поткорњака.

Прва мера је уклањање свих поткорњацима нападнутих стабала. Стабла је најбоље уклонити пре појаве нове генерације то јест док су под кором присутне ларве и лутке, након сече посечена стабла треба окорати или их одмах извести ван шуме.

Такође потребно је извршити оковавање пањева и слагање грана у сложајеве на начин како се то ради у четинарским шумама.

Сузбијање је потребно спроводити применом ловних стабала за сузбијање поткорњака. Ловна стабла је потребно поставити пре налета поткорњака и извршити њихово оковавање када се констатују прве лутке под кором. Ловна стабла за сузбијање *Ips typographyus* L. се обрађу у три серије прва у пролеће фебруара-марта, друга месец дана по убушивању имага у прву серију и трећа у јуну док се за сузбијање *Pityogenes chalcographus* L. ловна стабла се обрађу у две серије у марту и јуну (Михајловић, 2008). Помоћ може представљати примена инсектицида којим би се третирали ловна стабла пре налета поткорњака чиме би се елиминисала потреба за гуљењем ловних стабала. У Србији је за сузијање храстовог срчника и сипаца дрвенара регистрован инсектицид *Fastac Forst* па је уз консултацију са Министарством пољопривреде и заштите животне средине потребно размотрити могућност његове примене за сузбијање поткорњака смрче.

Феромонске клопке које су већ постављене, али у недовољном броју (поставља се 1 клопка на 0,5ха) су добре за контролу бројности, али предност у сузбијању треба дати ловним стаблима а феромонске клопке наставити користити као помоћно средство.



Слика 31. Трупци и грањевина на стоваришту



Слика 32. Суседна површима које се осушила у односу на претходну годину

Такође, у циљу реализације овог пројекта, започета су у 2015. години истраживања која треба да расветле улогу фитопатогених гљива у процесу сушења смрче на Копаонику. Одабрана су и прегледана стабла у различитим фазама сушења, односно стабла за која се на основу њиховог општег изгледа сумња да су колонизована патогеним организмима. Мониторинг је обављен на локалитетима где се спроводе огледна истраживања (ГЈ Самоковска река, одел. 19 и 33) и на површинама у њиховој непосредној близини. Узимање дендроматеријала за лабораторијску анализу обављено је у два наврата (15. септембра и 28. октобра 2015). Са пет стабала у различитим фазама сушења и са пет пањева на којима су били видљиви симптоми централне трулежи, Преслеровим сврдлом су извучени извртци (Слика 15) и стављени на хранљиве подлоге (малц агар, кромпир декстроза агар) (Слика 16). Ни из једног фрагмента није дошло до развоја гљива трулежница (*Heterobasidion annosum*, *Armillaria* sp., *Fomitopsis pinicola*). Изоловане су сапрофитне гљиве и бактерије које се налазе у чистим културама.



Слика 33. Извлачење извртка из пања смрче Преслеровим сврдлом



Слика 34. Изолација гљива (стављање фрагмената дрвета са извртака на кромпир декстрозни агар)

На огледном пољу у одел. 33 и у његовој близини обављен је визуелни преглед 50 пањева. У приданку три пања развиле су се карпофоре *Armillaria* врсте (Слика 17), док је код 16 пањева забележена промена боје дрвета у централном делу (трулеж срчике) (Слика 18).



Слика 35. Карпофоре *Armillaria* sp. на пању смрче



Слика 36. Централна трулеж на пању смрче

У одељењу 19 прегледана су ветром изваљена стабла смрче, али у зони корена нису уочени симптоми карактеристични за појаву гљиве *Heterobasidion annosum*.

Почетком септембра 2016. године прегледане су састојине смрче захваћене сушењем у ГЈ Самоковска река (одел. 33) и у Резервату природе „Самоковска река (одел. 94, 95). Са стабала у различитим фазама одумирања која су по спољним симптомима указивала на присуство гљиве *Heterobasidion parviporum* (стабла проређених круна са четинама у фази осипања и појавом смоле дуж коре) узети су, из приданка и на прсној висини, узорци дрвета помоћу Преслеровог сврдла.

На локалитету „Самоковска река“ (одел. 33), одабрано је 7 таквих стабала, а у Резервату природе 15 стабала. Појава централне трулежи на првом локалитету утврђена је код 2 од 7 стабала, а у Резервату природе код 4 од 15 стабала. Узорци дрвета са појавом централне трулежи коришћени су за изолацију гљиве. Ни из једног фрагмента дрвета стављеног на хранљиву подлогу од малц-агара (125 фрагмената) није се развила мицелија гљиве *Heterobasidion parviporum*.

На локалитету Самоковска река (одел. 33) настављена је и ове године сеча сувих и полусувих стабала нападнутих поткорњацима. На 26 прегледаних пањева, појава карпофора гљиве *Armillaria ostoyae* утврђена је код три пања, док је појава централне трулежи која указује на заразу гљивом *Heterobasidion annosum* утврђена на само једном пању.

Констатовано стање у прегледаним састојинама смрче указује да су гљиве које проузрокују трулеж корена и приданка стабала (*Heterobasidion annosum*, *Armillaria ostoyae*) утврђене по спољним симптомима на релативно малом броју стабала, односно пањева. Овакво стање указује да поменуте гљиве нису биле примарни узрочник сушења стабала.

3.5. Истраживање генетичкој диверзитета

Током септембра месеца 2015. године је обављено узорковање биљног материјала смрче (*Picea abies*). Узорковано је око 10 четина / 3г биљног материјала по узорку. На локалитету планине Копаоник смрча представља основну шумску врсту која чини највећи појас шума планинских врхова.

Узорци су узети у Газдинској јединици Самоковска река, одељење 33 (координате 43°18' 56,7" и 20°46'52,6' надморска висина 1530 метара), где је детектовано масовно симптоматско сушење шуме где је едификаторска врста смрча. Узорак је структуриран тако да смо узели биљни материјал са 15 стабала на којем је детектовано сушење и са 15 стабала која су витална (са 30 јединки укупно је узет узорак). Овако структуриран узорак треба да нам укаже на постојање различитости на нивоу генетичке структуре унутар популације. Стабла смо кандидовали на основу изгледа хабитуса (сушан/виталан), степена заражености каламитетима, измерили смо пречник стабала, апсолутну висину и висину до крошње.

Уколико генетичке анализе покажу да постоји сигнификантна разлика између узоркованих јединки, ови резултати ће имати директну употребу у селекцији репродуктивног материјала супериорнијих генотипова смрче који ће се касније користити у мерама пошумљавања сушом захваћених станишта.

Генетичка структура је утврђена коришћењем система ДНК микросателитних маркера из постојеће литературе. Током 2016. године је приступљено овој врсти анализа и добијени су прелиминарне резултате генетичке структуре на индивидуалном и популацијском нивоу.

Обиман генетски проток у оквиру природне шумске популације стално комбинује гене и алеле, нудећи тако мноштво нових изборних комбинација за шумску селекциону праксу. Убрзана локална адаптација је највероватније проузрокована интергенетским алелним асоцијацијама насталим у овом сталном „мешању“ омогућеном високом стопом протока гена. Ове асоцијације објашњавају коегзистенцију фенотипских разлика међу популацијом дрвећа у присуству интензивног генетског протока. Међутим, упркос том интензивном генетском протоку, популација дрвећа такође показује адаптацију на локалне еколошке услове. Таква локална адаптација се може одвијати брзо, у оквиру једне или неколико генерација. Упркос локалној адаптацији, генетска варијација адаптивних особина популација дрвећа може и иначе се одржава веома високом нивоу с обзиром на њихову специфичну биологију која је морала да се прилагођава суровим променама природе, а данас више него очигледним климатским променама. Напредак науке о шумској генетској популацији, примена савремених метода шумске генетике и шумске типологије је довео до бољег разумевања врсте адаптабилности, продуктивности и квалитета појединачних (под)популација, што је довело до производње квалитетних садница и резница економски значајних врсти дрвећа. Разлике између регија порекла и могућих јединица за истраживања шумске генетике могу се утврдити уз помоћ еколошко-географских студија и анализа информације распореда генетичког диверзитета унутар природне шумске популације која се врши путем апликације генетских маркера.

Климатске промене утичу на сву природну шумску популацију у Србији мењајући биоеколошке услове за шумске врсте дрвећа, укључујући и заједнице смрче. Шумске врсте дрвећа рода *Picea* обухватају значајни део природне шумске популације Републике Србије. Смрча (*Picea abies* K.) показује широк спектар распрострањености од планинских венаца централне и југоисточне Европе преко Феноскандије и европског дела Русије, где је забележена хибридизација са сродним врстама *Picea obovata* Lebed. По јужном ободу свога природног оквира, смрча је присутна у виду местимичне и изоловане популације на Балканском полуострву (где се на локалном нивоу меша са Српском смрчом, *Picea omorika* Pauc.) и на Апенинском ланцу (Камполино, Тоскана, Италија). *Picea abies* је нарочито

важна четинарска врста за шумарство и управљање шумама у Србији у смислу узгоја дрвећа, јер је у широкој употреби када је реч о унапређењу нивоа шумске вегетације по планинама у Србији где је регистрован губитак природне шумске вегетације, а смрча се показала као најбоља за пошумљавање на тим локацијама. Стога је неопходно уложити напор у циљу очувања где генотипизација може бити инструмент за оцењивање најбољег материјала у вези са генетском варијацијом код мера пошумљавања.

Анализа нуклеарних ССРс (неутралних) молекуларних маркера омогућава детаљну и прецизну студију генетске варијације шумског биљног материјала. Истраживања у оквиру овог пројекта су се фокусирала на утврђивање распореда интрапопулационог диверзитета смрче са Копаоника уз помоћ ЕСТ-ССР. Испитивање параметара интрапопулационог генетског диверзитета смрче захтева процену информација у вези са групом/популацијом и индивидуалном варијабилношћу применом молекуларних маркера са аспекта степена микросателитске варијабилности на појединачном и на нивоу популације.

Циљ истраживања је да се генотипизирају јединке и анализира генетска различитост/варијабилност унутар популације смрче са Копаоника, уз помоћ ЕСТ-ССР молекуларних маркера и тиме процени генетска стабилност популације усред идентификованих процеса суше у популацији.

Узели смо узорке иглица са 30 јединки смрче и ставили их директно у целулозне чајне кесице на силика-гел у стерилне пластичне вреће са по 5 узорака свака. За све појединачне јединке узете су ГПС координате.

Табела 7. Морфометријски, експозицијски и други подаци кандидованих стабала

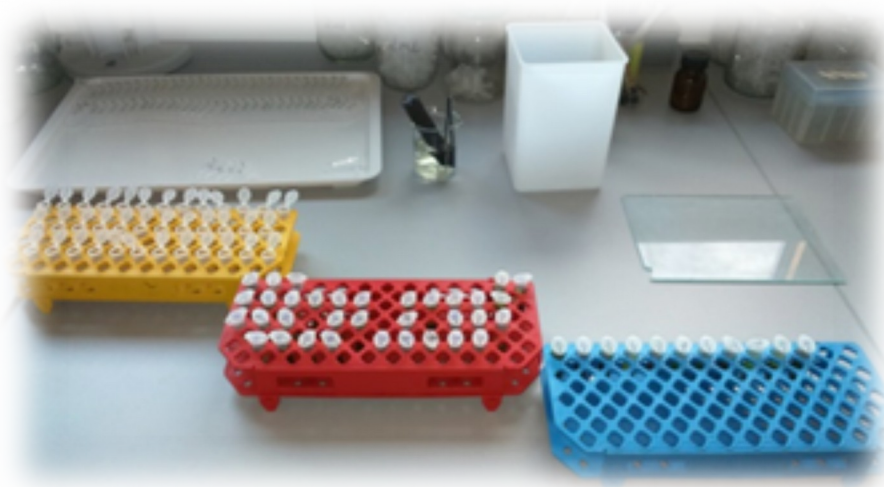
ID	GPS data	Nadmorska visina (m)	+/- fenotip (živo/suvo)	Prsni prečnik	Apsolutna visina (m)	Početak krosnje
2.1	43 18 57,4 20 46 53,7	1530	+	42	27.1	0.5
2.2	43 18 57,4 20 46 53,2	1530	+	27	21.3	4.3
2.3	43 18 58 20 46 53,2	1530	+	38	25.8	3
2.4	43 18 57,9 20 46 52,5	1530	+	28	22.2	5
2.5	43 18 58,1 20 46 52,6	1530	+	38	26	4.9
2.6	43 18 57,6 20 46 52,6	1530	+	45	25.2	3
2.7	43 18 57,3 20 46 52,1	1530	+	37	23.3	2
2.8	43 18 57,2 20 46 51,3	1530	+	37	24.5	3.5
2.9	43 18 56,6 20 46 51,2	1530	+	41	26.7	4
2.10	43 18 56,8 20 46 52,2	1530	+	42	25.4	2
2.11	43 18 56,5 20 46 52,1	1530	+	45	28.8	6
2.12	43 18 56,7 20 46 52,9	1530	+	52	30.2	5
2.13	43 18 56,4 20 46 52,9	1530	+	29	24.9	5
2.14	43 18 56,7 20 46 53,2	1530	+	41	29.3	4
2.15	43 18 56,9 20 46	1530	+	21	18.6	4
2.16	43 18 57,4 20 46 54	1530	-	21	22.1	6.9
2.17	43 18 56,6 20 46 53,2	1530	-	31	28	7.1
2.18	43 18 54,9 20 46 55,6	1530	-	40	23.2	1
2.19	43 18 55 20 46 55,5	1530	-	13	9.5	2
2.20	43 18 55,3 20 46 55,7	1530	-	18	13.6	4.1
2.21	43 18 55 20 46 56	1530	-	23	17.1	2
2.22	43 18 54,9 20 46 56,2	1530	-	37	22.3	1
2.23	43 18 56,7 20 46 56,5	1530	-	19	16.3	3
2.24	43 18 56,7 20 46 56,7	1530	-	45	31.8	7
2.25	43 18 57 20 46 57,5	1530	-	38	26	7
2.26	43 18 57,8 20 46 56,4	1530	-	39	30.6	6
2.27	43 18 60 20 46 55,2	1530	-	22	17.9	3
2.28	43 18 60 20 46 54,2	1530	-	31	24.5	5
2.29	43 18 59,5 20 46 54,4	1530	-	18	13.7	4
2.30	43 18 59,2 20 46 53	1530	-	42	30.1	6.1

Морфометријска мерења кандидованих стабала

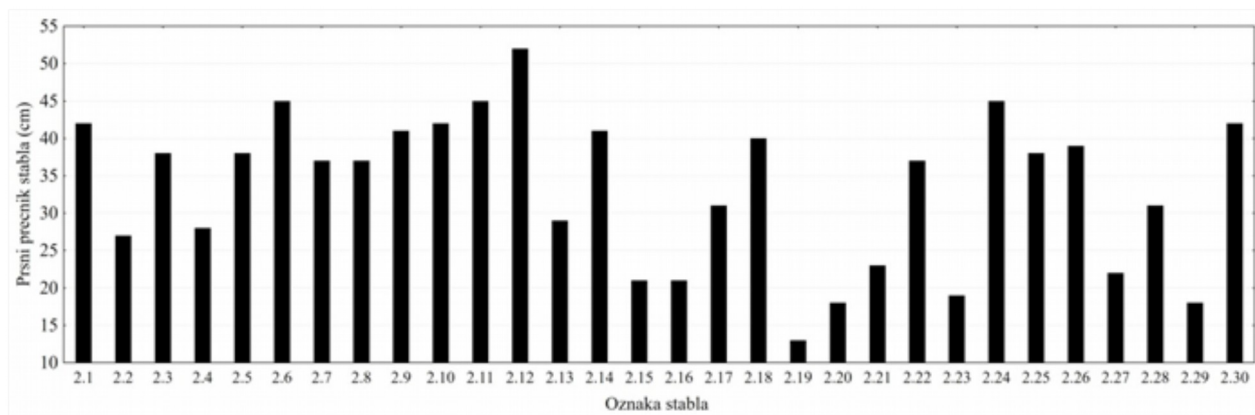
Извршено је кандидовање 30 стабала смрче, која су на основу фенотипа подељена на витална и сенесцентна. Као главни критеријум, у одређивању припадности стабала једној од наведених група, био је степен оштећености крошњи. За потребе истраживања, стабла са оштећеношћу крошње изнад 25% сматрана су значајно оштећеним стаблима, док су стабла са оштећењем крошње до 25% сматрана неоштећеним, односно виталним стаблима). Као допунски критеријуми у избору стабала коришћена су и оштећења настала деловањем патогена. На свим стаблима су измерени прсни пречник, висина стабла до крошње и апсолутна висина. Висина стабала је измерена уређајем “Vertex III”. Подаци мерења су обрађени у статистичком програмском пакету “Statistica 12”, применом анализе варијансе (АНОВА).



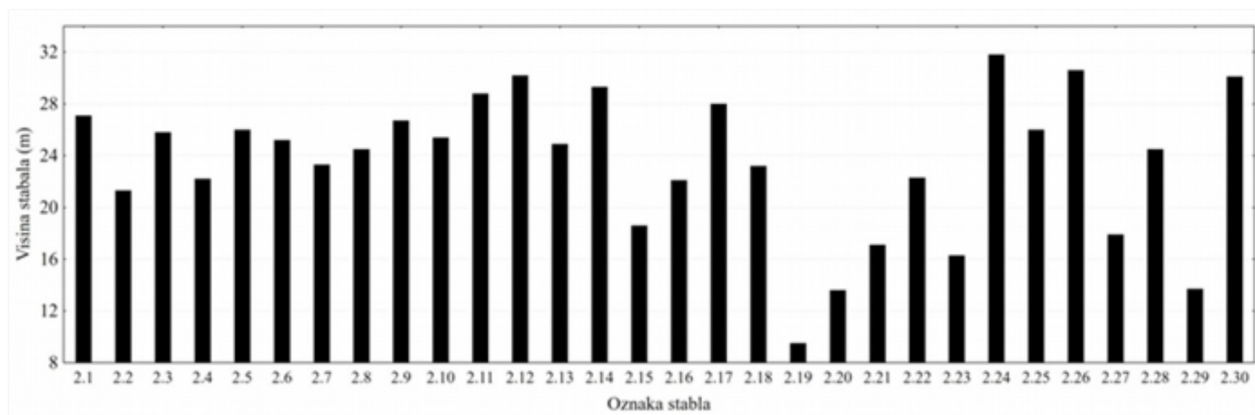
Слика 37. Пример сушеног узорка из којег је екстрахована ДНК



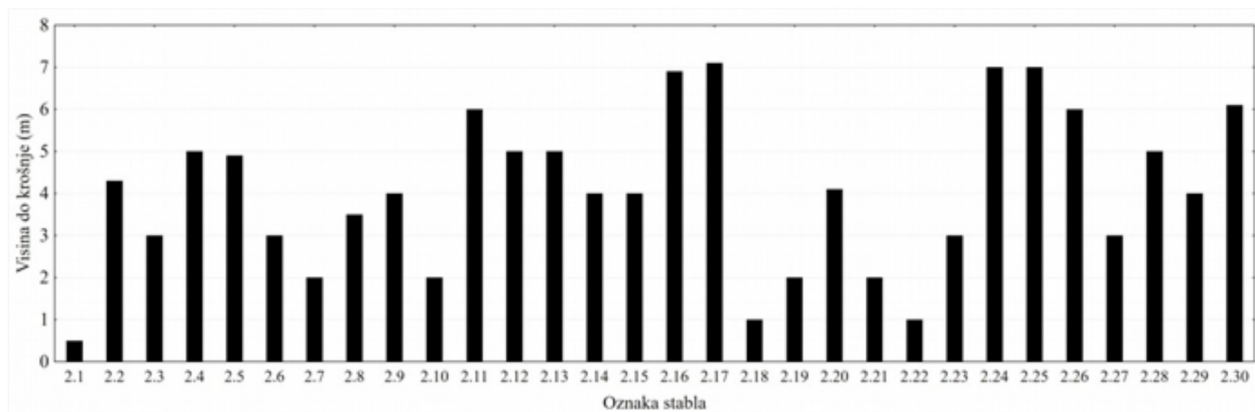
Слика 38. Припрема узорка за екстракцију укупне ДНК



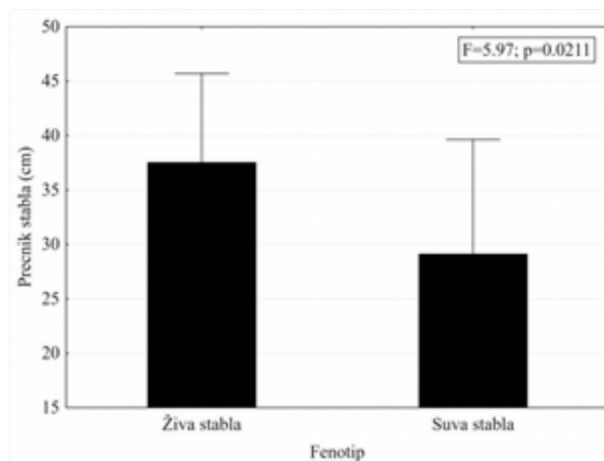
Слика 39. Прсни пречник стабла на индивидуалном нивоу



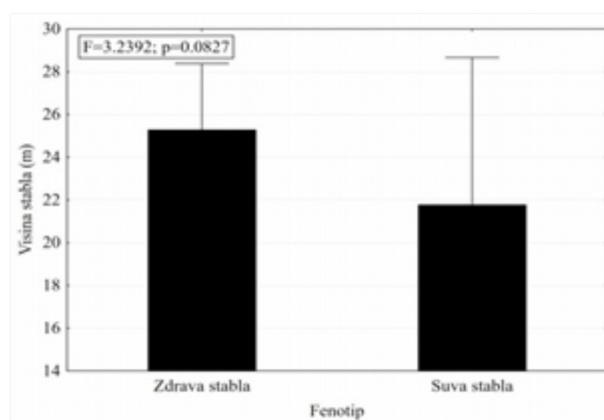
Слика 40. Апсолутна висина стабала на индивидуалном нивоу



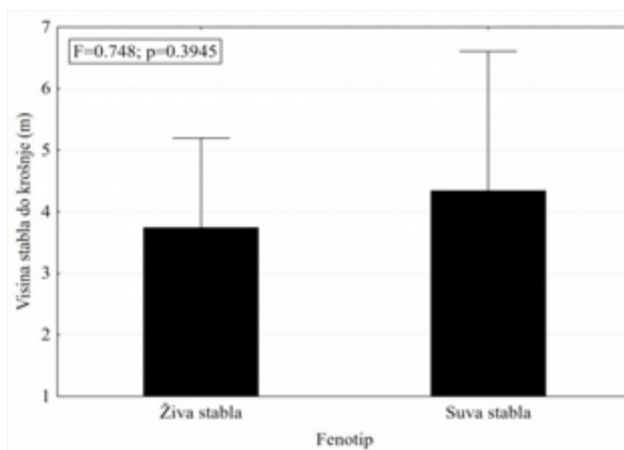
Слика 41. Висина стабала до крошње



Слика 42. Средња вредност прсног пречника



Слика 43. Средња вредност апсолутне висине



Слика 44. Средња вредност висине до крошње

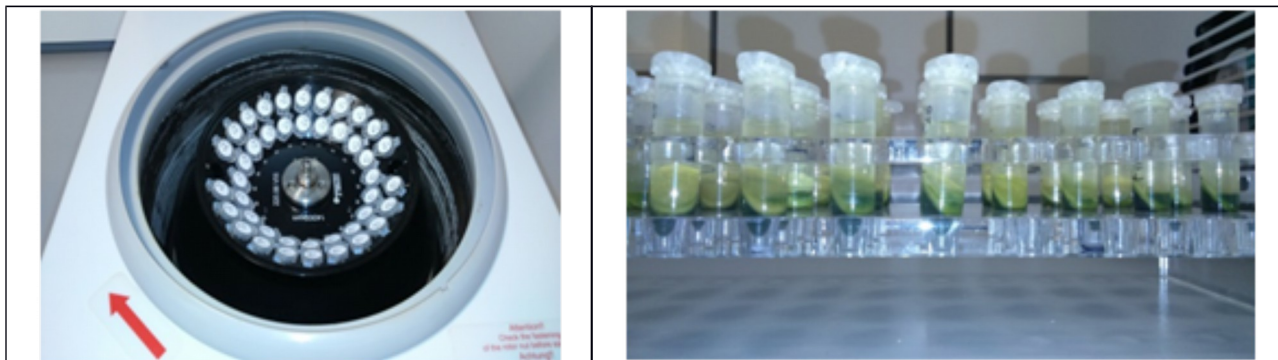
На сликама 42, 43 и 44 су приказане средње вредности измерених параметара према типу кандидованих стабала. Велико је расипање података око средње вредности (велика стандардна девијација), тако да за висину стабала и висину стабала до крошње нема

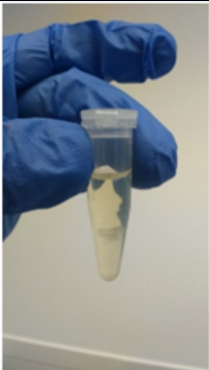
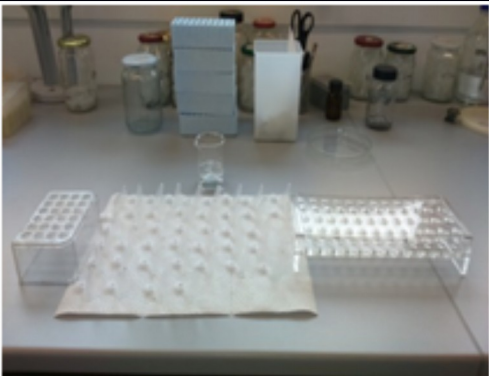
статистички значајних разлика. У погледу пречника жива (витална) стабла су имала статистички значајно већи пречник.

Метода екстракције целокупне ДНК -АТМАБ метода (према Dumolin et al., 1995)

Сав биљни материјал узетих узорак је сушен на силика-гелу све док није био спреман за ситњење и млевење (иглице) у Еппендорф тубама од 2 мл уз помоћ хомогенизатора немачке компаније РЕТСЦХ. Кораци екстракције су подељени у две фазе где се прва спроводила првог дана, а друга у току следећег дана, обично у јутарњим часовима. Сукцесивно додавање одговарајућих хемикалија је био следећи корак или центрифугирање на ниској температури (4 Целзијусова степена на 10 минута (13 000 обртаја у минути) уз помоћ ХЕРМЛЕ 3 216 МК центрифуге - слика 45) односно сушење на отвореном. Једна од кључних хемикалија у овој методи јесте дихлорометан, умерено поларан органски растварач који је прилично добар за екстракцију ДНК из комплексних биљних узорак, јер је стабилан и може да раствори велики број органских једињења што је практично за многе хемијске процесе попут екстракције укупне ДНК (слика 46). Пре употребе дихлорметана, у узорак је стављан екстракциони пуфер, а потом 2 μ л РНАсе и 50 μ л ДДТ. Сваки пут је коришћен дихлорометан (потенцијално канцероген) и ДДТ (отрован), тако да је важно користити одговарајућу заштиту попут преграде и нитрилских рукавица и радити само у дигестору (СЦАЛА дигесторски систем). Изопропанол је коришћен за чување и таложење изоловане ДНК у току ноћи у току другог дана и друге фазе екстракције (слика 47).

Друга фаза се углавном заснива на неколико корака испирања и сушења екстраховане ДНК уз помоћ 1 мл хладног 76% етанола (слика 48) и центрифугације (на 4 степена Целзијуса и то 10 минута (13 000 обртаја у минути)). На крају, ДНК пелет се раствара у 50 μ л 1xTE пуферу и мери се њена концентрација уз помоћ ГенеQuant про спектрофотометра Амерсхам Биосциенцес компаније (слика 49).



Слика 45	Слика 46
 Слика 47	 Слика 48
 Слика 49	

Коришћени молекуларни маркери

Табела 8. Основне информације о коришћеним ЕСТ-ССР маркерима врсте организованим у
3 Мутиплек Мих-а

No	Primers	Primersequenz von 5' nach 3'	Modifikation	Scale (mod)	Konz. d. Aliquots	Combination/Multiplex mix	Konz. im Primermix (µM)	Range/length (bp)	Type of marker	PCR Programme	
1	WS0016.113_f	TCAGTAAAGGACAAAGCAACA	teine	0.02	100 pMol/µl	1	1	114-320	EST-SSR	mp53-30	
	WS0016.113_r	TTTCGAAAGAAAGGAGGATTT	CyS (an S)	0.02	100 pMol/µl						
2	WS0016.115_f	GATGTCGAGGCAATCAGAG	teine	0.02	100 pMol/µl		1	1	104-116		EST-SSR
	WS0016.115_r	GGACGACATCGAATGACTA	IRD700 (an S)	0.02	100 pMol/µl						
3	WS0016.115_f	TTTGTAAGGTCGAGAGAG	teine	5	100 pMol/µl		1	1	160-120		EST-SSR
	WS0016.115_r	TGGCTTTTATTCGAGACGA	DYPS (an S)	5	100 pMol/µl						
4	WS0016.115_f	TGCTCTTAATCGGCTTC	teine	5	100 pMol/µl	2	1	109-166	EST-SSR	mp55-30	
	WS0016.115_r	AAGACAAAGCTTCCTAAG	DYPS (an S)	5	100 pMol/µl						
5	WS0016.113_f	GATGAGAGGCTGATAGC	teine	0.02	100 pMol/µl		1	1	181-137		EST-SSR
	WS0016.113_r	GGCTAATGATCTGAAATATAGAA	IRD700 (an S)	0.02	100 pMol/µl						
6	Pa_44_F	AAGGAGGCTAAGAGAGAGAA	teine	0.02	100 pMol/µl	3	1	171-306	EST-SSR	mp62-30	
	Pa_44_R	CTGGGATTCCTAGAGAGC	CyS (an S)	0.02	100 pMol/µl						
7	Pa_51_F	GAGAGGGGCTGCTTTTG	teine	0.02	100 pMol/µl		1	1	124-145		EST-SSR
	Pa_51_R	TGGTCAAGGAGGCTGCTTCA	CyS (an S)	0.02	100 pMol/µl						
8	WS0016.115_f	AGCAGTGGGCTCAAGGTT	teine	0.02	100 pMol/µl		1	1	170-124		EST-SSR
	WS0016.115_r	AAGAAAGGATGCAATGACTGAG	CyS (an S)	0.02	100 pMol/µl						

ПЦР услови

За смрчу, коришћени су следећи ПЦР програми: mp53-30, mp55-30 и mp62-30 (слика 50). Разлике у програмима су у броју коришћених циклуса амплификације и аннеалинг температуре. У припреми мултиплекса за све узорке, коришћен је комерцијални Циаген Мутиплек ПЦР Мастер Мих, Рнасе-фрее вода и Основни миксеви. Концентрације основних 8 прајмер парова који су коришћени за успешну ПЦР реакцију су приказане у табели 2. ПЦР је реализован на БИОМЕТРА ТПрофесионал Термоцуцлер машинама Аналитик Јена компаније (слика 51).

	15 min	95	°C
Number of cycles	30 sec	94	°C
30	1.30 min	53	°C
	30 sec	72	°C
	30 min	60	°C

Слика 50. ПЦР услови за Пинеа абиес Мутиплек 1 (МП53-30).

За 2 и 3, број коришћених циклуса је исти 30, а аннеалинг температуре (означене црвеном бојом на слици) су биле 55 степени Целзијуса (МП55-30 програм) и 62 (МП62-30 програм).



Слика 51. БИОМЕТРА ТПрофесионал Термоцуцлер машина Аналитик Јена компаније

Анализа фрагмената

Припрема узорака (коришћени протокол):

- у Ехцелу, попунити ЦЕQ-рун протокол и одштампати га,
- пренети узорак из трансфер ПЦР-посуде у ЦЕQ-посуду (коначно разређени ПЦР); у већини случајева 1μл,
- центрифугирати посуду са узорком са ХЕРМЛЕ 3 323 центрифугом (започети центрифугу, сачекати око 1000 обртаја у минути и потом зауставите уређај),
- припремити Стандард-Мих & и ставити узорак (30μл сваки узорак).

Микс за 1 узорак: 30μл СЛС + 0,4μл* Стандард

*количина може варирати од 0,35μл до 0,5μл , али у већини случајева 0,4μл је савршено,

- потом опет центрифугирати исту посуду,
- додати уље (из боце) на врх, 1 кап за сваки узорак,
- (Минерално уље из Бецкман Цоултер, заједно са Стандардом),
- ставити Сепарациони пуфер у посуду с пуфером у сваку позицију према посуди са узорком (сваки напунити мин. $\frac{3}{4}$).

За анализу фрагмената, коришћен је ЦЕQ 8000 секвенцер (БЕЦКМАН ЦОУЛТЕР ЦО.) (слика 52). Све поменуте супстанце и хемикалије је произвео ГеномЕлаб Бацкман Цоултер Цо као специјализоване хемикалије.



Слика 52. CEQ 8000 секвенцер (БЕЦКМАН ЦОУЛТЕР ЦО.) систем за анализу фрагмената

Првостепена биоинформатичка анализа- бодовање/класификовање добијених фрагментних вредности

Аутоматизовани класификациони процес свих комбинација молекуларних маркера је спроведен уз помоћ Софтвера за анализу фрагмената CEQ 8000 (БЕЦКМАН ЦОУЛТЕР ЦО). Резултати процеса класификације/бодовања су представљени у форми табеле са списком алела у истом програму који су потом пребачени у програм Мицрософт Виндовс Ехцел 2007, с обзиром да су били припремљени за наредну анализу статистичких података тј. добијање информација о параметрима генетичког диверзитета на интрапопулационом нивоу.

Табела 9. Вредности умножених фрагмената. Смрча је диплоидна врста, те за сваки маркер можемо очекивати највише једну (хомозигот), а највише две вредности (хетерозигот). Маркери Ра 51 и Ра44 су доминатно хомозиготни маркери, те је генетички полиморфизам ту изостао и фиксирао дате алеле за задате вредности. За све узорке смо успешно умножили и детектовали фрагменте, те је генетичка основа ових јединки за ове маркера стартно постојана.

Subject ID	WS00716	WS00716	W0092	W0092	WS0022	WS0022	WS0073	WS0073	WS00111	WS00111	WS0023B03	WS0023B03	Pa51	Pa51	Pa44	Pa44
Fi 2-01	234	236	210	210	196	198	213	215	249	253	186	200	145	145	291	291
Fi 2-02	230	234	207	210	182	192	211	219	229	233	204	204	145	145	291	291
Fi 2-03	238	247	207	210	192	204	211	217	219	245	202	202	145	145	291	291
Fi 2-04	240	242	210	210	190	190	215	215	241	247	182	204	145	145	291	291
Fi 2-05	246	252	210	210	182	194	211	211	237	265	188	198	145	145	291	291
Fi 2-06	226	238	207	210	192	192	213	215	243	249	178	178	145	145	291	291
Fi 2-07	226	230	207	210	180	180	213	213	231	261	180	190	145	145	279	291
Fi 2-08	234	246	210	210	192	202	213	213	237	265	180	182	145	145	291	291
Fi 2-09	226	230	210	210	198	200	211	211	247	251	170	202	145	145	291	291
Fi 2-10	230	250	210	210	182	200	211	217	233	249	192	202	145	145	291	291
Fi 2-11	232	240	210	213	180	192	213	215	245	249	180	180	145	145	291	291
Fi 2-12	238	248	207	210	192	198	213	217	227	259	176	198	145	145	279	291
Fi 2-13	224	234	207	210	192	198	213	213	225	277	180	180	145	145	291	291
Fi 2-14	230	232	207	210	198	202	213	217	237	243	180	194	145	145	291	291
Fi 2-15	218	248	210	210	190	196	211	213	229	239	184	198	145	145	279	291
Fi 2-16	244	246	207	210	192	196	211	213	241	245	176	188	145	145	291	291
Fi 2-17	230	240	207	210	192	200	211	211	233	249	190	190	145	145	279	291
Fi 2-18	240	250	207	210	182	200	211	211	237	241	170	190	145	145	291	291
Fi 2-19	234	246	207	210	180	180	213	213	223	241	178	178	145	145	291	291
Fi 2-20	216	246	207	210	198	198	213	213	227	235	190	200	145	145	291	291
Fi 2-21	230	246	210	213	182	192	211	211	233	241	180	180	145	145	291	291
Fi 2-22	218	236	207	210	180	180	213	217	229	233	182	182	145	145	291	291
Fi 2-23	218	236	210	210	198	202	213	219	231	231	194	198	145	145	291	291
Fi 2-24	216	246	210	210	196	200	215	215	231	233	176	198	145	145	291	297
Fi 2-25	236	238	207	210	192	202	213	213	237	237	198	198	145	145	291	291
Fi 2-26	240	246	210	210	180	198	211	211	249	259	174	192	145	145	291	291
Fi 2-27	238	244	210	210	180	192	209	211	241	257	174	180	145	145	291	291
Fi 2-28	234	238	210	210	180	196	213	217	237	247	180	200	145	145	291	291
Fi 2-29	216	236	207	210	192	192	215	217	245	247	192	194	145	145	291	291
Fi 2-30	238	240	207	213	180	190	209	213	249	259	182	196	145	145	291	291

Другостепена биоинформатичка анализа- параметри интрапопулационог генетичког диверзитета

Табела 10. Ниво генетичког диверзитета у анализираним параметрима

Lokus	N	Na	Ne	Ho	He	uHe	F
WS00716_blau	30	17.000	11.765	1.000	0.915	0.931	-0.093
W0092_gruen	30	3.000	1.850	0.600	0.459	0.467	-0.306
WS0022_schwarz	30	10.000	6.716	0.767	0.851	0.866	0.099
WS0073_schwarz	30	6.000	3.696	0.533	0.729	0.742	0.269
WS00111_Grün	30	22.000	13.953	0.933	0.928	0.944	-0.005
WS0023B03_bla	30	17.000	11.538	0.667	0.913	0.929	0.270
Pa51_blau	30	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Pa44_blau	30	3.000	1.183	0.167	0.155	0.158	-0.075

Легенда: N – број индивида; Na – средња вредност укупних алела; Ne – средња вредност ефективних алела; Ho - уочена хетерозиготност; He - очекивана хетерозиготност; F - фиксацијски индекс/коэффициент инбридинга

Табела 11. Спектар фреквенције алела ЕСТ-ССР локуса смрче са Копаоника и дистрибуција генетичког диверзитета унутар популације

EST-SSR LOKUS															
WS00716_b lau		W0092_gr uen		WS0022_sch warz		WS0073_sch warz		WS00111_G rün		WS0023B03_ blau		Pa51_bla u		Pa44_bl au	
Alle le	%	Alle le	%	Allel e	%	Allel e	%	Allel e	%	Allele	%	Alle le	%	Alle le	%
216	5	207	27	180	18	209	3	219	2	170	3	145	1 0 0	279	7
218	5	210	68	182	8	211	30	223	2	174	3			291	9 2
224	2	213	5	190	7	213	38	225	2	176	5			297	2
226	5			192	25	215	13	227	3	178	7				
230	12			194	2	217	12	229	5	180	18				
232	3			196	8	219	3	231	7	182	8				
234	10			198	15			233	10	184	2				
236	8			200	8			235	2	186	2				
238	12			202	7			237	12	188	3				
240	10			204	2			239	2	190	8				
242	2							241	10	192	5				
244	3							243	3	194	5				
246	13							245	7	196	2				
247	2							247	7	198	12				
248	3							249	12	200	5				
250	3							251	2	202	7				
252	2							253	2	204	5				
								257	2						
								259	5						
								261	2						
								265	3						
								277	2						

Дистрибутивно, локус са највећим алелним диверзитетом је WS00111_ Grün у ком је знатна количина генетичке варијабилности сконцентрисана. Одмах за њим иду WS0023B03_blaue и WS00716_blaue који су уплаво детекционом спектру фрагментне анализе и исказали једнако значај и диверзификантан спектар алелне фреквенције. WS0022_schwarz и WS0073_schwarz су исто локуси који су показали значајну полиморфност, где локус WS0073 спада у слабо средње диверзификатне локусе. Дистрибуција генетичке разноликости ових 5 алела су указали да ова популација представља значајан генетички потенцијал за даље мере пошумљавања. Алели Pa51_blaue и Pa44_blaue су кроз одсуство анализирани хетерозиготности потврдили своју хомозиготну и фиксирану природу, те је њихово наслеђивање очекивано и кроз потомство, WS0073_schwarz и WS0023B03_blaue су локуси који и поред високе средње процењене хетерозиготности која је параметар полиморфности и генетичког диверзитета, показују сигнификантне нумеричке разлике између посматране и очекиване хетерозиготности, те

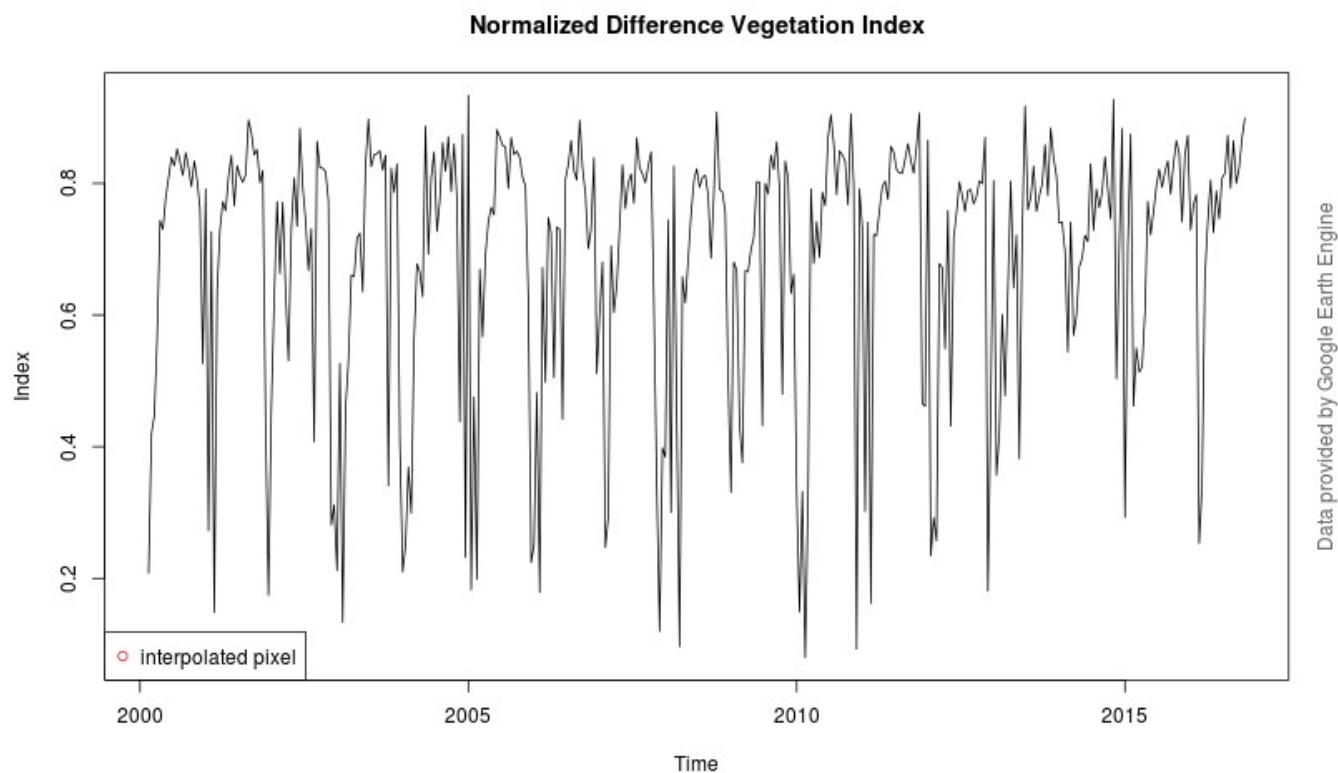
постоји могућност да се у овим алелима налазе и нулти алели, који утичу на објективно процењивање дистрибуције параметара генетичког диверзитета, те их треба искључивати из даљих генетичких анализа ове врсте. Ово је очекиван феномен, с обзиром да су претходна инострана истраживања указала да су нулти алели чести за четинаре и ову врсту, те треба бити пажљив при одабиру генетичких маркера за процену параметара генетичког диверзитета на нивоу популације. Коефицијент инбридинга је генерално низак на нивоу посматране популације, те нема велике опасности од наслеђивања рецесивних сегмената ДНК који би угрозили еколошку и фенотипску пластичност ове врсте у даљим расадничким мерама. Само маркери WS0022_ schwarz и WS0073_ schwarz су маркери који се налазе у црном детекционом спектру и WS0023B03_ blau који се налази у плавом, показали позитивне, али ниске вредности фиксацијског инбрединг индекса.

Закључци

На основу примењених метода истраживања и добијених резултата интрапопулационих параметара генетичког диверзитета можемо закључити да сушење унутар посматране и селектоване популације смрче нема генетичку основу, те даља генетичка истраживања ове врсте на нивоу популације треба наставити кроз анализу експресије кандидат гена одговорних за сушу и других молекуларних маркера. Релативна стабилност генетичког диверзитета истраживаног дела веће популације ове врсте на Копаонику указује на потенцијално добар генетички потенцијал популације, те би могле бити узете у разматрање за даље селекционистичке праксе.

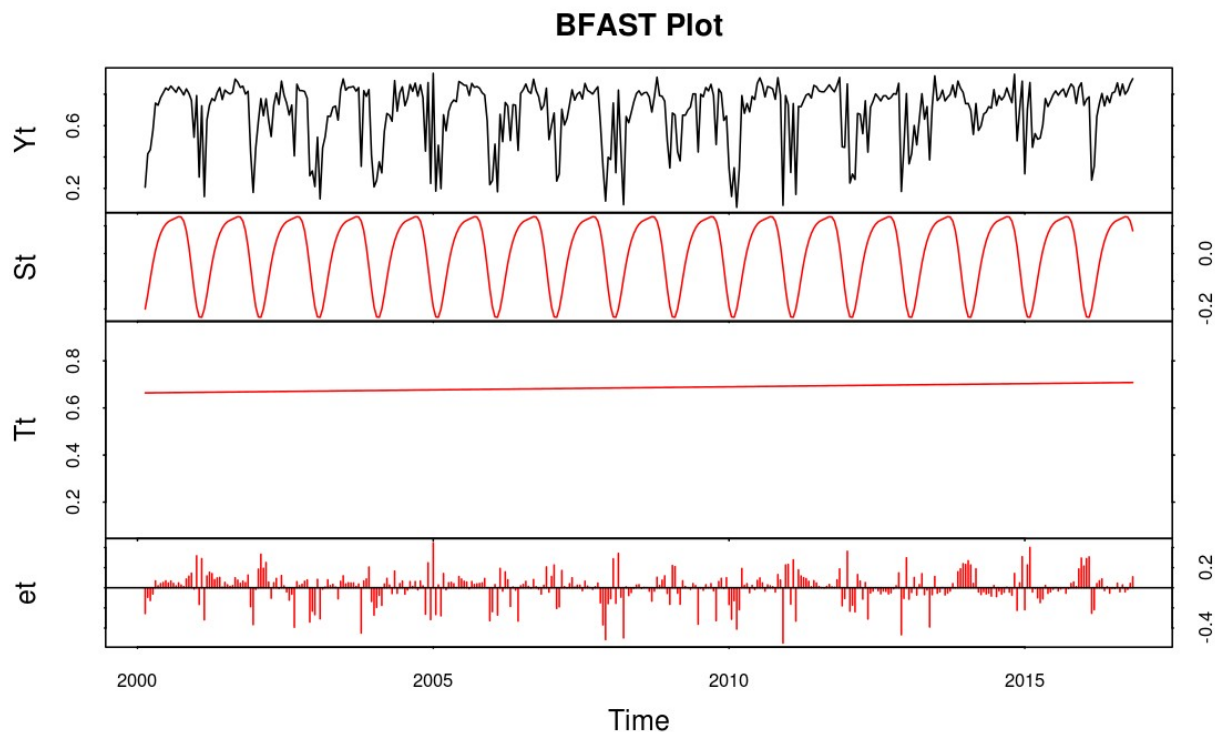
3.6. Анализа виталности смрче на основу даљинске детекције

Нормализовни индекс вегетације (NDVI, Carlson i Ripley, 1997) се користи за препознавање промене шумског покривача или виталности шуме. NASA-ин сателит *MODIS Terra* врши осматрања земље у блиско инфрацрвеном делу спектра из ког се даље прерачунава NDVI индекс који је могуће преузети са интернета као продукт MOD13Q1 у просторној резолуцији од 250 м и временској од 16 дана између два снимка. Временске серије вредности НДВИ индекса су преузете за период 2000-2016. за састојине смрче на Копаонику на којима је забележено сушење (три састојине) и за једну на којој није забележено сушење.



Слика 53. Временска серија NDVI индекса за једну састојину смрче на Копаонику (КР-Копаоник резерват Јанкове баре).

Урађена је анализа временске серије по методи БФАСТ (Verbesselt и сар. 2010). Анализа је показала да није забележен статистички значајан пад виталности три састојине смрче упркос сушним периодима протеклих година и местимичном сушењу (Слика 54).



Слика 54. Анализа временских серија NDVI индекса по методи BFAST

Разлог због ког није забележено сушења из сателита може бити због резолуције од 250 м, која је превазилазила области у којима је било сушење и детектовало веће подручје (око 6 хектара). Применом сателита веће резолуције, који се данас најчешће не могу добити бесплатно, могу се очекивати поузданије процене.

4. ЗАКЉУЧАК

У периоду од јула 2015. до новембра 2016. године на Копаонику су спроведена обимна истраживања процеса сушења смрчевих шума. То је подразумевало да се примене мултидисциплинарна истраживања са применом великог броја различитих метода истраживања и примене различитих теренских и лабораторијских инструмената и апарата. У реализацију пројекта је било укључено 12 истраживача (11 доктора наука и 1 мастер) из различитих научних подобласти у шумарству и шире у екологији. Период истраживања није био довољан да се у потпуности заврше сви аспекти мултидисциплинарних истраживања, па би било добро да се део ових истраживања настави и у наредним годинама.

Међутим, иако је време за реализацију пројекта било кратко добијени резултати нам у значајној мери дају научне и стручне одговоре на основне узроке који су довели до појаве

сушења смрче на Копаонику и њеног ширења на релативно велику површину. Наравно, појава сушења смрче није феномен који је последњих година констатован само на Копаонику, већ он има шири контекст и у односу на нашу земљу. С обзиром да смо ми истраживање спровели искључиво на подручју Копаоника наведени закључци се првенствено односе на ово подручје.

Најважније опште закључке мултидисциплинарних истраживања наводимо таксативно:

1. На основу општих климатских података са Метеоролошке станице Копаоник се јасно види да период после 2010. године се значајно разликује у односу на климатску нормалу (1961-1990), а нарочито екстремна је 2012. година. Ову последњу констатацију јасно потврђују и резултати микроклиматских и микростанишних показатеља за једну смрчеву састојину на којој имамо мерења од 2010. до данас.
2. Истраживање транспирације смрче нам није омогућило извођење научно утемељених закључака. Недостатак ових наших истраживања је што је опрема на локалитету постављена тек прошле године па немамо никакав увид у интензитет транспирације у годинама метеоролошке суше од 2011.-2013. године. Ова истраживања је потребно наставити у континуитету већи број година како би истраживањем биле обухваћене све екстремне и оптималне године за раст стабала смрче на Копаонику (сушне, кишне, топле, хладне, итд.).
3. Добијени резултати, као и наведене чињенице из овог и других истраживања везаних за дисање земљишта нам указују на значај суше као главног фактора за смањење дисања земљишта на испитиваном локалитету, који због специфичности самог локалитета, особина кореновог система смрче је сигурно допринео сушењу стабала. Имајући у виду добијене резултате мерења дисања земљишта, долази се до констатације да недостатак мерења у сушном периоду (2011-2013) на локалитету резервата Јанкове баре у коме су забележена сушења стабала смрче представља велики хендикеп. Ако се узме у обзир да су на локалитету Метође ова мерења вршена од 2011.године, и да су резултати показали утицај сушног периода на дисање земљишта на том локалитету, добијени подаци мерења у резервату у коме је забележено сушење били би веома значајни за добијање боље слике и појашњење утицаја суше на сушење стабала на овом локалитету.
4. Биохемијске анализе су показале да је суша на Копаонику довела до оксидативних оштећења у четинама смрче манифестованих липидном пероксидацијом, као и до активације биосинтетских путева фенолних једињења и флавоноида који имају за

циљ да повећањем укупног антиоксидантног капацитета смрче ублаже последице сушења у смрчи чему такође доприноси и акумулација пролина у четинама.

5. Дендрохронолошка истраживања су нам показала **слабу везу** између суме падавина у вегетационом периоду и ширине година за свих пет анализираних група стабала смрче са четири локалитета Међутим, статистичка анализа нам показује јасну везу између средње температуре у вегетационом периоду и ширине година за четири групе стабала са три локалитета на којима је констатовано сушење стабала. Полазећи од овог закључка, а са обзиром да је на ова три локалитета дошло до масовног сушења појединачних стабала а и читивах састојина наше је мишљење да изразито високе температуре у вегетационом периоду у три повезане године (2011., 2012. и 2013. године) представљају примарни иницијални узрок сушења шума на Копаонику. Поред истраживања за вегетациони период, истраживали смо и утицај средње температуре на месечном нивоу и суме падавина по месецима на ширину година стабала смрче. Статистичка анализа нам је показала да постоје карактеристични месеци у којима сума месечних падавина и средња месечна температура имају директан утицај на ширину година. И у овом случају средња температура се показује као важнији показатељ од падавина.
6. На основу стања на терену јасно је утврђено да непосредни узрок сушења смрче у 2015. и 2016. години на прегледаним локалитетима је пренамножење поткорњака па се све снаге требају усмерити на њихово сузбијање. Међутим, поткорњаци су секундарне штеточине које нападају физиолошки ослабљена стабла, када су климатске прилике адекватне. Када нема ванредних ситуација (снеголоба, ветроизвала), а газдовање је адекватно нема услова за појаву пренамножења поткорњака. Када је у шуми присутан већи број физиолошки ослабelih стабала поткорњаци се пренамноже и даље се понашају као примарне штеточина које нападају потпуно здрава стабла. Опасност од напад поткорњака је увек већа у чистим састојинама какве су управо смрчеве састојине на Копаонику.
7. Констатовано стање у истраживаним састојинама смрче указује да су гљиве које проузрокују трулеж корена и приданка стабала (*Heterobasidion annosum*, *Armillaria ostoyae*) утврђене по спољним симптомима на релативно малом броју прегледаних стабала, односно пањева. Овакво стање указује да поменуте гљиве нису биле примарни узрочник сушења стабала смрче.
8. На основу примењених метода истраживања и добијених резултата интрапопулационих параметара генетичког диверзитета можемо закључити да сушење унутар посматране и селектоване популације смрче нема генетичку основу, те даља генетичка истраживања ове врсте на нивоу популације треба

наставити кроз анализу експресије кандидат гена одговорних за сушу и других молекуларних маркера. Релативна стабилност генетичког диверзитета истраживаног дела веће популације ове врсте на Копаонику указује на потенцијално добар генетички потенцијал популације, те би могле бити узете у разматрање за даље селекционистичке праксе.

9. Анализа виталности смрче на основу даљинске детекције је показала да није забележен статистички значајан пад виталности састојина смрче упркос сушним периодима протеклих година. Разлог због ког није забележено сушења из сателита може бити због резолуције од 250 м, која је превазилазила области у којима је било сушење и детектовало веће подручје (око 6 хектара). Применом сателита веће резолуције, који се данас најчешће не могу добити бесплатно, могу се очекивати поузданије процене у будућности.

Ова истраживања би требала послужити као полазна основа за наставак истраживања која би нам требала дати одговор на који начин би било оптимално газдовати овим шумама у будућности у циљу њихове оптималније адаптације на различите негативне утицаје абиотичке и биотичке природе.

ФИНАНСИЈСКИ ИЗВЕШТАЈ

о реализацији научноистраживачког рада

Пројекат: МУЛТИДИСЦИПЛИНАРНА ИСТРАЖИВАЊА ПРОЦЕСА СУШЕЊА ШУМА
 Финансијер: Управа за шуме, Министарство пољопривреде и заштите животне средине
 Републике Србије

Уговорени годишњи буџет пројекта за 2016. годину

	Процентуално учешће у односу на укупну вредност пројекта	Износ у РСД
Накнада за рад истраживача	59,2	829.168,80
Материјални трошкови (трошкови путовања, ситна опрема, потрошни материјал)	31,7	443.558,50
Режија	9,1	127.272,70
Укупно одобрена средства за реализацију пројекта	100	1.400.000,00

	Уговорено за 2016. годину	Примљена средства од Управе за шуме
Накнада за рад истраживача	829.168,80	
Материјални трошкови	443.558,50	
Режија	127.272,70	
Укупно одобрена средства	1.400.000,00	424.733,0

Исплаћена накнада за рад истраживача до 25.11. 2015. године:

Истраживачки тим	Плата: септембар	Плата: октобар	Укупно
Др Братислав Матовић	38.000	38.000	76.000
Проф. др Саша Орловић	23.000	23.000	46.000
Др Зоран Галић	23.000	23.000	46.000
Др Мирослав Марковић	9.000	9.000	18.000
Др Леополд Пољаковић-Пајник	9.000	9.000	18.000
Др Предраг Пап	9.000	9.000	18.000
Др Милан Дрекић	9.000	9.000	18.000
Др Андреј Пилиповић	23.000	23.000	46.000
Др Срђан Стојнић	23.000	23.000	46.000
Др Дејан Стојановић	23.000	23.000	46.000
Др Марко Кеберт	9.000	9.000	18.000
Бранислав Трудић, мастер	7.000	7.000	14.000
Укупно	205.000	205.000	410.000

Потраживања од Управе за шуме за 2016. годину

	Уговорено за 2016. годину	Уплаћена средства	Потрошена средства	Непотрошена средства	Потраживања за 2016. годину
Накнада за рад истраживача	829.168,80				
Материјални трошкови	443.558,50				
Режија	127.272,70				
Укупно одобрена средства	1.400.000,00	424.733,0	424.733,0	-	975.267,0

Планирана накнада за рад истраживача до 31.12. 2016. године:

Истраживачки тим	Плата: новембар	Плата: децембар	Укупно
Др Братислав Матовић	38.000	39.498,8	77.498,8
Проф. др Саша Орловић	23.000	25.460,8	48.460,8
Др Зоран Галић	23.000	25.460,8	48.460,8
Др Мирослав Марковић	9.000	8.422,8	17.422,8
Др Леополд Пољаковић-Пајник	9.000	8.422,8	17.422,8
Др Предраг Пап	9.000	8.422,8	17.422,8
Др Милан Дрекић	9.000	8.422,8	17.422,8
Др Андреј Пилиповић	23.000	25.460,8	48.460,8
Др Срђан Стојнић	23.000	25.460,8	48.460,8
Др Дејан Стојановић	23.000	25.460,8	48.460,8
Др Марко Кеберт	9.000	8.422,8	17.422,8
Бранислав Трудић, мастер	7.000	5.252,0	12.252,0
Укупно	205.000	214.168,8	419.168,8

Руководилац пројекта

Др Братислав Матовић, научни сарадник

