

**„Истражување на здравствената состојба на  
питомиот костен во Споменикот на природа Вевчански извори,  
и проценка за потребата и можноста за  
биолошка заштита од габата *Cryphonectria parasitica*“**

**ЗАВРШЕН ИЗВЕШТАЈ**



раководител: проф. д-р Кирил Сотировски  
соработник: доц. д-р Михајло Ристески



Извештај за спроведено  
истражување на состојбата на  
питомиот костен во Споменикот  
на природа Вевчански извори



## Содржина

ЦЕЛИ НА ПРОЕКТОТ И ПРЕДВИДЕНИ АКТИВНОСТИ .....	2
ОПШТИ ПОИМИ И ПРЕТХОДНИ СОЗНАНИЈА РЕЛЕВАНТНИ ЗА ПРОЕКТОТ .....	2
Питом костен .....	2
Костенов плод .....	3
Откривање на болеста „рак по питомиот костен“, односно на габата предизвикувач <i>C. parasitica</i> .....	4
<i>C. parasitica</i> низ Европа .....	4
Откривање и развој на <i>C. parasitica</i> на територијата на Република Северна Македонија .....	5
Животен циклус и биолошки карактеристики на габата <i>C. parasitica</i> .....	5
Хиповирулентност и <i>Cryphonectria hypovirus 1 (CHV-1)</i> .....	5
Различни аспекти на хиповирулентноста .....	7
Хиповирулентност во Северна Македонија .....	9
РЕАЛИЗИРАНИ АКТИВНОСТИ .....	10
А. Реализирани теренски работи .....	10
Б. Реализирани лабораториски работи .....	13
РЕЗУЛТАТИ .....	13
ЗАКЛУЧОЦИ .....	16
ПРЕПОРАКИ .....	19
РЕФЕРЕНЦИ .....	22

## ЦЕЛИ НА ПРОЕКТОТ И ПРЕДВИДЕНИ АКТИВНОСТИ

Клучна цел на проектот е да се процени здравствената состојба на питомиот костен во Споменикот на природа Вевчански извори (СП Вевчански извори), со посебен осврт на последиците предизвикани од болеста „рак по костенот“, односно од габичката *Cryphonectria parasitica*, и во зависност од состојбата да се предложат соодветни мерки за подобрување на состојбата. Подетално, според договорот, во рамките на проектот се предвидени следните наши активности:

1. Идентификација, оценка и детален опис на моменталната здравствена состојба на питом костеновите стебла во Споменикот на природа Вевчански Извори;
2. Собирање примероци кора од активни и пасивни рак-рани заради изолација на габата и за натамошни лабораториски истражувања;
3. Одредување на в-к тип на добиените изолати in vitro;
4. Одредување присуство на хиповирулентност, и степен/процент на присуство на хиповирулентни изолати;
5. Изготвување и поставување интерактивна карта (мапа) со локација на одделни стебла, и претставување на важни податоци за секое стебло (опис, димензии, мерки и други забелешки), заради идни апликативни и научно-истражувачки активности;
6. Изработка и доставување Извештај за проектот во кој ќе се претстават резултатите и согледувањата од преземените теренски и лабораториски истражувања, и насоки за подобрување на здравствената состојба на костените
7. Изработка и доставување на информативна и едукативна брошура, како и на кратко промотивно видео за значењето на питомиот костен за локалното население;

## ОПШТИ ПОИМИ И ПРЕТХОДНИ СОЗНАНИЈА РЕЛЕВАНТНИ ЗА ПРОЕКТОТ

### Питом костен

Питомиот костен (*Castanea sativa* Miller.) спаѓа во фамилијата Fagaceae и заедно со уште 8 други 8 видови дрвја и грмушки го сочинува родот *Castanea*<sup>1</sup>. Тоа е единствениот реликтен вид од овој род кој е распространет во Европа и регионот Кавказ<sup>2,3</sup>. Кај нас, вообичаеното име на видот е костен или питом костен, но е сосема различен од дивниот костен (*Aesculus hippocastanum*) кој освен што е од друг род, спаѓа и во друга фамилија дрвенеста растителност, Sapindaceae. Питомиот костен во Европа се нарекува и со други народни имиња – „европски сладок костен“ (European sweet

chestnut), „шпански костен“, „португалски костен“ и „марон“ (од „marron“ што на француски јазик значи „костен“), додека латинскиот назив „sativa“ означува „одгледано од луѓе“<sup>4,5</sup>.

Костенот вегетира на благо кисели (pH= 4,5 - 6) и не толерира глинести и компактни почви. Тоа е светлољубив вид, особено во раните стадиуми на развој, а подоцна може да толерира сенка<sup>6</sup>.

Дрвјата може да достигнат височина до 30 метри, дијаметар од 2 и повеќе метри и имаат цврста дрвесина и вкусни плодови со широка употреба во прехранбената индустријата<sup>7,8</sup>. Во природни услови живее до околу 600 години<sup>9</sup>, но доколку е одгледуван може да живее и до 1000 и повеќе години<sup>10</sup>.

Расте во топли климатски услови со влажни зими и суви лета, и тоа во умерени и во субтропски региони. Преферира средни до високи нивоа на атмосферски талози, и живее во области со меѓу 500 и 3500 mm врнежи годишно<sup>11</sup> и со средногодишна температура меѓу 8 и 15°C<sup>6</sup>. Питомиот костен се распространува во региони од 100 па сè до 1800 m надморска височина<sup>6</sup>.

Распространувањето на питомите костени низ Европа се случувало под влијание на луѓето и секаде каде биле внесувани успешно се етаблирале костенови популации<sup>7,12-14</sup>. Денес е распространет главно во јужна Европа (Пиринејски Полуостров, Италија, Балкански Полуостров и поголемите медитерански острови), малку во северозападна Европа (Англија и Белгија), западна Азија (североисточна Турција, Ерменија, Грузија, Русија, Азербејџан, Сирија и Иран) и во северна Африка, поточно Мароко<sup>6,15</sup>.

Во РС Македонија овој вид се распространува на неколку планини во западните и во јужните подрачја, на надморски височини меѓу 300 и 1000 метри<sup>16,17</sup>. Кај нас најчесто формира помали субпопулации, но има примери и за поголеми, а вирее на Шар Планина, Кораб, Дешат, Бистра, Јабланица, Јакупица, Скопска Црна Гора, Водно, Илинска Планина, Плакенска Планина, Галичица, Кожуф и Беласица<sup>16</sup>.

Во близина на популацијата на костенот во СП Вевчански извори, има неколку други популации, и тоа во околината на селата Калиште, Франгово, Радолишта (струшко), Мешеишта, Требениште и Горенци (охридско), и нешто подалеку, околу с. Џепиште (дебарско) .

### **Костенов плод**

Различни култивари на питомиот костен се одгледуваат во светот за различни намени, како што се: производство на брашно од костенови плодови, за варење или за печење на костенови плодови за конзумација, за производство на плодови за сушење, за производство на кандирани производи или за дрвна маса<sup>18</sup>. Во многу земји плодовите претставуваат важен ресурс за руралната економија, и најмногу заради неговата вредност веќе подолго време постои тенденција за зголемување на површините со агро- и агро-шумарски тип на производство<sup>19-21</sup>. Плодовите имаат висока нутритивна вредност и тоа 100 г. свеж неизлупен костенов плод содржи 45,5 грама

јаглехидрати; 8,1 г. растителни влакна, 2,26 г. масти; 2,42 г. протеини; најмногу содржи витамин А, а содржи и тиамин, рибофлавин, ниацин, пантенонска киселина, В6, В12, С; од минерали содржи калциум, бакар, железо, магнезиум, манган, фосфор, калиум, натриум и цинк, а содржината на вода е околу 48%<sup>22</sup>.

### **Откривање на болеста „рак по питомиот костен“, односно на габата предизвикувач *C. parasitica***

Во 1904 година во САД близу Њујорк, за прв пат била регистрирана појава на сушење на гранките на само неколку стебла на американски питом костен *C. dentata*<sup>23,24</sup>. Болеста брзо се распространила во епифитоциски размери и се проценува дека во САД за само 50-тина години уништила и до 4 милијарди возрасни стебла од *C. dentata*<sup>25-27</sup>. Низ подоцнежни истражувања било докажано дека причинител на болеста е габичка, именувана како *Endothia parasitica*, а подоцна преименувана во *Cryphonectria parasitica*. Габата потекнува од Азија, а во Северна Америка била внесена кон крајот на XIX век од Јапонија, преку инфицирани садници од корејски (јапонски) костен *Castanea crenata*<sup>24,26,28</sup>. Заради појавата на оваа болест дрвото од американски питом костен речиси исчезнало од пазарот<sup>29</sup>, а видот се смета како загрозен од исчезнување во источниот дел на САД<sup>30,31</sup>, и во САД денес се останати само неколку незначителни области под костенови популации во сојузните држави Мичиген и Висконсин.

### ***C. parasitica* низ Европа**

Во 1938 г. болеста за првпат била регистрирана во Европа близу Џенова во Италија по европскиот питом костен, *Castanea sativa*, а веќе до 1948 година биле инфицирани од 5-100% од костеновите стебла во северозападна Италија, зависно од локалитетот<sup>31-35</sup>. Низ годините, болеста се распространила низ речиси сите региони со костенови популации во Европа: во 1947 година во Шпанија<sup>36</sup>, во 1948 година во Швајцарија<sup>31</sup>, во 1950 година во Словенија<sup>37</sup> и Хрватска<sup>38</sup>, во 1956 година во Франција<sup>39</sup>, во 1964 година во Грција<sup>40</sup>, во 1965 година во Унгарија<sup>31</sup>, во 1967 година во Турција<sup>41</sup> и Албанија<sup>31</sup>, во 1970 година во Австрија<sup>42</sup>, во 1973 година во Македонија<sup>43</sup> и во Словачка<sup>44</sup>, во 1974 година во Косово<sup>45</sup>, во 1989 година во Португалија<sup>31</sup>, во 1992 година во Германија<sup>46</sup> и во Бугарија<sup>47</sup>, и во 2011 година во Англија<sup>48</sup>.

Според понови молекуларни истражувања, се смета дека габата *C. parasitica* била внесена во Европа во два наврати, од две генетски различни популации, и тоа од Северна Америка во Италија, југоисточна Франција и јужна Швајцарија, и од Азија во југозападна Франција<sup>49</sup>.

Освен тоа, болеста неофицијално била регистрирана и во Грузија уште во 1938 од Протсенко<sup>50</sup>, а е регистрирана и во Иран во 2001 г.<sup>51</sup>, и во 2008 г. во Азербејџан<sup>52</sup>.

## **Откривање и развој на *C. parasitica* на територијата на Република Северна Македонија**

Во Република Северна Македонија, за регистрирањето на *C. parasitica*, за првпат е објавено во 1974 година, на костенови насади на планината Дешат во околината на с. Скудриње, Дебарско, од страна на Папазов<sup>43</sup>, а до 1986 година габата била регистрирана на 587 ha<sup>43</sup> од вкупната површина (5048 ha) под костенови шуми во земјата<sup>16</sup>. Заради брзото распространување на габата во многу костенови популации низ републиката, и предизвиканото сушење на голем процент од зафатените стебла<sup>43,53</sup>, површината и густината на костеновите популации значително се намалиле, а здравствената состојба им била проценета како лоша<sup>54</sup>. Од откривањето на габата па сè до денес, од страна на повеќе генерации македонски фитопатолози, биле истражувани многу аспекти на габата и на болеста која ја предизвикува<sup>43,53-58</sup>.

Болеста и габичката предизвикувач се регистрирани на сите питом костенови локалитети во РС Македонија, односно на планините на кои постои питом костен: Беласица, Бистра, Водно, Галичица, Дешат, Илинска, Јабланица, Јакупица, Кораб, Кожуф, Плакенска Планина, Скопска Црна Гора и Шар Планина<sup>53</sup>.

## **Животен циклус и биолошки карактеристики на габата *C. parasitica***

Габичката *C. parasitica* се размножува по полов и по бесполов пат<sup>59</sup>. Инфекцијата на растението домаќин се случува со навлегување на полови спори (аскоспори) или бесполови спори (конидии) преку најразлични оштетувања или рани на кората<sup>60</sup>. Конидиите се пренесуваат преку различни вектори, и тоа инсекти, пајачиња, птици<sup>61-64</sup>, полжави и некои мали цицачи<sup>65</sup>. Аскоспорите пак, се пренесуваат и на подалечни растојанија преку воздушно струење, односно ветер<sup>64,66,67</sup>.

По пренесувањето на спорите и нивното етаблирање во растението-домаќин, при поволни услови почнуваат да 'ртат во хифи и со помош на анастомоза (спојување) формираат белузлаво-жолтеникава мицелиска превлака во форма на лепеза<sup>31,68</sup>. Со растењето на мицелијата доаѓа до произведување на различни штетни материи<sup>69</sup>, од кои најзначајна е оксалната киселина која ја намалува рН вредноста на инфицираното ткиво и има токсично дејство на соседните клетки<sup>69</sup>. Кога мицелијата ќе навлезе до камбиумот, доаѓа до прекинување на транспортот на вода и хранливи материи во растението домаќин, до промена на бојата и надолжно напукнување и одделување на кората од стеблото<sup>68</sup> (фото 1А). Таквото дејствување на габата резултира со создавање на активна рак-рана (фото. 1Б) која доведува до сушење и изумирање на гранката или стеблото над местото на инфекцијата<sup>68,70</sup>.

## **Хиповирулентност и *Cryphonectria hypovirus 1 (CHV-1)***

Фитопатологот Бираги (Biraghi), за првпат во 1951 година, во Италија забележал неколку костенови стебла и гранки, кои и покрај тоа што биле инфицирани од *C. parasitica*, сепак преживеале

и изгледале здрави<sup>31,34,71</sup>. Бираги за овој феномен сметал дека се должи на зголемената отпорност на костеновите стебла поради повеќекратно сечење на изданоците (заради сузбивање на болеста, во тоа време се изведувале санитарни сечи, односно отстранување на заразените стебла и гранки), но неговиот заклучок немал научна основа и бил сметан за незадоволителен во научните кругови<sup>34,72</sup>. Поради феноменот на спонтаното залекнување на рак-раните и инфицираните стебла, очигледен бил заклучокот дека болеста во голема мера била намалена, а експертите фитопатолози процениле дека може да има практична примена на овој феномен<sup>72</sup>.



**фото 1А. Променета боја, напукната кора;**



**фото 1Б. Типична активна рак-рана по костен.**

Истражувањата на Бираги, го привлекле вниманието на францускиот миколог Грант (Grente), кој земал примероци кора од залекнуваните костенови стебла од Италија<sup>73</sup>, и во 1964 година во Франција, тој изолирал атипични изолати од *S.parasitica* чија пигментација и спорулација биле помали во однос на нормалните изолати на габата<sup>74,75</sup>. Преку инокулација на таквите изолати во костеновите стебла се покажала намалена вирулентност на габата и овој феномен Грант го нарекол хиповирулентност, односно намалена вирулентност<sup>31,74</sup>. Подоцна, преку опити *in vitro*, за првпат е забележано и докажано, дека факторот кој ја предизвикува хиповирулентноста, може да се пренесува од едни на други изолати на габата, и оттаму е наречен „пренослива хиповирулентност“<sup>33,72,75</sup>. Преку подоцнежни истражувања е докажано дека се работи за двојно спирален РНК (dsRNA) миковирус, наречен *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV-1) од фамилијата *Hypoviridae*<sup>76-79</sup>. CHV-1 е единствен во Европа<sup>76-78,80</sup>, односно сите европски хиповирулентни изолати на *S.parasitica*, го содржат CHV-1<sup>81,82</sup>. Миковирусот (хиповирус) ја инфицира габата, и притоа ја намалува нејзината вирулентност и способност за создавање спори и продукција на пигменти, а мицелијата е бела или бело-жолтеникава, за разлика од мицелијата на вирулентните изолати кои се со изразено жолта или портокалова мицелија<sup>78,79,83-85</sup> (фото 2).

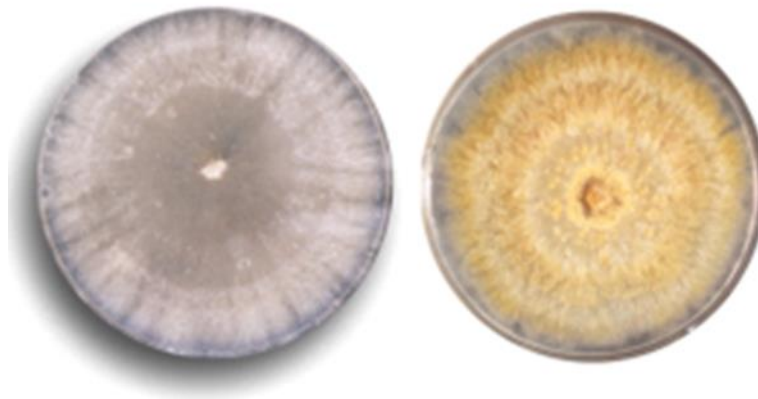


фото 2. Хиповирулентен (лево) и вирулентен изолат на *C. parasitica* (десно).

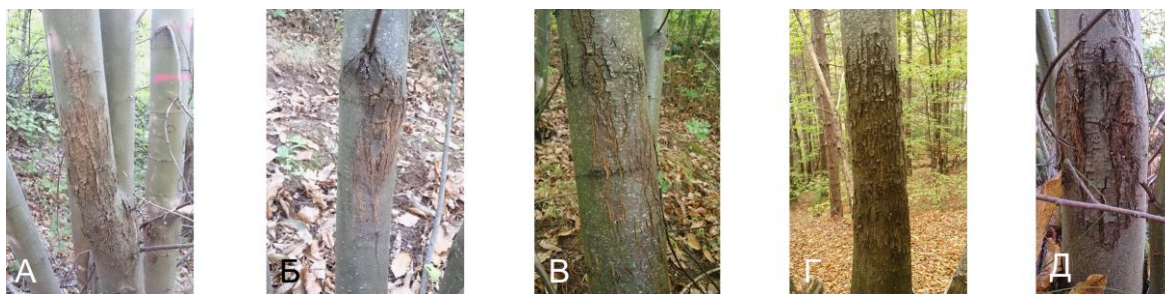
#### Различни аспекти на хиповирулентноста

*Cryphonectria hypovirus-1*, природно може да се распространува преку конидии, што се нарекува „вертикално пренесување“ (vertical transmission), или пак преку анастомоза (спојување) на хифите, т.н. „хоризонтално пренесување“ (horizontal transmission)<sup>77,86-89</sup>. По распространувањето до други рак-рани, хиповирулентните конидии, по ртење и израснување во хифи, го пренесуваат хиповирусот во веќе присутните вирулентни изолати на габата, преку непосреден контакт меѓу хифите (анастомоза). На тој начин и новоинфицираните хифи стануваат хиповирулентни, односно се со намалена вирулентност (патогенитет)<sup>24,90,91</sup>. Овој начин на пренесување на хиповирусот (хоризонтална трансмисија) е основата за биолошко сузбивање на болеста, но има и потенцијално ограничување заради постоење на феноменот на вегетативната некомпатибилност кај *C. parasitica*. Накратко, вегетативно некомпатибилни изолати на габата не може да формираат анастомоза меѓусебно, и заради тоа нема размена на цитоплазматски елементи меѓу хифите. Консеквентно, тоа значи дека е оневозможен и преносот на хиповируси меѓу изолати кои припаѓаат на различни вегетативно компатибилни типови<sup>76,77,79,87,88,92,93</sup>. Сепак, во истражувања *in vitro* е докажано дека е можно пренесување на хиповируси, но во мали проценти, помеѓу изолати кои не припаѓаат на ист в-к тип, и кои се разликуваат не само во еден *vic* локус, туку и до четири<sup>56</sup>. Уште повеќе, постојат докази дека во природни услови (*in situ*) се случува поголем процент на трансфекција на хиповирулентност помеѓу вегетативно некомпатибилни изолати, отколку во лабораториски услови<sup>94</sup>, што од практичен аспект има многу големо позитивно значење.

Друг ефект од дејството на хиповирусот е што се намалува создавањето конидии во хиповирулентните изолати, а и хиповирусот не се пренесува во сите конидии формирани во хиповирулентни изолати<sup>86,90,91</sup>. Згора на тоа, пренесувањето на хиповирусот не е возможно преку

аскоспори<sup>89,91,95</sup>, па според тоа, генеративното размножување на габата негативно влијае врз проширувањето на хиповирулентноста<sup>96</sup>. Со рекомбинацијата на вегетативно некомпатибилните гени се зголемува разновидноста на вегетативно компатибилните типови и значајно се намалува можноста за биолошко сузбивање на болеста<sup>88</sup>. Од овој аспект, заедничка карактеристика за европските популации на *C.parasitica*, е релативно малата разновидност на вегетативно компатибилните типови во однос на популациите на габата во Северна Америка<sup>70,97</sup>. Тоа го објаснува релативно брзото проширување на *Cryphonectria hypovirus-1* низ популациите на габата *C.parasitica* во Европа<sup>70</sup>, спротивно на нераспространувањето на хиповирулентност во Северна Америка<sup>80</sup>. Уште поважно е дека во земјите на југоисточна Европа (Северна Македонија, Грција, Бугарија, Косово, Србија, Турција,) популацијата на *C. parasitica* е практично клонална, односно најзастапен на целото тоа подрачје е еден в-к тип, EU-12<sup>98-103</sup>.

По појавата на болеста во Европа, во повеќе земји се започнало со употреба на хиповирулентност за „биолошко сузбивање“ (биолошка контрола; англ. biological control)<sup>31</sup> на ракот по костенот, при што инфицираните стебла биле третирани со хиповирулентни изолати на габата за да се овозможи создавањето на калусно ткиво и залекување на дотогаш активните рак-рани<sup>104</sup>. Високата стапка на хиповирулентност и големиот број третирани стебла, имале позитивно влијание врз успешноста на биолошката контрола во Европа<sup>31,105</sup>, а во последните десет години преку разни истражувања се постигнати значајни сознанија за разновидноста на популациите на *C.parasitica*, за нејзините в-к типови, и за други важни аспекти<sup>104,106,107</sup>. Онаму каде хиповирулентноста е широко распространета, костеновите шуми се карактеризираат со голема зачестеност на рак-рани, но болеста не предизвикува голема смртност, и голем број од раните се само површински и се неактивни<sup>77,80,96,108</sup> (фото 3А-Г) и калусираат (фото 3Д). Поради тоа што спорулацијата на габата е ретка или отсутува во неактивните рак-рани, не е сосема јасен механизмот за проширувањето на ширењето на CHV-1 и е дискутабилна важноста на калусираните рак-рани<sup>77</sup>.



**фото 3А-3Г. Површински (заздравувачки) рак-рани,  
предизвикани од хиповирулентни изолати на габата *C. parasitica*;  
фото 3Д. Калусирана рак-рана по костен.**

Биолошкото сузбивање е најефикасен метод затоа што примената на фунгициди и на други хемиски средства е неефикасно, штетно за околината и е економски неисплатливо<sup>91,109</sup>. За успешно

биолошко сузбивање, потребно е да се одберат соодветни хиповирулентни изолати на габата кои најдобро влијаат врз намалување на нејзината патогеност, или пак најсоодветна смеса од хиповирулентни изолати на габата со која ќе се третираат инфицираните костенови стебла<sup>97,109</sup>. Ова особено се однесува на земји и локалитети каде има присуство на поголем број в-к типови на габата, што не е случај во РС Македонија<sup>53,98</sup>. Применувањето на овој метод се покажало успешно во повеќе европски земји како Шпанија, Италија, Франција, Швајцарија<sup>31</sup>, Грција<sup>110</sup>, и Романија<sup>111</sup>. Во САД, од друга страна, во најскорешни истражувања научниците создадоа т.н. „супер донорски“ соеви, кои се генетски модифицирани за да овозможат трансмисија на хиповирулентност кон изолати од вегетативно некомпатибилни соеви на габата<sup>112</sup>.

### **Хиповирулентност во Северна Македонија**

Присуство на хиповируси во РС Македонија за прв пат било регистрирано и објавено во 1990-тите<sup>55,90</sup>, а во меѓувреме низ повеќе истражувања е докажано дека хиповирулентноста низ земјата е многу распространета<sup>53,113</sup>. Низ прелиминарни инокулации докажавме дека македонски хиповирулентни изолати на габата покажуваат различни својства *in situ* и *in vivo*<sup>114</sup>. На многу локалитети низ С. Македонија низ многубројни истражувања во последните 25-тина години регистрираме големо присуство на т.н. пасивни, односно заздравувачки рак-рани. Заради тоа, генерално земено, констатираме дека здравствената состојба на питомиот костен е охрабрувачка, бидејќи неговото сушење, предизвикано од *C.parasitica*, е значително намалено во однос на почетоците на епифитоцијата во РС Македонија<sup>53</sup>.

Во текот на 2018 г. преку научно-истражувачки и апликативен проект финансиран од МЗШВ, во околината на с. Љуботен на Скопска Црна Гора со преку 2070 одделни инокулации со хиповирулентен изолат на *C. parasitica* се третирани 31 рак-рана на 27 стебла (фото 4А и 4Б). Со овој метод освен што директно се залекуваат третираните рак-рани, истовремено се овозможува локална дисеминација на хиповирулентност на овој локалитет на кој дотогаш не била регистрирана<sup>115</sup>. Со внесувањето пак на хиповирулентност, средно- и долгорочно се овозможува стабилизирање на здравствената состојба на костеновата популација, и евентуалната идна популација со поголем број стебла околу Љуботен, но и во оближните други костенови популации на Скопска Црна Гора.



**фото 4А. Направени влзени дупки во кората, за инокулација на хиповирулентност, по рабовите од активна рак-рана;**  
**фото 4Б. Алатка користена за пункција на дупки во кората, и видливи траги од восокот со кој се затвораат инокулационите дупки.**

## РЕАЛИЗИРАНИ АКТИВНОСТИ

Заради прегледност, извештајот подолу ги адресира и известува за реализираните активности, односно за постигнатите резултати поврзани со целите и активности предвидени во договорот (стр. 2) , соодветно на обемот на работи за секоја од нив.

### А. Реализирани теренски работи

Заради реализација на предвидените активности и остварување на соодветни резултати, питом-костеновите шуми во СП Вевчански извори, заклучно со крајот на месец октомври, беа посетени во четири наврати, и тоа на 27 и 29.VIII, и на 13 и 24.X.2024 г.

При посетите, со помош на логистичка поддршка на г-н Наум Илиески и г-н Дарко Ќитановски од локалната канцеларија на екосвест, беа лоцирани 3 субпопулации односно површини на питом костен во атарот на селото. Популациите се географски многу блиски, практично меѓусебно поврзани, и заради тоа може да се сметаат за една костенова популација.

Во текот на посетите се реализирани неколку активности:

-Рекогносцирање на теренот и генерална проценка на состојбата на костените (старост, постоење и застапеност на подмладок, густина, механички оштетувања, присуство на други дрвни видови).

-Одредување на степен на присуство на карактеристични и јасно видливи симптоми на болеста рак по костенот, односно на габичката предизвикувач *Cryphonectria parasitica*, базирано на макроскопска опсервација.

-Колектирани се 120 примероци костенова кора кои имаа знаци на активна инфекција, односно од кои сметавме дека може да се изолираат чисти култури на габата.

-Реализирана е инспекција in situ за присуство на строми, и онаму каде беа регистрирани веднаш опсервиравме (окуларно со лупа) и за можно присуство на перитеции, односно плодни тела на габичката.

-Користејќи онлајн софтверската алатка Google Maps креиравме интерактивна карта со 112 точки за опсервирани костенови стебла од популацијата во СП Вевчански извори. Во картата се внесени сите релевантни податоци за односните стебла (опис, релевантни фотографии од времето на опсервацијата, географски координати, здравствената состојба, односно проценка за процентот на живата лисна маса, присуство или отсуство на видливи активни рак-рани од *C. parasitica*, присуство или отсуство на суви или целосно мртви гранки од стеблата, забележување на стебла кои се од иста пенушка и др.). Во оваа карта стеблата се категоризирани во 3 здравствени категории.

А) Суви/мртви стебла (црвени точки на картата) – 28;

Б) Стебла со јасно видливи симптоми на болеста рак по костенот (жолти точки на картата) – 39;

В) Стебла кои макроскопски изгледаат здрави, и се без видливи поголеми оштетувања како суви гранки, рак-рани или опадната кора (зелени точки на картата) 45.

Картата може во иднина да се дополнува и модифицира, доколку за тоа постои потреба при евентуални дополнителни истражувања или апликативни проекти. Напомнуваме дека стеблата внесени во картата се избрани по модифицирана метода на случаен избор долж маршрутен преглед. Главна улога на картата повеќе е геореференцирање на здравствената состојба на популационо ниво и нотирање на здравствените аспекти на одделните стебла во конкретниот временски момент, односно во 2024 г. (фото 5).

<https://www.google.com/maps/d/u/0/edit?mid=1SwBZiM7Tjk4uzyVUgi6HVpT7WDCpuBM&ll=41.2390657591176%2C20.581663549648447&z=18>

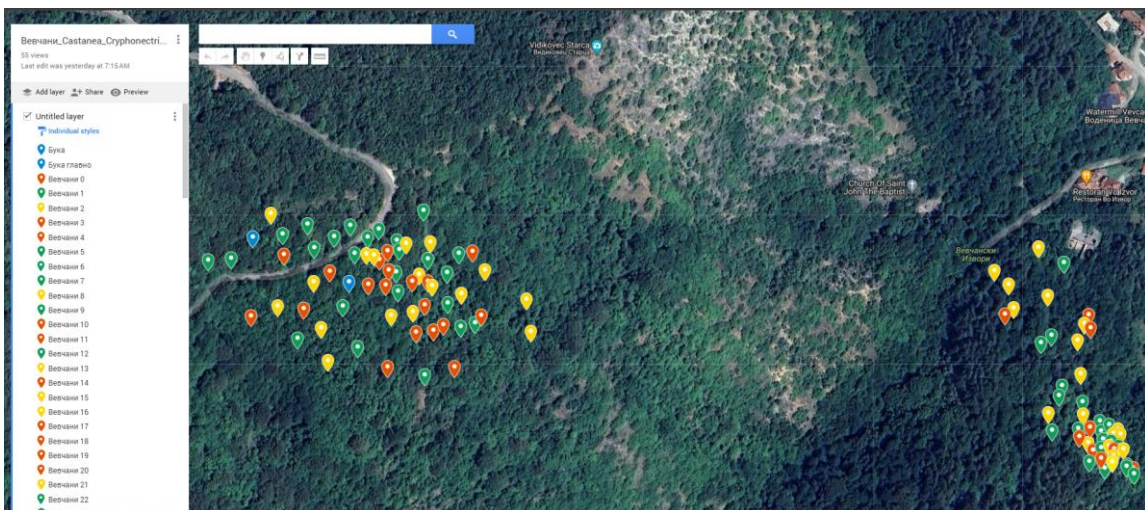


фото 5. Парцијална слика на интерактивната карта со внесени точки за 112 стебла од костеновата популација во СП Вевчански извори

-Снимени се соодветни фото и видео записи со беспилотно летало, за потребите за изработка на промотивното видео, брошурата и извештајот предвидени во договорот (фото 6 и фото 7).



**фото 6. Видлива костенова популација над Вевчани**



**фото 7. Видливи суви костенови стебла од популација во СП Вевчански извори**

## Б. Реализирани лабораториски работи

Во фитопатолошката лабораторија на УКИМ Факултет за шумарски науки, пејзажна архитектура и екоинженеринг „Ханс Ем“ се изведени стандардни процедури за изолација на чисти култури на габата *C. parasitica*, на подлоги од вода-агар и компир-декстроза-агар (DIFCO). Добиените чисти култури се дополнително одгледани на стаклена филтер хартија заради долгорочно сторнирање, на -25°C .

Секој добиен изолат во чиста култура е понатаму испитуван на соодветна подлога заради одредување на вегетативно компатибилен тип (фото 8А), како и за одредување на хиповирулентност преку оценка на пигментирана или непигментирана морфологија (фото 8Б).

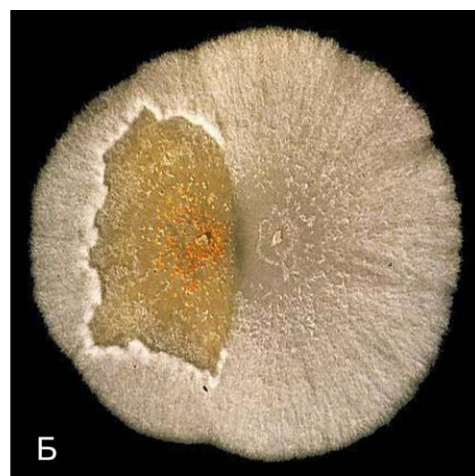
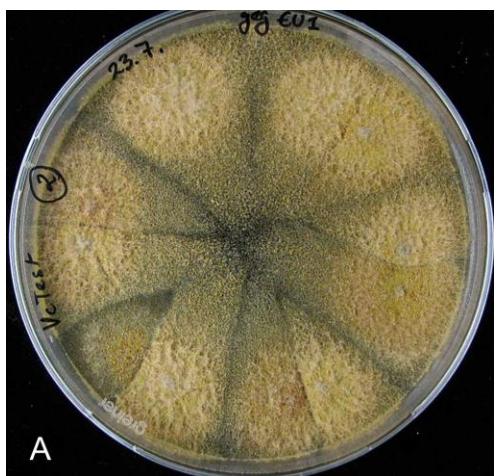


фото 8А. Одредување на в-к типови на изолати на *C. parasitica*;  
фото 8Б. Конверзија на вирулентен во хиповирулентен изолат *in vitro*.

## РЕЗУЛТАТИ

Од вкупно колектираните 120 примероци кора, во чисти култури се одгледани вкупно 106 изолати. Со примероците од кои не се изолира вештачка култура при првиот обид (87), се обидовме уште најмногу два пати.

Најважните резултати од лабораториските анализи се претставени во табела 1.

Табела 1. Присуство на строми, вк тип и присуство на хиповирулентност во изолати на *Cryphonectria parasitica* од СП Вевчански извори, 2024 г.

Локалитет	Реден број на примерокот кора	Лабораториски код	Присуство на строми на костенова кора (0 - нема строми, 1 - помалку од 10 строми, 2 - има обилно строми)	В-К тип	Хиповирулентност според морфологија на изолат
A	1	Vv2024	1	EU-12	хиповирулентен
A	2	Vv2024	0	EU-12	
A	3	Vv2024	2	EU-12	
A	4	Vv2024	0	EU-12	
A	5	Vv2024	0	EU-12	
A	8	Vv2024	0	EU-12	
A	10	Vv2024	0	EU-12	
A	11	Vv2024	1	EU-12	
A	12	Vv2024	2	EU-12	
A	13	Vv2024	1	EU-12	хиповирулентен
A	14	Vv2024	2	EU-12	
A	15	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
A	16	Vv2024	1	EU-12	
A	17	Vv2024	0	EU-12	
A	18	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
A	19	Vv2024	1	EU-12	
A	20	Vv2024	0	EU-12	
A	21	Vv2024	1	EU-12	
A	22	Vv2024	0	EU-12	
A	23	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
A	24	Vv2024	0	EU-12	
A	25	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
A	26	Vv2024	1	EU-12	
A	27	Vv2024	0	EU-12	
A	28	Vv2024	1	EU-12	
A	29	Vv2024	1	EU-12	
A	30	Vv2024	1	EU-12	
A	31	Vv2024	0	EU-12	
A	32	Vv2024	1	<b>EU-2</b>	
A	33	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
A	34	Vv2024	0	EU-12	
A	35	Vv2024	0	EU-12	
A	36	Vv2024	0	EU-12	
A	37	Vv2024	0	EU-12	
A	38	Vv2024	0	EU-12	
A	39	Vv2024	0	EU-12	

A	40	Vv2024	0	EU-12	
A	41	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
A	42	Vv2024	0	EU-12	
A	43	Vv2024	2	EU-12	
A	44	Vv2024	0	EU-12	
A	45	Vv2024	0	EU-12	
A	47	Vv2024	0	EU-12	
A	48	Vv2024	0	EU-12	
A	49	Vv2024	2	EU-12	хиповирулентен
A	50	Vv2024	1	EU-12	хиповирулентен
A	51	Vv2024	0	EU-12	
A	52A	Vv2024	0	EU-12	
A	52B	Vv2024	1	EU-12	хиповирулентен
A	53	Vv2024	0	<b>EU-2</b>	
A	55	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
A	56	Vv2024	0	EU-12	
A	57	Vv2024	0	EU-12	
A	58	Vv2024	0	EU-12	
A	60	Vv2024	0	EU-12	
Б	66	Vv2024	1	EU-12	
Б	67	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
Б	68	Vv2024	0	EU-12	
Б	69	Vv2024	0	EU-12	
Б	71	Vv2024	1	EU-12	
Б	75	Vv2024	2	EU-12	
Б	76	Vv2024	0	EU-12	
Б	77	Vv2024	0	EU-12	
Б	78	Vv2024	1	EU-12	
Б	79	Vv2024	1	EU-12	
Б	80	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
Б	81	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
Б	82	Vv2024	0	EU-12	
Б	83	Vv2024	0	EU-12	
Б	84	Vv2024	0	EU-12	
Б	85	Vv2024	0	EU-12	
Б	86	Vv2024	1	EU-12	
Б	89	Vv2024	0	EU-12	
Б	91	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
Б	92	Vv2024	1	EU-12	
Б	93	Vv2024	0	EU-12	
Б	94	Vv2024	0	EU-12	
Б	95	Vv2024	0	EU-12	
Б	96	Vv2024	0	EU-12	
Б	97	Vv2024	0	EU-12	
Б	98	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
Б	99	Vv2024	0	EU-12	
Б	100	Vv2024	1	EU-12	хиповирулентен
Б	101	Vv2024	1	EU-12	

Б	102	Vv2024	0	EU-12	
Б	103	Vv2024	0	EU-12	
В*	104	Vv2024	0	EU-12	
В*	105	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
В*	106	Vv2024	0	EU-12	
В*	108	Vv2024	0	EU-12	
В*	109	Vv2024	0	EU-12	
В*	110	Vv2024	0	EU-12	
В*	111	Vv2024	0	EU-12	
В*	113	Vv2024	0	EU-12	
В*	114А	Vv2024	0	EU-12	
В*	114В	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
В*	115	Vv2024	0	EU-12	
В*	116	Vv2024	0	EU-12	
В*	117	Vv2024	1	EU-12	
В*	118	Vv2024	0	EU-12	
В*	119	Vv2024	0	EU-12	
В*	120	Vv2024	0	EU-12	хиповирулентен
В*	121	Vv2024	0	EU-12	
В*	122	Vv2024	0	EU-12	
В*	123	Vv2024	0	EU-12	
В*	124	Vv2024	0	EU-12	

А - Субпопулација високо над изворите

Б - Субпопулација веднаш над изворите

В - Субпопулација над училиштето

## ЗАКЛУЧОЦИ

Најважните заклучоци кои може да се изведат од овие резултати се следните:

-Во популацијата на габата *C. parasitica* од СП Вевчански извори, доминира в-к тип EU-12, со повеќе од 98% доминантност, а единствен друг присутен в-к тип е EU-2, детерминиран во само 2 од 106 испитани изолати на габата. Овој резултат е сосема во согласност со повеќе наши претходни истражувања од изминативе 25-30 години во овој дел на Македонија, целосно во државата како и во поширокиот регион на Балканот. Имено, сосема слична е состојбата со диверзитетот на популациите на габичката во околина на с. Калишта, с. Франгово, и с. Радолишта, сите во помалку од 20-тина километри растојание едни од други, а сместени на планината Јабланица, како и Вевчани 53,57.

-Во популацијата на габата од СП Вевчански извори веќе подолго време има етаблирано хиповирулентност што го заклучивме најпрво од опсервација и оценка на стеблата на терен. Тука спаѓа присуството на значителен број и процент на рак-рани кои се калусирани, а кај многу од помалите активни рак-рани се забележливи инволутивни рак-рани, односно оние кои упатуваат на дејствување на хиповируси врз габичката (фото 9). Присуството на хиповирулентност е потврдено и преку лабораториските испитувања, и тоа во безмалку 20% од испитаните изолати.



**фото 9А. Рак-рана во фаза на калусирање;**  
**фото 9Б. Калусирана рак-рана**

-При теренските испитувања забележавме многу мало присуство на строматични телца по рак-раните, што е потврдено и кај колектираните примероци кора. Имено, од нив, само 6 од 106 примероци се оценети дека имаат значително присуство на строми, 21 примерок се со мал број и мал обем на строми, додека 79 примероци (над 75%) воопшто немале строматични телца по кората.

За оваквата состојба има неколку објаснувања.

а. Хиповирулентни изолати на габата *S. parasitica* во основа се карактеризираат со намалена спорулација<sup>64</sup>, а релативно големото присуство на хиповирулентни изолати во СП Вевчански извори придонесува за многу намалено присуство на строми.

б. Генерално сувиот период од неколку години, особено изразен и во 2024, годината на нашите теренски истражувања и опсервации, може во голема мера да влијае на намалена спорулација на габата. Ова е веројатно уште и додатно потенцирано бидејќи нашите теренски истражувања беа главно во летни месеци, односно во многу сушен период. За состојбата во СП Вевчански извори, наше убедување е дека и двете погорни објаснувања имаат влијание врз многу намалената репродуктивна способност на габичката, особено во месеците на нашето истражување односно рекогносцирање на теренот.

-Од прегледувањето на сите строматични телца регистрирани за време на опсервациите и колектирањето на примероци во ниту еден случај не регистриравме плодни телца од типот перитеција, што е во согласност со претходни истражувања за состојбата на сите популации на габата во С. Македонија<sup>54</sup>. Овој резултат има позитивни последици од аспект на натамошната дисперзија на хиповирулентноста на овој локалитет, бидејќи не доаѓа до диверзификација на

популацијата на *C. parasitica* од аспект на в-к типови<sup>54,64</sup>. Дополнително на тоа, евентуалното преземање на инокулација на хиповирулентност како метод за третирање на рак-рани по стебла е посигурно заради „стабилноста“ на популацијата на габата во еден в-к тип, во случајот EU-12.

Генерални согледувања од теренските опсервации и колектираните податоци:

1. Костеновата популација во СП Вевчански извори се одликува со изразена разновозрасност, односно во неа има мал број костенови дрвја од многу стара возраст (неколку стотини години) па до најмлада возраст (неколку годишни).
2. Во мал дел од површините на костеновата популација во СП Вевчански извори, костените се најчест и доминантен вид, речиси во едновидов состав. Сепак, но во поголем дел граничат и се мешани со бука (*Fagus orientalis* L.), габер (*Carpinus betulus* L.) и неколку видови дабови, што е вообичаена појава за костенот во Европа<sup>11</sup>.
3. Бројот на најмлади примероци костен (1-10 години) е релативно низок, односно природната обнова на овој вид на оваа локација не е на оптимално ниво. Од искуство со други локации низ РС Македонија, но и низ Европа, најголема причина за оваа состојба е перманентната годишна берба на костеновиот плод од страна на месното население, со што значајно се редуцира потенцијалниот можност за природна генеративна обнова на костеновата шума.
4. Поголемиот број најстари стебла (неколку десетини на број, расфрлани на целата површина на костеновата популација) се или сосема суви односно мртви, или живи во многу мал дел од крошната, односно со мал број живи гранки. Сите, без исклучок, имаат голем број суви гранки, и тоа низ подолг временски период, некои од нив веќе во одминат стадиум на гниење на дрвесината. Од овие најстари стебла речиси по правило нема вегетативни клонални изданоци во зоната на кореновиот врат, а доколку има, најчесто се во лоша здравствена состојба, односно се делумно или целосно суви, со оштетена кора, и неретко се и видливо гнили. Ова упатува на констатацијата дека и корените на овие најстари стебла се нефункционални односно мртви.
5. Во костеновата популација има јасно видливи знаци на присуство на габата *C. parasitica*, односно на болеста рак по питомиот костен. Според големината и состојбата на некои од рак-раните, односно на состојбата на инфицираните стебла, заклучуваме дека болеста е присутна со децении, и е етаблирана во оваа костенова популација набрзо по откривањето на болеста во Македонија во 1970-тите и нејзиното брзо распространување низ сите костенови популации во државата и регионот. Тоа е во согласност со состојбата во околните популации, односно во потесниот и во поширокиот регион, па и на континентално ниво како и фактот дека е широко распространета низ целата популација костен<sup>54,64</sup>.
6. Од теренските истражувања, е јасно видливо присуството на хиповирулентност, и се видливи релативно голем процент калусирани и инволутивни рак-рани, односно рак-рани кои не се летални за инфицираните стебла и гранки.

7. На терен се забележливи и вирулентни рак-рани, но во релативно мал процент, и што е поважно, најчесто не се брзо-растечки. Во голем процент од вирулентните рани е видно дека се во фаза на конверзија во хиповирулентни рани, кај некои од нив започнато пред повеќе години, а кај други е со поскорешен датум. Битна констатација е дека многу ретко се забележливи активни свежи вирулентни рак-рани.
8. Од здравствен аспект, гледано на ниво на популација, костените во СП Вевчански извори не може да се сметаат за витални и здрави, но освен габичката односно болеста рак по кората, веројатен друг значаен фактор е и намалениот обем на водени талози во последните многу години, особено изразено низ периодот на вегетација (пролет, лето, па и есен). Имено, костенот како вид не толерира суши во лето, особено доколку не расте на длабоки почви кои може да задржат влажност во текот на таквите периоди<sup>3,116</sup>. Топлотните стресови и сушете ја намалуваат фотосинтетската активност на овој вид, и дополнително ги прават помалку отпорни на напад од инсекти и патогени<sup>117</sup>.
9. Освен погоре нотираните најстари стебла, низ популацијата има стебла од најразлични возрасти кои се сосема суви, или се во одмината фаза на сушење, но не се работи за превисок процент на такви стебла. Најголем е бројот и процентот на стебла кои имаат суви гранки, но во чии крошни е многу поголем бројот на здрави гранки. Сепак, имајќи ја предвид големата изданкова способност и виталност на костените, оваа здравствена состојба може да се смета за задоволителна и одржлива и за среднорочен период (неколку десетини години).

## ПРЕПОРАКИ

-Иако е видно и значително негативното влијание на болеста наречена рак по костен, здравствената состојба на костеновата популација во СП Вевчански извори ја сметаме за задоволителна и стабилна. Под поимот стабилна, во случајов подразбираме дека сметаме дека состојбата со костените, средно- и долгорочно, нема да се влошува заради распространетоста на хиповирулентноста во локалната популација на патогената габа *C. parasitica*. Дополнително позитивно е што популацијата на габата е практично клонална, односно без диверзитет во однос на в-к тип (EU-12) што ја прави неотпорна кон постојаното несметано дополнително инфицирање од присутните хиповируси.

-Потенцираме дека габичката *C. parasitica* и болеста рак по костенот која ја предизвикува, може да ја сметаме како етаблирана и веќе автохтона на локалитетот СП Вевчански извори, односно дека ќе остане присутна во локалната костенова популација (како и пошироко). Но, олеснителна околност е што и хиповирулентноста е присутна и етаблирана локално, што значи дека е трет фактор во односот меѓу костенот и габата, односно дека е постигнат еден вид „трилатерален“ еквилибриум

(костен-патогена габа-хиповирус). Овој еквилибриум е секако подложен на промени заради други надворешни фактори, но не очекуваме радикални промени во балансот меѓу трите фактори. Практично кажано, постојано ќе се појавуваат рак-рани низ костеновата популација, некои од нив ќе бидат вирулентни и ќе предизвикуваат сушење на одделни гранки и стебла, но хиповирулентноста постојано ќе „санира“ извесен број од активните (вирулентни) рак-рани, и со тоа ќе ја одржува смртноста на гранки и стебла на задоволително ниво.

-Битна препорака која може да ја дадеме е дека со санитарни, па и одгледувачки сечи на костенови стебла, особено на оние во лоша здравствена состојба (со многу рак-рани, со опадната кора во поголем обем, со суви гранки и сл.) заради силната изданкова способност на питомиот костен како вид, ќе се овозможи подобра обнова и подмладување на насадот. Овој начин на стопанисување со костенот, и со други дрвни видови со слична изданкова способност (coppicing) во Македонија е секако најдоминантен вид на стопанисување (најмногу во дабови шуми, не и во костенови)<sup>118</sup>, а во последно време се репопуларизира и пошироко во Европа, бидејќи овозможува остварување на добар квалитет на потенко техничко дрво во релативно кратки турнуси (25-30 години), а преку селектирање на изданоците долгорочно до поквалитетни костенови насади/шуми<sup>119,120</sup>.

-Во истиот контекст е и препораката до сопствениците на костенови стебла, онаму каде што е практично можно, да преземат т.н. фитосанитарни мерки, односно од стеблата кои имаат суви или целосно мртви гранки, истите да се пресечат и отстранат (онаму каде е изводливо). Истото се препорачува да се направи и со секој дел од стеблото кој има симптоми на погоре опишаното заболување. Таквите гранки треба да бидат отсечени и отстранети од терен за да не бидат жаришта од кои ќе потекнуваат идни нови инфекции на други соседни стебла. Отсечените гранки и стебла, не претставуваат никаква опасност по здравјето на човекот и на животните, и може да се користат како техничко или огревно дрво. Дополнително на тоа, целосно сувите стебла треба да бидат отсечени, како и одреден број на стебла кои се во голема мера суви (повеќе од 80%), онаму каде димензиите и достапноста о дозволуваат тој зафат.

Овие мерки не се корисни само заради отстранување на потенцијалот за идни зарази од габата, како и заради овозможување подмладок од вегетативно потекло (изданци) од посечените стебла, туку ќе овозможат и одредени финансиски придобивки на сопствениците од посечената дрвна маса.

-Најголемите пак стебла низ шумата, кои во најголем број се сосема суви, треба да се остават како т.н. „хабитатни стебла“, кои се дефинирани „како стоечки живи или мртви стебла кои овозможуваат еколошки ниши како што се вдлабнатини и дупки, џебови во кората, големи мртви гранки, епифити, пукнатини, сокотеченија или изгниена дрвесина“<sup>121</sup>. Освен практичните причини дека оваквите костенови стебла е речиси невозможно да се отстрануваат, тие претставуваат битна

компонента за подобрување на севкупниот биодиверзитет, не само во костеновата шума туку гледано и пошироко.

-За локалното население и сопствениците може да се препорача зголемување на застапеноста на костените во шумата преку садење нови индивидуи, но најдобро со познати вариетети, култивари и хибриди кои се одликуваат со покрупен и поквалитетен плод <sup>122</sup>, и кои заради тоа на некој начин обезбедуваат подобар пласман на пазарот <https://www.tasteatlas.com/best-rated-chestnuts-in-europe>  
<https://www.agroforestry.co.uk/product-category/plants/nuts/chestnuts/>  
<https://euraf.isa.utl.pt/files/pub/20190325 - factsheet 04 - web.pdf>

И конечно – останува можноста и за дополнително расејување на хиповирулентност на локалитетот СП Вевчански извори, или преку метода на директно третирање на вирулентни ракрани, или преку масовно расејување на хиповирулентни конидии, од вештачки одгледани хиповирулентни изолати на костенови гранчиња. За корисноста на овие постапки се осврнавме погоре како и за погодните предуслови кои постојат на локалитетот СП Вевчански извори, како и во сите останати костенови популации во С. Македонија, а тоа е малиот в-к диверзитет (практично клоналност) на популациите на патогената габичка *C. parasitica*, односно постоењето на еден доминантен в-к тип, EU-12.

## РЕФЕРЕНЦИ

- 1 Maynard, C. *et al.* (John Wiley & Sons Ltd, Hoboken, NJ, 2009).
- 2 Konstantinidis, P., Tsiourlis, G., Xofis, P. & Buckley, G. P. Taxonomy and ecology of *Castanea sativa* Mill. forests in Greece. *Plant ecology* **195**, 235-256 (2008).
- 3 Metreveli, V. *et al.* Potential distribution and suitable habitat for Chestnut (*Castanea sativa*). *Forests* **14**, 2076 (2023).
- 4 Jackson, C. W. & Heale, J. B. Parasexual crosses by hyphal anastomosis and protoplast fusion in the entomopathogen *Verticillium lecanii*. *J. Gen. Microbiol.* **133**, 3537-3547 (1987).
- 5 Harrison, L. *RHS Latin for Gardeners: Over 3000 Plant Names Explained and Explored.* (Mitchell Beazley, 2012).
- 6 Conedera, M., Tinner, W., Krebs, P., de Rigo, D. & Caudullo, G. *Castanea sativa* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. (2016).
- 7 Macanović, A. in *Proceedings.* 201-220.
- 8 Mirchev, S., Lyubenova, M., Dimitrova, V. & Bratanova-Doncheva, S. Dendrochronological Investigation on *Castanea Sativa* Mill. in Belasitza Mountain and Western Balkans (Berkovitza Mountain). *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **23**, 377-380 (2009).
- 9 Hahn, S. Die Esskastanien-Nahrungsquelle und bedrohte Naturressource. *Books on Demand GmbH, Norderstedt* (2004).
- 10 Schoolman, E., Mensing, S. & Piovesan, G. From the Late Medieval to Early Modern in the Rieti Basin (AD 1325–1601): Paleoecological and Historical Approaches to a Landscape in Transition. *Historical Geography* **46**, 103-128 (2018).
- 11 Nakhutsrishvili, G. *The vegetation of Georgia (South Caucasus).* (Springer Science & Business Media, 2012).
- 12 Di Pasquale, G. *et al.* Reworking the idea of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivation in Roman times: new data from ancient Campania. *Plant Biosystems* **144**, 865-873 (2010).
- 13 Horvat, I., Glavač, V. & Ellenberg, H. Vegetation südosteuropas. (1974).
- 14 Zoller, H. *Pollenanalytische Untersuchungen zur Vegetationsgeschichte der insubrischen Schweiz: mit 11 Tabellen.* (Fretz, 1960).
- 15 Janfaza, S. *et al.* Genetic diversity of *Castanea sativa* an endangered species in the Hyrcanian forest. *Silva Fennica* **51**, 1-15 (2017).
- 16 Stamenkov, M. & Micevski, L. Rasprostranuvanje na kostenot vo Makedonija. (1984).
- 17 Gogusevski, M. *Strukturni elementi na kostenovite nasadi i stebila vo Belasica.*, (1960).
- 18 Bounous, G. in *III International Chestnut Congress 693.* 33-40.
- 19 Martins, A. *et al.* The importance of deep soil layers to supply water to agro-forestry systems: a case study of a mature chestnut orchard in northern Portugal. *Acta Horticulturae* **693**, 663 (2005).
- 20 Conedera, M., Manetti, M. C., Giudici, F. & Amorini, E. Distribution and economic potential of the Sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Europe. *Ecol. Mediterr* **30**, 179-193 (2004).
- 21 Conedera, M. & Krebs, P. in *II Iberian Congress on Chestnut 784.* 23-28.
- 22 Stasz, T. E. & Harman, G. E. Nonparental progeny resulting from protoplast fusion in *Trichoderma* in the absence of parasexuality. *Exp. Mycol.* **14**, 145-159 (1990).
- 23 Merkel, H. W. A deadly fungus on the American chestnut. *Annual Report of the New York Zoological Society* **10**, 97-103 (1906).
- 24 Cortesi, P., Milgroom, M. G. & Bisiach, M. Distribution and diversity of vegetative compatibility types in subpopulations of *Cryphonectria parasitica* in Italy. *Mycological Research* **100**, 1087-1093 (1996).
- 25 McKeen, C. D. Chestnut blight in Ontario: past and present status. *Canadian Journal of Plant Pathology* **17**, 295-304 (1995).
- 26 Holb, I. *et al.* Scientific Opinion on the pest categorisation of *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr. *THE EFSA JOURNAL* **12**, 1-42 (2014).
- 27 Day, A. W. Chromosome transfer in dikaryons of a smut fungus. *Nature* **273**, 753-755 (1978).
- 28 Anagnostakis, S. Chestnuts and the introduction of chestnut blight. *Annual report* (1992).

- 29 Ellingboe, A. H. Illegitimacy and specific factor transfer in *Schizophyllum commune*. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* **49**, 286-292 (1963).
- 30 Roane, M. K., Griffin, G. J. & Elkins, J. R. *Chestnut blight, other Endothia diseases, and the genus Endothia*. (The American Phytopathological Society, 1986).
- 31 Heiniger, U. & Rigling, D. Biological control of chestnut blight in Europe. *Annual review of phytopathology* **32**, 581-599 (1994).
- 32 Biraghi, A. Il cancro del castagno causato da *Endothia parasitica*. *Ital. Agric* **7**, 1-9 (1946).
- 33 MacDonald, W. & Fulbright, D. Biological control of chestnut blight: use and limitations of transmissible hypovirulence. *Plant Dis* **75**, 656-661 (1991).
- 34 Biraghi, A. Possible active resistance to *Endothia parasitica* in *Castanea crenata*. *Pre-issuue Proc. Congr. int. Union For. Res. Organ., Rome, 1953* (1953).
- 35 Turchetti, T. & Maresi, G. in *Integrated management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria* 85-118 (Springer, 2008).
- 36 Biraghi, A. Prove di inoculazione di castagni con *Endothia* sp. isolata in Biscaglia. (1948).
- 37 Krstic, M. *Endothia parasitica* in our country. *Zastita Bilja* **2** (1950).
- 38 Halambek, M. Chestnut blight in Yugoslavia. *EPPO Bulletin* **16**, 533-535 (1986).
- 39 Darpoux, H., Ride, M. & Bondoux, P. Chestnut canker caused by *Endothia parasitica*. *Chestnut canker caused by Endothia parasitica*. (1957).
- 40 Xenopoulos, S. Severity of chestnut blight disease and the pathogenicity of the causal fungus *Endothia parasitica* in Greece. *Forest Pathology* **12**, 316-326 (1982).
- 41 Delen, N. Distribution and the biology of chestnut blight. *Journal of Turkish phytopathology* (1975).
- 42 Figl, K. & Donaubaue, E. Untersuchungen fiber den Erreger des Kastaniendendenkrebses *Cryphonectria parasitica*, sowie Moiglichkeiten der biologischen Bekaimpfung durch hypovirulente Stamme., 1-3 ( Forstschutz aktuell, Forstl. , Bundesversuchsanst.Wien 1991).
- 43 Papazov, V., Serafimovski, A., Grujovska, M. & M., K. Bioekoloski proucvanja na gabata *Cryphonectria parasitica*, pricinitel za susenjeto na kostenot vo Makedonija. (Sumarski fakultet, Skopje, 1986).
- 44 Juhasova, G. A summary of knowledge on fungal diseases of Spanish chestnut in Slovakia. *Lesnictvi-UVTIZ (CSFR)* (1992).
- 45 Hadrović, H. *Proucavanje pitomog kestena (Castanea sativa Mill.) na podrucju SAP Kosova u cilju stvaranja baza za njegovu selekciju*. (Pokrajinska zajednice za naučni rad SAP Kosovo, 1977).
- 46 Seemann, D. & Unger, J. Rindenkrebs der Esskastanie in der Bundesrepublik Deutschland. *Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst* **45**, 12 (1993).
- 47 Mirtchev, S. & Simeonova, N. *Dendroecological investigation of chestnut decline in Bulgaria*. (2001).
- 48 Hunter, G., Wylder, B., Jones, B. & Webber, J. First finding of *Cryphonectria parasitica* causing chestnut blight on *Castanea sativa* trees in England. *New Dis Rep* **27** (2013).
- 49 Dutech, C. *et al*. The chestnut blight fungus world tour: successive introduction events from diverse origins in an invasive plant fungal pathogen. *Molecular Ecology* **21**, 3931-3946, doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05575.x (2012).
- 50 Prospero, S., Lutz, A., Tavadze, B., Supatashvili, A. & Rigling, D. Discovery of a new gene pool and a high genetic diversity of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* in Caucasian Georgia. *Infection, Genetics and Evolution* **20**, 131-139 (2013).
- 51 Kazempour, M. N. *et al*. First record of chestnut blight in Iran. *Journal of Plant Pathology* **88** (2006).
- 52 Wall, J. R. & Aghayeva, D. N. The practice and importance of chestnut cultivation in Azerbaijan in the face of blight, *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr. *Ethnobotany Research and Applications* **12**, 165-174 (2014).
- 53 Sotirovski, K. Hypovirulence, vegetative-compatibility groups and mating types of *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.in the Republic of Macedonia. (Skopje, Macedonia, 2000).

- 54 Sotirovski, K., Papazova Anakieva, I., Grünwald, N. & Milgroom, M. Low diversity of vegetative compatibility types and mating type of *Cryphonectria parasitica* in the southern Balkans. *Plant Pathology* **53**, 325-333 (2004).
- 55 Sotirovski, K. & Papazov, V. *Hipovirulentnost na gabata Cryphonectria (Endothia) parasitica - možnosti za bioloska borba pri sanacija na kostenovite sumi vo Makedonija.*, (1996).
- 56 Papazova Anakieva, I., Sotirovski, K., Cortesi, P. & Milgroom, M. Horizontal transmission of hypoviruses between vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* in Macedonia. *European Journal of Plant Pathology* **120**, 35-42 (2008).
- 57 Sotirovski, K., Rigling, D., Heiniger, U. & Milgroom, M. Variation in virulence of *Cryphonectria hypovirus 1* in Macedonia. *Forest Pathology* **41**, 59-65 (2011).
- 58 Sotirovski, K., Srebrova, K., Papazova Anakieva, I. & Risteski, M. in *Sustainable forestry: fact or fiction?* (Faculty of Forestry in Skopje, 2017).
- 59 Brusini, J., Wayne, M. L., Franc, A. & Robin, C. The impact of parasitism on resource allocation in a fungal host: the case of *Cryphonectria parasitica* and its mycovirus, *Cryphonectria Hypovirus 1*. *Ecology and evolution* **7**, 5967-5976 (2017).
- 60 Milgroom, M. G., Sotirovski, K., Risteski, M. & Brewer, M. T. Heterokaryons and parasexual recombinants of *Cryphonectria parasitica* in two clonal populations in southeastern Europe. *Fungal Genetics and Biology* **46**, 849-854 (2009).
- 61 Heald, F. & Studhalter, R. A. Birds as carriers of the chestnut blight fungus. *Journal of Agriculture Research*. **2**, 405-422 (1914).
- 62 Wendt, R., Weidhaas, J., Griffin, G. & Elkins, J. Association of *Endothia parasitica* with mites isolated from cankers on American chestnut trees. *Plant disease* **67**, 757-758 (1983).
- 63 Russin, J., Shain, L. & Nordin, G. Insects as carriers of virulent and cytoplasmic hypovirulent isolates of the chestnut blight fungus. *Journal of Economic Entomology* **77**, 838-846 (1984).
- 64 Rigling, D. & Prospero, S. *Cryphonectria parasitica*, the causal agent of chestnut blight: Invasion history, population biology and disease control. *Molecular plant pathology* **19**, 7-20 (2018).
- 65 Turchetti, T. & Chelazzi, G. Possible role of slugs as vectors of the chestnut blight fungus. *Forest Pathology* **14**, 125-127 (1984).
- 66 Rankin, W. The chestnut tree canker disease. *Phytopathology* **2**, 99 (1912).
- 67 Heald, F., Gardner, M. W. & Studhalter, R. A. Air and wind dissemination of ascospores of the chestnut blight fungus. *J. Agric. Res* **3**, 493-526 (1915).
- 68 Sotirovski, K., Uščuplić, M. & Risteski, M. *Patologija na sumskite i dekorativnite vidovi drvja.* (2009).
- 69 McCarroll, D. R. & Thor, E. in *Proceedings of the American Chestnut Symposium, Morgantown, WV, January.* 4-5.
- 70 Robin, C., Capdevielle, X., Martin, M., Traver, C. & Colinas, C. *Cryphonectria parasitica* vegetative compatibility type analysis of populations in south-western France and northern Spain. *Plant Pathology* **58**, 527-535 (2009).
- 71 Anagnostakis, S., Hau, B. & Kranz, J. Diversity of vegetative compatibility groups of *Cryphonectria parasitica* in Connecticut and Europe. *Plant Disease* **70**, 536-538 (1986).
- 72 Grente, J. & Berthelay-Sauret, S. in *Proceedings of the American chestnut symposium.* (Morgantown, VA: Morgantown West Virginia University Press).
- 73 Anagnostakis, S. L. Chestnut blight: the classical problem of an introduced pathogen. *Mycologia* **79**, 23-37 (1987).
- 74 Grente, J. Les formes hypovirulentes d'*Endothia parasitica* et les espoirs de lutte contre le chancre du châtaignier. *CR Acad. Agric. France* **51**, 1033-1037 (1965).
- 75 Grente, J. *Les variants hypovirulents de L'Endothia parasitica et la lutte biologique contre le chancre du châtaignier.* (1981).
- 76 Gobbin, D., Hoegger, P., Heiniger, U. & Rigling, D. Sequence variation and evolution of *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV-1) in Europe. *Virus research* **97**, 39-46 (2003).

- 77 Prospero, S., Conedera, M., Heiniger, U. & Rigling, D. Saprophytic activity and sporulation of *Cryphonectria parasitica* on dead chestnut wood in forests with naturally established hypovirulence. *Phytopathology* **96**, 1337-1344 (2006).
- 78 Sotirovski, K., Milgroom, M., Rigling, D. & Heiniger, U. Occurrence of *Cryphonectria hypovirus 1* in the chestnut blight fungus in Macedonia. *Forest Pathology* **36**, 136-143 (2006).
- 79 Vidóczy, H., Varga, M. & Szabó, I. Chestnut blight and its biological control in the Sopron Hills, Hungary. *Acta Silvatica et Lignaria Hungarica* **2007**, 199-206 (2007).
- 80 Milgroom, M. G. & Cortesi, P. Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis. *Annu. Rev. Phytopathol.* **42**, 311-338 (2004).
- 81 Krstin, L., Novak Agbaba, S., Rigling, D., Krajačić, M. & Ćurković Perica, M. Chestnut blight fungus in Croatia: diversity of vegetative compatibility types, mating types and genetic variability of associated *Cryphonectria hypovirus 1*. *Plant pathology* **57**, 1086-1096 (2008).
- 82 Krstin, L., Novak-Agbaba, S., Rigling, D. & Ćurković-Perica, M. Diversity of vegetative compatibility types and mating types of *Cryphonectria parasitica* in Slovenia and occurrence of associated *Cryphonectria hypovirus 1*. *Plant pathology* **60**, 752-761 (2011).
- 83 Prospero, S. & Rigling, D. 15 Chestnut Blight. *Infectious forest diseases*, 318 (2013).
- 84 Kazmierczak, P., Pfeiffer, P., Zhang, L. & Van Alfen, N. K. Transcriptional repression of specific host genes by the mycovirus *Cryphonectria hypovirus 1*. *Journal of virology* **70**, 1137-1142 (1996).
- 85 Novak-Agbaba, S., Liović, B. & Pernek, M. Prikaz sastojina pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj i zastupljenost hipovirulentnih sojeva gljive *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. *Radovi Šumarskog instituta Jastrebarsko* **35**, 91-110 (2000).
- 86 Elliston, J. E. Further evidence for two cytoplasmic hypovirulence agents in a strain of *Endothia parasitica* from western Michigan. *Phytopathology* **75**, 1405-1413 (1985).
- 87 Nuss, D. L. Biological control of chestnut blight: an example of virus-mediated attenuation of fungal pathogenesis. *Microbiological Reviews* **56**, 561-576 (1992).
- 88 Cortesi, P. & Milgroom, M. G. Genetics of Vegetative Incompatibility in *Cryphonectria parasitica*. *Applied and Environmental Microbiology* **64**, 2988-2994 (1998).
- 89 Allemann, C., Hoegger, P., Heiniger, U. & Rigling, D. Genetic variation of *Cryphonectria hypoviruses* (CHV1) in Europe, assessed using restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Molecular Ecology* **8**, 843-854 (1999).
- 90 Sotirovski, K., Milgroom, M. & Papazov, V. *Cryphonectria parasitica* in the Republic of Macedonia: Vegetative compatibility types and hypovirulent isolates. (1998).
- 91 Kobaš, A. *Karakterizacija izolata gljive Cryphonectria parasitica Murrill Barr u aktivnim rakovima pitomog kestena (Castanea sativa Mill.)*, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek. Department of biology., (2016).
- 92 Liu, Y. & Milgroom, M. Correlation between hypovirus transmission and the number of vegetative incompatibility (vic) genes different among isolates from a natural population of *Cryphonectria parasitica*. *Phytopathology* **86**, 79-86 (1996).
- 93 Liu, Y.-C., Durrett, R. & Milgroom, M. G. A spatially-structured stochastic model to simulate heterogenous transmission of viruses in fungal populations. *Ecological Modelling* **127**, 291-308 (2000).
- 94 Brusini, J. & Robin, C. Mycovirus transmission revisited by in situ pairings of vegetatively incompatible isolates of *Cryphonectria parasitica*. *Journal of virological methods* **187**, 435-442 (2013).
- 95 Montenegro, D., Aguin, O., Sainz, M., Hermida, M. & Mansilla, J. Diversity of vegetative compatibility types, distribution of mating types and occurrence of hypovirulence of *Cryphonectria parasitica* in chestnut stands in NW Spain. *Forest Ecology and Management* **256**, 973-980 (2008).
- 96 Bisseger, M., Rigling, D. & Heiniger, U. Population structure and disease development of *Cryphonectria parasitica* in European chestnut forests in the presence of natural hypovirulence. *Phytopathology* **87**, 50-59 (1997).

- 97 Robin, C. & Heiniger, U. Chestnut blight in Europe: diversity of *Cryphonectria parasitica*, hypovirulence and biocontrol. *Forest Snow and Landscape Research* **76**, 361-367 (2001).
- 98 Milgroom, M. G. *et al.* Clonal population structure of the chestnut blight fungus in expanding ranges in southeastern Europe. *Molecular Ecology* **17**, 4446-4458, doi:10.1111/j.1365-294X.2008.03927.x (2008).
- 99 Risteski, M. *et al.* Distribution of chestnut blight and diversity of *Cryphonectria parasitica* in chestnut forests in Bulgaria. *Forest Pathology* **43**, 437-443, doi:10.1111/efp.12051 (2013).
- 100 Sotirovski, K., Papazova-Anakieva, I., Grünwald, N. J. & Milgroom, M. G. Low diversity of vegetative compatibility types and mating type of *Cryphonectria parasitica* in the southern Balkans. *Plant Pathology* **53**, 325-333, doi:10.1111/j.0032-0862.2004.01006.x (2004).
- 101 Perlerou, C. & Diamandis, S. Identification and geographic distribution of vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* and occurrence of hypovirulence in Greece. *Forest Pathology* **36**, 413-421 (2006).
- 102 Karadžić, D. *et al.* Characterisation and pathogenicity of *Cryphonectria parasitica* on sweet chestnut and sessile oak trees in Serbia. *Plant Protection Science* **55**, 191-201 (2019).
- 103 Trestic, T. *et al.* Vegetative compatibility type diversity of *Cryphonectria parasitica* populations in Bosnia-Herzegovina, Spain and France. (2001).
- 104 Gačar, M. *Effect of hypovirus CHV-1 infection on the activity of laccases in the chestnut blight fungus Cryphonectria parasitica*, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, (2016).
- 105 Heiniger, U. & Rigling, D. Biological control of chestnut blight in Europe. *Annual Review of Phytopathology* **32**, 581-599 (1994).
- 106 Bryner, S. F. *et al.* Informative value of canker morphology on the presence or absence of virus infection in chestnut blight cankers. *Forest Pathology* **43**, 496-504, doi:10.1111/efp.12063 (2013).
- 107 Vuković, R., Liber, Z., Ježić, M., Sotirovski, K. & Ćurković-Perica, M. Link between epigenetic diversity and invasive status of south-eastern European populations of phytopathogenic fungus *Cryphonectria parasitica*. *Environmental microbiology* (2019).
- 108 Robin, C., Anziani, C. & Cortesi, P. Relationship between biological control, incidence of hypovirulence, and diversity of vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* in France. *Phytopathology* **90**, 730-737 (2000).
- 109 Živković, R. *Hipovirulentni izolati gljive Cryphonectria parasitica (Murr.) Barr pogodni za biološku kontrolu raka kore pitomog kestena (Castanea sativa Mill.)*, University of Osijek. Department of biology., (2012).
- 110 Diamandis, S., Perlerou, C., Tziros, G. T., Christopoulos, V. & Topalidou, E. Establishment and dissemination of hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica* in Greece. *Forest Pathology* **45**, 408-414, doi:doi:10.1111/efp.12188 (2015).
- 111 Kovács, G., Bodnár, D. & Radócz, L. Dissemination of *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr fungus, and the possibilities of protection of a chestnut orchard in Romania.
- 112 Stauder, C. M. *et al.* Enhanced hypovirus transmission by engineered super donor strains of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*, into a natural population of strains exhibiting diverse vegetative compatibility genotypes. *Virology* **528**, 1-6 (2019).
- 113 Sotirovski, K., Milgroom, M. G., Rigling, D. & Heiniger, U. Occurrence of *Cryphonectria hypovirus 1* in the chestnut blight fungus in Macedonia. *Forest Pathology* **36**, 136-143, doi:10.1111/j.1439-0329.2006.00443.x (2006).
- 114 Sotirovski, K., Rigling, D., Heiniger, U. & Milgroom, M. G. Variation in virulence of *Cryphonectria hypovirus 1* in Macedonia. *Forest Pathology* **41**, 59-65, doi:10.1111/j.1439-0329.2009.00637.x (2011).
- 115 Сотировски, К., Ристески, М. & Среброва, К. Заштита на костеновите шуми од рак на костенот. 26 (Министерство за земјоделство, шумарство и водостопанство, Скопје, 2019).
- 116 Conedera, M. *et al.* How future-proof is Sweet chestnut (*Castanea sativa*) in a global change context? *Forest Ecology and Management* **494**, 119320 (2021).

- 117 Gomes-Laranjo, J. *et al.* Characterization of chestnut behavior with photosynthetic traits. *Applied photosynthesis* **3**, 47-80 (2012).
- 118 Trajkov, P. *et al.* Coppice forest management planning and the regeneration potential of pure and mixed oak coppice forests in North Macedonia. *South-east European forestry: SEEFOR* **10**, 165-172 (2019).
- 119 Evans, J. Coppice forestry—an overview. *Ecology and management of coppice woodlands*, 18-27 (1992).
- 120 Mattioli, W., Mancini, L. D., Portoghesi, L. & Corona, P. Biodiversity conservation and forest management: The case of the sweet chestnut coppice stands in Central Italy. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* **150**, 592-600 (2016).
- 121 Bütler, R., Lachat, T., Larrieu, L. & Paillet, Y. 2.1 Habitat trees: key elements for forest biodiversity. *Integrative approaches as an opportunity for the conservation of forest biodiversity* **84** (2013).
- 122 Ertürk, Ü., Mert, C. & Soylu, A. Chemical composition of fruits of some important chestnut cultivars. *Brazilian archives of biology and technology* **49**, 183-188 (2006).



Овој извештај е изработен во рамките на проектот „Поддршка на одржливото управување со Споменикот на природата „Вевчански извори“ “ спроведуван од Еко-свест. Проектот е финансиски поддржан од Prespa Ohrid Nature Trust (PONT).



Поддршката на PONT за изработка на оваа публикација не претставува и одобрување на содржината која ги одразува ставовите на авторите. PONT не може да биде одговорен за било каква употреба на информациите кои ги има во публикацијата.