LATVIJAS VALSTS KOKSNES ĶĪMIJAS INSTITŪTS
LATVIJAS UNIVERSITĀTE

Ilze Irbe
Bioloģijas studiju programmas doktorante

KOKSNES BRŪNĀ TRUPE: BAZĪDIJSĒNES UN TO DESTRUKTĪVĀ IEDARBĪBA UZ LIGNOCELULOZI

Promocijas darbs

Promocijas darbs ir veikts ar Eiropas Sociālā Fonda daļēju atbalstu

Zinātniskie vadītāji:
Dr.ķīm., vadošais pētnieks
B. ANDERSONS
Dr.habil.biol., profesors
I. MUIŽNIEKS

Rīga 2008

Promocijas darbs ir izstrādāts Latvijas Valsts Koksnes ķīmijas institūta Koksnes bionoārdīšanās un aizsardzības laboratorijā.

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr.ķīm., vadošais pētnieks
B. ANDERSONS

Dr.habil.biol., profesors
I. MUIŽNIEKS

Iesniegts aizstāvēšanai Latvijas Universitātes Promocijas padomē bioloģijā
2008. gada jūnijā

PATEICĪBAS

Vēlos izteikt visdziļāko pateicību darba vadītājiem, Dr. Bruno Andersonam un Dr. habil. Indriķim Muižniekam, par nesavtīgu palīdzību un ieinteresētību šī darba tapšanā. Īpašs paldies I. Muižniekam par neatlaidīgām pūlēm darba kvalitātes uzlabošanā. Paldies KĶI Koksnes bionoārdīšanās un aizsardzības laboratorijas kolēģiem par sadarbību, bet īpaši gribu pateikties kolēģei Dr. Ingeborgai Andersonei par nemitīgiem atgādinājumiem uzrakstīt šo darbu, vērtīgām diskusijām un padomiem tā tapšanas gaitā.

Paldies Dabas muzeja mikoloģēm Diānai Meierei un Initai Danielei par ekspedīciju organizēšanu uz Latvijas sēņu atradnēm, kā arī informāciju un padomiem par trupes sēņu izplatību Latvijā. Pateicība LU asoc. prof., Dr. Edgaram Vimbam par līdzdalību *sēņu ekspedīcijās*, lietderīgām diskusijām un sniegto informāciju par Latvijas makroskopiskajām sēnēm.

Ļoti pateicos Sv. Kirila un Metodija Universitātes (Skopje, Maķedonija) asoc. prof., Dr. Mitko Karadeļevam par piedalīšanos Latvijas *sēņu ekspedīcijās* un kultūras objektu apsekošanās, kā arī palīdzību un padomiem sēņu identificēšanā. Nenovērtējama ir Dr. M. Karadeļeva atsaucība un atbalsts kultūras pieminekļu apsekošanas darbu organizēšanā Maķedonijas Republikā.

Paldies igauņu kolēģiem - Dr. Raivo Tēāram no Ķīmiskās fizikas un biofizikas institūta par ^{13}C KMR spektru sagatavošanu un līdzdalību rezultātu interpretācijā, un Tallinas Tehniskās universitātes prof., Dr. habil. Urvei Kallavus par ievešanu skenējošās elektronu mikroskopijas pasaulē un tās sniegto iespēju izmantošanu bioloģiski noārdītas koksnes pētījumos.

Pateicība Vācijas Federālā mežsaimniecības un koksnes pētījumu centra (BFH, Hamburga) kolēģiem Dr. Gunai Noldt un Dr. Geraldam Koham par palīdzību UMSP metodes apguvē, noderīgām diskusijām un padomiem, kā arī prof., Dr. Oskaram Fejam par UMSP rezultātu interpetāciju.

Finansiālu atbalstu daļai no darbā veiktajiem pētījumiem nodrošināja ES INTEGR projekts „Latvijas Valsts Koksnes ķīmijas institūta integrācija Eiropas pētnieciskajā vidē" (WOODPRO, QLAM-2001-00360) un Eiropas Sociālais Fonds.

Ilze Irbe

Rīgā, 07.05.2008

ANOTĀCIJA

Promocijas darbā **„Koksnes brūnā trupe: bazīdijsēnes un to destruktīvā iedarbība uz lignocelulozi”** pētīta koksnes trupes sēņu izplatība un daudzveidība Latvijas mežu biotopos, kā arī Latvijas un Maķedonijas celtniecības koksnē. Laboratorijas apstākļos ar ķīmiskām un fizikālām metodēm pētīts brūnās trupes sēņu izraisītās koksnes degradācijas mehānisms, lai, pamatojoties uz ķīmisko komponentu un struktūras izmaiņām, raksturotu šī procesa dinamiku.

Latvijas mežu biotopos atrastas 144 koksnes trupes sēņu sugas (*Basidiomycota*). No tām 14 sugas ir retas, bet 22 trupes sēnes Latvijā ir reģistrētas pirmo reizi. Vislielākais sēņu skaits un pirmo reizi reģistrēto sugu skaits tika atrasts dabas liegumu teritorijās. 16% no reģistrēto sugu skaita pieder brūnās trupes sēnēm, pārējās (84%) - baltās trupes sēnēm. Latvijas celtniecības koksnē pēc izplatības biežuma izteikti dominēja brūnās trupes sēnes (86% gadījumu), bet Maķedonijas kultūrvēstures pieminekļos - baltās trupes sēnes (84% gadījumu), kas saistāms ar skujkoku materiālu tradicionālu izmantošanu Latvijas celtnēs, un lapkoku izmantošanu Maķedonijas celtnēs. Visbiežāk sastopamā brūnās trupes sēne Latvijas celtniecības koksnē ir *Serpula lacrymans*, kas konstatēta 56% gadījumu, kamēr Maķedonijas celtnēs šī sēne līdz šim nav atrasta. *S. lacrymans* dabā nav konstatēta ne Latvijā, ne Maķedonijā.

Mūsu eksperimentos izmantoto koksnes paraugu degradācijas mehānisma izpēte deva iespēju raksturot un nodalīt trīs posmus koksnes brūnās trupes procesā: agrīnā, pamatstadija un noslēguma stadija. Agrīnā stadija (6-10 dienas) ir kritiskais posms, kurā traheīdu lumeni ir inficēti ar sēnes hifām, notiek lignīna oksidatīva modifikācija un relatīvās koncentrācijas pieaugums uz polisaharīdu sašķelšanas rēķina, celulozes polimerizācijas pakāpes strauja samazināšanās, hemiceluložu glikomannānu noārdīšana, bet masas zudumi vēl nav novērojami. Pamatstadijā (20 - 90 dienas) notiek modificētā lignīna repolimerizācija, jaunu mikroporu veidošanās, hemiceluložu acetātgrupu noārdīšana, polisaharīdu degradācijas produktu patēriņš, ko raksturo pieaugoši koksnes masas zudumi. Noslēguma stadiju (> 90 dienas) raksturo koksnes šūnas sekundārās sienas plaša degradācija ar lieliem masas zudumiem. Degradācijas agrīnajā stadijā uz koksnes šūnu, acīmredzot, vispirms iedarbojas sēņu veidotie ekstracelulārie reaktīvie skābekļa savienojumi (RSS), bet vēlāk, pamata un noslēguma stadijās, notiek enzimātiska koksnes šūnas noārdīšana.

Bojātu koksnes šūnu ķīmisko un fizikālo analīžu rezultāti atklāja atšķirības starp brūnās trupes sēnēm, kas acīmredzot saistāmas ar sēņu celulolītisko un/ vai ligninolītisko sistēmu īpatnībām un to iedarbību uz koksnes šūnas komponentiem.

Pētījuma rezultāti ir praktiski izmantojami koksnes aizsardzībā, parādot, ka nepieciešams atrast veidu, kā inhibēt sēņu izdalītos RSS, piemēram, paaugstinot koksnes pH, vai izmantojot

savienojumus ar antioksidantu īpašībām, vai kavējot RSS reakcijas ar koksnē esošajiem dzelzs joniem.

Darba rezultāti izmantoti degradācijas procesu izpētes metožu izstrādei un jaunu koksnes aizsardzības līdzekļu efektivitātes pārbaudei.

Darbs ir uzrakstīts latviešu valodā. Darba 120 lappušu apjomu veido: ievads, literatūras apskats, kopsavilkums, darba mērķis un uzdevumi, eksperimentālā daļa, rezultāti un diskusija, secinājumi, aizstāvāmās tēzes, literatūras saraksts un pielikums. Darbā ir iekļauti 43 attēli, 12 tabulas un 123 literatūras avoti.

Darbs izstrādāts no 1998. līdz 2008. gadam Latvijas Valsts Koksnes ķīmijas institūtā sadarbībā ar Latvijas Universitāti, Latvijas Dabas muzeju, Maķedonijas Sv. Kirila un Metodija Universitāti, Igaunijas Ķīmiskās fizikas un biofizikas institūtu, Tallinas Tehnisko universitāti un Vācijas Federālo mežsaimniecības un koksnes pētījumu centru.

Par rezultātiem publicēti 7 raksti, 5 populārzinātniskie raksti, un ziņots 21 starptautiskā konferencē, kur publicētas 19 referātu tēzes un 3 pilnie raksti.

ANNOTATION

In the Doctoral theses **"Wood Brown-Rot: Basidiomycetes and their Destructive Action on Lignocellulose"**, the prevalence and diversity of wood-rot fungi in Latvian forest biotopes as well as Latvian and Macedonian construction wood was investigated. In laboratory conditions, applying chemical and physical methods, the wood degradation mechanism caused by brown-rot fungi was investigated so that, based on the changes in the chemical components and structure, to characterise the dynamics of this process.

In Latvian forest biotopes, 144 species of wood-rot fungi (*Basidiomycota*) were found. From them, 14 species are rare, while 22 species are registered for the first time in Latvia. The greatest number of fungi and the number of the species registered for the first time are found in the territories of natural restricted areas. 16% of the registered species pertains to brown-rot fungi, while the rest of them (84%) belong to white-rot fungi. In Latvian construction wood, in terms of prevalence, brown-rot fungi dominate markedly (86% cases), while, in Macedonian cultural monuments, white-rot fungi prevail (84% cases), which is connected with the traditional use of coniferous wood materials in Latvian buildings and the use of deciduous wood in Macedonian buildings. The most commonly occurring brown-rot fungus in Latvian construction wood is *Serpula lacrymans*, which is found in 56% cases, while this fungus has not yet been found in Macedonian buildings. In nature, *S. lacrymans* is found neither in Latvia nor in Macedonia.

The study of the mechanism of degradation of the wood samples used in our experiments made it possible to characterise and separate three stages in the wood brown-rot process: early stage, basic stage and final stage. The early stage (6-10 days) is a critical one, in which tracheid lumens are infected with fungal hyphae, lignin oxidative modification, and the relative increase in concentration at the expense of polysaccharides cleavage, a dramatic decrease in the cellulose polymerisation degree, and the degradation of hemicellulose glucomannanes occur, while mass losses are not yet observed. At the basic stage (20-90 days) repolymerisation of the modified lignin, formation of new micropores, degradation of hemicellulose acetate groups, and consumption of polysaccharide degradation products occur, which is characterised by the increasing wood mass losses. The final stage (> 90 days) is characterised by the extensive degradation of the wood cell secondary wall with great mass losses. At the early stage of degradation, the wood cells are obviously firstly influenced by the reactive oxygen species (ROS) that are formed by the fungi, while later, at the basic and final stages, enzymatic degradation of wood cells occurs.

The results of the chemical and physical analysis of the damaged wood cells have revealed distinctions among the brown-rot fungi, which is obviously connected with the peculiarities of the cellulolytic and/or ligninolytic systems and their action on wood cell components.

The results of the studies are practically applicable in wood protection, indicating that it is necessary to find a way to inhibit the ROS released by the fungi, for example, by increasing the wood pH or using compounds with antioxidant properties or hampering the ROS reactions with the iron ions present in wood.

The results of the work are used to develop methods for investigating degradation processes and testing of efficiency of new wood preservatives.

The work is written in Latvian. The 120 page volume of the work is comprised by the introduction, literature survey, summary, the work's objective and tasks, experimental, results and discussion, conclusions, defended theses, references and annex. The work includes 43 figures, 12 tables and 123 references.

The work has been developed from 1998 to 2008 at the Latvian State Institute of Wood Chemistry in cooperation with the University of Latvia, the Latvian Museum of Nature, Macedonian St. Cyril and Methodius University, Estonian Institute of Chemical Physics and Biophysics, Tallinn Technical University and the German Federal Research Centre for Forestry and Forest Products.

The results are summarised in 7 papers, 5 popular-science articles, and presented at 21 international conference, in which 19 abstracts and 3 proceedings are published.

APZĪMĒJUMI

α - hidrofīlo centru virsmas koncentrācija (grupas/nm^2)

2,5-DMBQ - 2,5-dimetoksi-1,4-benzohinons

4,5-DMBQ - 4,5-dimetoksi-1,2-benzohinons

Å – angstrēms (10 Å = 1 nm)

A - pieejamā specifiskā virsma (m^2/g)

A_{280} – absorbcija pie 280 nm viļņa garuma

a_m - hidrofīlo centru masas koncentrācija (mMol/g)

CBH – celobiohidrolāze

CC- koksnes šūnas stūri

CDH – celobiozes dehidrogenāze

D - poru diametrs (nm)

EG – endoglikanāze

ESR - elektronu spinu rezonanse

Fentona reakcija - $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\cdot} + HO^{-}$

GM – gaismas mikroskopija

JAH – jonapmaiņas hromatogrāfija

ĶA – ķīmiskā analīze

kD – kilodaltons (10^3 D)

KMR – kodolmagnētiskā rezonanse

Mr - molekulmasa

NADH –nikotīnamīda adenīna dinukleotīds, reducētā forma

PP – polimerizācijas pakāpe

RSS – reaktīvi skābekļa savienojumi

S1, S2, S3 – sekundārās sienas slāņi

SEM – skenējošā elektronu mikroskopija

TEM - transmisijas elektronu mikroskopija

UMSP – ultravioletā mikrospektrofotometrija

ŪTS – ūdens tvaiku sorbcija

VL – viduslamella

W - sorbcijas tilpums (cm^3/g)

W_{abs} – absolūtais mitrums

SATURA RĀDĪTĀJS

ANOTĀCIJA 4
ANNOTATION 6
APZĪMĒJUMI 8
SATURA RĀDĪTĀJS 9
IEVADS 11
1. LITERATŪRAS APSKATS 13
1.1. Koksnes trupes sēnes 13
1.1.1. Trupes sēņu grupas un to pārstāvji 13
1.1.2. Brūnās trupes sēnes mežu ekosistēmās 14
1.1.3. Brūnās trupes sēnes celtniecības koksnē 15
1.1.4. Trupes sēņu augšanas nosacījumi 15
1.2. Koksne 16
1.2.1. Koksnes struktūra 16
1.2.2. Koksnes traheīdas šūnas ultrastruktūra 18
1.2.3. Koksnes šūnu ķīmiskie komponenti 19
1.2.3.1. Celuloze 19
1.2.3.2. Hemicelulozes 20
1.2.3.3. Lignīns 21
1.3. Koksnes komponentu noārdīšana - brūnā trupe 23
1.3.1. Neenzimātiskie mehānismi 23
1.3.1.1. Zemmolekulāru savienojumu loma 23
1.3.1.2. Fentona reakcija (H_2O_2/Fe^{2+}) 24
1.3.1.3. Glikopeptīda mehānisms 25
1.3.1.4. Celobiozes dehidrogenāzes mehānisms 25
1.3.1.5. Oksālskābes loma 26
1.3.1.6. Bioloģiskie helatori un pārejas metāli 27
1.3.1.7. Fe (II) un H_2O_2 avoti – apkopojums 28
1.3.2. Enzimātiskie mehānismi 29
1.3.2.1. Celulozes noārdīšana 29
1.3.2.2. Hemiceluložu noārdīšana 30
1.3.2.3. Lignīna noārdīšana 31
Kopsavilkums 32
2. DARBA MĒRĶIS UN UZDEVUMI 33
3. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA 34
3.1. MATERIĀLI 34
3.1.1. Koksnes trupes sēņu atradnes Latvijas mežu ekosistēmās 34
3.1.2. Trupes sēnes celtniecības objektos 35
3.1.2.1. Trupes sēnes Latvijas celtnēs 36
3.1.2.2. Trupes sēnes Maķedonijas celtnēs 36
3.1.3. Trupes sēņu tīrkultūras 38
3.1.4. Koksnes paraugi 38
3.1.5. Ķīmiskie reaģenti 39
3.2. METODES 39
3.2.1. Objektu apsekošana un sēņu identificēšana 39
3.2.2. Koksnes noārdīšanas testi 40
3.2.3. Gaismas mikroskopija (GM) 41
3.2.4. Skenējošā UV mikrospektrofotometrija (UMSP) 42
3.2.5. Celulozes PP izmaiņu noteikšana ar kadoksēna šķīdumu 43
3.2.6. Ūdens tvaiku sorbcija (ŪTS) 43

3.2.7. Skenējošā elektronu mikroskopija (SEM) 45
3.2.8. ^{13}C Kodolmagnētiskās rezonanses spektroskopija (KMR) 46
3.2.9. Celulozes un lignīna satura ķīmiskā analīze koksnē 46
3.2.10. Jonapmaiņas hromatogrāfija (JAH) 48
3.2.11. Koksnes biodegradācijas izpētes metodes dažādos procesa posmos 49
4. REZULTĀTI UN DISKUSIJA 51
4.1. Koksnes trupes sēnes mežos un koka konstrukcijās 51
4.1.1. Koksnes trupes sēnes Latvijas mežu ekosistēmās 51
4.1.2. Koksnes trupes sēnes celtniecības koksnē Latvijā 58
4.1.3. Koksnes trupes sēnes Maķedonijas kultūras pieminekļos 61
4.1.4. Apsekošanas datu apkopojums Latvijas un Maķedonijas celtnēs 64
4.2. Koksnes degradācijas mehānisma pētījumi 67
4.2.1. Sēņu hifu invāzija koksnes šūnās (GM) 67
4.2.2. Koksnes struktūras un ķīmiskās izmaiņas degradācijas laikā 68
4.2.2.1. Lignīna kvalitatīvās izmaiņas (UMSP) 68
a. Punktu mērījumi 68
b. Lignīna lokalizācija skenētos šūnas virsmas profilos 73
4.2.2.2. Celulozes polimerizācijas pakāpes izmaiņas 75
4.2.2.3. Izmaiņas koksnes mikrostruktūrā (ŪTS) 76
4.2.2.4. Izmaiņas koksnes mikromorfoloģijā (SEM) 81
4.2.3. Koksnes komponentu izmaiņas degradācijas laikā 83
4.2.3.1. Hemiceluložu zudumi (^{13}C KMR) 83
4.2.3.2. Celulozes un lignīna zudumi (ķīmiskās analīzes; JAH) 89
a. Komponentu satura izmaiņas (50 dienu laikā) 89
b. Komponentu zudumi [%] (50 dienu laikā) 91
c. Koksnes komponentu zudumi četru mēnešu degradācijas laikā (JAH) 95
4.3. Koksnes degradācijas procesa raksturojums 98
5. SECINĀJUMI 101
6. AIZSTĀVĀMĀS TĒZES 103
7. LITERATŪRAS SARAKSTS 104
PIELIKUMS 114

IEVADS

Koksni inficē dažādi mikroorganismi, tai skaitā baktērijas, pelējuma un zilējuma sēnes, kā arī koksnes trupes sēnes (brūnā, baltā un mīkstā trupe). Koksnes noārdīšanās īpatnības nosaka iesaistīto mikroorganismu īpašības, koksnes substrāta specifika, kā arī mikroorganismu, koksnes un vides faktoru savstarpējā mijiedarbība.

Koksnes bioloģiskā noārdīšana ir svarīgs posms organisko vielu aprites procesā, kas var notikt gan uz zemes, gan ūdenī. Dabā koksni ātri inficē dažādi mikroorganismi, kas izraisa bionoārdīšanu, t.i., koksnes struktūras komponentu (polisaharīdu un lignīna) sašķelšanu līdz CO_2 un ūdenim. Ja šis process notiek cilvēka veidotās koksnes konstrukcijās, tam ir negatīva nozīme. Koksni noārdošās sēnes, baktērijas un kukaiņi katru gadu izraisa konstrukciju bojājumus miljardiem dolāru vērtībā, kas tiek iztērēti bojāto struktūru remontam un aizvietošanai (Goodell et al., 2003). Ir novērtēts, ka minētie organismi noārda vienu desmito daļu no gadā saražotās koksnes produkcijas. Koksnes noārdīšana mežā ir nepieciešama ekosistēmas normālai funkcionēšanai, bet šis pats process būvkonstrukciju koksnei ir ļoti nevēlams. Diemžēl dzīvie organismi neatšķir koksnes paliekas mežā no vērtīgās celtniecības koksnes, kuru mēs ilgstoši gribam redzēt bioloģisko bojājumu neskartu.

Attīstoties būvniecībai, cilvēks cenšas aizkavēt koksnes bioloģisko degradāciju. To var panākt ar inženiertehniskiem pasākumiem, dabiski ilgizturīgas koksnes izmantošanu, bet galvenokārt ķīmiski modificējot koksni vai aizsargājot to ar ķīmiskiem preparātiem. Ja mūsu priekšteči maz raizējās par ēku ilgmūžību, jo koksne bija viegli pieejama un atjaunot ēkas nebija grūti, tad mūsdienās tās vērtība ir krietni augusi. Kokmateriāli ir grūtāk pieejami, pieaug gan pieprasījums pēc tiem, gan transportēšanas un apstrādes izmaksas. Koksnes maksimāli efektīva izmantošana ir svarīga gan vides ilgtspējas, gan saimniekošanas ekonomiskās efektivitātes nodrošināšanai kā individuālo lietotāju vidū, tā valsts līmenī.

Koksne ir Latvijas dabas bagātība, kas veido nozīmīgu valsts eksporta daļu. Piemēram, 2006. gadā koksne un tās izstrādājumi veidoja 22,6% no Latvijas eksporta kopapjoma naudas izteiksmē (Latvijas statistika, http://www.csb.gov.lv/csp/). Atšķirībā no daudzām Eiropas valstīm, kurās industrializācija neatgriezeniski samazinājusi mežu resursus, Latvijā meži joprojām aizņem apmēram 50% kopplatības. Lai šos resursus saglabātu, lielāku vērību nepieciešams veltīt saudzējošai mežsaimniecībai un racionālai koksnes izmantošanai, tai skaitā būvniecībā lietotās koksnes kalpošanas laika pagarināšanai, aizkavējot mikroorganismu izraisīto bionoārdīšanos.

Lignocelulozes, koksnes nozīmīgākās sastāvdaļas, bioloģiskās noārdīšanas process tiek intensīvi pētīts, jo izpratne par šo norišu bioķīmisko un mikrobioloģisko mehānismu ir

nepieciešama gan koksnes aizsardzības metožu izstrādei, gan destruktīvo procesu izmantošanai biotehnoloģiskiem mērķiem (Paszczynski and Crawford, 1995). Pēdējos gados koksnes bionoārdīšanas procesus sāk plaši izmantot biotehnoloģijā. Piemēram, sēņu veidotās oksidatīvās sistēmas tiek izmantotas bioloģiskajā papīrmasas balināšanas procesā (Goodell et al., 2003), mikroorganismu enzīmi tiek lietoti gan notekūdeņu attīrīšanā, gan biodegvielas ražošanā (Lin and Tanaka, 2006). Koksni noārdošie organismi rada nopietnas ekonomiskas problēmas, bet tie palīdz arī citu problēmu risināšanā. Šo organismu darbības bioķīmisko, molekulāro un celulāro iedarbības mehānismu izpratne ir nepieciešama, lai ierobežotu to nevēlamo darbību un optimizētu pozitīvo īpašību izmantošanu.

Brūnās trupes sēnēm ir svarīga loma biomasas pārstrādē un augsnes auglības palielināšanā mežu ekosistēmās. Trupējušas koksnes atliekas mežu augsnēs ir augstas mikrobiālās aktivitātes zonas, kā arī barības vielu un mitruma krātuves (Gilbertson, 1981). Tajā pašā laikā brūnās trupes sēnes pārstāv vienu no ekonomiski svarīgākajām koksnes noārdītāju mikroorganismu grupām. Ir novērtēts, ka 80% celtniecības koksnes bojājumu izraisa tieši brūnās trupes sēnes (Green and Highley, 1995; Irbe, 2001).

Brūnās trupes sēnes noārda koksnes ogļūdeņus (holocelulozi), bet lignīnu modificē vai noārda tikai ierobežoti (Jin et al., 1990). Neskatoties uz ilgstošām pētnieku pūlēm, brūnās trupes destruktīvās iedarbības mehānismi uz koksni joprojām ir neskaidri, nav atklāti bioķīmiskie mērķi, kurus inhibēt, lai apturētu noārdīšanos. Literatūrā par brūno trupi minēti daudzi uzskati, kas vairāk balstīti uz pieņēmumiem, nevis faktiem. Daži uzskati pamatojas uz konkrētu brūnās trupes sēņu sugu pētījumiem. Tomēr brūnās trupes sēnes nav vienveidīgas, katrai no tām var būt atšķirīgas koksnes noārdīšanas bioķīmiskā mehānisma īpatnības (Green and Highley, 1995). Šajā darbā apskatīti vairāki brūnās trupes sēņu izplatības un koksnes noārdīšanas aspekti. Ir apsekotas vairāku tipisku Latvijas mežu ekosistēmu atradnes, kurās ievākts un identificēts sēņu materiāls. Sēņu daudzveidības apzināšanai, identificētas gan brūnās, gan baltās trupes sēnes. Apsekotas arī Latvijas celtnes - gan privātas, gan valsts kultūras pieminekļi, lai apzinātu tajās koksnes trupes sēņu izplatību un daudzveidību. Salīdzinātas mežu ekosistēmās un celtniecības koksnē sastopamās sēnes, kā arī Latvijas celtniecības koksnē un Maķedonijas Republikas kultūras pieminekļos sastopamās sēnes, kas raksturo gan klimatisko apstākļu, gan inženiertehnisko risinājumu, gan koksnes īpatnību ietekmi uz bionoārdīšanas procesiem. Visbeidzot, darbā veiktas brūnās trupes sēņu bojātas koksnes analīzes ar ķīmiskām un fizikālām metodēm, ar mērķi noskaidrot celtniecības koksnes bīstamāko noārdītāju iedarbību uz koksnes sastāva komponentiem un struktūru. Bionoārdīšanās procesa labāka izpratne dos jaunas iespējas koksnes aizsardzībai un sēņu bioķīmisko kompleksu izmantošanai biotehnoloģijā.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Koksnes trupes sēnes

Vairums koksnes trupes sēņu pieder bazīdijsēņu nodalījumam. Tās noārda sarežģītus koksnes polimērus līdz vienkāršiem produktiem, kurus asimilē sēņu hifas. Koksnes noārdīšanas rezultātā novērojami masas un stiprības zudumi.

Tipisks trupēšanas cikls sākas ar koksnes substrāta inficēšanu - sēnes hifas iespiežas un izplatās koksnē, izraisot šūnu bojājumus. Piemērotos apstākļos micēlijs attīstās, veidojot dažādu formu augļķermeņus. Augļķermeņu parādīšanās parasti liecina par progresējušu koksnes trupi. Sēnes tālāku izplatību nodrošina tūkstošiem mikroskopisku sporu, kuras veidojas augļķermeņos, kur nobriestot, tiek atbrīvotas un izplatītas gaisā. Piemērotos vides apstākļos sporas dīgst, tā nodrošinot infekcijas izplatīšanos. Otrs izplatīšanās veids ir micēlija auklu vai rizomorfu veidošanās, ar kurām sēnes inficē veselu koksni (Singh, 1994).

1.1.1. Trupes sēņu grupas un to pārstāvji

Koksnes trupes sēnes iedala trīs galvenajās grupās: brūnās, baltās un mīkstās trupes sēnes.

Brūnās (jeb destruktīvās) trupes sēnes izraisa koksnes bojājumus, kas ietver koksnes polisaharīdu - hemiceluložu un celulozes noārdīšanu līdz ūdenī šķīstošiem cukuriem (glikozei). Brūnai trupei raksturīga ātra celulozes depolimerizācija ar sekojošu koksnes stiprības samazināšanos. Ar koksnes stiprību saprot materiāla pretošanās spēju sagraušanai – jo lielāka pretošanās, jo stiprāks materiāls. Viens no pretestības noteikšanas veidiem ir maksimālās slodzes mērīšana, ko materiāls iztur pirms sabrukšanas. Lignīns parasti netiek noārdīts, bet tikai modificēts. Koksnes atlikums pēc ārējā izskata ir brūna, lūstoša lignīna masa ar raksturīgu kubveida struktūru, kuru veido garen- un šķērsvirziena plaisas. Brūnā trupe ir raksturīga skuju kokiem. Šo trupes veidu izraisa bazīdijsēnes, piemēram, īstā mājassēne (*Serpula lacrymans*), brūnā pagrabsēne (*Coniophora puteana)*, antrodijas (*Antrodia* spp.) un sētaspiepes (*Gloeophyllum* spp.*)* (Schmidt, 2006).

Baltās (jeb korozās) trupes sēnes izraisa koksnes bojājumus, kas ietver lignīna un polisaharīdu noārdīšanu. Izšķir divus baltās trupes veidus: *vienlaicīgo*, kad koksnes komponenti, lignīns un polisaharīdi, tiek noārdīti vienlaicīgi, un *selektīvo*, kad lignīns un hemicelulozes tiek noārdīti vispirms, bet celulozes depolimerizācija notiek ierobežoti. Vizuāli koksnes atlikums ir balta, šķiedraina celulozes masa. Baltā trupe ir raksturīga lapu kokiem. Šo trupi izraisa bazīdijsēnes,

piemēram, kortīcijas (*Corticiaceae*), raibā tauriņpiepe (*Trametes versicolor)*, īstā posaspiepe (*Fomes fomentarius*) un cietpiepes (*Phellinus* spp.) (Schmidt, 2006).

Mīkstās trupes sēnes noārdīta celulozi un hemicelulozes, bet lignīns tiek noārdīts ierobežoti. Izšķir divus mīkstās trupes veidus: *dobumu* veidošanu koksnes šūnu sienās un koksnes šūnu *eroziju.* Mīkstās trupes sēņu bojāta koksne kļūst pelēcīga un mīksta. Šī trupe ir raksturīga ārējo konstrukciju koksnei īpaši mitros apstākļos, piemēram, dzelzceļa gulšņu, žogu mietu, kuģu un laivu koksnei. Ēkās mīkstās trupes sēnes bojā, piemēram, logu rāmjus, kur no ārpuses trupe veidojas lietus ietekmē, bet no iekšpuses - ūdens kondensācijas rezultātā. Bojājumi ir raksturīgi gan skuju, gan lapu koksnei. Mīksto trupi izraisa askusēnes un nepilnīgi pazīstamās sēnes (*fungi imperfecti*), piemēram, *Chaetomium globosum* un *Phialophora* sugas (Goodell et al., 2003).

1.1.2. Brūnās trupes sēnes mežu ekosistēmās

Tikai maza daļa no zināmajām trupes sēnēm izraisa brūno trupi. Eiropā brūnās trupes sēņu sugas sastāda 22%, bet Ziemeļamerikā 18% no kopējā trupes sēņu sugu skaita. Vairums brūnās trupes izraisītāju (>60%) pieder piepju sēnēm. Pārējās sugas pieder citām dzimtām, kuras filoģenētiski nav tuvas piepēm. Brūnās trupes sēnes galvenokārt inficē skuju kokus. Pamatā dati par brūnās trupes sēņu ģeogrāfisko izplatību pasaulē liecina, ka brūnās trupes piepes primāri ir sastopamas skuju koku mežu ekosistēmās (Ryvarden, 1991).

Salīdzinot ar citām Eiropas valstīm, dati par bazīdijsēņu, tai skaitā par trupes sēņu, izplatību Latvijā ir nepilnīgi. Šobrīd pavisam ir reģistrētas aptuveni 1360 bazīdijsēņu sugas (Latvijas Dabas enciklopēdija, 1994 – 1998). Lielāko ieguldījumu Latvijas mikofloras pētīšanā ir devuši vairāki autori, piemēram, Amoliņš (1992) par bērzlapēm, Vimba (1996; 1997) un Meiere (2002) par piepēm, Daniele un Krastiņa (2002) par cepurīšu sēnēm. Ap 75% Latvijas piepju sugu atrastas uz atmirušiem kokiem (uz stāvošiem nedzīviem stumbriem un kritalām) vai celtniecības koksnē (ēku piepes). Latvijā šobrīd reģistrētas 149 piepju sugas, kas pieder deviņām afiloforu rindas (*Aphyllophorales*) dzimtām: *Tremellaceae, Albatrellaceae, Corticiaceae, Cyphellaceae, Fistulinaceae, Ganodermataceae, Hymenochaetaceae, Polyporaceae, Thelephoraceae* (Meiere, 2002).

1.1.3. Brūnās trupes sēnes celtniecības koksnē

Koksne ir daudzpusīgi izmantojams materiāls celtniecībā. Pēc lokalizācijas un apstākļiem, kādos koksni ekspluatē, to iedala četrās kategorijās: (1) iekšējo konstrukciju koksne, (2) ārējo konstrukciju koksne, (3) koksne zemē un (4) koksne ūdenī.

Brūnās trupes sēnes visbīstamākās ir celtniecības koksnei virs zemes, lai gan bojā arī koksni zemē. Tomēr koksni zemē un ūdenī galvenokārt noārda mīkstās trupes sēnes. Pie iekšējo un ārējo konstrukciju koksnes nopietnām bojātājām pieder *Basidiomycota* nodalījuma sēnes, no kurām nozīmīgākās brūnās trupes izraisītājas ir *Serpula lacrymans*, *Coniophora puteana, Antrodia* spp., *Gloeophyllum* spp., *Lentinus lepideus, Paxillus panuoides* (Rayner and Boddy, 1988; Singh, 1994). *S. lacrymans* jeb īstā mājassēne ir viena no ekonomiski svarīgākajām celtniecības koksnes bojātājām Eiropas mērenajā joslā un dažviet citur pasaulē (Schmidt and Moreth-Kebernik, 1990). Tā spēj ļoti īsā laikā (pāris gados) izplatīties pa visu ēku, nodarot tai vienā gadā zaudējumus ap 20 000 dolāru vērtībā (Bech-Andersen, 1995). Piemēram, ir aprēķināts, ka Anglijā īstās mājassēnes nodarītie postījumi ir 150 miljoni mārciņu gadā (Jennings and Bravery, 1991).

1.1.4. Trupes sēņu augšanas nosacījumi

Sēņu attīstību ietekmē vairāki apkārtējās vides faktori.

Barības vielas, oglekli saturoši savienojumi: polisaharīdi (celuloze un hemicelulozes) kā arī lignīns veido enerģijas un konstruktīvo elementu bāzi metabolismam. Bez tam sēņu augšanai nepieciešams slāpeklis un minerālvielas (sērs, fosfors, kalcijs, magnijs, dzelzs, kālijs, mangāns, varš, cinks), kā arī vitamīns B1 (tiamīns). Tas ir vienīgais būtiskais vitamīns trupes sēņu augšanai (Green and Highley, 1995).

Niecīgais slāpekļa daudzums koksnē (0,03 līdz 0,1%) norāda, ka koksnes trupes sēnēm ir efektīvs slāpekļa metabolisma un atkārtotas izmantošanas mehānisms (Levi et al., 1968).

Dzelzs ir būtisks augšanas, metabolisma un izdzīvošanas elements vairumam šūnu. Aerobā vidē dzelzs Fe (III) ir stabilāka forma nekā Fe (II). Lai gan koksnē pastāv līdzsvars starp oksidēto un reducēto dzelzs formu, reducētās formas, kas nodrošina sēņu augšanu, dabiskā vidē ir ļoti maz. Mikroorganismi veido zemmolekulārus organiskus ligandus (sideroforus vai helatorus), kas efektīvi saista dzelzs jonus transportēšanai šūnā (Goodell et al., 1997). Tā kā dzelzs veicina brūnās trupes bojājumus, tad atsevišķu sēņu celmu nespēja saistīt dzelzi un citu metālu katjonus var nopietni ierobežot koksnes degradāciju (Green and Highley, 1997).

Ūdens ir nepieciešams sporu dīgšanai un hifu augšanai. Sēnes aug pie koksnes mitruma no 30 līdz 120%, taču optimālais mitrums ir 40 - 80% (Schmidt, 2006).

Temperatūra – sēnes aug no 0^{o} - 40^{o}C temperatūrai, bet optimums ir 25^{o} - 32 ^{o}C (Schmidt, 2006).

Vides pH – trupes sēņu augšanu novēro pie pH 2-7, bet optimālais pH ir 5, t.i., tāds pats kā koksnē.

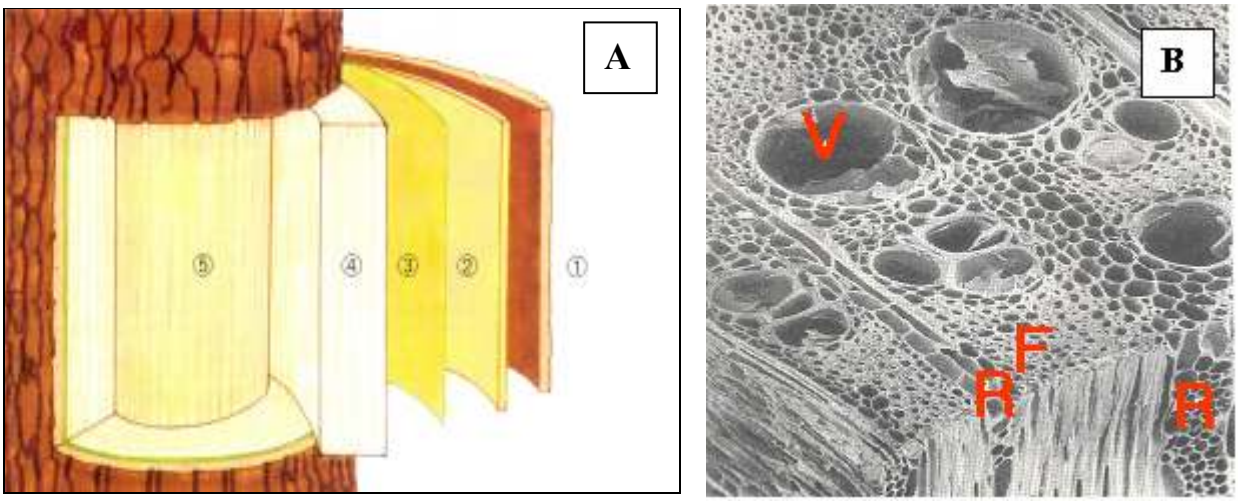
Skābeklis ir viens no vissvarīgākajiem elementiem aerobo organismu dzīvības procesos, kur aktīvā skābekļa formas funkcionē kā starpposmi daudzās bioloģiskās reakcijās (Haliwell and Gutteridge, 1990).

Ja kāda no iepriekš minētajām augšanas prasībām netiek nodrošināta, koksnes noārdīšanās process ir traucēts.

1.2. Koksne

1.2.1. Koksnes struktūra

Koksnes anatomiskā un mikroskopiskā uzbūve dažādām koku sugām atšķiras - skuju kokiem tā ir salīdzinoši vienkāršāka nekā lapu kokiem (1.1. att.).



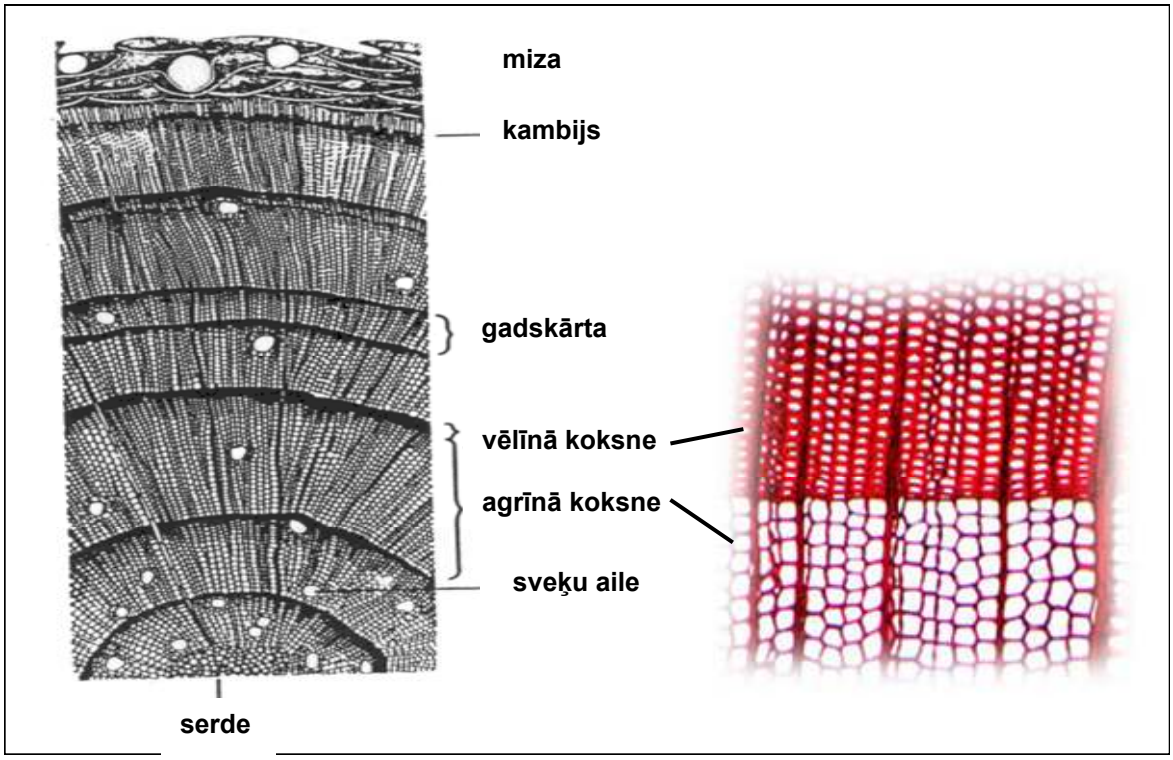
1.1. att. Koksnes uzbūve. (**A)** makroskopiskā uzbūve: 1 – miza, 2 – floēma, 3 – kambijs, 4 - aplieva, 5 – kodols. (**B)** mikroskopiskā uzbūve: lapu koksnes šķērsgriezums, radiālais un tangenciālais griezums; V- trahejas, F – šķiedras, R – serdes stari.

Koka stumbra centrālo daļu veido serdes cilindrs, kas sastāv no serdes un primārās koksnes. Serdi veido irdenas parenhīmas šūnas un tā ir vājākā koka stumbra daļa. Serdei apkļaujas pirmā veģetācijas perioda koksnes elementi, veidojot primāro koksni. Serdes diametrs skuju kokiem ir

aptuveni 3 -5 mm, lapu kokiem - nedaudz lielāks. Serdes stari, kas sastāv no parenhīmas šūnām, kā šauras radiālas līnijas iet virzienā no serdes uz mizu.

Aplieva ir mizai tuvāk novietotā, jaunākā koksnes josla. Tā ir mazāk izturīga pret trupēšanu nekā kodols. Kodols ir centrāli novietotā, vecākā koksnes daļa ar mazāku mitruma saturu. Pirmajos attīstības gados kodols aizņem mazāku tilpumu stumbrā nekā aplieva. Ar laiku kodola tilpums pieaug uz aplievas pārkodološanās rēķina. Kodola dzīvās šūnas pakāpeniski atmirst un tajās uzkrājas miecvielas un kodolvielas, kurām nereti piemīt antiseptiskas īpašības. Kodola koksne kļūst smagāka, gaisa un ūdens necaurlaidīgāka, līdz ar to – vērtīgāka kā kokmateriāls.

Vairumam mērenās klimata joslas koku sugu agrīnā un vēlīnā augšanas periodā veidojas gadskārtu gredzeni jeb gadskārtas (1.2. att.). Agrīnā koksne veidojas kambija darbības sākumā – pavasarī. To veido plānsienu koksnes šūnas gaišā krāsā. Vēlīnā koksne veidojas vasarā un tā sastāv no biezsienu šūnām tumšākā krāsā. Pāreja no agrīnās uz vēlīno koksni var būt pakāpeniska vai strauja, atkarībā no koka sugas un augšanas apstākļiem. Gadskārtas visvieglāk ir redzamas sugām ar izteiktu kontrastu starp vēlīno koksni, kas veidojas vienā gadā un agrīno koksni, kas veidojas nākamajā gadā, kā tas ir lapu kokiem (alksnim, ozolam) un skuju kokiem (priedei). Dažām sugām, piemēram, apsei, atšķirība starp agrīno un vēlīno koksni ir grūti pamanāma, bet tropu sugām, kurām augšana turpinās visu gadu, gadskārtas neveidojas (Miller, 1999).



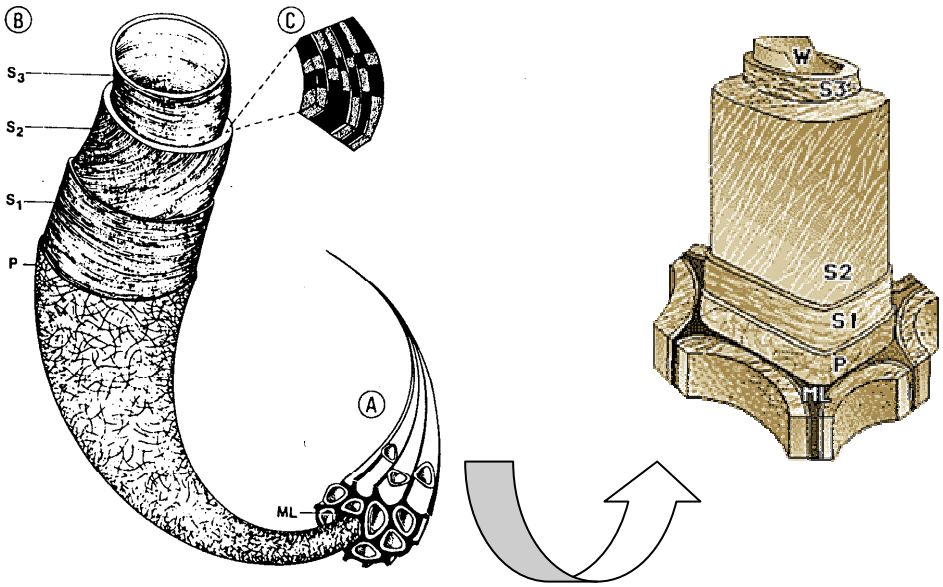
1.2. att. Skuju koka stumbra šķērsgriezums ar izteiktām gadskārtām, kuras veido vēlīnās un agrīnās koksnes šūnas (traheīdas).

Kokiem ar izteiktām gadskārtām, kā tas ir vairumam skujkoku, agrīnā koksne ievērojami atšķiras no vēlīnas koksnes pēc fizikālām īpašībām. Agrīnā koksne ir vieglāka, mīkstāka un mazāk izturīga par vēlīno koksni. Pateicoties vēlīnās koksnes lielākam blīvumam, tās proporciju dažkārt izmanto, lai raksturotu koksnes stiprību (Miller, 1999).

Kokaudu struktūrelementi - koksnes šūnas pēc formas un izmēriem ir ļoti dažādas. Piemēram, koksnes šķiedras jeb traheīdas ir garas, galos smailas šūnas. Traheīdu garums atšķiras starp koku sugām. Lapu koku traheīdas ir vidēji 1 mm garas, kamēr skuju kokiem to garums variē no 3 – 8 mm (Miller, 1999). Traheīdām ir divas galvenās funkcijas – vielu transporta un mehāniskā balsta nodrošinājums. Skuju koku sastāvā ir līdz 95% traheīdu, bet atlikušās ir nelignificētas parenhīmas šūnas, kas atrodas serdes staros, un arī kopā ar epitēlija šūnām ieskauj sveķu ailes. Lapu koku anatomiskā uzbūve ir komplicētāka. Tiem raksturīga lielāka šūnu daudzveidība, piemēram, trahejas (tikai lapu kokiem), šķiedras, parenhīmas šūnas, traheīdas, libriforms, kolenhīma, sietstobri u.c. (Goodell et al., 2003).

1.2.2. Koksnes traheīdas šūnas ultrastruktūra

Šūnas sieniņu veido galvenais struktūras komponents – celuloze un substrukturētie komponenti – hemicelulozes un lignīns. Celulozes kristāliskās un amorfās formas sastopamas visā šūnas sienā. Celulozes molekulas veido mikrofibrillas, bet tās savukārt fibrillas. Koksnes šūnu veido primārā siena un sekundārā siena ar trīs slāņiem – S1, S2, S3 (1.3. att.).



1.3. att. A- traheīdas; B – šūnas sienas slāņi (sekundārā siena – S1, S2, S3, primārā siena – P, viduslamella – ML; W – kārpainais slānis); C – ultrastrukturāls lignīna un ogļūdeņu izvietojums sekundārā sienā (Kerr and Goring, 1975).

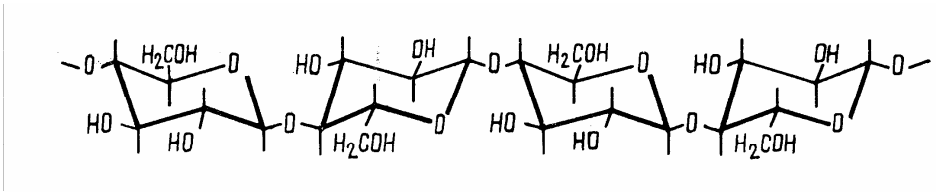
S3 slānis atrodas vistuvāk šūnas dobumam jeb lumenam, S2 ir vidusslānis, bet S1 ir sekundārās sienas ārējais slānis. Slāņi ir atšķirami viens no otra, jo celulozes mikrofibrillas katrā no tiem ir dažādi orientētas ap šūnas asi. Viduslamella un primārā siena veido viduslamellas savienojumu, kas novietots starp blakus esošo šūnu sekundārajām sienām (Eriksson et al.,1990).

1.2.3. Koksnes šūnu ķīmiskie komponenti

Koksnes šūnu lielmolekulārie savienojumi ir celuloze, hemicelulozes un lignīns. Lignīna un hemiceluložu relatīvais saturs un ķīmiskais sastāvs skuju un lapu kokiem ir atšķirīgs, bet celulozes uzbūve ir aptuveni vienāda visām sugām. Lapu koki satur vidēji 40-50% celulozes, 25-35% hemiceluložu un 17-22% lignīna, bet skuju koki, attiecīgi, 40-50% celulozes, 20-25% hemiceluložu un 25-30% lignīna (Fengel and Wegener, 1989; Taharzadeh et al., 1997). Pie polimēriem, kas koksnē ir mazos daudzumos, pieder ciete, pektīnvielas un olbaltumvielas. Mazmolekulārie komponenti – ekstraktvielas (2-5%) un minerālvielas (<1%) koksnē ir sastopami niecīgos daudzumos.
Pēc ķīmisko elementu sastāva koksne ir līdzīga visām koku sugām un vidēji satur 50% oglekļa, 43% skābekļa un 6% ūdeņraža, bet atlikušo daļu veido slāpeklis, kas atrodams olbaltumvielu sastāvā (0,1-0,3%), un pelni (Fengel and Wegener, 1989).

1.2.3.1. Celuloze

Celuloze ir lineārs polimērs ar lielu molekulmasu, kuru veido β-D-glikoze. Glikozes molekulas ir saistītas ar β-(1-4)-glikozīdsaitēm, kas veidojas, atņemot ūdens molekulu C_1 un C_4 hidroksilgrupām. Abos ķēdes galos esošās hidroksilgrupas atšķiras pēc savām īpašībām. OH– grupai pie C_1 atoma piemīt reducējošas īpašības, bet OH– grupai C_4 atoma reducējošu īpašību nav (1.4. att.) (Fengel and Wegener, 1989).



1.4. att. Celulozes stereoķīmiskā formula.

Garu celulozes molekulu stabilitāti koksnē nodrošina OH–funkcionālās grupas, kas iedarbojas viena ar otru. Celulozes molekulā tādu ir pa trim katrā glikozes posmā. Iekšmolekulārās

ūdeņraža saites celulozes molekulā veidojas starp glikozes blakus posmu OH-grupām. Starpmolekulārās saites veidojas starp blakus celulozes ķēžu OH-grupām. Pirmējie virsmolekulārās struktūras elementi, kas veidojas, pateicoties ūdeņraža saitēm, ir fibrillas, no kurām sastāv šūnas sieniņas slāņi (Fengel and Wegener, 1989).

Starp celulozes molekulām veidojas regulāra ūdeņraža saišu sistēma un sakārtota struktūra ar kristāliskām īpašībām. Pastāv vairākas kristāliskā režģa struktūras formas. Uzskata, ka celulozes kristāliskās formas ir ļoti izturīgas pret mikrobiālo noārdīšanos, kamēr amorfā celuloze tiek hidrolizēta daudz ātrāk (Ljungdahl and Eriksson, 1985).

Celulozes ķēdes garumu raksturo glikozes atlikumu polimerizācijas pakāpe (PP). Augu celulozes PP ir plašās robežās, no 7000 līdz 15000, skuju kokiem parasti ap 8000. Intensīva ķīmiskā apstrāde, ieskaitot mikroorganismu enzimātisku darbību, ievērojami samazina PP (Fengel and Vegener, 1989).

1.2.3.2. Hemicelulozes

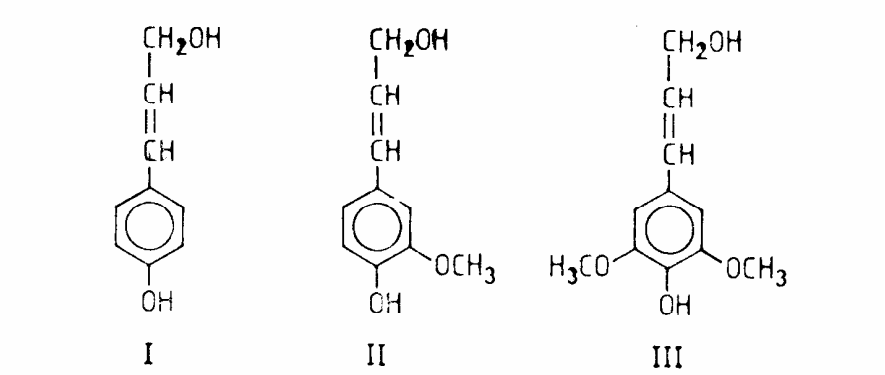
Hemicelulozes šūnas sienā ir cieši saistītas ar celulozi un lignīnu. Hemicelulozes atšķiras no celulozes ar monosaharīdu sastāvu, īsākām ķēdēm un to zarotu struktūru. Galvenie hemiceluložu monosaharīdi ir pieci cukuri: trīs **heksozes** (D-mannoze, D-glikoze, D-galaktoze) un divas **pentozes** (D-ksiloze un L-arabinoze). Dažām hemicelulozēm papildus ir heksuronskābes posmi. Šie individuālie cukuri var būt acetilēti vai metilēti (Fan et al., 1982).

Vairums hemiceluložu satur divus līdz sešus atšķirīgus cukuru atlikumus. Lapu koku hemicelulozēm PP caurmērā ir 150-200. Izņemot galaktozi saturošas hemicelulozes ar β-(1-3)-glikozīdsaitēm, vairumam hemiceluložu ir β-(1-4)-glikozīdsaites. Hemicelulozes molekula var sastāvēt no vienādiem posmiem (homopolimērs), piemēram, ksilāni, vai dažādiem monosaharīdiem (heteropolimērs), piemēram, glikomannāni (Sjöström, 1981).

Lapu koksne satur vairāk hemiceluložu nekā skuju koksne. Skuju koku hemicelulozēs, atšķirībā no lapu kokiem, lielāko daļu veido mannozes un galaktozes posmi, bet mazāk ir ksiložu un acetilgrupu. Piemēram, priedes (*Pinus sylvestris*) koksnē hemicelulozes ir šādā attiecībā: mannoze 12,4%; ksiloze 7,6%; galaktoze 1,9%; arabinoze 1,5%; uronskābes 5,0%; acetilgrupas 1,6% (Fengel and Vegener, 1989).

1.2.3.3. Lignīns

Lignīns ir aromātisks polimērs, kura makromolekulas veido fenilpropāna vienības. Lignīna priekšteči, t.i., pirmējās struktūrvienības, ir n-kumarspirts (I), koniferilspirts (II) un sinapilspirts (III) (1.5. att.).



1.5. att. Lignīna struktūrvienības: n-kumarspirts (I), koniferilspirts (II) un sinapilspirts (III).

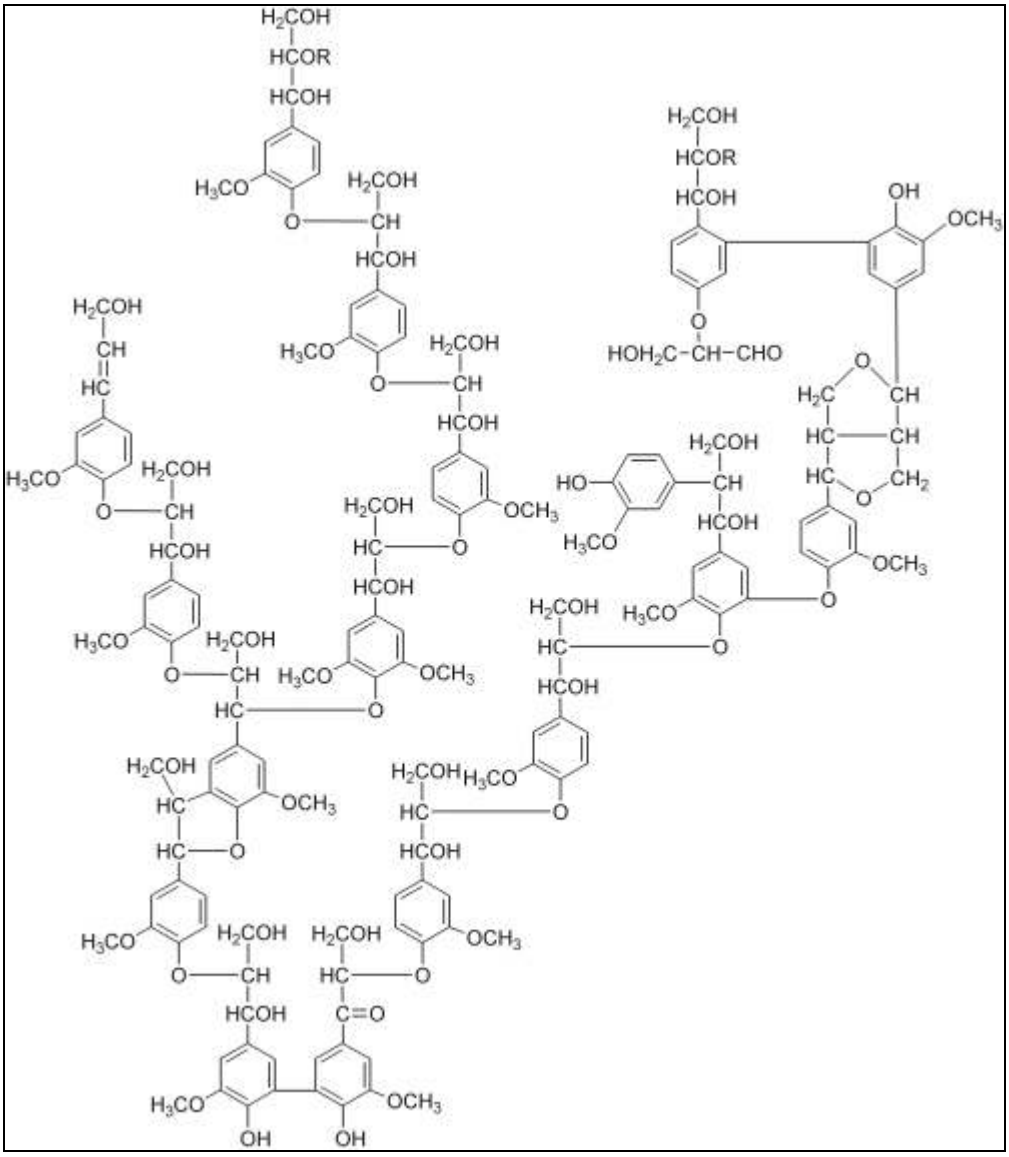
Šūnas veidošanās procesā lignīns kā pēdējais iekļūst tās sienā, kur, iespiežoties starp celulozes mikrofibrillām, nostiprina tās struktūru. Šūnu lignifikācijas procesā, lignīns vispirms koncentrējas šūnas stūros un VL. Sekundārās sieniņas slāņu lignifikācija notiek lēnāk, vairāk lignīna uzkrājas S3 slānī. Lignīna sarežģītās uzbūves shēma parādīta 1.6. attēlā. Lignīna precīzs izvietojums koksnes šūnā joprojām nav zināms, jo nav izdevies to izdalīt, neizjaucot struktūras vienotību.

Skuju koki satur vairāk lignīna nekā lapu koki, un starp šiem lignīniem pastāv zināmas strukturālas atšķirības (Adler, 1977).

Lignīnam ir raksturīgas funkcionālās metoksilgrupas. Skuju kokiem tās veido 12-16% lignīna masas, piemēram, priedei *(P. sylvestris*) 15-16%. Vienas metoksilgrupas pievienošana fenola gredzenam veido gvajacilvienību (G), bet divu metoksilgrupu pievienošana – siringilvienību (S). Lapu koksne satur siringil- un gvajaciltipa lignīnus mainīgās attiecībās, savukārt skuju kokiem primārais ir gvajacillignīns (Fengel and Wegener, 1989).

Lignīns šūnas sieniņā nav vienkārši nogulsnējies starp polisaharīdiem, bet daļēji saistījies ar tiem. Ciešu asociāciju starp polisaharīdu un lignīna daļām šūnas sieniņā sauc par lignīna – ogļūdeņu kompleksu. Līdztekus fizikālajai asociācijai (ūdeņraža saitēm u.c.) starp lignīnu un polisaharīdiem pastāv arī ķīmiskā saistība (kovalentās saites). Pastāv uzskats, ka ar lignīnu ķīmiski ir saistītas hemicelulozes, kaut gan saistību ar celulozi arī pilnībā nevar izslēgt. Lignīna - ogļūdeņu kompleksos var būt hemiceluložu ksilāna un mannāna posmi. No lapu koksnes ir

izdalīti lignīna - ksilāna kompleksi, bet no skuju koksnes – lignīna - mannāna un lignīna - ksilāna kompleksi (Fengel and Vegener, 1989).



1.6. att. Lignīna shematiska struktūrformula (pēc Adler, 1977).

Lignīns stabilizē šūnas sienu, nodrošinot šūnu mehānisko izturību un auga augšanu garumā. Lignīnam ir būtiska loma ūdens transportēšanā augu stumbros. Augu šūnu sienās esošie polisaharīdi ir hidrofili savienojumi, tādēļ - ūdenscaurlaidīgi, kamēr lignīnam piemīt hidrofobas īpašības. Lignīna – ogļūdeņu kompleksi kavē ūdens absorbciju šūnu sienās un, līdz ar to, nodrošina efektīvu ūdens transportu augu vadaudos (Sarkanen and Ludwig, 1971).

1.3. Koksnes komponentu noārdīšana - brūnā trupe

1.3.1. Neenzimātiskie mehānismi

1.3.1.1. Zemmolekulāru savienojumu loma

Drīz pēc koksnes inficēšanas, brūnās trupes sēnes izraisa ātru un plašu, bet nepilnīgu celulozes depolimerizāciju. Pētnieku vidū nav vienprātības par brūnās trupes sēņu destruktīvo iedarbību uz lignocelulozi. Pastāv uzskats, ka koksnes noārdīšanas sākuma posmā bez enzīmiem piedalās arī zemmolekulāri savienojumi**,** jo pat vismazākās celulāzes ir pārāk lielas, lai iekļūtu koksnes šūnas sienā (Cowling and Brown, 1969). Tādēļ viens no neatbildētiem jautājumiem joprojām ir, kā brūnās trupes sēnes noārda koksnes šūnas agrīnā bojājumu stadijā un kā tās spēj sašķelt strukturētos kristāliskās celulozes rajonus tikai ar endoglikanāžu un glikozidāžu palīdzību? Atbilde uz šo jautājumu tiek meklēta pēdējo gadu desmitu garumā, jo līdz šim nav atklāti jebkādi funkcionāli zemmolekulāri enzīmi. Imūnelektronu mikroskopijas pētījumi apstiprina, ka baltās un brūnās trupes sēņu noārdošie enzīmi un metabolīti, ieskaitot celulāzes, ligninācs, Mn peroksidāzes, lakāzes u.c., nav spējīgi iekļūt koksnes šūnu sienās agrīnās bojājumu stadijās (Srebotnik and Messner, 1991).

No iepriekšējiem brūnās trupes mikrostruktūras un ultrastruktūras pētījumiem ir zināms (Goodell et al., 2003), ka savienojums(-i), kas atbildīgs par koksnes noārdīšanos, spēj difundēt cauri S3 un S2 slāņiem, izraisot sākuma morfoloģiskās izmaiņas uz S2-S1 slāņu robežas. Koksnes poru struktūras un šūnu sienas tilpuma izmaiņu pētījumi parādījuši, ka 80% veselas koksnes tilpuma nav pieejami molekulām ar diametru ≥12 Å. *P. placenta* bojātā koksnē poru diametrs bija pieaudzis līdz 38 Å. Acīmredzot, celulozes sākuma depolimerizāciju izraisa difundējošs savienojums ar molekulas diametru starp 12 Å un 38 Å, kas izraisa koksnes eroziju ar sekojošu poru tilpuma palielināšanos (Flournoy et al., 1991). Ne veselā, ne bojātā koksnē netika atrastas poras ar izmēru > 38 Å. Ir zināmi arī daži mazi celulolītiski proteīni ar diametru ~ 30 Å, tomēr sēnei *P. placenta* nav konstatētas maza izmēra celulāzes (Green et al., 1989). Tātad sēņu hifas veido zemmolekulārus aģentus, kas difundē koksnes šūnas sienā un depolimerizē celulozi un hemicelulozi līdz šķīstošiem degradācijas produktiem, ko tālāk sašķeļ hidrolāzes. Bez tam notiek lignīna demetilēšana, kas parādās jau degradācijas sākuma fāzē (Srebotnik and Messner, 1991).

Brūnās trupes sēņu iedarbību uz koksni var raksturot šādi:

- skāba vide (pH ~ 2,5) koksnes noārdīšanas laikā;

- zemmolekulāru, neenzimātisku savienojumu difūzija (piem. Fe(II)/H_2O_2) koksnes šūnas sienā;
- plaša polisaharīdu depolimerizācija un lignīna oksidācija;
- izmērāms stiprības zudums vēl pirms ievērojamiem masas zudumiem (Green and Highley, 1997).

Pēc vairāku autoru domām, brūnās trupes sēņu neenzimātisko "ekso-tipa" savienojumu iedarbība uz koksni ietver:

- hidroksilradikāļu veidošanu Fentona reakcijā (Koenigs, 1974; Backa et al., 1992);
- glikopeptīda mehānismu (Enoki et al., 1989);
- dzelzs reducēšanos ar celobiozes dehidrogenāzi un pašoksidāciju (Hyde and Wood, 1997);
- skābju katalizēto hidrolīzi ar ūdeņraža jonu palīdzību (Espejo and Agosin, 1991; Green and Highley, 1997)
- dzelzi piesaistošu savienojumu (helatoru) veidošanos (Goodell et al., 1997).

Nav vienprātības, kurš no šiem procesiem ir noteicošais, un nav izslēgts, ka dažādām brūnās trupes sēnēm eksistē atšķirīgi mehānismi. Tomēr nozīmīgākie degradācijas faktori acīmredzot ir līdzīgi visām brūnās trupes sēnēm. Visiem mehānismiem šķietami nepieciešama skāba vide, ko vairumā gadījumu nodrošina oksālskābes vai citu skābju veidošanās sēņu metabolismā. Visiem noārdīšanās mehānismiem arī vajadzīga dzelzs (Fe III) uzkrāšanās koksnē, kurai seko tās pārvēršana par Fe (II) (Green and Highley, 1997).

1.3.1.2. Fentona reakcija (H_2O_2/Fe^{2+})

Hidroksilradikāļi ir visspēcīgākie oksidējošie savienojumi ūdens sistēmās. To izplatītākais bioloģiskais avots ir dažādu Fe (II) savienojumu reakcija ar ūdeņraža peroksīdu H_2O_2 (Fentona reakcija):

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\cdot} + HO^{-}$$

H_2O_2 nepieciešams koksnes noārdīšanai gan brūnās, gan baltās trupes sēnēm. 1974. gadā pirmoreiz tika izteikta doma (Koenigs, 1974), ka brūnās trupes sēnes bojājumu sākuma stadijā kristālisko celulozi oksidē H_2O_2/Fe^{2+} reakcijas rezultātā. Vispirms viņš ziņoja, ka brūnās trupes sēnes veido H_2O_2, bet vēlāk novēroja H_2O_2 saistību ar celulozes depolimerizāciju. Turpmākie pētījumi par H_2O_2 veidošanos brūnās trupes sēnēm izrādījušies pretrunīgi, iespējams, H_2O_2 ātras sadalīšanās un selektīvu identificēšanas metožu trūkuma dēļ (Green and Highley, 1995).

H_2O_2 reakcijā ar metālu vai metāla helatoru veido hidroksilradikāļus, kam raksturīga liela reakcijas spēja un īss dzīves laiks. Tātad var paredzēt, ka hidroksilradikāļu ķīmiskā iedarbība būs novērojama netālu no to izveidošanās vietas (Hyde and Wood, 1997).

Fe (II) reakcijā ar skābekli spēj pašoksidēties, veidojot superoksīdu:

$$Fe^{2+} + O_2 \leftrightarrow Fe^{3+} + O_2^{\cdot -}$$

Superoksīds ātri tiek aizvākts reakcijā ar Fe (II):

$$Fe^{2+} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow Fe^{3+} + H_2O_2$$

Tādā veidā Fe (II) pašoksidācija rada H_2O_2. Vēl vairāk, daļēja pašoksidācija veido Fe (II)/H_2O_2 kombināciju, kas nepieciešama hidroksilradikāļu veidošanai (Wood, 1994).

Pamatojoties uz agrākiem pētījumiem par Fentona reakcijā veidotiem hidroksilradikāļiem, vairākas pētnieku grupas ir radījušas savas hipotēzes, kas izskaidro brūnās trupes veidoto zemmolekulāru savienojumu, metālu un radikāļu nozīmi koksnes šūnas sienas noārdīšanas sākuma fāzē. Vairākas hipotēzes ir izklāstītas nākamajās apakšnodaļās.

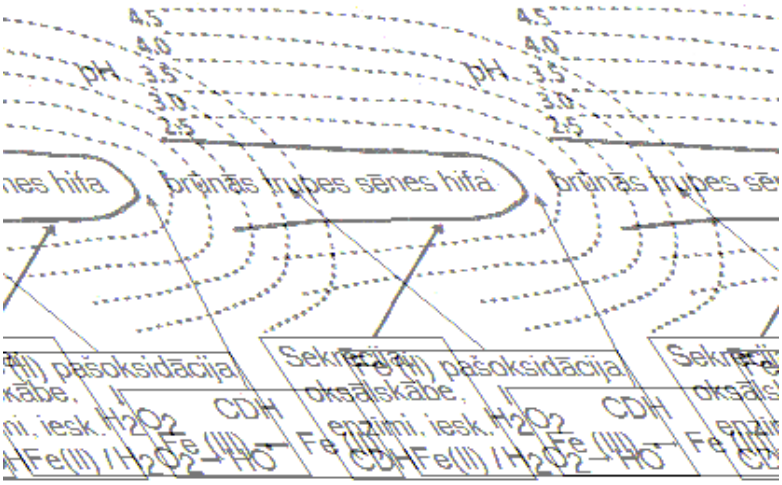
1.3.1.3. Glikopeptīda mehānisms

Zemmolekulāri savienojumi – glikopeptīdi, brūnās trupes sēnēm pirmo reizi tika izolēti 1980-to gadu beigās (Enoki et al., 1989). Brūnās trupes sēnes *Tyromyces palustris* izolētā glikopeptīda molekulmasa ir 7,2 – 12 kD un tas pēc svara satur aptuveni 61% proteīnu, 24% ogļhidrātu un 0,12% Fe (II). Autori piedāvā sekojošu hipotēzi: brūnās trupes sēņu hifas koksnes šūnas noārdīšanas sākuma fāzē šūnas lumenā izdala glikopeptīdus. Tie reducē vidē esošo Fe (III) par Fe (II), piesaista to un difundē koksnes šūnas sienā. Tur glikopeptīds ar piesaistīto Fe (II) skābekļa klātbūtnē katalizē elektronu donoru (H_2O_2) oksidāciju, veidojot $HO^{\cdot}$. Izveidotais $HO^{\cdot}$ iedarbojas uz koksnes šūnas sienas ķīmiskiem komponentiem, izraisot kristāliskās un amorfās celulozes depolimerizāciju. Bez tam, notiek arī lignīna oksidatīva modifikācija. Rezultātā koksnes šūnas sienas S3 slānī veidojas kanāli, pa kuriem endoglikanāzes iekļūst koksnes šūnas sienā un noārda celulozi (Goodell et al., 2003).

1.3.1.4. Celobiozes dehidrogenāzes mehānisms

Eksperimentos ar brūnās trupes sēni *C. puteana* tika konstatēts (Hyde and Wood, 1997), ka tās veidotā celobiozes dehidrogenāze (CDH) ļoti skābā vidē reducē Fe (III) oksalātu. Autori izvirzīja hipotēzi, ka CDH sekrēcija nodrošina Fe (II) veidošanos oksalāta klātbūtnē, pie tam reakcijai vajag daudz zemāku pH nekā tas ir pašā koksnē. Ir zināms (Hyde and Wood, 1997), ka brūnās trupes sēnes pazemina lokālo pH līmeni līdz 2,0, pie kura Fe (II) ir izturīgs pret

pašoksidāciju un tā dzīves laiks var būt vairākas stundas garš. Šajā laikā Fe (II) nepaliek statiski saistīts hifu tuvumā, bet, difundējot prom no tām, nonāk augstāka pH (4-5) rajonā, kas veicina pašoksidāciju un H_2O_2 veidošanos (1.7. att.). Hidroksilradikāļu veidošanai nepieciešamā Fe (II)/H_2O_2 kombinācija varētu veidoties koksnē zināmā attālumā no hifām, kas pasargātu hifas no agresīvo hidroksilradikāļu iedarbības.



1.7. att. Hidroksilradikāļu veidošanās modelis (pēc Hyde and Wood, 1997).

1.3.1.5. Oksālskābes loma

Brūnās trupes sēņu raksturīga īpašība ir oksālskābes veidošana, kas izraisa lokālā pH ievērojamu pazemināšanos. Ja koksnes pH ir robežās no 4 līdz 6 (Rayner and Boddy, 1988), tad brūnās trupes bojātai koksnei pH ir ap 2,5 (Espejo and Agosin, 1991). Sēnes veido oksalskābi glioksilskābes šuntā trikarbonskābju ciklā.

Oksālskābi uzskata par nozīmīgu savienojumu brūnās trupes izraisītā koksnes noārdīšanas mehānismā, jo tā ir iesaistīta vairākos ķīmiskos procesos vienlaicīgi.

Pirmkārt, oksalāts, tieši vai netieši, ir iesaistīts hidroksilradikāļu veidošanā no H_2O_2 un dzelzs. Oksālskābe var tieši darboties kā reducējošais savienojums Fe (III) pārvēršanā par Fe (II), kas savukārt reaģē ar H_2O_2 un veido $HO^{\cdot}$, kas depolimerizē polisaharīdus (Backa et al., 1992). Tomēr citi novērojumi liecina (Hyde and Wood, 1997), ka oksalāts spēj reducēt Fe (III) jonus tikai gaismas atkarīgā reakcijā. Tādēļ oksalāts nevar funkcionēt kā tiešs Fentona reakcijas katalizators dabiskos apstākļos koksnē, kas parasti notiek salīdzinoši zemas temperatūras un nepietiekamas gaismas apstākļos.

Otrkārt, oksālskābe ir spēcīga dzelzs saistītāja (Hyde and Wood, 1997).

Treškārt, oksālskābe piedalās pH pazemināšanā un ir tieši iesaistīta koksnes substrāta - celulozes un hemiceluložu hidrolīzē (Espejo and Agosin, 1991). Zemmolekulāras skābes iniciē brūnās trupes procesu, katalizējot hemiceluložu sānu ķēžu un ēsteru grupu (pektīni) hidrolīzi un nodrošinot sēnei gatavu nelignificētu ogļūdeņu avotu (Green and Highley, 1997).
Ceturtkārt, oksālskābe ir iesaistīta citu katjonu, piemēram, Al (III) un Ca (II), piesaistīšanā, īpaši no kalcija pektāta koksnes poru membrānās, šūnu VL, serdes staru parenhīmas šūnās. Oksalātu veidošanās varētu vājināt koksnes struktūru un palielināt poru izmērus, kas ļautu sēņu lignocelulolītiskiem enzīmiem iespiesties šūnas sienā (Dutton et al., 1993).

1.3.1.6. Bioloģiskie helatori un pārejas metāli

Metālu kompleksētāju pētījumi ar vairākām baltās un brūnās trupes sēnēm, kuras ekstracelulāri veido Fe (III) piesaistošus savienojumus parāda, ka mikroorganismi veido organiskus ligandus (sideroforus vai helatorus) ar mērķi pievienot pārejas metālus no vides, lai tos izmantotu savā metabolismā (Fekete et al., 1989; Goodell et al., 1997). Helatori ar metāliem veido helatora-metāla kompleksus, kas ir pievienoti īpašām receptoru vietām uz mikroorganisma membrānas virsmas.
Mikroorganismu vidū pastāv liela dažādība sideroforu struktūrā, tomēr, visos gadījumos tie veido seškoordinātu kompleksus ar Fe (III). Sideroforu pamatstruktūru veido fenolu un citu to funkcionālo grupu atvasinājumi (Hider, 1984).
Tā piemēram, dzelzi piesaistošu fenolāta savienojumu jeb "Gt helatoru" veido sēne *Gloeophyllum trabeum* dzelzi limitējošos apstākļos (Goodell et al., 1997). Oksalāts (vai cits organisks savienojums, kas spējīgs šķīdināt un reducēt dzelzi no oksīda formām) ir nepieciešams, lai pārvērstu dzelzi ''Gt helatoram'' pieejamā formā, kā arī pazeminātu pH, radot pH gradientu starp sēnes hifu un koksnes šūnas sienu. Autoru hipotēze ir, ka dzelzs oksalāts difundē koksnes šūnas sienas iekšpusē, kur buferēta, augstāka pH vide ļauj pārnest dzelzi uz ''Gt helatoru'', un nodrošināt tās reducēšanu.
Reducētie metāli tālāk reaģē ar ūdeņraža peroksīdu, kas veidojas no pH atkarīgā fenolu savienojumu pašoksidācijas reakcijā. H_2O_2 veidošanās var būt sait-specifiska reakcija, kuru veicina augstāks pH, kāds ir koksnes šūnas sienā. Šajās reakcijās veidojas reaktīvas skābekļa formas, piemēram, hidroksilradikāļi, kas difundē koksnes šūnā, kur noārda celulozi. Hidroksilradikāļi, visticamāk, veidojas koksnes šūnas sienas dziļākos slāņos nevis vidē ap sēnes hifām, tā pasargājot sēni no oksidatīviem bojājumiem. Hidroksilradikāļu veidošanās pie augstāka pH koksnes šūnas sienas iekšienē varētu izskaidrot faktu, ka šūnas S3 slānis, kas ir

tiešā saskarē ar sēnes hifām, ilgstoši saglabājas nebojāts brūnās trupes noārdītā koksnē (Goodell et al., 1997).

1.3.1.7. Fe (II) un H_2O_2 avoti – apkopojums

1.1. tabulā apkopoti vairāku autoru pētījumu rezultāti par hidroksilradikāļu veidošanai nepieciešamo Fentona reakcijas komponentu – Fe (II) un H_2O_2 – iespējamo izcelsmi koksnes šūnās.

1.1. tabula. Hidroksilradikāļu veidošanās mehānismi brūnās trupes sēnēm.

Atsauksme	Sugas	Fe (II) avots	H_2O_2 avots
Schmidt et al. (1981)	(Pamatmodelis)	Fe (III) oksalāta spontāna sadalīšanās	Izdala sēne
Enoki et al. (1992)	*Gloeophyllum trabeum*	Fe (III) glikopeptīda reducēšanās ar superoksīdu (O_2 $1e^-$ reducēšanās ceļā)	O_2 reducēšanās ar izdalīto NADH, un Fe-glikopeptīdu kā katalizatoru
Lu et al. (1994)	*G. trabeum*	Fe (III) reducēšanās ar fenolāta tipa dzelzs helatoru	Nav apspriests
Hirano et al. (1995)	*Tyromyces palustris*	Fe (III) reducēšanās ar dzelzs helatoru; Fe (III) reducēšanās ar superoksīdu	O_2 reducēšanās ar izdalīto NADH, un Fe-glikopeptīdu kā katalizatoru
Hyde and Wood (1997)	*Coniophora puteana*	Fe (III) oksalāta reducēšanās ar CDH	Fe (II) oksalāta pašoksidācija
Goodell et al. (1997)	*G. trabeum*	Fe (III) oksalāta reducēšanās ar fenolāta dzelzs helatoru	Enzimātiski; vai fenolāta savienojumu oksidēšanās

Sākotnēji tika izvirzīta hipotēze, ka Fe (II) veidojas Fe (III) oksalāta spontānas sadalīšanās ceļā, bet H_2O_2 veido pati sēne (Schmidt et al., 1981).

Šīs reakcijas nozīmi koksnes bionoārdīšanā apšauba autori, kas parādīja, ka tās norisei nepieciešama gaismas enerģija (Hyde and Wood, 1997). Neenzimātiska Fe (III) oksalāta sadalīšanās varētu būt svarīga sēņu reakcija uz gaismu, bet ne pamatmehānisms koksnes noārdīšanai.

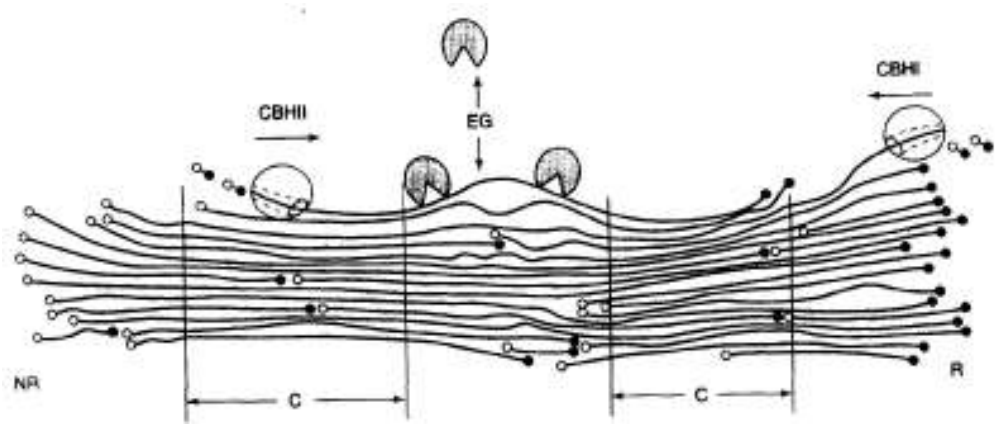
Attiecībā par H_2O_2 veidošanos, šie paši autori uzsver būtiskās atšķirības starp brūnās un baltās trupes sēnēm. Baltai trupei H_2O_2 ir nepieciešams lignīna un Mn peroksidāžu aktivācijai. Šādas

oksidāzes nav zināmas brūnās trupes sēnēm, kurām Fe (II) veidošanās ir nepieciešama koksnes šūnas iekšējos slāņos un nav nepieciešams veidot H_2O_2 hifu tuvumā (Hyde and Wood, 1997).
Citi autori postulē mehānismu (Enoki et al., 1992; Hirano et al., 1995), kur O_2 reducēšanās līdz superoksīdam ir sākuma solis $OH^{\cdot}$ veidošanai, kas nosaukts par "superoksīda atbalstīto Fentona reakciju".
Vairāki pētnieki uzskata, ka Fe (III) tiek reducēts par Fe (II), savienojoties ar fenolāta tipa dzelzs helatoru (Lu et al., 1994; Goodell et al., 1997). Iespējams, ka Fe (III) oksalāta reducēšana notiek arī ar celobiozes dehidrogenāzes (CDH) palīdzību, lai gan pat pie pH 2,5 tas ir lēns process (Hyde and Wood, 1997).
Pētnieku atšķirīgie uzskati liecina, ka ir iespējami alternatīvi mehānismi Fe (III) reducēšanai. Kā redzams no 1.1. tabulas, autori ir vienisprātis, ka koksnes noārdīšanas mehānismā ir iesaistīta Fentona reakcija (Fe (II)/H_2O_2), kurā veidojas aktīvi hidroksilradikāļi, kas agrīnā bionoārdīšanas stadijā sašķeļ polisaharīdus. Domas dalās par Fe (II) un H_2O_2 izcelsmi. Par Fe (II) avotu viennozīmīgi uzskata Fe (III) reducēšanos, lai arī iespējams, ka šī reakcija notiek pa dažādiem ceļiem. Kā iespējamie H_2O_2 avoti tiek minētas reducēšanās, pašoksidācijas vai enzimātiskas reakcijas.

1.3.2. Enzimātiskie mehānismi

1.3.2.1. Celulozes noārdīšana

Sēnes noārda celulozi ar celulolītisko enzīmu sinerģisku darbību (1.8. att.). Sākumā endoglikanāzes (C_x faktors) hidrolizē celulozes amorfos rajonus, saraujot nejauši izvēlētas β-(1-4)-glikozīdsaites un palielinot gan reducējošo, gan nereducējošo funkcionālo grupu skaitu, un strauji samazinot substrāta PP. Tad seko eksoglikanāzes jeb celobiohidrolāzes (CBH) (C_1 faktors), kas no polisaharīda nereducējošā gala atšķeļ celobiozes vienības. Tātad celulozes noārdīšana notiek endo-/eksoglikanāžu reakcijās, kurām seko trešais hidrolītiskais enzīms 1,4-β-D-glikozidāze. Tā darbojas uz atbrīvotajiem ūdenī šķīstošajiem oligosaharīdiem un celobiozi, sašķeļot tos līdz glikozei. Jāatzīmē, ka šis celulozes degradācijas modelis tika piedāvāts pēc pētījumiem ar baltās trupes un mīkstās trupes sēnēm, nevis brūnās trupes sēnēm (Eriksson, 1981; Eriksson et al., 1990; Eaton and Hale, 1993; Teeri, 1997).



1.8. att. Dažādas eksoglikanāzes jeb celobiohidrolāzes (CBH) hidrolizē celulozes kristāliskos rajonus no pretējiem ķēdes galiem, bet endoglikanāzes (EG) mazāk sakārtotus rajonus no vidus. Pilnie apļi (R) apzīmē reducējošos galus, bet tukšie apļi (NR) - nereducējošos galus. C apzīmē augsti sakārtotus kristāliskos rajonus (pēc Teeri, 1997).

Brūnās trupes sēnēm ir raksturīga endoglikanāzes veidošana (C_x), bet tām trūkst svarīgākie eksoglikanāžu (C_1) enzīmi (Green et al., 1989). Tās nenoārda kristālisko celulozi, sinerģiski darbojoties endo- un eksoglikanāzēm. Arī brūnās trupes sēņu enzimātiskās sistēmas ir atšķirīgas. Pētījumi parādījuši, ka konioforu dzimtas pārstāves *Coniophora puteana, Leucogyrophana arizonica* un *L. olivescens* spēj noārdīt mikrokristālisko celulozi, kas liecina par pilna celulolītiskā komplementa esamību šīm sugām (Highley, 1988). Citu dzimtu brūnās trupes sēnes: *G. trabeum, L. lepideus, P. placenta*, nespēj noārdīt mikrokristālisko celulozi, tātad tās veido nepilnīgu celulolītisko sistēmu (Highley, 1977). Nesen atklāts (Cohen et al., 2005), ka arī *G. trabeum* piemīt eksoglikanāzes aktivitāte. Brūnās trupes sēņu spēja veidot eksoglikanāzes, acīmredzot, variē atkarībā no atsevišķas sugas. Tomēr eksoglikanāzes nav izšķiroši svarīgas brūnās trupes sēņu spējai noārdīt koksni, jo arī sugas bez šī enzīma efektīvi noārda celulozi (Hegarty et al., 1987).

1.3.2.2. Hemiceluložu noārdīšana

Hemicelulozes noārdošie enzīmi ir ksilanāzes, mannanāzes un poligalakturonāzes (Green et al., 1989). Sēņu mannanāzes un ksilanāzes ir endo-tipa enzīmi, kas hemicelulozes sašķeļ nejaušās vietās. Savukārt mannozidāzes un ksilozidāzes atbrīvo cukuru monomērus no ūdenī šķīstošiem dekstrīniem. Nav zināmi ekso-tipa mannānu vai ksilānu degradējošie enzīmi. Tā kā mannānam un ksilānam nav kristāliska struktūra, tad arī nevarētu būt vajadzības pēc endo- un ekso-tipa enzīmu sinerģiskas darbības (Eriksson, 1981).

Brūnās trupes bojātas priedes (*Pinus monticola*) ķīmiskās analīzes parādīja, ka glikomannānu sēnes patērē ievērojami ātrāk nekā celulozi vai ksilānu. Ksilānu, savukārt, tās patērē ātrāk nekā celulozi (Highley, 1987). Tā kā hemicelulozes veido apvalku ap celulozes mikrofibrillām, celulozes degradācija un patēriņš var būt atkarīgi no iepriekšējas hemiceluložu noārdīšanas. Hemiceluložu noārdīšanu uzskata par kritisko sākuma soli brūnās trupes izraisītā koksnes degradācijā.

Brūnās trupes sēnes ātri depolimerizē holocelulozi, un noārdīšanās produkti veidojas straujāk, nekā tiek patērēti. Brūnās trupes sēnes, pateicoties holocelulozes depolimerizācijai, daudz ātrāk par baltās trupes sēnēm samazina koksnes stiprību. Piemēram, koksnei ar 2% masas zudumu lieces stiprības zudumi ir 10-18%. Baltās trupes sēnes izraisa pakāpenisku holocelulozes PP samazināšanos visās bojājumu stadijās (Wilcox, 1978). Citi dati liecina (Curling et al., 2002), ka pie 10% masas zuduma koksnes stiprības zudumi sasniedza 30% baltās trupes gadījumā (*T. versicolor*) un 60% brūnās trupes gadījumā (*G. trabeum*).

Straujais stiprības zudums brūnās trupes skartai koksnei agrīnās bojājumu stadijās bieži tiek piedēvēts celulozes depolimerizācijai. Tomēr, kā liecina vēlākie pētījumi, šis populārais priekšstats var būt nepareizs. Ir atklāts (Winandy and Morrell, 1993; Curling et al., 2002), ka tieši hemiceluložu noārdīšana attiecas uz koksnes stiprības zudumiem. Autori secina - lai gan brūnās trupes celulozes depolimerizācija varbūt ir iemesls zināmam stiprības zudumam, būtiska ietekme uz koksnes stiprības īpašībām noārdīšanās sākumā ir tieši hemiceluložu noārdīšanai.

1.3.2.3. Lignīna noārdīšana

Brūnajai un baltajai trupei ir līdzīgi lignīna noārdīšanas veidi. Baltās trupes sēnes, atšķirībā no brūnās trupes, spēj agresīvi noārdīt lignīnu līdz zemmolekulāriem produktiem, kas liecina, ka tām ir pilnīgāks lignīnu noārdošo enzīmu komplekss.

Pierādījumi par brūnās trupes lignīna depolimerizāciju ir ierobežoti. Uzskata, ka hidroksilradikāļi var gan depolimerizēt, gan repolimerizēt lignīna atvasinājumus (Barr and Aust, 1994). Iespējams, ka lignīna struktūra noārdīšanas procesā pakļaujas depolimerizācijai un ātrai repolimerizācijai, bet, trūkstot ligninolītiskiem enzīmiem (peroksidāzes, lakāzes, oksidāzes), koksnes šūnā paliek nešķīstošā, repolimerizētā formā (Goodell et al., 1997). Brūnās trupes sēnes ievērojami samazina lignīna metoksilgrupu saturu koksnē. Demetoksilēšanas laikā veidojas aromātiskas hidroksilgrupas (Kirk, 1975). Papildus gredzena struktūras demetilēšanai un, iespējams, arilēstera saišu sašķelšanai, dažu brūnās trupes sēņu iedarbība izraisa lignīna sānu ķēdes daļēju oksidatīvu sašķelšanu, tā paaugstinot karbonil- un karboksilgrupu daudzumu.

Tātad notiek lignīna oksidatīva sašķelšana un demetilēšana (Eriksson et al., 1990), kuras rezultātā lignīnā palielinās fenolhidroksil - un karboksilgrupu daudzums (Jin et al., 1990).

Kopsavilkums

Literatūrā trūkst datu par koksnes trupes sēņu sugu izplatību un daudzveidību Latvijas celtnēs, kas liecina par sistemātisku pētījumu trūkumu šajā jomā. Līdz šim nav salīdzinātas Latvijas mežos un ēkās sastopamo koksnes trupes sēņu izplatības un daudzveidības īpatnības. Trūkst informācijas, kurš koksnes trupes veids (brūnā, baltā vai mīkstā trupe) dominē Latvijas celtniecības koksnē un, vai pastāv atšķirības starp dominējošām trupes sēņu sugām un trupes veidiem Latvijas un citu valstu (klimata joslu) celtnēs.

Pētījumi par brūnās trupes sēnēm parāda sēņu veidoto zemmolekulāru skābekļa savienojumu un enzīmu nozīmi koksnes šūnas degradācijā, taču pēdējo gadu desmitu laikā joprojām ir aktuāls jautājums par brūnās trupes izraisīto koksnes degradācijas mehānismu. Nav skaidra degradācijas procesu dinamika no agrīnām līdz vēlīnām noārdīšanas stadijām, kā arī kritiskais laika posms degradācijas gaitā, kas izraisa neatgriezeniskas sekas tās struktūrā.

2. DARBA MĒRĶIS UN UZDEVUMI

Darba mērķis bija izpētīt koksnes noārdīšanos dabiskā vidē (mežu ekosistēmu biotopos) un cilvēka veidotā vidē (koka konstrukcijās), kā arī raksturot skuju koksnes bionoārdīšanās procesu ar ķīmiskām un fizikālām metodēm laboratorijas apstākļos.

Darbam tika izvirzīti sekojoši uzdevumi:

1. Koksnes trupes sēņu izplatības un daudzveidības izpēte Latvijas mežu ekosistēmās, apsekojot atsevišķus raksturīgos biotopus.
2. Koksnes trupes sēņu izplatības un daudzveidības izpēte celtniecības koksnē, apsekojot koka konstrukcijas Latvijā un Maķedonijā.
3. Brūnās trupes izraisītās priedes koksnes noārdīšanas mehānisma izpēte ar ķīmiskām un fizikālām metodēm, lai raksturotu koksnes degradācijas procesu, pamatojoties uz ķīmisko komponentu un struktūras izmaiņām laika gaitā.

3. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

3.1. MATERIĀLI

3.1.1. Koksnes trupes sēņu atradnes Latvijas mežu ekosistēmās

Apsekošanas veica īpaši aizsargājamajās dabas teritorijās - nacionālajos parkos (Slīteres, Ķemeru, Gaujas), Ziemeļvidzemes Biosfēras rezervātā (Lēdurga, Saulkrasti), dabas liegumos (Mežole, Pededze), dabas parkā (Riežupe) un vecā dižskābaržu stādījumā (Šķēde). Īpaši aizsargājamās dabas teritorijas ir ģeogrāfiski noteiktas platības, kas atrodas valsts aizsardzībā, lai aizsargātu un saglabātu dabas daudzveidību - retas un tipiskas dabas ekosistēmas, aizsargājamo sugu dzīves vidi, savdabīgas, skaistas un Latvijai raksturīgas ainavas, dendroloģiskos stādījumus un dižkokus utt. (Dabas aizsardzības pārvalde, http://www.dap.gov.lv/).

Kopumā tika apsekotas deviņas Latvijas mežu ekosistēmu atradnes, kurās savākti koksnes sēņu paraugi (3.1. att.).

3.1. att. Apsekotās Latvijas mežu ekosistēmu atradnes (1 – Lēdurga, 2 – Mežole, 3 – Pededze, 4 –Riežupe, 5 – Zilie kalni Slīterē, 6 – Saulkrasti, 7 – Ungurmuiža, 8 – Šķēde, 9 – Ķemeru NP).

Slīteres nacionālais parks (Talsu rajons) ir bioloģiskās daudzveidības ziņā bagāta teritorija. Parkā ir pārstāvēti gandrīz visi Latvijas mežu tipi, un vienkopus nelielā teritorijā sastopami gan platlapju mežu, gan taigas un tundras elementi. Apsekotā atradne - Zilie kalni: platlapju mežs ar osi (*Fraxinus),* gobu (*Ulmus),* liepu (*Tilia)*; jauktais mežs ar egli (*Picea),* apsi (*Populus)*; purvs.

Ķemeru nacionālā parka (Tukuma rajons) teritorijā atrodas 51% mežu, 24% purvu un 10% ūdeņu. Daļa teritorijas ietilpst Ramsāres starptautiskas nozīmes mitrājā "Kaņiera ezers". Bioloģiski ļoti vērtīga teritorija. Apsekotā atradne - Ķemeru purvs ar apkārtējos mežu: jauktais mežs ar skuju kokiem, apsi (*Populus)*; purvs.

Gaujas nacionālajā parkā (Cēsu rajons) ir liela mežu daudzveidība ar gandrīz visiem mežu tipiem. Tika apsekota neliela parka daļa Ungurmuižas veco ozolu (*Quercus*) parks.

Ziemeļvidzemes Biosfēras rezervāta teritorijā pētījumi tika veikti Lēdurgas (Limbažu rajons) lapu koku mežos un Saulkrastu (Rīgas rajons) priežu stādījumā. Apsekotās divas atradnes - Lēdurga (Augstais kalns, Gaigalkalns, Naudas kalns): jauktais mežs ar alksni (*Alnus),* bērzu *(Betula),* ozolu (*Quercus)* un Saulkrasti: priedes (*Pinus*) stādījums.

Dabas liegumu teritorijās pētījumi tika veikti Mežolē (Valkas rajons), kas ir nozīmīga purvaino mežu, augsto un pārejas purvu, boreālo mežu aizsardzības vieta, un Pededzē (Gulbenes rajons), kur atrodas vecs ozolu mežs, kas uzskatāms par retumu Latvijā. Apsekotās divas atradnes - Mežole: jauktais mežs ar egli (*Picea),* apsi *(Populus),* liepu (*Tilia),* bērzu (*Betula)* un Pededze: jauktais mežs ar ozolu (*Quercus),* liepu (*Tilia),* gobu (*Ulmus),* ievu (*Padus),* osi (*Fraxinus),* alksni (*Alnus),* vītolu (*Salix*).

Riežupes dabas parks (Kuldīgas rajons) ir nozīmīga teritorija nogāžu un gravu mežu, upju straujteču un smilšakmens atsegumu aizsardzībai. Daudz retu augu un dzīvnieku sugu. Senlejas meži samērā neskarti. Parka teritorijā aug septiņi dižkoki, aprakstīti arī 11 izcili un neparasti koki. Apsekotā atradne - Riežupe: jauktais mežs ar bērzu (*Betula),* egli (*Picea),* priedi (*Pinus).*

Šķēdes dižskābaržu (*Fagus*) stādījums (Talsu rajons) ir vienīgais šādu koku stādījums Latvijā. Sēņu materiāls tika ievākts ar mērķi salīdzināt sēņu daudzveidību tajā ar dabīgu dižskābaržu mežu Maķedonijā.

3.1.2. **Trupes sēnes celtniecības objektos**

Celtniecības objekti (privātas, publiskas un kultūrvēsturiskas celtnes) lielākoties tika apsekoti uz vietas un tajos ievāca sēņu un bojāto materiālu paraugus. Izpēte ietvēra (i) bojājumu diagnozi *in situ*, (ii) sēņu identificēšanu laboratorijā, (iii) noārdītā materiāla izvērtēšanu. Atsevišķos gadījumos sēņu un to bojāto materiālu paraugus no celtniecības objektiem piegādāja īpašnieki.

3.1.2.1. Trupes sēnes Latvijas celtnēs

Pēc Valsts kultūras pieminekļu aizsardzības inspekcijas datiem (http://www.heritage.lv/index.asp), Latvijā ir 8428 valsts aizsargājamie kultūras pieminekļi. Liela daļa Latvijas kultūras mantojuma ir kritiskā stāvoklī, pilsētu un lauku ainava laikā no 1940. līdz 1991. gadam ir degradēta un joprojām nav sakopta. Tiek pamestas dažādas būves, nepilnīgi darbojas teritorijas plānošana, nepietiekoša būvniecības kontrole, vēsturisko ēku rekonstrukcijā nekompetenti tiek pielietoti modernie materiāli. Apsekojot kultūras pieminekļus, konstatēts, ka avārijas stāvoklī atrodas vismaz 520 objektu, bet atsevišķos pilsētbūvniecības pieminekļos - 1/3 no visām ēkām.

No 1996. – 2005. gadam koksnes trupes sēņu bojājumu novērtēšanai tika apsekotas > 250 privātas un publiskas ēkas, kā arī 16 kultūras pieminekļi un senas celtnes Latvijā:
Āraišu ezerpils, Cēsu raj.;
Biķeru ev.-lut. baznīca, Rīga,
Brīvdabas muzejs, Rīga;
Dikļu pils, Valmieras raj.;
Feimaņu Romas katoļu baznīca, Rēzeknes raj.;
Gulbenes ev.-lut. baznīca; Gulbene;
Jēzus ev.- lut. baznīca, Rīga;
Liepājas dzelzceļa stacija, Liepāja;
Mālpils ev.-lut. baznīca, Rīgas raj.;
Rīgas Doma baznīca;
Sabiles ev.- lut. baznīca, Talsu raj.;
Slokas ev.-lut. baznīca, Rīgas raj.;
Sventes muiža, Daugavpils raj.;
Vainižu muiža, Limbažu raj.;
Vecpils baznīca, Liepājas raj.;
Ventspils Latviešu biedrības ēka.

3.1.2.2. Trupes sēnes Maķedonijas celtnēs

ES finansētā projekta WOODPRO („Latvijas Valsts Koksnes ķīmijas institūta integrēšanās Eiropas pētnieciskajā vidē") ietvaros radās iespēja sadarboties ar Maķedonijas mikologiem

Prof. Mitko Karadeleva vadībā un apsekot trupes sēņu radītos bojājumus vairākos šīs valsts kultūras mantojuma objektos.

Maķedonijas Republikas īpašais ģeogrāfiskais stāvoklis, dažādu tautu migrācija cauri šai zemei, ir atstājuši pēdas daudzveidīgu kultūras pieminekļu veidā. Saskaņā ar Maķedonijas Republikas Kultūras pieminekļu aizsardzības institūta datiem, vērtīgāko objektu skaits sasniedz ap 10 000. Tie ietver seno pilsētu celtnes, sakrālās celtnes, kas bagātas ar pasaules mērogā nozīmīgām freskām, ikonām un kokgriezumiem. Maķedonijā ir vairāk nekā 1000 kristīgās kultūras tradīcijās veidotu baznīcu, klosteru, kapelu, alu baznīcu (Cokrevska-Filip and Anastasovski, 2004).

Maķedonijas kultūrvēsturiskos pieminekļus, tai skaitā senus klosterus un baznīcas apsekoja no 2004. – 2006. gadam. No būvniecības viedokļa jāatzīmē, ka koksni kā celtniecības materiālu turienes ēkās izmanto ierobežoti. Sakrālās celtnes pamatā ir mūra ēkas ar kārniņu vai skārda jumta segumu. Ēku iekšienē vienīgās koka detaļas ir ikonostasi, ikonas, krēsli, trepes, durvis, logu rāmji un jumta konstrukcijas. Tām arī galvenokārt pievērsām uzmanību.

Pavisam tika apsekoti 38 kultūras pieminekļi sekojošās vietās:

Debara (Sv. Jovan Bigorski);

Demir Hisara (Sv. Jovan Preteca);

Kičeva (Sv. Bogorodica Precista);

Kriva Palanka (Sv. Joakim Osogovski);

Kumanova (Sv. Georgi);

Lešani (Sv. Site Sveti);

Mariovas kalni (Sv. Arhangel, Sv. Dimitrij, Sv. Nikola);

Ohrida (Sv. Naum, Sv. Klement and Pantelejmon, Sv. Jovan Kaneo, Sv. Bogorodica Peribleptos, Samoila cietoksnis; Sv. Erazmo);

Prespas ezera reģions (Sv. Petka, Sv. Bogorodica, Sv. Nikola, Sv. Dimitrij; Sv. Georgi);

Prilepa (Sv. Arhangeli);

Skopje (Sv. Andrea, Sv. Pantelejmon, Sv. Ilija Gorni, Sv. Arhangel, Sv. Bogorodica, Sv. Nikita, Sv. Spas);

Štipa (Sv. Nikola; Sv. Georgi; Sv. Bogorodica);

Struga (Sv. Bogorodica, Sv. Arhangel Michael; Sv. Spas);

Strumica (Sv. Bogorodica);

Sušica, Skopjes reģions (Sv. Bogorodica; Sv. Dimitrija Markov**);**

Zletovas ciems (Sv. Gavril Lesnovski).

Vairums kultūrvēsturisko pieminekļu atrodas valsts aizsardzībā.

3.1.3. Trupes sēņu tīrkultūras

Koksnes bionoārdīšanās pētījumiem laboratorijas apstākļos izmantoja trīs brūnās trupes sēņu celmus: *Coniophora puteana* (Schum.:Fr.) Karst. (BAM Ebw.15), *Postia placenta* (Fr.) Lars et Lomb. (FPRL 280) un *Gloeophyllum trabeum* (Pers.: Fr.) Murr. (BAM Ebw.109). Šīs ekonomiski nozīmīgās sugas ir obligātas bioloģisko testu veikšanai, nosakot koksnes aizsarglīdzekļu efektivitāti pret koksni noārdošām bazīdijsēnēm saskaņā ar Eiropas Standartu LVS EN 113 (2000). Celmus uzturēja stobriņos uz iesala agara barotnes pie 6^{o}C. Micēliju aseptiski pārnesa Petrī trauku (9 cm) barotnē, kas saturēja 5% iesala ekstrakta un 3% agara (Ferak, Berlin), pH 6,4, un inkubēja 22^{o}C temperatūrā un 70% relatīvā mitrumā. Tad micēlija gabaliņus (1 x 1 cm) no Petrī traukiem pārnesa uz Kolles kolbām ar tādu pašu barotnes sastāvu koksnes noārdīšanās testu veikšanai.

3.1.4. Koksnes paraugi

Brūnās trupes sēņu destruktīvo iedarbību pētīja, izmantojot divu veidu priedes (*Pinus sylvestris* L.) aplievas paraugus: *lielos* testa paraugus (pēc Eiropas standarta LVS EN 113) - 50 × 25 × 15 mm, un *mazos* testa paraugus (pēc skrīninga metodes) – 20 × 20 × 5 mm (3.2. att.).

a

b

3.2. att. *Lielie* (50 × 25 × 15 mm) testa paraugi (**a**) un *mazie* (20 × 20 × 5 mm) testa paraugi (**b**). Paraugu sagatavošanai izmantota priedes aplievas koksne bez plaisām, krāsojuma, trupes, kukaiņu vai citiem bojājumiem, kurā ir maz sveķu un 2,5 līdz 8 gadskārtas uz 10 mm. Koksne nav iepriekš uzglabāta ūdenī vai ķīmiski apstrādāta. Paraugi atlasīti no trim stumbriem un pēc sazāģēšanas kondicionēti līdz pastāvīgai masai un 12% mitruma saturam.

3.1.5. Ķīmiskie reaģenti

Sēņu un noārdītas koksnes mikroskopiskai izpētei izmantoja sekojošus reaģentus: Melcera reaģentu, kokvilnas zilo, briljanta kongo zilā un kokvilnas brūnā maisījumu, kā arī safranīnu (Breitenbach and Kränzlin, 1986).

Melcera reaģenta pagatavošana: 0,5 g joda, 1,5 g kālija jodīda, 20 ml ūdens, 20 ml hlorālhidrāts. Melceru izmanto sēņu sporu, bazīdiju, cistīdiju vai audu amiloīdas vai dekstrinoīdas reakcijas noteikšanai.

Kokvilnas zilā pagatavošana: 20 g kristāliskā fenola, 20 g pienskābes, 40 ml glicerīna, 40 ml ūdens, 0,1 g kokvilnas zilā. Kokvilnas zilais ir universāls reaģents, kurš iekrāso sēņu šūnu saturu zilā krāsā. To izmanto arī cianofilu struktūru noteikšanai.

Briljanta kongo zilā un kokvilnas brūnā maisījums ir reaģents, kas specifiski iekrāso dažu mājas sēņu hifas. Piemēram, *S. lacrymans* mehāniskās hifas iekrāsojas zilas, trauku hifas – zili brūnas, bet pamathifas – brūnas.

Safranīna pagatavošana: 1 g safranīna, 100 ml etanola. Šo indikatoru izmanto kokaudu iekrāsošanai, kā rezultātā koksnes šūnas kļūst sarkanas.

3.2. METODES

3.2.1. Objektu apsekošana un sēņu identificēšana

Meža atradnēs savākto sēņu materiālu ievietoja papīra maisiņos, reģistrēja tā substrātu un sēnes identificēja laboratorijā.

Celtniecības objektu apsekošanas ietvēra sēņu augšanas riska vietu pārbaudes, augšanas apstākļu aprakstu, sēņu un to inficēto materiālu savākšanu un identificēšanu laboratorijā. Pirms paraugu savākšanas, bojājumu vietu atzīmēja ēkas plānā, nofotogrāfēja un tad sēnes micēliju vai augļķermeņus kopā ar substrātu (iespēju robežās) ievietotoja plastmasas maisiņos un sanumurēja. Identificēšanu veica pēc sēņu raksturīgām morfoloģiskām pazīmēm (makroskopiskām un mikroskopiskām) un bojātā materiāla (koksnes) izskata. Identificēšanai izmantoja stereomikroskopu M8 (*Leica*) un gaismas mikroskopu DM LB (*Leica*), kā arī reaģentus (Melceru, kokvilnas zilo, safranīnu, briljanta kongo zilā un kokvilnas brūnā maisījumu).

Sēņu identificēšanai izmantoja sekojošus noteicējus: Eriksson and Ryvarden (1973-1976); Eriksson et al. (1978-1984); Jülich (1984); Moser (1984); Breitenbach and Kränzlin (1984-2001); Hjortstam et al. (1987-1988); Ryvarden (1991); Ryvarden and Gilbertson (1993-1994);

Bech-Andersen (1995). Sēņu nosaukumi ir doti saskaņā ar jaunākās literatūras datiem (Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi, 2001).

Paraugus saglabāja sēņu kolekcijās LV Koksnes ķīmijas institūtā un Latvijas Dabas muzejā.

Meža atradnēs un celtniecības objektos atrasto raksturīgāko sēņu sugu makroskopiskos un mikroskopiskos attēlus uzņēma ar digitālo fotoaparātu *Canon S50* un saglabāja kompjūtera datu bāzē.

3.2.2. Koksnes noārdīšanas testi

Tests I. *Mazos* priedes koksnes aplievas paraugus pakļāva trīs brūnās trupes sēņu – *Coniophora puteana*, *Postia placenta* un *Gloeophyllum trabeum* iedarbībai 10, 20, 30, 40, 50 dienas pie 22^{o}C un 70% relatīvā mitruma (3.3.a. att.). Testa procedūras veica saskaņā ar modificētu LVS EN 113 (2000) metodi. Modifikācija ietvēra: nestandarta paraugu izmērus (20 × 20 × 5 mm) un saīsinātu testa ilgumu (10 – 50 dienas).

Katrai sēnei un testa periodam izmantoja trīs paralēlus paraugus. Pēc testa paraugus izņēma no Kolles kolbām, atbrīvoja no micēlija un žāvēja 5h pie 103 ± 2^{o}C. Masas zudumus [%] izskaitļoja pēc sausās masas pirms un pēc testa. Tālāk šos paraugus analizēja ar ^{13}C kodolmagnētiskās rezonanses spektroskopijas un ķīmiskām koksnes komponentu analīzes metodēm.

a

b

3.3. att. Testi I, II, IV: mazie priedes aplievas paraugi (20 × 20 × 5 mm) testa laikā ievietoti Kolles kolbās uz sēnes *C. puteana* micēlija (**a**) un Tests III: lielie priedes aplievas paraugi (50 × 25 × 15 mm) testa laikā Kolles kolbās uz sēnes *G. trabeum* micēlija (**b**).

Tests II. Lai konstatētu izmaiņas koksnes celulozes polimerizācijas pakāpē (PP) brūnās trupes sēņu iedarbības rezultātā, uz *maziem* priedes koksnes aplievas paraugiem uzlikta celulozes paraugus (20 x 20 x 1 mm) un pakļāva trīs brūnās trupes sēņu – *C. puteana*, *P. placenta* un *G.*

trabeum iedarbībai 6, 10, 30, 50 dienas pie 22^{o}C un 70% relatīvā mitruma. Eksperimentā izmantoja Somijā (*Rauma*) ražotu skujkoksnes sulfāta celulozi (kristāliskā daļa ap 60-70%), bet koksnes paraugi kalpoja kā maksimāli pietuvināta vide koksnes noārdīšanās testiem. Testa procedūras veica saskaņā ar modificētu LVS EN 113 (2000) metodi (skat. Tests I). Katrai sēnei un testa periodam izmantoja trīs paralēlus paraugus. Pēc testa paraugus izņēma no Kolles kolbām, atbrīvoja no micēlija un žāvēja 5h pie 103 ± 2^{o}C. Tālāk celulozes paraugus pakļāva ķīmiskai apstrādei ar kadoksēna šķīdumu, lai noteiktu izmaiņas celulozes PP.

Tests III. *Lielos* priedes koksnes aplievas paraugus pakļāva divu brūnās trupes sēņu – *C. puteana* un *P. placenta* iedarbībai 1, 2, 3 un 4 mēnešus pie 22^{o}C temperatūras un 70% relatīvā mitruma (3.3.b. att.). Šīs sēnes tika izvēlētas kā atšķirīgas brūnās trupes sugas, kur *C. puteana* ir endo- un eksoglikanāžu tipa enzīmi celulozes noārdīšanai, bet *P. placenta* ir zināmas tikai endoglikanāzes.
Testa procedūras veica saskaņā ar Eiropas standartu LVS EN 113 (2000). Katrai sēnei un testa periodam izmantoja trīs paralēlus paraugus. Pēc eksperimenta paraugus izņēma no kultivēšanas traukiem, atbrīvoja no micēlija un žāvēja 7h pie 103 ± 2^{o}C. Masas zudumus [%] izskaitļoja pēc sausās masas pirms un pēc testa. Tālāk šos paraugus analizēja ar jonapmaiņas hromatogrāfiju, skenējošo elektronu mikroskopiju un noteica paraugu ūdens tvaika sorbcijas spēju.

Tests IV. Lai raksturotu koksnes bionoārdīšanās dinamiku, t.sk. agrīnā stadijā, *mazos* priedes aplievas paraugus pakļāva brūnās trupes sēnes *C. puteana* iedarbībai 6, 8, 10, 30, 50 dienas pie 22^{o}C un 70% relatīvā mitruma (3.3.a. att.). Testa procedūras veica saskaņā ar modificētu LVS EN 113 (2000) metodi (skat. Tests I). Katram testa periodam izmantoja četrus paralēlus paraugus. Pēc testa paraugus izņēma no Kolles kolbām, atbrīvoja no micēlija un žāvēja 5h pie 103 ± 2^{o}C. Masas zudumus [%] izskaitļoja pēc sausās masas pirms un pēc testa. Pēc tam paraugus pētīja ar gaismas mikroskopijas un skenējošās UV mikrospektrofotometrijas metodēm.

3.2.3. Gaismas mikroskopija (GM)

Brūnās trupes bojātas koksnes mikroskopisko izvērtējumu paraugiem veica pēc 6, 8, 10, 30, 50 dienu ekspozīcijas uz sēnes *C. puteana* (Tests IV). Šim nolūkam ieguva plānus griezumus, kurus apstrādāja ar 1% safranīnu, lai selektīvi iekrāsotu koksnes šūnas. Pēc 5 min krāsu atsūca ar filtrpapīru un griezumus noskaloja ar destilētu ūdeni. Tad paraugus apstrādāja ar 0,1%

kokvilnas zilā indikatoru sēnes hifu iekrāsošanai. Pēc 5 min krāsu noskaloja ar destilētu ūdeni, paraugus iemērca glicerīna - ūdens šķīdumā (1:1) un skatīja ar DM LB (*Leica*) mikroskopu.

3.2.4. Skenējošā UV mikrospektrofotometrija (UMSP)

UMSP ir piemērota metode lignīna *in situ* raksturošanai un tā kvantitatīvai noteikšanai koksnes šūnas sienā.

Koksnes paraugus pēc 6, 8, 10, 30 un 50 dienu ekspozīcijas uz sēnes *C. puteana* (Tests IV) sagatavoja lignīna topoķīmiskā izvietojuma izpētei ar UMSP metodi.

Paraugus pakāpeniski atūdeņoja ar acetonu, tad piesūcināja ar Spurra epoksisveķiem (Spurr, 1969) pakāpeniskās acetona/ sveķu maisījumu sērijās, kam sekoja iegremdēšana tīros sveķos un polimerizācija 24h pie 70ºC.

Iesveķotos paraugus apgrieza, lai iegūtu aptuveni 0,5 mm^2 virsmu. Ultraplānus griezumus (1μm) iegūva ar dimanta nazi, kas uzmontēts LKB *Bromma* ultramikrotomam. Griezumus pārnesa uz kvarca mikroskopa stikliem, iemērca UV neabsorbējošā glicerīnā, pārklāja ar kvarca segstiklu un skatīja ar 32–kārtīga palielinājuma objektīvu 32:1 (skenēšana) un 100–kārtīga palielinājuma objektīvu (punktu mērījumi), pielietojot glicerīna/ ūdens maisījuma imersijas eļļu ar $n_D = 1{,}46$.

Paraugu izpēti veica ar UV mikrospektrofotometru UMSP 80 (*Zeiss*), kurš aprīkots ar skenēšanas ierīci un skenēšanas programmu APAMOS (Automatic-Photometric-Analysis of Microscopic Objects by Scanning, *Zeiss*), kas ļauj iegūt attēlu profilus pie nemainīga 280 nm viļņu garuma, kas ir skuju koku lignīna absorbcijas maksimums. Skenējošā programma digitalizē pētāmos audus taisnstūra laukos ar lokālo ģeometrisko izšķirtspēju 0,25 x 0,25 μm un fotometrisko izšķirtspēju 4096 pelēko toņu skalas līmeņos, kuri tiek pārvērsti 14 krāsās, kas raksturo absorbcijas intensitāti (Koch and Kleist, 2001).

Lignificēto koksnes šūnu sienu UV absorbcijas spektrus mērīja 240 līdz 400 nm viļņa garuma diapazonā ar 1 μm^2 punkta laukumu, lietojot programmu LAMWIN (*Zeiss*) (Koch and Grünwald, 2004).

Ultraplānu griezumu UV fotogrāfijas monohromātiskā gaismā uzņēma ar UMSP I (*Zeiss*) mikroskopu, kas aprīkots ar lineāra spoguļa monohromatoru un kvarca atstarojošo optiku. Fokusēšanu pie 280 nm UV viļņu garuma nodrošināja ar *Zeiss* attēlu pārveidotāju.

Vēlīnās un agrīnās koksnes šūnas analizēja gan ar skenēšanas palīdzību, gan ar punktu mērījumiem. Punktu analīzē katras traheīdas sekundārā sienā veica mērījumus trīs dažādos punktos. Kontroles koksnei un katram noārdīšanās periodam iegūva 60 punktu mērījumus. Lai

raksturotu koksnes bionoārdīšanas procesu, darbā iekļauti raksturīgākie lignīna UV absorbcijas spektri.

3.2.5. Celulozes PP izmaiņu noteikšana ar kadoksēna šķīdumu

Sulfāta celulozes PP izmaiņas noteica celulozes paraugiem pēc 6, 10, 30, 50 dienu ekspozīcijas uz brūnās trupes sēnēm *C. puteana*, *P. placenta* un *G. trabeum* (Tests II).

Lai noteiktu celulozes PP, ķīmiskai apstrādei izmantoja kadoksēna šķīdumu, kas saturēja 5,0 ± 0,5% kadmija un 30,0 ± 0,2% etilēndiamīna.

Kadmijetilēna kompleksa (kadoksēna) ūdens šķīdums ir bezkrāsains, noturīgs celulozes šķīdinātājs. Celulozes oksidācija kadoksēnā ir niecīga, tādējādi netraucējot izmērīt celulozes šķīduma viskozitāti gaisa klātbūtnē. Šķīdinot celulozi kadoksēnā istabas temperatūrā, šķīšana notiek lēni un nepilnīgi, tāpēc šķīdināšanu veic pazeminātā temperatūrā. Celuloze ar augstu kristalizācijas un polimerizācijas pakāpi šķīst lēnāk nekā ar zemu polimerizācijas un kristalizācijas pakāpi. Šīs īpatnības jāņem vērā, šķīdinot dažādus celulozes paraugus, kas iegūti ar dažādām vārīšanas un balināšanas metodēm. Ja celulozi iepriekš uzbriedina ūdenī, tā labāk šķīst kadoksēna šķīdumā.

Gaisa sausas celulozes iesvaru nosvēra un ievietoja sverglāzē ar tilpumu 30 cm^3 (Оболенская и др.,1991). Paralēlā iesvarā noteica mitruma saturu celulozē saskaņā ar TAPPI standartu (1994). Celulozes paraugam ar pipeti uzlēja 10 ml kodaksēna šķīduma, uzlika vāciņu un saturu samaisīja. Pēc maisīšanas trauciņus ievietoja ledusskapī pie 2...4^oC, periodiski veicot maisīšanu.

Parauga pilnīgu izšķīšanu noteica vizuāli, aplūkojot trauciņa saturu pret gaismu. Maisīšanas gaitā neizšķīdušās daļiņas atfiltrēja, lejot šķīdumu caur stikla filtru. Izfiltrēto šķīdumu salēja atpakaļ stikla trauciņā, no tā paņēma 5 ml un ielēja 0,73 mm diametra kapilārā. Viskozimetru (*Ubellode)* ievietoja ūdens rezervuārā ar konstantu temperatūru un termostatēja 20 min pie 20 ± 0,2^oC, lai pētāmais šķīdums pieņemtu šo temperatūru. Šķīduma iztecēšanas laiku no viskozimetra vienas atzīmes līdz otrai mērīja 3x, pēc tam aprēķināja vidējo vērtību. Iztecēšanas laika mērīšanai izmantoja hronometru *Casio*. Celulozes PP noteica pēc publicētām formulām (Оболенская и др., 1991).

3.2.6. Ūdens tvaiku sorbcija (ŪTS)

P. placenta un *C. puteana* noārdītos priedes koksnes paraugus pēc 1 – 4 mēnešu testa (Tests III) samala dzirnaviņās un frakciju ar izmēru 0,5 – 1,0 mm izmantoja izotermu uzņemšanai. Datus

ūdens tvaiku sorbcijas – desorbcijas izotermām ieguva uz vakuuma svariem ar kvarca spirālēm kā jutīgo elementu (jutība 1,5 – 2,0 mm/mg) pie 22 ± 0,1°C. Spirāļu pagarināšanos mērīja ar horizontālo mikroskopu *Katetometr B-630* ar precizitāti 0,005 mm. Līdzsvara sasniegšanas laiks katrā izotermas punktā bija 20 – 24h.

Izotermas analizēja ar Brunauera, Emmeta un Tellera (BET) metodi (Greg and Sing, 1984) kombinācijā ar salīdzinošo metodi (Chirkova et al., 2004; 2006). BET metodes pamatā ir adsorbcijas procesa kinētiskais modelis. Pēc šī modeļa, cieta ķermeņa virsmu uzskata kā adsorbcijas vietu kopumu. BET metode ir pielietojama koksnes sorbcijas pētījumiem, nosakot monomolekulārā slāņa (monoslāņa) a_m kapacitāti. Savukārt, ūdens molekulām pieejamo specifisko virsmu A nosaka ar salīdzinošo metodi pēc standarta (celulozes) izotermas.

BET vienādojuma pamatā ir sekojoša formula:

$$\frac{a}{a_m} = \frac{C*(P/P_0)}{(1-P/P_0)}*[1+(C-1)*(P/P_0)],$$

kur

a – adsorbcija pie spiediena P;

a_m – adsorbcija, kas atbilst virsmas pārklāšanai ar monoslāni jeb hidrofīlo centru masas koncentrācija, mMol/g;

P/P_o – relatīvais tvaika spiediens (P_o – piesātināta tvaika spiediens);

C – enerģetiskā konstante (atbilst izotermas izliekumam).

BET vienādojums lineārā formā:

$$\frac{P/P_0}{a(1-P/P_0)} = \frac{1}{a_m C} + \frac{C-1}{a_m C(P/P_0)},$$

kur mainīgie lielumi ir a (adsorbcija) un P/P_o (relatīvais tvaika spiediens).

Objekta specifisko virsmu A (m^2/g), kas pieejama ūdens molekulām, noteica ar salīdzinošo metodi, iegūtos mērījumu rezultātus salīdzinot ar standarta (celulozes) izotermu.

Hidrofīlo centru virsmas koncentrāciju α (grupas/nm^2) noteica pēc sekojošas formulas:

$$\alpha = \frac{a_m N}{A},$$

kur

a_m – hidrofīlo centru masas koncentrācija, mMol/g;

N- Avogadro skaitlis;

A - pieejamā specifiskā virsma, m^2/g.

Sorbcijas tilpums $W_{0,95}$ (cm^3/g) raksturo materiāla poru tilpumu, un to noteica pēc maksimālā adsorbcijas lieluma uz izotermas pie spiediena, kas tuvs piesātinātam tvaikam (P/Po ≈ 0,95).

$$W = \frac{a}{\rho},$$

kur

$a_{0,95}$ – adsorbcija pie $P/P_o \approx 0,95$

ρ – šķidrā sorbāta (ūdens) blīvums, g/cm^3

Poru vidējo diametru D_{vid} aprēķināja pēc sorbcijas tilpuma un specifiskās virsmas attiecības:

$$D_{vid} = \frac{4W}{A},$$ pieņemot, ka poru forma ir cilindiska

kur

W – sorbcijas tilpums, cm^3/g;

A –pieejamā specifiskā virsma, m^2/g.

Kopumā noteica sekojošus paraugu mikrostruktūras raksturlielumus: hidrofīlo centru masas un virsmas koncentrācijas (**a_m**, mMol/g un **α**, grupas/nm^2), pieejamo specifisko virsmu (**A**, m^2/g), sorbcijas tilpumu (**W**, cm^3/g) un vidējo poru diametru (**D_{vid}**).

3.2.7. Skenējošā elektronu mikroskopija (SEM)

SEM metodi izmantoja, lai izsekotu koksnes šūnas sienas noārdīšanās dinamikai noteiktā laika periodā. Metode ļāva pētīt dziļi un nevienmērīgi noārdītas koksnes šūnas sienas.

SEM pētījumus lielā mērā ietekmē paraugu griešanas kvalitāte, tādēļ to parasti veic sasaldētiem paraugiem. Pat tad naža (stikla vai cita) griezējmala var ietekmēt trauslo šūnas sienas struktūru un nolīdzināt īsto virsmas struktūru. Agrīnā noārdīšanās stadijā koksnes paraugs ir ļoti nevienāds, un tā sagatavošana var radīt nepareizu ainu par šīm nelielajām strukturālajām izmaiņām. Alternatīva metode ir koksnes paraugu laušana. Tā kā koksnes šūnas siena sastāv no dažāda veida un struktūras slāņiem, laušanas metode atklāj izmaiņas koksnes šūnā jau agrīnā bojājumu pamatstadijā.

Šajā darbā ir iekļautas noārdītas koksnes sekvences (1 – 4 mēneši), kas iegūtas ar laušanas metodi. Kontroles paraugi nav parādīti, jo laušanas metodes rezultātā iegūtās veselas koksnes virsmas bija tik nelīdzenas, ka neizdevās iegūt to mikrogrāfijas.

SEM mikrogrāfijas ieguva no *P. placenta* un *C. puteana* bojātas koksnes pēc 1 – 4 mēnešu ilga noārdīšanas perioda (Tests III). SEM paraugus ieguva no koksnes bloku apakšējās virsmas, kura atradās tuvāk substrātam.

Koksnes paraugus sagrieza divās daļās (1/3 un 2/3), tad 2/3 daļu sašķēla ar nazi un salauza, lai iegūtu lauztu virsmu. Pēc atbilstoša parauga iegūšanas, to piestiprināja paraugu turētājam ar speciālo līmi, apputināja ar zeltu un pētīja ar JEOL skenējošo elektronu mikroskopu *JSM 840 A*, 15 kV pieaugošā spriegumā. Visas mikrogrāfijas uzņēma ar vienādu palielinājumu. Šajā darbā ir iekļauti tikai vēlīnās koksnes šūnu attēli, jo to biezās šūnu sienas uzrādīja izteiktas strukturālas izmaiņas pēc sēņu iedarbības, kuras bija grūtāk novērojamas plānajās agrīnās koksnes šūnu sienās.

3.2.8. ^{13}C Kodolmagnētiskās rezonanses spektroskopija (KMR)

Ar KMR metodi analizēja koksnes paraugus pēc 10, 20, 30, 40, 50 dienu ekspozīcijas uz brūnās trupes sēnēm *C. puteana*, *P. placenta* un *G. trabeum* (Tests I).

Koksnes paraugu izpēti veica ar KMR metodi cietvielā, lietojot šķērspolarizāciju un paraugu griešanu zem leņķa (Teeäär et al., 1994). Spektrus uzņēma ar spektrometru *Brucker CXP 200 NMR* pie oglekļa izotopa ^{13}C frekvences 50,3 MHz, izmantojot pašizgatavotu dubultas sistēmas parauga turētāju. Lai kompensētu paraugu ķīmisko anizotropiju, rotoru ar 7 mm iekšējo diametru un paraugu ar tilpumu ap 0,4 cm^3 rotēja ar frekvenci 4 līdz 5 kHz zem 54,7^o leņķa attiecībā pret ārējā magnētiskā lauka virzienu. Šķērspolarizāciju un radio frekvenču sadalīšanos panāca, izmantojot lauku ar 55 kHz frekvenci.

3.2.9. Celulozes un lignīna satura ķīmiskā analīze koksnē

Koksnes komponentus pēc 10, 20, 30, 40, 50 dienu noārdīšanās periodiem uz sēnēm *C. puteana*, *P. placenta* un *G. trabeum* (Tests I) analizēja ar ķīmiskām metodēm.

Celulozi noteica ar slāpekļskābes – spirta metodi (Kiršnera – Hofera metode).

Metode pamatojas uz koksnes apstrādi ar slāpekļskābes - etanola šķīdumu, kas sastāv no vienas daļas koncentrētas slāpekļskābes (blīv. 1,4 g/cm^3) un četrām daļām 96% etanola. Apstrādes rezultātā lignīns nitrējas un daļēji oksidējas, bet hemicelulozes hidrolizējas aptuveni 65 - 75% apjomā. Radušies produkti šķīst spirtā.

Vispirms ieguva koksnes paraugu skaidu frakciju ar daļiņu izmēriem no 1 - 0,25 mm. Apmēram 1 g gaissausu skaidu iebēra 250 ml koniskā kolbā un tās pārlēja ar 25 ml slāpekļskābes - spirta

maisījuma. Kolbai pievienojot atteces dzesētāju, skaidas 1h karsēja vārošā ūdens vannā. Pēc tam skaidas nosēdināja un šķidrumu nolēja caur stikla poru filtru. Uz filtra nokļuvušās skaidas ar svaigu slāpekļskābes - spirta maisījumu (25 ml) iemazgāja atpakaļ kolbā un no jauna vārīja 1h. Procedūru atkārtoja 3 - 4 reizes. Pēc pēdējās apstrādes celulozi nofiltrēja uz sausa stikla poru filtra, atmazgāja ar 10 ml svaiga slāpekļskābes - spirta maisījuma un beigās ar karstu ūdeni. Filtrus ar atmazgāto celulozi žāvēja pie 103 ± 2^{o}C līdz pastāvīgai masai un tad nosvēra. Celulozes saturu paraugos izskaitļoja kā tās masas daļu [%] pret absolūti sausu koksni (Browning, 1967).

Lignīna noteikšana ar sērskābās hidrolīzes metodi (Klāsona metode).

Metode balstās uz kvantitatīvu lignīna izdalīšanu no koksnes, koksnes polisaharīdus hidrolizējot ar koncentrētu sērskābi.

Vispirms ieguva koksnes paraugu skaidu frakciju ar daļiņu izmēriem < 1 mm. Aptuveni 1 g skaidu iebēra 50 ml koniskā kolbā un iesvaram pievienoja 15 ml 72% sērskābes (blīv. 1,64 g/ cm^3). Kolbu uz 2h ievietoja termostatā pie 24 - 25^{o}C, periodiski apmaisot tās saturu. Pēc tam lignīna un skābes maisījumu pārnesa 500 ml koniskā kolbā ar 200 ml destilēta ūdens. Kolbā ar atteces dzesētāju maisījumu vārīja 1h. Tad lignīnu atfiltrēja uz stikla poru filtra un atmazgāja no skābes ar karstu ūdeni. Filtrus ar lignīnu žāvēja pie 103 ± 2^{o}C līdz pastāvīgai masai. Lignīna saturu paraugos izskaitļoja kā tā masas daļu [%] pret absolūti sausu koksni (Browning, 1967). Papildus noteica lignīna sastāvā ietilpstošās metoksilgrupas (Zakis, 1994).

Pamatojoties uz celulozes un lignīna satura izmaiņām, abu komponentu zudumus [%] paraugos izskaitļoja pēc sekojošas shēmas. Koksnes masa [g] pēc sēnes iedarbības:

$$m_1 = \left(m_0 - m_0 * \frac{sv.zud.\%}{100} \right),$$

kur

$m_{0\,-}$ koksnes sākuma masa;

m_1 – koksnes beigu masa

sv.zud.% - procentuālie masas zudumi pēc sēnes iedarbības.

Komponenta (celuloze, lignīns) saturs [g] koksnē:

a) pirms sēnes iedarbības

$$cel_0 = m_0 * \frac{cel_0\%}{100}$$

b) pēc sēnes iedarbības

$$cel_1 = m_1 * \frac{cel_1\%}{100}$$

Komponenta (celuloze, lignīns) zudumi [%] sēnes iedarbības rezultātā:

$$cel.zud.\% = \left(\frac{cel_0 - cel_1}{cel_0} \right) * 100$$

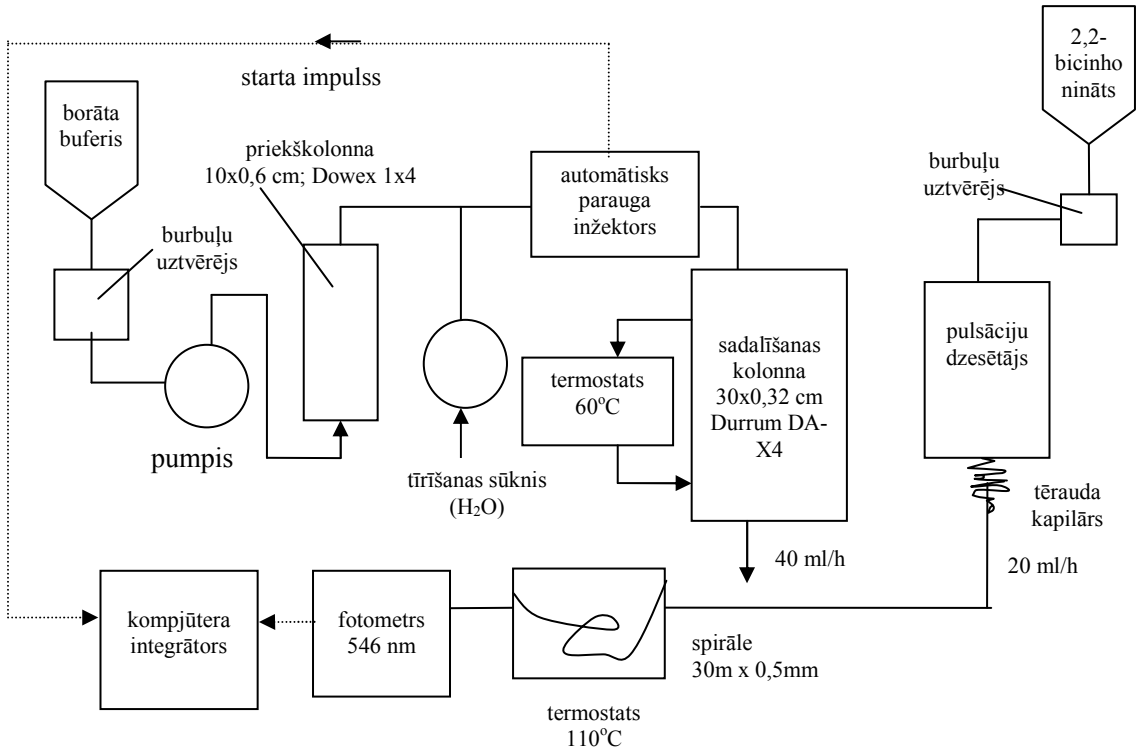
$$cel.zud.\% = \frac{\left(m_0 * \frac{cel_0\%}{100} \right) - \left(m_1 * \frac{cel_1\%}{100} \right)}{m_0 * \frac{cel_0\%}{100}} * 100 = \left(1 - \frac{m_1 * \frac{cel_1\%}{100}}{m_0 * \frac{cel_0\%}{100}} \right) * 100 =$$

$$1 - \frac{\left[m_0 - \left(m_0 * \frac{sv.zud.\%}{100} \right) \right] * \frac{cel_1\%}{100}}{m_0 * \frac{cel_0\%}{100}} * 100$$

3.2.10. Jonapmaiņas hromatogrāfija (JAH)

Polisaharīdu sastāva noteikšanu brūnās trupes bojātā koksnē veica ar skābju hidrolīzi, kurai sekoja monomēru cukuru analīze (Uremovic et al., 1994). Paraugus kvantitatīvai borāta jonu apmaiņas hromatogrāfijai ieguva no koksnes blokiem (Tests III), kurus pakļāva *C. puteana* un *P. placenta* noārdīšanai divus un četrus mēnešus. Paraugus noņēma no koksnes bloku vidusdaļas pēc to pārgriešanas šķērsvirzienā.

Koksnes materiālu samala un pakļāva skābju hidrolīzei. Pirmējai hidrolīzei 200 mg sausu skaidu hidrolizēja ar 72% sērskābi 1h pie 30^{o}C. Otrējo hidrolīzi veica, pēc atšķaidīšanas ar ūdeni līdz 4% sērskābes koncentrācijai, autoklāvējot 40 min pie 120^{o}C. Tad hidrolizātu izfiltrēja caur stikla filtru, lai noteiktu tajā lignīna daļu. Skābes filtrātu, kas saturēja cukurus, ievadīja kolonnā (30 x 0,32 cm) ar anjonu apmaiņas sveķiem *Durrum* DA-X4 (20 μm). Kustīgā fāze bija 0,475 M kālija borāta buferis, pH 9,2. Lai noteiktu cukurus kolonnas eluātā, to reducēšanai lietoja 2,2-bicinhoninăta reaģentu. Ar šo metodi bija iespējams noteikt cukurus daudzumā līdz 0,01 μg. Cukuru analizātora shēma ir parādīta 3.4. attēlā.



3.4. att. Cukuru analīzes sistēmas shēma (JAH).

3.2.11. Koksnes biodegradācijas izpētes metodes dažādos procesa posmos

3.1. tabulā apkopoti dati par metodēm, kuras noteiktos biodegradācijas procesa laika posmos lietoja dažāda izmēra koksnes paraugos notiekošo strukturālo un bioķīmisko procesu izpētei.

3.1. tabula. Koksnes biodegradācijas pētījumos izmantoto paraugu un metožu* apkopojums.

Degradācijas laiks (dienas)	Mazie koksnes paraugi (20 × 20 × 5 mm)	Lielie koksnes paraugi (50 × 25 × 15 mm)	Sulfātcelulozes paraugi (20 x 20 x 1 mm)
6 – 8	GM, UMSP		PP
10	GM, UMSP, ^{13}C KMR, ĶA		PP
20	^{13}C KMR, ĶA		
30	GM, UMSP, ^{13}C KMR, ĶA	ŪTS, SEM	PP
40	^{13}C KMR, ĶA		
50 – 60		ŪTS, SEM, JAH	PP
90		ŪTS, SEM	
120		ŪTS, SEM, JAH	

* Metožu apzīmējuma saīsinājumi: gaismas mikroskopija (GM); skenējošā UV mikrospektrofotometrija (UMSP); celulozes polimerizācijas pakāpes izmaiņu noteikšana ar kadoksēna šķīdumu (PP); ūdens tvaiku sorbcija (ŪTS); skenējošā elektronu mikroskopija (SEM); ^{13}C kodolmagnētiskās rezonanses spektroskopija (^{13}C KMR); celulozes (Kiršnera – Hofera metode) un lignīna (Klāsona metode) satura ķīmiskā analīze (ĶA); jonapmaiņas hromatogrāfija (JAH).

4. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

4.1. Koksnes trupes sēnes mežos un koka konstrukcijās

4.1.1. Koksnes trupes sēnes Latvijas mežu ekosistēmās

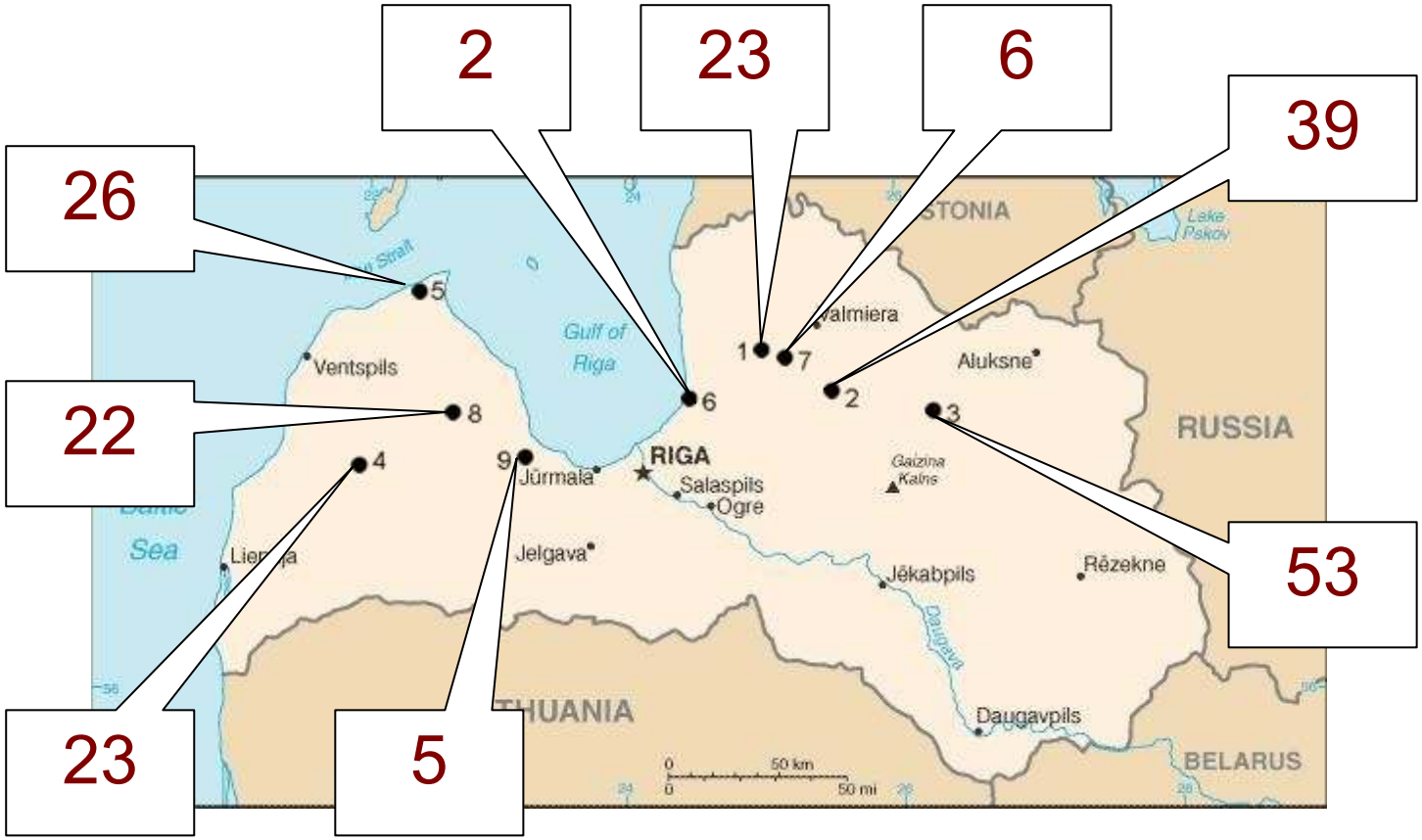
Apsekojot deviņas Latvijas mežu ekosistēmu atradnes (skat. 3.1.1), pavisam atrastas 144 koksnes trupes sēņu sugas (Karadelev et al., 2005). Visas reģistrētās sugas pieder bazīdijsēņu (*Basidiomycota*) nodalījumam. To substrāti un atradnes ir norādītas pielikuma 1. tabulā.

Vairums no atrastajām sugām pieder afiloforu (*Aphyllophorales)* rindai. Kopīgais dzimtu skaits ir 32. Visvairāk sugu pieder *Coriolaceae* (34), *Hyphodermataceae* (14), *Hymenochaetaceae* (9), *Pluteaceae* (9) un *Tricholomataceae* (8) dzimtām.

Visvairāk koksnes trupes sēņu sugu – 53, tika reģistrētas Pededzē, kam seko Mežole ar 39 sugām (4.1. att.). Abas atradnes atrodas dabas liegumu teritorijā. Savukārt, trijās Kurzemes atradnēs (Riežupe, Zilie kalni, Šķēde) un vienā Vidzemes atradnē (Lēdurga) reģistrēto sugu skaits bija nedaudz virs 20. Visas augstākminētās atradnes raksturo jauktā tipa meži, izņemot Šķēdi, kurā dominēja dižskābardis, taču bija sastopamas arī citas koku sugas (pielik., 1. tab.). Pededzes lielais sēņu sugu skaits skaidrojams ar substrāta daudzveidību – šajā atradnē sēnes tika atrastas uz 14 koku sugām. Bez tam, Pededzē atrodas vecs ozolu mežs, kas uzskatāms par retumu Latvijā. Jāpiemin, ka vairāk nekā puse no šajā atradnē reģistrētajām koksnes sēnēm tika atrastas tieši uz ozola.

Vismazāk trupes sēņu sugu (2 – 6) tika atrasts Saulkrastos, Ķemeru NP un Ungurmuižā. Niecīgais reģistrēto sugu skaits šajās atradnēs ir skaidrojams ar šo teritoriju biotopu īpatnībām. Piemēram, Saulkrastu priežu stādījumā kā vienīgais koksnes sēņu augšanas substrāts bija priede, Ķemeru NP purvainais apvidus bija nabadzīgs ar kokiem, bet Ungurmuižas ozolu parkā dominēja ozols. Kā interesants izņēmums bija Šķēdes dižskābaržu stādījums, kurā tika atrastas 22 koksnes sēņu sugas. Gandrīz visas sēņu sugas tika atrastas uz dominējošā dižskābarža. Tomēr daļa sēņu bija sastopamas uz citām atradnes koku sugām, piemēram, ozola, gobas, liepas, oša, bērza, egles, priedes, apses utt.

Ir zināms (Renvall, 1995), ka koksnes sēņu izplatību un daudzveidību nosaka vairāki faktori, svarīgākais no kuriem ir atbilstoša substrāta klātbūtne. Citi nozīmīgi koksnes sēņu sugu sastāvu ietekmējošie faktori ir temperatūra, mitrums, gaisma, kā arī koksnes palieku izmēri un kritalu daudzums (Andersson, 1987). Mikroklimats dažāda izmēra koksnes paliekās var ievērojami atšķirties. Piemēram, liela diametra koksnes paliekās saglabājas pastāvīgāks mikroklimats, kas pasargā sēnes micēliju no straujām temperatūras maiņām un ātras mitruma



4.1. att. Identificēto trupes sēņu sugu skaits apsekotajās Latvijas mežu ekosistēmu atradnēs (1 – Lēdurga, 2 – Mežole, 3 – Pededze, 4 –Riežupe, 5 – Zilie kalni Slīterē, 6 – Saulkrasti, 7 – Ungurmuiža, 8 – Šķēde, 9 – Ķemeru NP).

iztvaikošanas (Boddy, 1983). Šo faktoru iedarbība izskaidro atšķirības koksnes sēņu sugu sastāvā dažādos mežu augšanas apstākļu tipos. Bez tam, koksnes sēņu daudzveidību ietekmē mežsaimnieciskā darbība, jo apsaimniekotos mežos ir mazāk liela diametra mirušas koksnes atlieku, kā arī vecu koku. Saimnieciskās darbības ietekme uz koksnes sēņu daudzveidību īpaši bija vērojama mūsu apsekotajā priežu stādījumā.

No 1. tabulas (pielik.) izriet, ka vairums sugu ir saprotrofi (>90%) un aug uz celmiem, kritušiem stumbriem un zariem, kamēr desmit sugas ir reģistrētas kā parazīti. Raksturīgākas parazītu sugas ir *Armillaria mellea, Fomes fomentarius, Fomitopsis pinicola, Ganoderma applanatum, Heterobasidion annosum, Laetiporus sulphureus, Piptoporus betulinus, Phellinus igniarius*, *Ph. tremulae* u.c.

Vairums identificēto trupes sēņu ir bieži sastopamas Latvijā (Meiere, 2002; Daniele un Krastiņa, 2002). Starp tām, visbiežāk sastopamās sugas uz skuju kokiem ir *Antrodia sinuosa, Fomitopsis pinicola, Gloeophyllum sepiarium, Oligoporus caesius* un *Trichaptum abietinum.* Savukārt, parastākās sugas uz lapu kokiem ir *Armillaria mellea, Bjerkandera adusta, Crepidotus mollis, Fomitopsis pinicola, Fomes fomentarius, Ganoderma applanatum, Inonotus radiatus, Marasmiellus ramealis*, *Oxyporus populinus, Phellinus igniarius, Phellinus punctatus, Phellinus tremulae, Piptoporus betulinus, Pluteus cervinus, Pluteus salicinus, Stereum gausapatum, Trametes hirsuta, Trametes ochracea* un *Trametes versicolor*. Dažas no ievāktajām piepēm kā *Ceriporia excelsa* un *Schyzopora paradoxa* parasti aug uz atmirušiem lapu kokiem, bet mūsu gadījumā tās tika atrastas uz egles, kas ir netipiski. *Gloeophyluum sepiarium,* kas parasti aug uz kritušiem egles stumbriem un celmiem, mūsu gadījumā tika atrasta uz apses. *Phaeolus schweinitzii* parasti aug uz koku saknēm vai vecu, dzīvu priedes stumbru pamatnes, bet reti ir sastopama uz egles, kā tas konstatēts mūsu pētījumā.

Atsevišķas atrastās sugas ir reti sastopamas Latvijā. Par retām uzskata sugas, kurām nedraud iznīkšana, bet kuras sastopamas tik nelielā skaitā, vai arī pēc platības tik ierobežotās un tik specifiskās vietās, ka var ātri iznīkt (Latvijas Sarkanā grāmata, 1996). Šajā pētījumā konstatētas 14 retas sugas: *Gymnopilus spectabilis, Hapalopilus croceus, Lentinus cyathiformis, Lentinus suavissimus, Leptoporus mollis, Oligoporus placentus, Phellinus ferrugineofuscus, Pholiota astragalina, Pleurotus cornucopiae, Pluteus depauperatus, Pluteus dietrichii, Pluteus exiguus, Ramicola sumptuosa, Tubaria confragosa.* Ir zināms, ka dažas no šīm sugām, piemēram, *Hapalopilus croceus* un *Polyporus tuberaster* ir apdraudētas un aizsargājamas Igaunijā (Parmasto, 2004). Reto sugu izvietojums pa atradnēm parādīts 4.1. tabulā, bet to augļķermeņu makromorfoloģija parādīta 4.2. attēlā.

4.1. tabula. Reto un Latvijā pirmo reizi reģistrēto koksnes sēņu sadalījums apsekotajās atradnēs.

Atradne	Reta suga	Pirmo reizi reģistrēta Latvijā
Slīteres NP (Zilie kalni)	*Gymnopilus spectabilis* *Leptoporus mollis* *Pluteus dietrichii* *Ramicola sumptuosa*	*Botryobasidium conspersum* *Hyphoderma puberum* *Pluteus primus* *Tubulicrinis calothrix*
Ķemeru NP	*Tubaria confragosa*	*Hyphodontia arguta*
Gaujas NP (Ungurmuiža)	*Hapalopilus croceus* *Pluteus depauperatus*	-
Ziemeļvidzemes Biosfēras rezervāts (Lēdurga, Saulkrasti)	*Lentinus cyathiformis* *Lentinus suavissimus* *Pleurotus cornucopiae*	*Botryobasidium subcoronatum* *Hyphodontia barba-jovis* *Laxitextum bicolor* *Polyporus tuberaster* *Phanerochaete laevis*
Dabas liegumi (Mežole, Pededze)	*Hapalopilus croceus* *Leptoporus mollis* *Phellinus ferrugineofuscus*	*Asterostroma laxum* *Athelia bombacina* *Athelia epiphylla* *Athelia neuhofii* *Botryobasidium botryosum* *Botryobasidium conspersum* *Botryobasidium subcoronatum* *Exidiopsis calcea* *Hyphoderma puberum* *Hyphodontia arguta* *Pluteus primus* *Schizopora paradoxa* *Tubulicrinis glebulosus*
Riežupes dabas parks	*Oligoporus placentus* *Pholiota astragalina* *Pluteus exiguus*	*Botryobasidium laeve* *Hyphoderma praetermissum* *Hyphodontia alutacea* *Leucogyrophana pseudomolusca*
Dižskābaržu stādījums (Šķēde)	*Ramicola sumptuosa*	-

Ir zināms, ka *H. croceus* aug uz lieliem, veciem ozoliem. Sēne Eiropā sastopama ļoti reti. Latvijā tā sastopama biežāk, pateicoties vecu ozolu lielākam daudzumam. Mūsu gadījumā piepe tika atrasta Ungurmuižas ozolu parkā un Pededzes ozolu mežā. Savukārt*, L. mollis, O. placentus, Ph. ferrugineofuscus* ir zināmas kā dabisko, netraucēto mežu indikatori Eiropā, kas aug uz lielām egļu kritalām vecos, ēnainos, mitros skujkoku mežos, līdz ar to ir reti sastopamas.

22 koksnes trupes sēnes Latvijā ir reģistrētas pirmo reizi (4.1. tab.). Vairums no tām ir kortīciju dzimtas pārstāves, kuras pieder *Athelia, Botryobasidium, Hyphoderma, Hyphodontia* un *Tubulicrinis* ģintīm.

Hapalopilus croceus

Lentinus cyathiformis

Leptoporus mollis

Oligoporus placentus

4.2. att. Latvijā reģistrētās reto sēņu sugu pārstāves. *H. croceus* tika atrasta uz veciem ozoliem Ungurmuižas parkā, Gaujas NP, un Pededzes dabas liegumā; *L. cyathiformis* – uz lapu koksnes Lēdurgā, Ziemeļvidzemes Biosfēras rezervātā; *L. mollis* – uz egles Slīteres NP un Mežoles dabas liegumā; *O. placentus* – uz skuju koksnes Riežupes dabas parkā.

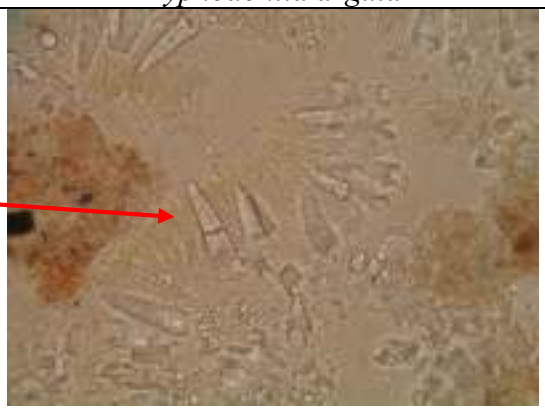
Atsevišķu sugu augļķermeņu un himēnija morfoloģija ir parādīta 4.3. attēlā. Kortīcijas Latvijā iepriekš ir maz pētītas, galvenokārt šīs sēņu grupas speciālistu trūkuma dēļ. Kortīcija *Amphinema byssoides* tika atrasta vienā atradnē (Mežole), lai gan tā ir parasta un plaši izplatīta ziemeļu skuju koku mežos kā viena no raksturīgām sēņu sugām (Eriksson and Ryvarden, 1973). *Athelia* (*A. bombacina, A. epiphylla, A. neuhofii*) un *Botryobasidium* (*B. botryosum, B. conspersum, B. laeve, B. subcoronatum*) ģinšu sugas ir parastas Ziemeļeiropā, un domājams, ka tās ir parastas arī Latvijā. *Hyphoderma, Hyphodontia* un *Phanerochaete* ģintis ir parastas Ziemeļeiropā (Eriksson and Ryvarden, 1975, 1976; Eriksson et al., 1978), kamēr Latvijā trūkst datu par to izplatību un sastopamības biežumu. *Tubulicrinis* ģints sugas (*T. calothrix* un *T. glebulosus*) ir pirmo reizi reģistrētas Latvijā. Šīs sugas ir aprakstītas kā parastas visās Ziemeļvalstīs (Hjortstam et al., 1988). *Asterostroma laxum* ir jauna suga Latvijā, un saskaņā ar iepriekšējām ziņām (Hallenberg and Eriksson, 1985), ir ļoti reta,

atrodama tikai dažviet Ziemeļeiropā. Visvairāk pirmo reizi publicēto sugu (13) tika atrasts dabas liegumu (Mežole, Pededze) atradnēs. Tas varetu būt skaidrojams ar piemērotu apstākļu, piemēram, sēņu augšanas substrātu (koka sugu) lielāku daudzveidību šajos jauktā tipa mežos.

Botryobasidium subcoronatum

Hyphodontia arguta

Hyphoderma puberum

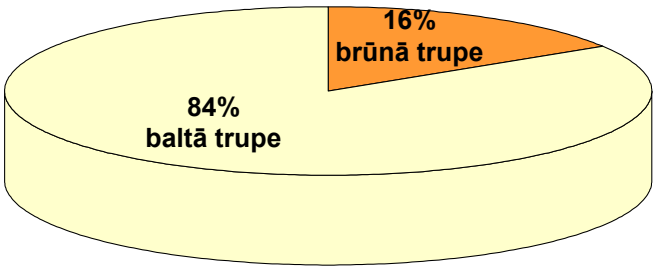


Hyphoderma puberum tipiskas lamprocistīdijas mikroskopiskā griezumā (10x)

4.3. att. Latvijā pirmo reizi reģistrēto koksnes sēņu pārstāves. *B. subcoronatum* tika atrasta uz ozola un egles koksnes Lēdurgā, Ziemeļvidzemes Biosfēras rezervātā, un Mežoles dabas liegumā; *H. arguta* – uz satrupējušas koksnes Ķemeru NP un Mežoles dabas liegumā; *H. puberum* – uz egles Slīteres NP un Mežoles dabas liegumā.

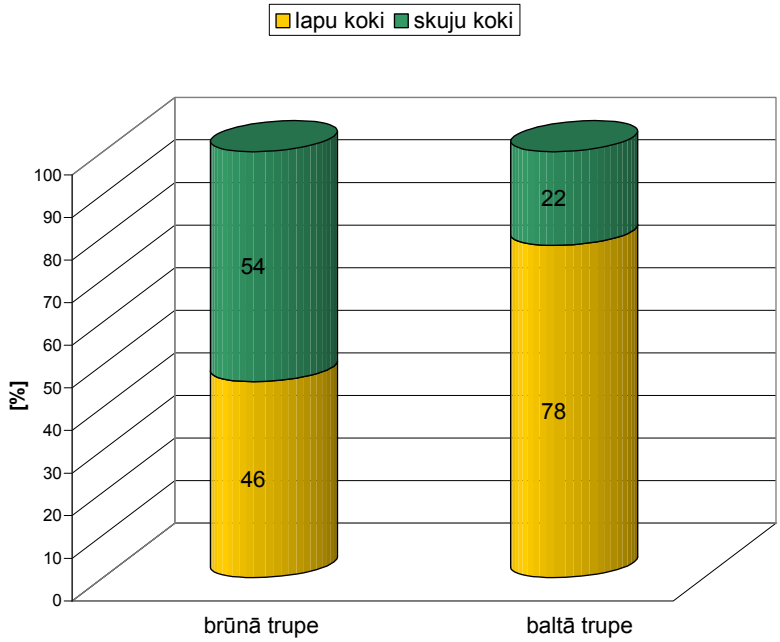
Šķēdes dižskābaržu stādījums ir vienīgais šāda veida biotops Latvijā. Sēņu materiāls tika ievākts ar mērķi salīdzināt sēņu daudzveidību stādījumā un dabiskā dižskābaržu mežā. Salīdzinot ar literatūras datiem (Breitenbach and Kränzlin, 1984-2001) konstatējām, ka visas stādījumā atrastās sugas aug arī dabīgos dižskābaržu mežos Centrāl- un Dienvideiropā. *Armillaria mellea, Bjerkandera adusta, Datronia mollis, Ganoderma applanatum, Inonotus nodulosus, Polyporus varius, Steccherinum fimbriatum* un *Trametes versicolor* ir tipiskas dabīgo dižskābaržu mežu sēnes, kas tika atrastas arī Šķēdes stādījumā.

Attiecībā uz brūnās un baltās trupes sēņu sadalījumu apsekotajās mežu atradnēs, tika konstatētas 23 brūnās trupes sēnes, kas sastāda 16% no kopīgi reģistrēto sēņu sugu skaita (4.4. att.). Tās pieder *Antrodia, Coniophora, Dacrimyces, Daedalea, Fomitopsis, Gloeophyllum, Laetiporus, Lentinus, Leptoporus, Leucogyrophana, Oligoporus, Paxillus, Phaeolus, Piptoporus* un *Pycnoporellus* ģintīm. Ir zināms (Ryvarden, 1991), ka Eiropā brūnās trupes sugas sastāda 22% no visām sēnēm. Latvijā šis skaits ir aptuveni tāds pats, 22-23% (Meiere, 2002).



4.4. att. Brūnās un baltās trupes sēņu attiecība apsekotajās Latvijas mežu ekosistēmu atradnēs.

Pēc literatūras datiem (Ryvarden, 1991; Ryvarden and Gilbertson, 1993-1994), vairums brūnās trupes sēņu inficē skuju kokus, kamēr baltās trupes sēnes biežāk sastopamas uz lapu kokiem. Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka brūnās trupes sēnes bija sastopamas gandrīz vienādā daudzumā gan uz skuju, gan lapu koksnes, savukārt, baltās trupes sēnes izteikti dominēja uz lapu koksnes (4.5. att.).



4.5. att. Brūnās un baltās trupes sēņu sastopamība uz lapu un skuju kokiem.

4.1.2. Koksnes trupes sēnes celtniecības koksnē Latvijā

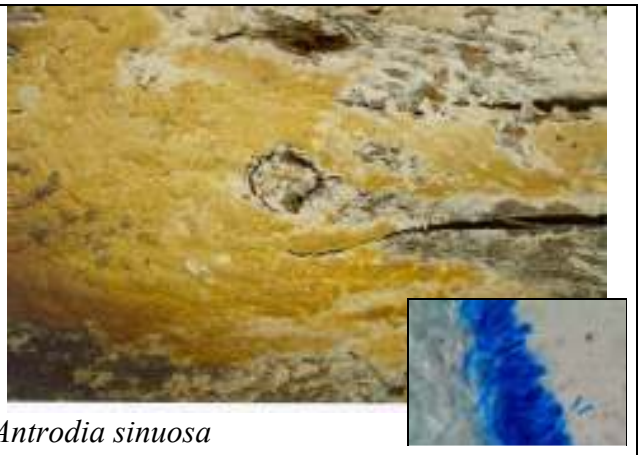
No 1996. – 2005. gadam mūsu laboratorija reģistrējusi 284 gadījumus Latvijā, kuros celtniecības koksni bojājušas trupes sēnes. Reģistrēti tie gadījumi, kuros ir apsekoti celtniecības objekti vai laboratorijai piegādāti paraugi no objektiem. No tiem, 265 gadījumos sēnes identificētas līdz sugai, bet pārējos 19 gadījumos sēņu identificēšana nebija iespējama, jo tika atrasta tikai satrupējusi koksne vai micēlija paliekas. Sēnes atrastas gan Latvijas kultūras pieminekļos (baznīcās, pilīs, muižās), gan privātās ēkās, gan ārējā celtniecības koksnē (stabos, nožogojumos, solos, trepēs, laipās, brīvdabas skatuvē).

Trupes sēņu ieviešanos ēkās veicināja to slikta uzturēšana vai nepareiza ēkas konstrukcija. Sēnes parasti bija atrodamas vietās, kur regulāri uzkrājas mitrums un nav ventilācijas, piemēram, tekošos jumtos, slapjos pagrabos, neapkurinātās telpās, bojātu ūdensvadu tuvumā vai vietās, kur veidojās ūdens kondensāts. Visbiežāk koksnes trupes sēņu bojājumi tika konstatēti ēku grīdās.

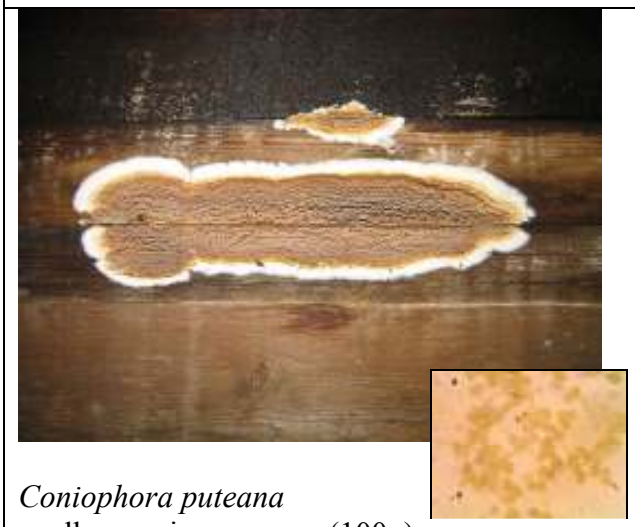
Brūnās trupes sēnes konstatētas daudz biežāk - 86% gadījumu, kamēr baltās trupes sēnes tikai 14% gadījumu, kas skaidri liecina par brūnās trupes sēņu dominējošo lomu konstrukciju koksnes bojājumos Latvijā. Brūnās trupes sēņu ievērojamais pārsvars Latvijas celtnēs ir skaidrojams ar skuju koksnes (priede, egle) plašo izmantošanu. 4.2. tabulā parādītas trupes sēnes, kuras identificētas celtniecības koksnē. Visbiežāk sastopamās no tām ir *Serpula lacrymans* (149 gadījumi), *Antrodia* sp. (38), *Coniophora puteana* (19) un *Gloeophyllum* sp. (8). Galvenās sugas ir parādītas 4.6. attēlā.

Jāatzīmē, ka Latvijā reti sastopamā piepe *Oligoporus placentus* (4.1. tab.), kura tika atrasta Riežupē mūsu ekspedīcijas laikā (4.1. att.), iepriekš ir atrasta arī ēkās, inspicējot sēņu bojātos objektus (4.2. tab.). Tāpat, Latvijā pirmo reizi reģistrētās sugas *Hyphoderma praetermissum, Hyphodontia alutacea, Leucogyrophana pseudomolusca, Hyphoderma puberum* tika atrastas gan mežu atradnēs (4.1. tab.), gan ārējā celtniecības koksnē (4.2. tab.).

Serpula lacrymans
augļķermenis un sporas (100x)



Antrodia sinuosa
augļķermenis un himēnijs ar sporām (100x)



Coniophora puteana
augļķermenis un sporas (100x)

Gloeophyllum abietinum augļķermenis

4.6 att. Visbiežāk sastopamās brūnās trupes bazīdijsēnes Latvijas celtnēs. Attēlā redzams *S. lacrymans* brūns, klājenisks augļķermenis zem grīdas seguma, bazīdijsporas 9-12 x 4,5-6 µm; *A. sinuosa* dzeltenīgi brūns, klājenisks augļķermenis uz griestu pārseguma, himēnijs ar bazīdijsporām (4-5,5 x 1-1,5 µm) iekrāsoti ar kokvilnas zilā indikatoru; *C. puteana* brūns, klājenisks augļķermenis ar kārpainu virsmu uz sienas dēļiem, bazīdijsporas 10-15 x 6-7,5 µm; *G. abietinum* sēdošs, puslokveida, brūns augļķermenis, kas atrasts uz sētas staba.

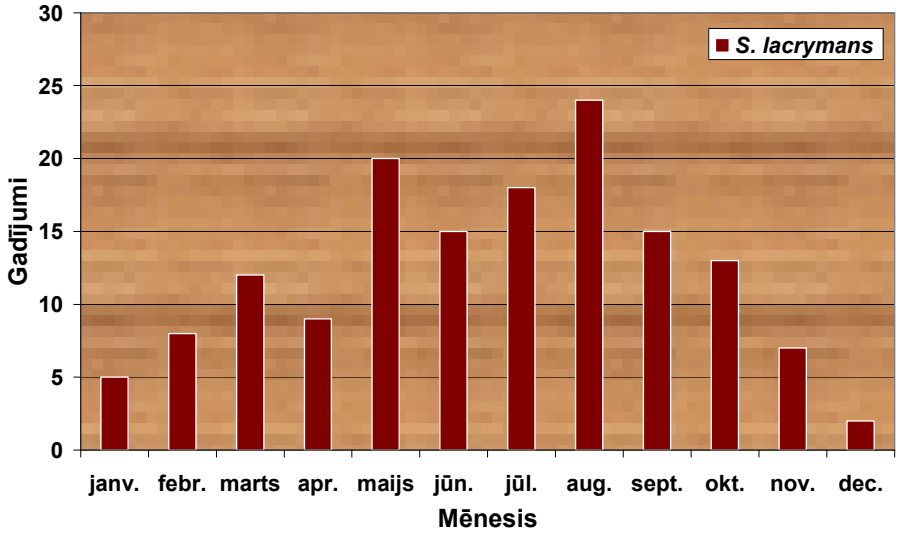
Īstā mājassēne *Serpula lacrymans* ir visbīstamākā celtniecības koksnes noārdītāja Eiropā un citur pasaulē (Japānas un Dienvidaustrālijas reģionos) (Jennings and Bravery, 1991). Tā ir plaši izplatīta arī Latvijā (Irbe et al., 2001b). Pēc mūsu datiem (1996 – 2005), *S. lacrymans* ir sastopama Latvijas teritorijā no ziemeļiem (Valka) līdz dienvidiem (Bauska), un no rietumiem (Ventspils) līdz austrumiem (Daugavpils). *S. lacrymans* bojājumi Latvijas ēkās sastādīja 56% no kopējā skaita. Piemēram, Šveicē šis skaitlis ir 45%, Dānijā 20% (Jennings and Bravery, 1991), bet Somijā ap 50% (Paajanen and Viitanen, 1989).

4.2. tabula. Koksnes trupes sēnes konstrukciju koksnē Latvijā.

Sēne	Gadījumu skaits
Brūnā trupe:	
Serpula lacrymans (Wulf.: Fr.) Schroet.	149
Antrodia sp.:	38
Antrodia sinuosa (Fr.) P. Karst.	
Antrodia vailantii (DC : Fr.) Ryv.	
Antrodia sordida Ryv. & Gilb.	
Antrodia xantha (Fr.: Fr.) Ryv.	
Coniophora puteana (Schum.) Karst.	19
Gloeophyllum sp.:	8
Gloeophyllum sepiarium (Wulf.: Fr.) P. Karst.	
Gloeophyllum abietinum Fr.: Fr.	
Paxillus panuoides (Fr.: Fr.) Fr.	4
Oligoporus placentus (Fr.) Gilb. Ryvarden	2
Antrodiella sp. Ryv. & Johan.	1
Leucogyrophana pinastri (Fr.) Bond.	1
Leucogyrophana pseudomolusca (Parm.) Parm.	1
Serpula himantioides (Fr.: Fr.) Karst.	1
Oligoporus caesius (Schrad.: Fr.) Gilb. & Ryvarden	1
Poria lindbladii (Berk.) Cooke	1
Lentinus lepideus (Fr.: Fr.) Fr.	1
	227
Baltā trupe:	
Cylindrobasidium evolvens (Fr.) Jul.	7
Corticium sp.	6
Shizophyllum commune Fr.: Fr.	5
Phlebiopsis gigantea (Fr.: Fr.) Jul.	4
Hyphoderma praetermissum (P. Karst.) Erikss. & Strid	3
Resinicium bicolor (Fr.) Parm.	2
Vesiculomyces citrinus (Pers.) Hagstrom	2
Ceriporia excelsa (Lund.) Parm.	1
Phanerochaete velutina (Fr.) P. Karst.	1
Hyphoderma puberum (Fr.) Wallr.	1
Hyphodontia alutacea (Fr.) John Erikss.	1
Hyphodontia aspera (Fr.) John Erikss.	1
Trichaptum abietinum (Pers. in Gmelin) Ryv.	1
Auricularia mesenterica (Dicks.: Fr.) Pers.	1
Armilaria ostoyae (Romagn.) Herink	1
Peniophora incarnata (Pers.: Fr.) P.Karst.	1
	38

S. lacrymans līdz šim ir reģistrēta 21 Latvijas rajonā (Aizkraukles, Alūksnes, Bauskas, Cēsu, Daugavpils, Dobeles, Gulbenes, Jelgavas, Jēkabpils, Kuldīgas, Liepājas, Limbažu, Madonas, Ogres, Rēzeknes, Rīgas, Talsu, Tukuma, Valkas, Valmieras, Ventspils). Sēnes ieviešanās gadījumi svārstījās no gada uz gadu atkarībā no klimatiskajiem apstākļiem (vidēji 15 gadījumi gadā). Gadījumu skaits īpaši pieauga mitrās vasarās, kad ēku samitrināšanās iespējas

palielinājās. Vairums gadījumu tika novēroti no marta līdz oktobrim, ar maksimumu augustā (4.7. att.).



4.7. att. *Serpula lacrymans* reģistrēto gadījumu sadalījums pa mēnešiem.

S. lacrymans galvenokārt tika atrasta ēku grīdās, durvju stenderēs un koka sienās zem apmetuma. Sēnes ieviešanās ēkās bija saistīta ar paaugstināta mitruma rašanos konstrukcijās un ventilācijas trūkumu, ko sekmējuši (i) nepareizi ēku konstruktīvie uzlabojumi (koka ēku apmūrēšana, piebūves pie vecām ēkām, inficētu kokmateriālu izmantošana, nepareizi iebūvētas grīdas) vai (ii) ēku slikta uzturēšana (tekoši jumti, bojātas notekcaurules, bojāti ūdens piegādes un sanitārie mezgli, mitri pagrabi).

4.1.3. Koksnes trupes sēnes Maķedonijas kultūras pieminekļos

Pavisam tika apsekoti 38 Maķedonijas kultūras pieminekļi, lai konstatētu koksnes trupes sēņu bojājumus tajos un salīdzinātu sēņu daudzveidību dažādu klimatisko joslu – Latvijas mērenās un Maķedonijas subtropu, konstrukciju koksnē. No tiem, 14 inspicētajos objektos tika atrastas koksnes trupes sēnes, kopā reģistrēti 32 bojājumu gadījumi (4.3. tab.). Vairumā gadījumu identificētās bazīdijsēnes pieder baltās trupes izraisītājām (84%), bet atlikušie 16% ir brūnās trupes sēnes, kas liecina par baltās trupes sēņu dominēšanu Maķedonijas koka konstrukcijās (Karadelev et al., 2004). Domājams, ka baltās trupes sēņu ievērojamais pārsvars Maķedonijas celtnēs ir saistīts ar plašāku lapkoku (dižskābardis, ozols) kokmateriālu izmantošanu.

4.3. tabula. Koksnes trupes sēnes Maķedonijas kultūrvēstures pieminekļos.

Sēne	Gadījumu skaits
Brūnā trupe:	
Antrodia sinuosa (Fr.) P. Karst.	1
Antrodia sp. (sterile)	1
Coniophora puteana (Schumach.) P. Karst.	1
Dacrymyces stillatus Nees	1
Gloeophyllum abietinum (Bull.) P. Karst.	1
	5
Baltā trupe:	
Athelia decipiens (Höhn. & Litsch.) J. Erikss.	1
Athelia neuhoffii (Bres.) Donk	1
Funalia trogii (Berk.) Bondartsev & Singer	1
Gloeocystidiellum convolvens (P. Karst.) Donk	1
Gloeocystidiellum luridum (Bres.) Boidin	2
Gloeocystidiellum porosum (Berk. & M.A. Curtis) Donk	1
Hyphodontia aspera (Fr.) J. Erikss.	2
Hyphodontia crustosa (Pers.) J. Erikss.	5
Hyphodontia pallidula (Bres.) J. Erikss.	1
Hyphodontia sp. (sterile)	1
Hyphoderma praetermissum (P. Karst.) J. Erikss. & Å. Strid	1
Peniophora pithya (Pers.) J. Erikss.	1
Peniophora incarnata (Pers.: Fr.) P. Karst.	1
Phanerochaete calotricha (P. Karst.) J. Erikss. & Ryvarden	1
Phanerochaete filamentosa (Berk. & M.A. Curtis) Burds.	1
Phanerochaete laevis (Fr.) J. Erikss. & Ryvarden	1
Phlebia livida (Pers.) Bres.	1
Pluteus exiguus (Pat.) Sacc.	1
Schizophyllum commune Fr.	1
Schizopora paradoxa (Schrad.) Donk	1
Trametes versicolor (L.) Lloyd	1
	27

Pēc Maķedonijas ekspertu tirgus paziņojuma datiem (Expert Market Statement of Macedonia, 2006), piemēram, 2003. gadā pirmējā koksnes pārstrādē tika iegūti 20 414 m^3 dižskābarža kokmateriālu, bet skujkoku materiāli tikai 7901 m^3 apjomā. Dižskābarža koksne ieņem arī

nozīmīgu vietu Maķedonijas eksportā (27% no eksporta kopapjoma), kamēr skujkoku materiāli tiek importēti.

Trupes sēņu bojājumi tika konstatēti ne tikai baznīcas ēkās, bet arī citās koka konstrukcijās (nojumē, viesu mājās, tiltā, vārtos) klosteru teritorijā. Piemēram, Sv. Andrea klostera (Skopje) koka nojumē tika atrasti baltās trupes sēnes *Phanerochaete calotricha* bojājumi; vecā, daļēji pamestā viesu mājā Sv. Arhangel klosterī (Skopska Crna Gora) tika konstatētas *Dacrymyces stillatus, Hyphodontia crustosa, H. pallidula, Phlebia livida, Peniophora pithya, Schizophora paradoxa;* Sv. Joakima Osogovski (Kriva Palanka) klostera teritorijas koka tiltu bija bojājusi baltās trupes sēne *Trametes versicolor* (4.8 att.), koka vārtus pie Sv. Dimitrija baznīcas (Mariova) bija inficējušas koksnes trupes sēnes *Hyphodontia crustosa, Gloeocystidiellum luridum* un *Gloeophyllum abietinum*.

Hyphodontia crustosa jumta konstrukcijā

Athelia decipiens jumta konstrukcijā

C*oniophora puteana* uz sienas apmetuma

Trametes versicolor uz āra konstrukciju koksnes

4.8. att. Koksnes trupes sēņu piemēri Maķedonijas kultūras pieminekļos. Attēlā redzams kortīcijas *H. crustosa* balts klājenisks, membrānveida augļķermeņis uz lapu koksnes; kortīcijas *A. decipiens* krēmkrāsas klājenisks, membrānveida augļķermenis uz skuju koksnes; C. *puteana* brūns, klājenisks augļķermenis uz mitra apmetuma pie koka sijas; *T. versicolor* rozetveida, radiāli ielocīts augļķermenis ar koncentriskām vairākkrāsu zonām attīstījies uz lapu koksnes tilta.

Trupes sēnes tika atrastas gan uz āra konstrukciju koksnes (vārti, tilts, ārdurvis, jumts, trepes), gan iekštelpu koksnes (vannas istaba, griesti, jumta konstrukcijas detaļas). Vienā gadījumā brūnās trupes sēnes C*oniophora puteana* augļķermeņi tika konstatēti uz sienas apmetuma netālu no koka sijas (4.8. att.).

Visbiežāk koksnes trupes sēņu bojājumi tika konstatēti jumta konstrukcijās. Sēņu bojājumu cēlonis visos gadījumos bija celtniecības materiālu augstais mitruma saturs konstrukciju sliktas uzturēšanas dēļ.

Vairums koksnes trupes sēņu kā *Athelia, Gloeocystidiellum, Hyphoderma, Hyphodontia, Peniophora, Phanerochaete* u.c. ir kortīcijas, bet dažas no tām - piepes (*Antrodia*, *Funalia, Trametes* u.c.), kamēr tikai viena suga *Pluteus exiguus* pieder cepurīšu sēnēm (Ainsworth & Bisby's, 2001).

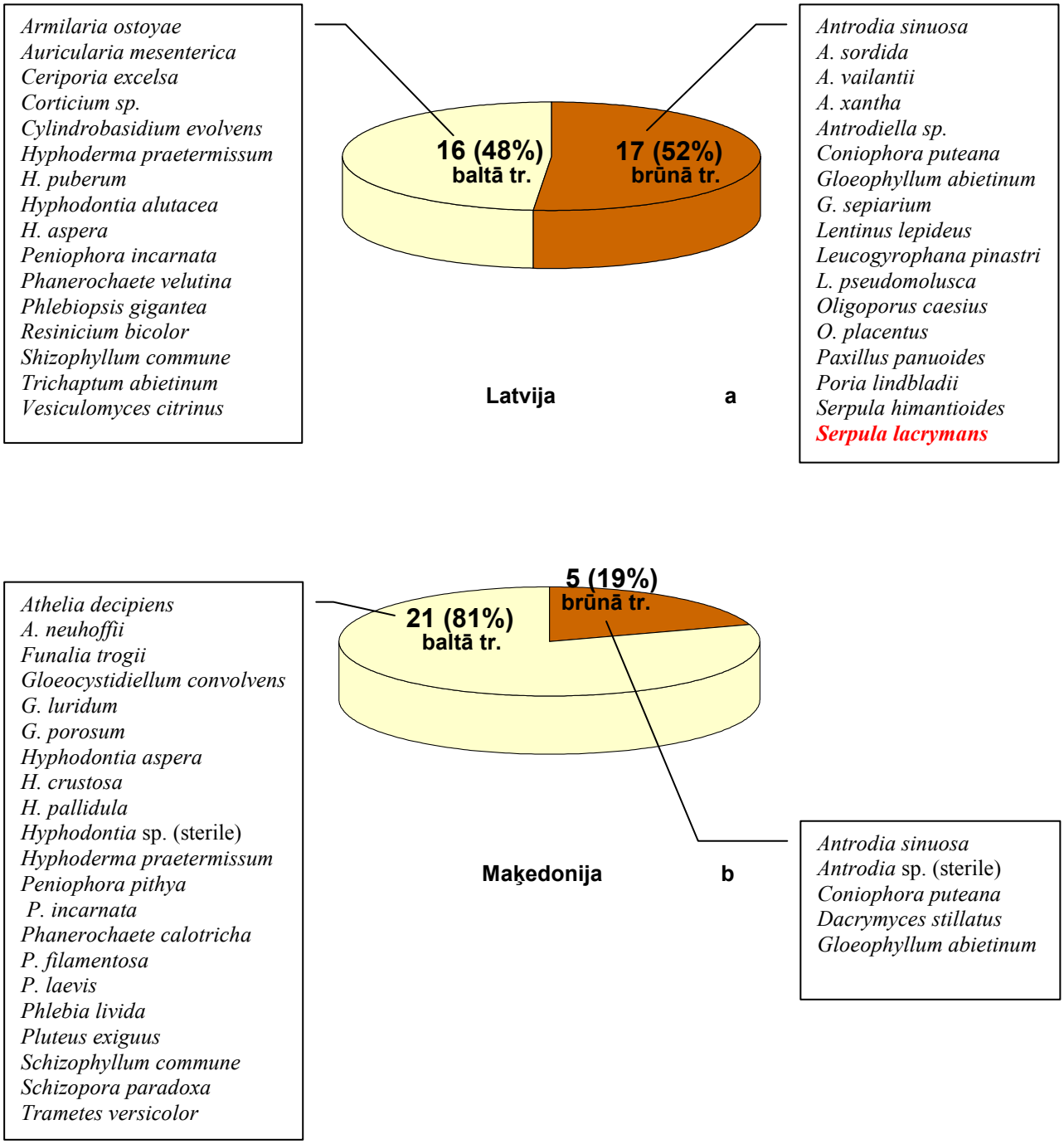
Visbiežāk sastopamā bija baltās trupes sēne *Hyphodontia crustosa,* kura tika ievākta piecos gadījumos (4.8. att.).

24 inspicētajos kultūras pieminekļos trupes sēnes netika konstatētas. Domājams, ka viens no iemesliem ir tas, ka valsts aizsardzībā esošie pieminekļi ir pienācīgi uzturēti. Cits iemesls varētu būt ierobežotais koksnes kā konstrukciju materiāla pielietojums. Tradicionāli, griesti, sienas un grīdas senās Maķedonijas pareizticīgo baznīcās ir darinātas no akmeņiem un cementa. Tikai atsevišķos gadījumos baznīcu jumta konstrukcijās bija izmantota koksne. Savukārt, ikonostasti tradicionāli ir veidoti no valrieksta (*Juglans regia* L.) koksnes, kurus, pēc mūsu novērojumiem, nekad nebija bojājušas trupes sēnes. Dažos gadījumos ikonostasti bija cietuši no koksngraužu bojājumiem.

4.1.4. Apsekošanas datu apkopojums Latvijas un Maķedonijas celtnēs

Vairums Latvijas mežu biotopos reģistrētās koksnes trupes sēnes ir atrastas arī celtniecības koksnē, izņemot īsto mājassēni *S. lacrymans*, kura ir sastopama tikai ēkās. Brūnās trupes sēņu biežāku izplatību ēkās, salīdzinot ar mežu ekosistēmām, var izskaidrot ar to, ka celtniecības koksnei galvenokārt tiek izmantoti skuju koki, kurus pārsvarā bojā brūnās trupes sēnes. Savukārt, apsekojot mežu biotopus, paraugi tika ievākti jaukto koku mežos, kur dominēja lapu koki.

Apsekotajās Latvijas koka konstrukcijās reģistrētas 17 (jeb 52% no kopējā atrasto sugu skaita) brūnās trupes sēņu sugas un 16 (jeb 48% no kopējā atrasto sugu skaita) baltās trupes sēņu sugas, bet Maķedonijas kultūrvēstures pieminekļos - 5 (19%) brūnās trupes sēņu sugas un 21 (81%) baltās trupes sēņu suga no kopēji atrasto sugu skaita (4.9. att.). Tā kā Maķedonijas



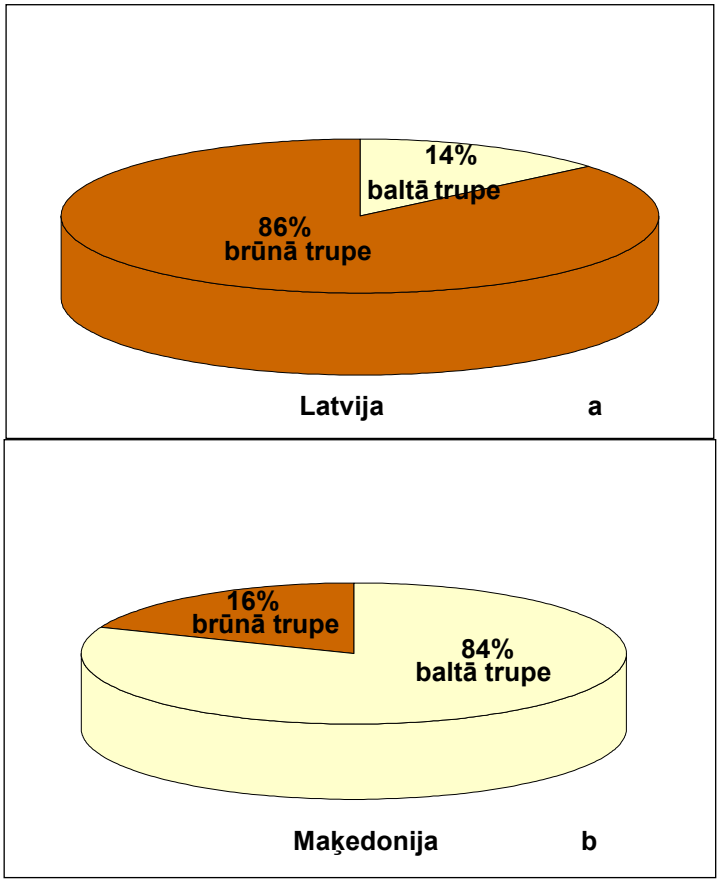
4.9. att. Brūnās un baltās trupes sēņu sugas [%] Latvijas (**a**) un Maķedonijas (**b**) konstrukciju koksnē.

celtnēs pārsvarā izmanto lapu koksni (dižskābardis, ozols), ar šo faktu varētu skaidrot baltās trupes sēņu dominēšanu konstrukciju koksnē, jo tās pārsvarā inficē lapu kokus, lai gan sastopamas arī skuju koksnē.

Latvijas un Maķedonijas konstrukcijās sastopamas gandrīz vienas un tās pašas brūnās trupes sēņu sugas, kā arī vairākas baltās trupes sēņu sugas (4.9. att.). Izņēmums ir īstā mājassēne

Serpula lacymans, kura Maķedonijas ēkās netika atrasta, un nav ziņu, ka tā būtu atrasta šajā valstī. Īstā mājassēne aug pie gaisa temperatūras no plus 3°C līdz 26°C (optimālā 20°C) un koksnes mitruma 30-40%. Pateicoties micēlija augšanas ierobežotai temperatūras amplitūdai, sēne ir izplatīta Centrāl-, Ziemeļ- un Austrumeiropas mērenā klimata joslās, bet nav atrodama tropu un tuksnešu reģionos (Schmidt and Moreth-Kebernik, 1990). Maķedonija kā Dienvidaustrumeiropas valsts, atrodas subtropu klimatiskajā joslā, ar raksturīgu siltu klimatu, sausām vasarām un rudeņiem, un relatīvi aukstām ziemām. Domājams, ka tie ir kavējoši faktori *S. lacrymans* izplatībai šīs zemes ēkās. Turpretīm Latvija, ar tās jūras mitro klimatu un mērenām ziemām ir ļoti piemērota vide sēnes izplatībai koka konstrukcijās. Līdz šim *S. lacrymans* dabā ir atrasta vienīgi Narkandā, Indijas Himalajos (Singh, 1994) un Šasta kalnā, Kalifornijā, ASV (Bech-Anderson, 1995).

Pēc reģistrēto gadījumu skaita, Latvijas ēkās pārliecinoši dominē brūnās trupes sēnes (86%), kamēr Maķedonijā brūnā trupe konstēta tikai 16% gadījumu (4.10. att.), kas skaidrojams ar plašu skujkoku materiālu izmantošanu Latvijas celtnēs, kamēr Maķedonijā pārsvarā izmanto lapu koksni.



4.10. att. Brūnās un baltās trupes sēņu reģistrēto gadījumu skaits celtniecības koksnē Latvijā (**a**) un Maķedonijā (**b**).

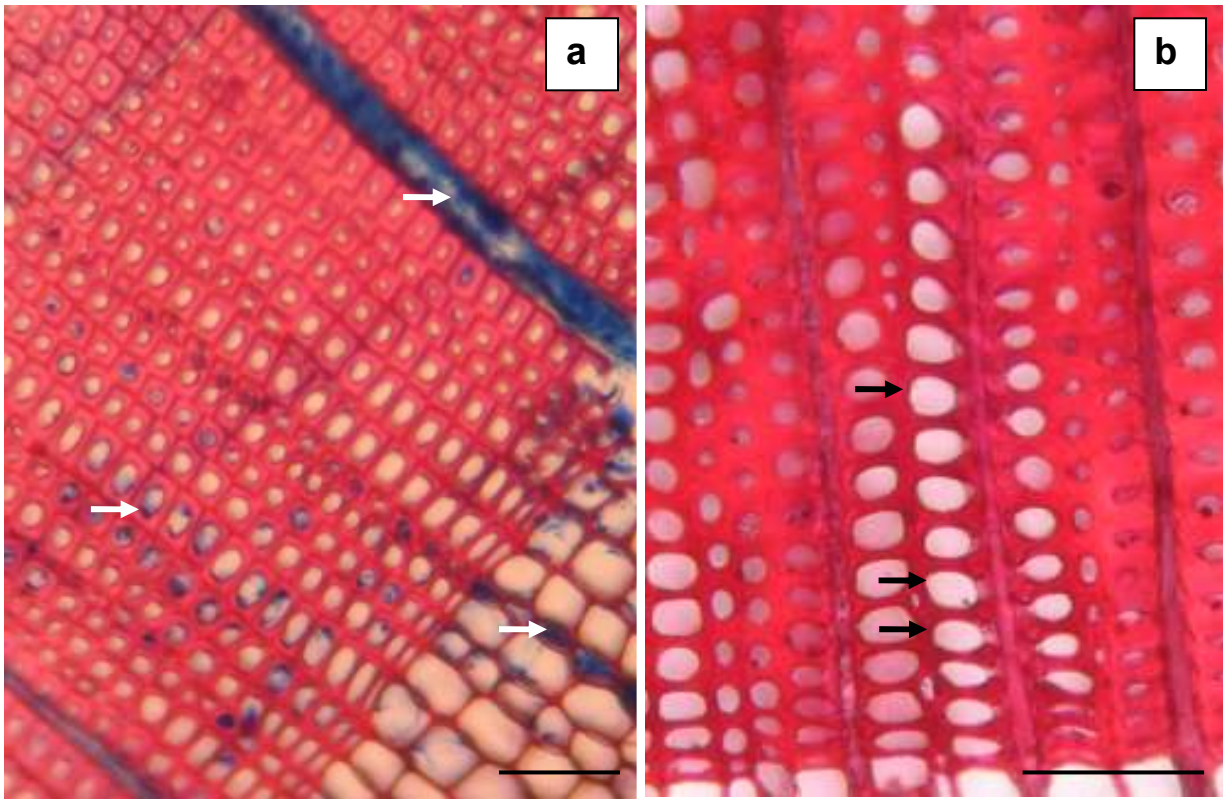
Trupes sēņu ieviešanos ēkās veicināja to slikta uzturēšana vai nepareiza ēkas konstrukcija, kas vairāk attiecas uz jaunbūvēm. Sēnes parasti bija atrodamas vietās, kur regulāri uzkrājas mitrums un trūkst ventilācijas. Latvijā koksnes trupes sēņu bojājumi visbiežāk tika konstatēti ēku grīdās, bet Maķedonijā – jumta konstrukcijās.
Brūnās trupes sēņu lielā ekonomiskā nozīme konstrukciju koksnes bojājumos pamato tālākus noārdītas koksnes pētījumus laboratorijas apstākļos, lai raksturotu šīs grupas sēņu iedarbības īpatnības uz koksnes šūnas struktūru un ķīmisko sastāvu.

4.2. Koksnes degradācijas mehānisma pētījumi

Darbā salīdzināta koksnes degradācija ar trim izplatītām un agresīvām celtniecības koksni noārdošām brūnās trupes sēnēm – *Coniophora puteana, Postia placenta* un *Gloeophyllum trabeum*. Šīs sēņu celmus izmanto Eiropas Standarta EN 113 (2000) testos, lai pārbaudītu koksnes aizsarglīdzekļu efektivitāti. *C. puteana* standarta testos ir izvēlēta kā nozīmīga suga, kas praksē bieži izraisa brūno trupi iekšējo un ārējo konstrukciju koksnei. Savukārt, *P. placenta* galvenokārt inficē un noārda koksni zemē, piemēram, elektrotīklu u.c. stabus. Šī sēne ir izteikti toleranta pret varu un hromu saturošiem koksnes aizsarglīdzekļiem, jo veido organiskas skābes (piem. oksālskābi), kas inficētajā koksnē izraisa zemu pH. Oksālskābe, reaģējot ar vara un hroma savienojumiem, veido ūdenī šķīstošus sāļus, kas izskalojas no apstrādātās koksnes un piesārņo augsni. *G. trabeum* ir raksturīga suga ārējo konstrukciju koksnei un sliktos apstākļos glabātiem kokmateriāliem.

4.2.1. Sēņu hifu invāzija koksnes šūnās (GM)

Gaismas mikroskopijas novērojumi apstiprināja sēnes *C. puteana* strauju izplatību koksnes audos (4.11. att.). Jau pēc sešām ekspozīcijas dienām, koksnes traheīdu lumeni un serdes stari bija inficēti ar sēnes hifām. Vēlākos noārdīšanās periodos pēc 30 un 50 dienām starp vizuāli veselām redzamas morfoloģiski atšķirīgas šūnas ar noārdītām, plānām sieniņām. Šūnu sieniņu paplāninašanos apstiprina arī mūsu UMSP (skat. 4.2.2.1.) (Irbe et al., 2006b) un SEM pētījumi (skat. 4.2.2.4.) (Irbe et al., 2006a).



4.11. att. *C. puteana* inficēta priedes koksne pēc 6 dienām (**a**) un 30 dienām (**b**) (gaismas mikroskopija, 20x un 40x). Baltās bultas parāda sēnes hifu (zilas) izplatību koksnes traheīdu (sarkanas) lumenos un serdes staros (**a**); melnās bultas parāda noārdītās traheīdas ar plānākām sienām (**b**) (mēroga līnija = 100 µm).

4.2.2. Koksnes struktūras un ķīmiskās izmaiņas degradācijas laikā

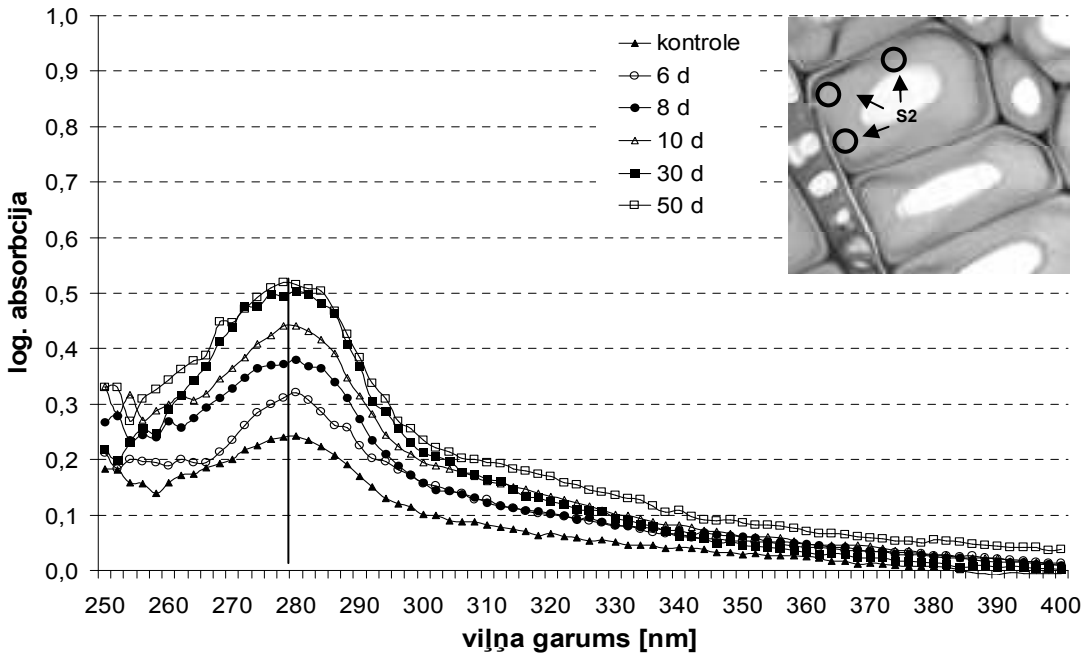
4.2.2.1. Lignīna kvalitatīvās izmaiņas (UMSP)

Koksnes paraugi pēc testa ar sēni *C. puteana* (Tests IV) tika sagatavoti lignīna topoķīmiskā izvietojuma izpētei ar UMSP.

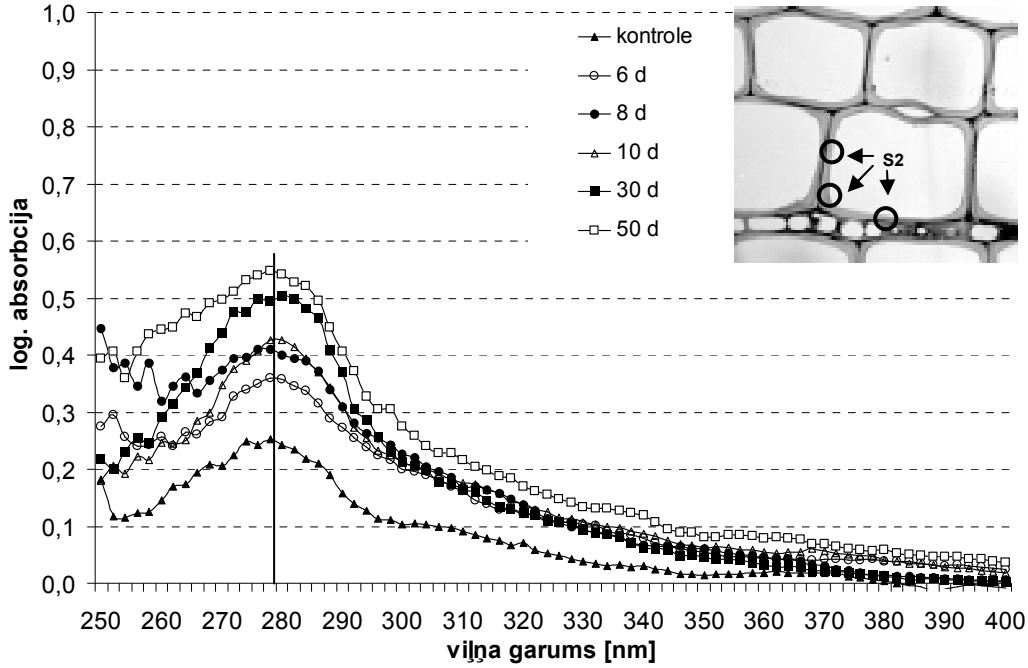
a. Punktu mērījumi

Lignīna lokalizācija nebojātās un bojātās agrīnās un vēlīnās koksnes traheīdās tika noteikta trīs atšķirīgos sekundārās sienas punktos. Rezultāti 4.12. un 4.13. attēlos pamatojas uz 60 punktu mērījumiem, kas iegūti no 6, 8 un 10 dienas noārdītiem paraugiem, un 30 mērījumiem, kas iegūti no 30 un 50 dienas noārdītiem paraugiem. Vēlākie 30 un 50 dienu noārdīšanās laiki atklāja atšķirības vēlīno traheīdu mikromorfoloģijā. Tika novērotas gan vizuāli veselas, gan spēcīgi bojātas šūnas ar plānākām šūnu sienām (4.14. att.). Tādēļ bojāto un nebojāto šūnu

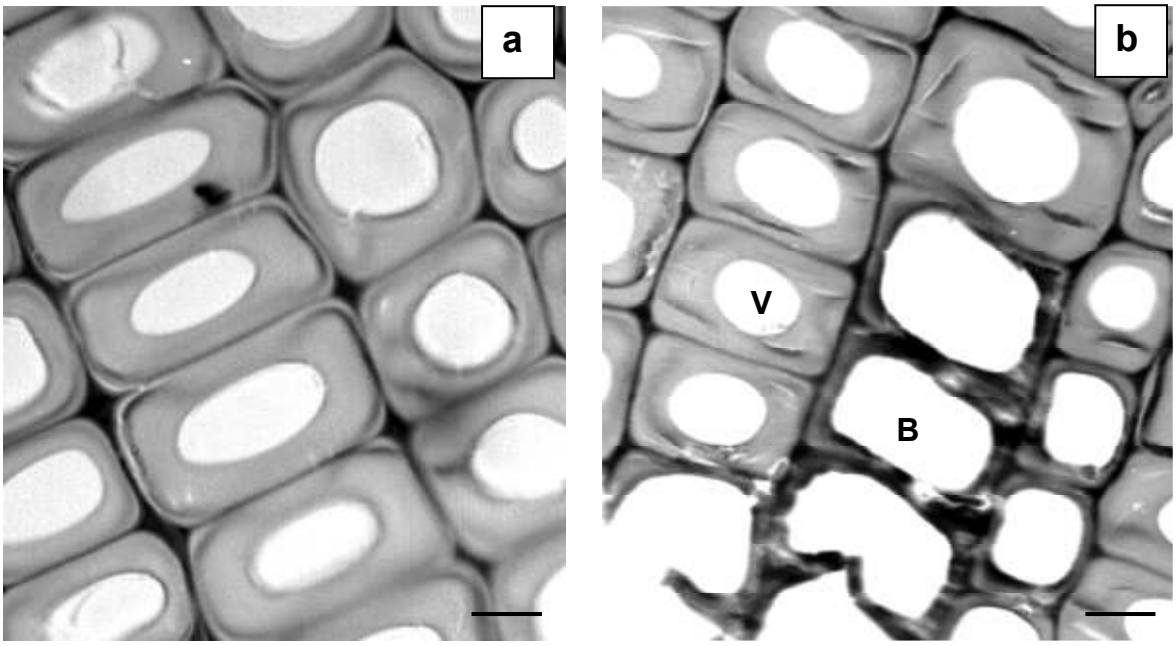
izpētes rezultāti tika analizēti atsevišķi, un šajā darbā ir iekļauti raksturīgākie bojāto šūnu spektri.



4.12. att. Vēlīnās koksnes kontroles un noārdītu traheīdu (6 – 50 dienas) lignīna absorbcijas spektri. Apļi, kas redzami kontroles UV fotogrāfijā, atspoguļo mērījumu punktus (100x).



4.13. att. Agrīnās koksnes kontroles un noārdītu traheīdu (6 – 50 dienas) lignīna absorbcijas spektri. Apļi, kas redzami kontroles UV fotogrāfijā, atspoguļo mērījumu punktus (100x).



4.14. att. Kontroles traheīdas (**a**) un 50 dienas noārdītas traheīdas (**b**). V – veselas šūnas; B – bojātas šūnas (UMSP, mēroga līnija = 10 μm).

UV absorbcijas spektri attēlo lignīna kvalitatīvās izmaiņas pret polisaharīdu kvantitatīvām izmaiņām. 4.12. attēlā redzami raksturīgi vēlīnās koksnes kontroles (A_{280} = 0,24) un sekojošu 6 – 50 degradācijas dienu spektri, kas mērīti koksnes šūnu S2 slānī. Pēc sešu dienu ekspozīcijas lignīna absorbcijas A_{280} vērtības pieauga līdz 0,32, bet pēc 8 un 10 dienām A_{280} vērtības, attiecīgi, bija 0,38 un 0,44. Pēc 30 un 50 dienām absorbcijas vērtības bija attiecīgi 0,50 un 0,52.

Agrīnās koksnes kontroles UV spektrs S2 slānī uzrādīja absorbciju 0,24 (4.13. att.), kamēr 6 – 50 dienu noārdītos paraugos absorbcijas vērtības būtiski pieauga no 0,36 pēc 6 ekspozīcijas dienām līdz 0,54 pēc 50 dienām.

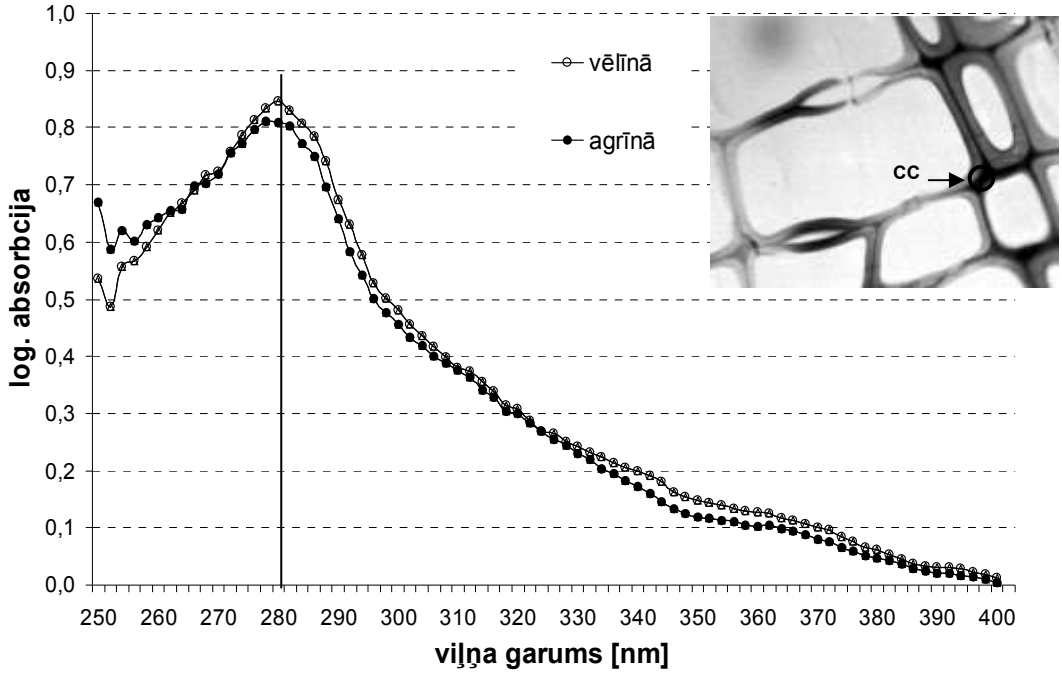
4.12. un 4.13. attēlos redzams, ka būtisks lignīna relatīvās koncentrācijas pieaugums tika sasniegts pavisam agrā noārdīšanās periodā – jau pēc sešām dienām, lai gan masas zudums šajā laikā netika konstatēts (4.4. tab.). Pēc 8 un 10 ekspozīcijas dienām lignīna absorbcijas vērtības turpināja augt, kamēr atbilstošie masas zudumi bija niecīgi.

UMSP punktu analīzes tika veiktas arī lignīna bagātajā viduslamellā (VL) un šūnas stūros. VL biezums starp divām šūnām ir aptuveni 0,5 - 1 μm, bet mērījumu punkta lielums bija 1 μm x 1 μm. Tādēļ darbā ir parādīti tikai šūnas stūru spektri. Šajos rajonos varēja iegūt skaidrus rezultātus (lignīna bagātie rajoni), kamēr plānās VL mērījumus varēja ietekmēt blakus esošie

4.4. tabula. Brūnās trupes sēnes *C. puteana* noārdītas priedes koksnes masas zudumi un lignīna absorbcijas izmaiņas S2 slānī. Tabulā dotas vidējās vētības (4) ± standartnovirze.

Ekspozīcija (dienas)	Masas zudums (%)	Lignīna absorbcija A_{280} S2	
		Vēlīnā koksne	Agrīnā koksne
Kontrole	-	0,24 ± 0,033	0,24 ± 0,036
6	0 ± 0	0,32 ± 0,056	0,36 ± 0,025
8	0 ± 0	0,38 ± 0,064	0,40 ± 0,085
10	1,1 ± 1,9	0,44 ± 0,061	0,43 ± 0,062
30	30,2 ± 2,8	0,50 ± 0,078	0,50 ± 0,094
50	41,6 ± 10,6	0,52 ± 0,060	0,54 ± 0,058

sekundārās sienas slāņi (bagāti ar polisaharīdiem). Kontroles koksnes vēlīnās (A_{280} = 0,85) un agrīnās (A_{280} = 0,81) šūnas atklāja būtiski augstāku absorbciju šūnas stūros nekā sekundārā sienā (4.15. att.).



4.15. att. Lignīna absorbcijas spektri vēlīnās un agrīnās koksnes šūnas stūros (CC) kontroles paraugiem. Aplis kontroles UV fotogrāfijā atspoguļo mērījumu punktus (100x).

Mēs uzskatām, ka absorbcijas A_{280} pieaugums agrīnā noārdīšanās periodā galvenokārt ir saistīts ar lignīna oksidatīvu modifikāciju, kas notiek reaktīvu skābekļa savienojumu (RSS) klātbūtnē. Ir zināms (Highley and Dashek, 1998), ka brūnās trupes sēnes, līdzīgi baltai trupei,

demetilē metoksilgrupas lignīna fenola un ne-fenola struktūrās, hidroksilē aromātiskos gredzenus un veicina Cγ sānu ķēžu oksidāciju un aromātiskā gredzena sašķelšanas reakcijas. Visas šīs ķīmiskās modifikācijas izraisa absorbcijas A_{280} pieaugumu. Lai gan lignīna daudzums nemainās, tā absorbcijas koeficients palielinās. Iespējams arī, ka oksidatīvi tiek sarautas lignīna - ogļūdeņu kompleksa saites. Īpaši augsta varbūtība ir ēsteru saišu saraušanai, jo tām ir raksturīga sašķelšanās pie zema pH. No literatūras ir zināms (Fengel and Wegener, 1989), ka celuloze, hemicelulozes un lignīns koksnes šūnas sienā ir cieši saistīti un starp lignīnu un polisaharīdiem veidojas kovalentas šķērssaites (lignīna – ogļūdeņu kompleksi). Brūnās trupes sēņu veidotās skābes (piem. oksālskābe), kas izraisa lokālā pH ievērojamu pazemināšanos līdz pat 2,5 (Espejo and Agosin, 1991), varētu sekmēt lignīna – polisaharīdu saišu saraušanu.

Strauja celulozes depolimerizācija pēc *C. puteana* iedarbības tika novērota arī celulozes testā (Tests II), kur pirmajās 6 dienās celulozes PP samazinājās gandrīz 2 reizes, bet parauga masas zudumi netika konstatēti (skat. 4.2.2.2.). Brūnās trupes sēnes depolimerizē koksnes celulozi, nenoārdot lignīnu, bet galvenokārt modificējot to. Ekstracelulāra Fentona reakcija nodrošina brūnās trupes sēņu spēju depolimerizēt polisaharīdus. Šajā reakcijā ir ietverts hidrohinona – hinona red-oks cikls, kurā reducējas Fe (III) un veidojas H_2O_2. 2,5-dimetoksi-1,4-benzohinons (2,5-DMBQ) un 4,5-dimetoksi-1,2-benzohinons (4,5-DMBQ) piedalās šajā dzelzs atkarīgajā redoks ciklā (Jensen et al., 2001). Raksturīga iezīme brūnās trupes agrīnai stadijai arī ir strauja pH vērtības samazināšanās, veidojoties oksālskābei (Green and Highley, 1997). Brīvo radikāļu veidošanos novēro ar elektronu spinu rezonanses (ESR) mērījumiem (Qian et al., 2002). Īpaša nozīme polisaharīdu noārdīšanā ir $OH^{\bullet}$ radikālim, lai gan ir iespējama arī superoksīda radikāļu klātbūtne (Qian et al., 2002). Tādējādi koksnes polisaharīdi, gan amorfie, gan kristāliskie, agrīnā bojājumu stadijā ātri tiek depolimerizēti bez celulolītiskiem enzīmiem, kuri nespēj iespiesties šaurajās koksnes šūnu porās. Līdz ar to nenotiek enzimātisks metabolisms, kurš varētu izraisīt masas zudumus (Flournoy et al., 1991; Jensen et al., 2001; Tornberg and Olsson, 2002; Cohen et al., 2002; Varela and Tien, 2003; Yang et al., 2004; Kramer et al., 2004).

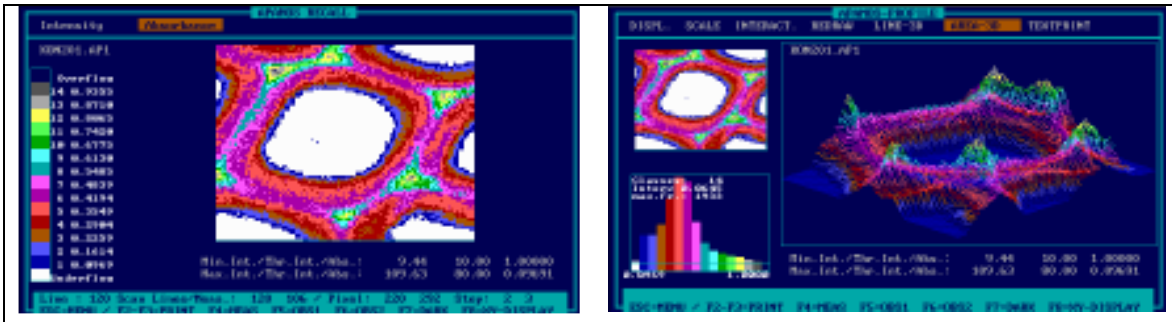
Mēs domājam, ka vēlākā noārdīšanās periodā, pēc 50 dienām, kad paraugu masas zudumi sasniedza 41,6 % (4.4. tab.), celulāzes bija iespiedušās dziļi šūnas sienā un polisaharīdi tika patērēti nozīmīgos daudzumos. Jau 30 dienu koksnes noārdīšanās stadijā, ar masas zudumu 30,2%, atlikušais lignīns ir oksidēts un lignīna - ogļūdeņu saites, iespējams, ir sarautas. Sekojoši, pēc 50 dienām, lignīna absorbcijas vērtības būtiski nepieauga. Brūnās trupes sēņu

oksidatīvie procesi, pretēji baltās trupes sēnēm, izraisa lignīna polimēru frakciju veidošanos. Augstmolekulārie produkti, kas veidojas repolimerizācijas reakcijās, acīmredzot, tālāk netiek metabolizēti, un, attiecīgi, UV spektri vēlākās noārdīšanās stadijās daudz nemainījās.

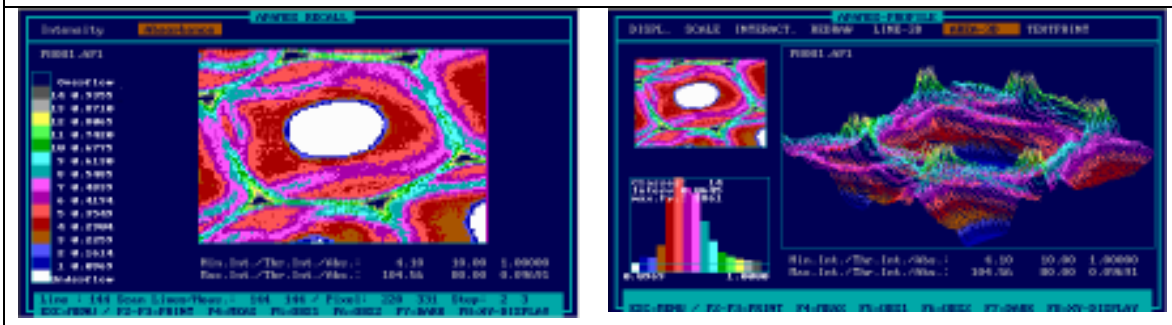
Mūsu pētījumā pakāpeniska lignīna absorbcijas samazināšanās trupējušas koksnes VL un šūnas stūros netika novērota. UV absorbcija svārstījās no perioda uz periodu, neparādot pārliecinošu lignīna bagātās VL un šūnas stūru noārdīšanu. Ir zināms (Fukuzawa and Imagawa, 1981), ka lignīna koncentrācija koksnes audos samazinās no šūnas stūriem (80-100%) uz VL (~ 50-60%) un viszemākā bija sekundārā sienā (~ 22%).
Tomēr mikroskopiski bija novērojama sekundārās sienas paplāninašanās un S3 slāņa erozija (skat. 4.2.2.4.). Šūnas sieniņu paplāninašanos un eroziju, kā arī VL noārdīšanos, kas raksturīga baltai trupei, citi autori novēroja arī brūnās trupes bojātai koksnei. Autori (Lee et al., 2004) šo faktu saista ar nesen atklāta lignīnu noārdoša enzīma - lakāzes veidošanos brūnās trupes sēnei *Coniophora puteana*. Līdz šim bija zināms (Martinez et al., 2005), ka baltās trupes sēnes noārda lignīnu ar ligninazēm (lakāzēm, peroksidāzēm un oksidāzēm).
UMSP metode iepriekš ir pielietota *C. puteana* bojātas priedes koksnes pētījumos vēlīnās noārdīšanās stadijās (Bauch et al., 1976). Autori novēroja ievērojamu lignīna absorbcijas kāpumu pie 280 nm S2 slānī pie 30% un 65% koksnes masas zudumiem. Pie 65% masas zuduma UV absorbcija sasniedza plato. Bauch et al. (1976) secina, ka lignīna daļēja depolimerizācija, kombinācijā ar tā sānu ķēžu modifikācijām, izskaidro absorbcijas pieaugumu, ko konstatēja ar UMSP.

b. Lignīna lokalizācija skenētos šūnas virsmas profilos

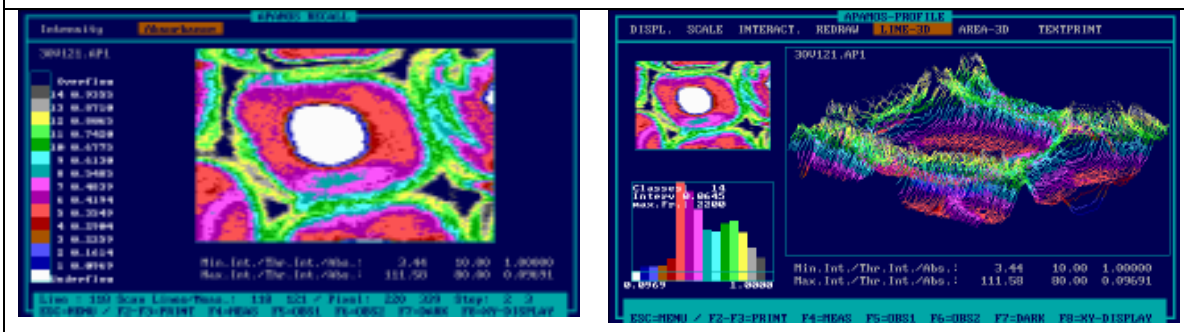
4.16. attēlā redzama lignīna lokalizācija vēlīnās koksnes traheīdās div- un trīsdimensiju UV attēlos. Attēla punktu krāsojums parāda atšķirīgas UV absorbcijas intensitātes pie 280 nm. Augstā izšķirtspēja (0,25 μm x 0,25 μm uz punktu) nodrošina detalizētu šūnu sienu UV absorbcijas diferenciāciju.



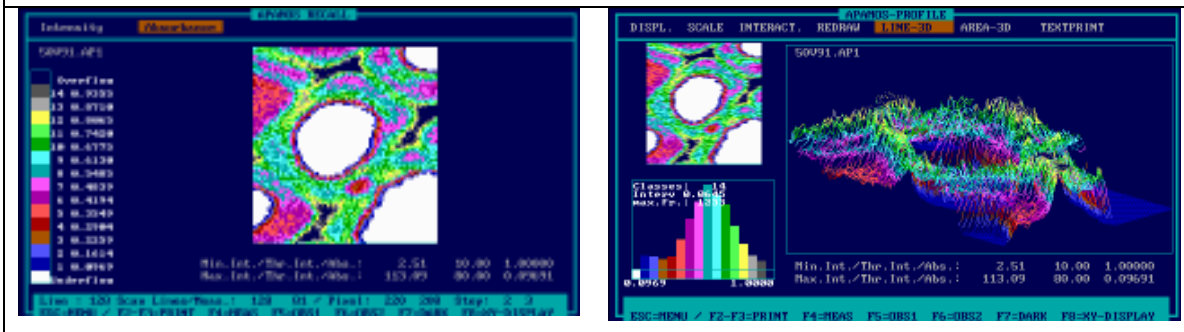
a – priedes kontrole



b - 8 dienas noārdīta koksne



c - 30 dienas noārdīta koksne



d - 50 dienas noārdīta koksne

4.16. att. UV mikroskopisko attēlu profili: priedes vēlīno traheīdu kontrole (**a**) un *C. puteana* noārdītas traheīdas - pēc 8 dienām (**b**), 30 dienām (**c**) un 50 dienām (**d**). Krāsu skala parāda absorbcijas intensitātes atšķirības pie $A_{280.}$

Priedes kontrolei un noārdīto paraugu attēliem ir raksturīga augsta absorbcija VL un šūnas stūru rajonos (A_{280} = 0,61-0,93), salīdzinot ar sekundārās sienas slāņiem, kuri satur mazāk lignīna (A_{280} = 0,22-0,48). Skenētie kontroles attēli (4.16.a att.) un astoņas dienas noārdītie paraugi (4.16.b att.) neparādīja ievērojamas UV absorbcijas atšķirības individuālo šūnu sienu slāņos. Salīdzinot UV absorbcijas histogrammas, pēc astoņu dienu noārdīšanas varēja novērot nelielu zemāko vērtību samazināšanos, ko reprezentē zilās un brūnās krāsas punkti, un nelielu absorbcijas pieaugumu 0,54-0,61 robežās.

4.16.c,d attēlos ir parādīta lignīna lokalizācija priedes koksnes šūnā pēc 30 un 50 dienu noārdīšanas. Abos paraugos redzamas izteiktas izmaiņas šūnas sienas struktūrā. Sekumdārās sienas ir gandrīz pilnībā noārdītas, ko atspoguļo ievērojams UV absorbcijas pieaugums. Koksnē pēc 30 dienu noārdīšanas, augstākās lignīna absorbcijas vērtības, ko reprezentē zaļas krāsas pikseļi (A_{280} = 0,61-0,67), ir novērojamas sekundārā sienā netālu no VL. To var izskaidrot ar plašu polisaharīdu noārdīšanu uz S1-S2 robežas. Pēc 50 dienu ekspozīcijas sekundārā siena bija spēcīgi noārdīta. Ogļūdeņi bija aizvākti un atlikušais lignīns uzrādīja augstas absorbcijas vērtības, ko parāda zaļie pikseļi (4.16.d att.).

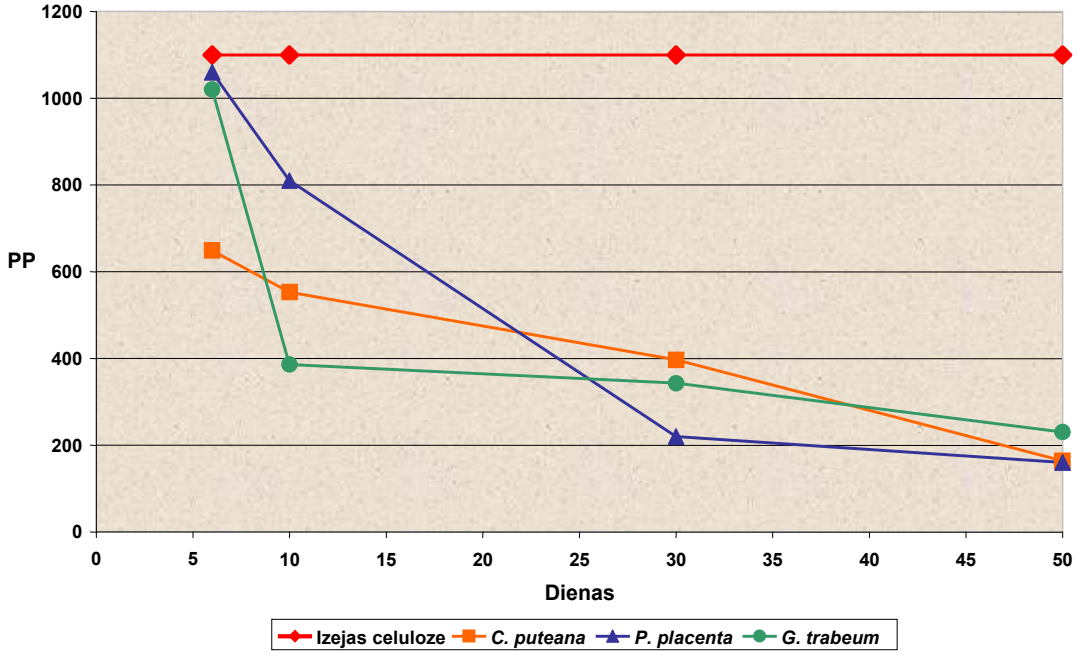
No iepriekšējiem brūnās trupes mikrostruktūras un ultrastruktūras pētījumiem ir zināms (Goodell et al., 2003), ka sēņu veidotais savienojums (-i), kas atbildīgs par koksnes noārdīšanos, spēj difundēt caur S3 un S2 slāņiem, izraisot sākuma morfoloģiskās izmaiņas uz S2-S1 slāņu robežas.

4.2.2.2. Celulozes polimerizācijas pakāpes izmaiņas

Celulozes PP izmaiņas pēc sēņu *C. puteana*, *P. placenta* un *G. trabeum* iedarbības uz sulfātcelulozi (Tests II) tika noteiktas ar kadoksēna šķīdumu.

Rezultāti liecina, ka celulozes PP sēņu iedarbības rezultātā strauji samazinājās, pie tam tās sašķelšanu varēja konstatēt jau pēc sešu dienu ekspozīcijas (4.17. att.). *C. puteana*, atšķirībā no pārējām sēnēm, jau pirmo sešu dienu laikā celulozes PP samazināja gandrīz divas reizes - līdz 650 (celulozes izejas PP bija 1100). Pēc 10 ekspozīcijas dienām jau bija vērojams, ka arī *G. trabeum* aktīvi iedarbojās uz celulozi, samazinot tās PP līdz 385.

Pēc 30 dienām visas trīs sēnes jau uzrādīja savstarpēji tuvinātus rezultātus, samazinot celulozes PP 220-400 robežās. Beigu posmā, pēc 50 dienām, celulozes sašķelšanas rezultāti trim sēnēm līdzinājās vēl vairāk - PP bija kritusies līdz 160-230. Celulozes PP trupes sēņu iedarbībā testa beigās bija samazinājusies aptuveni piecas reizes.



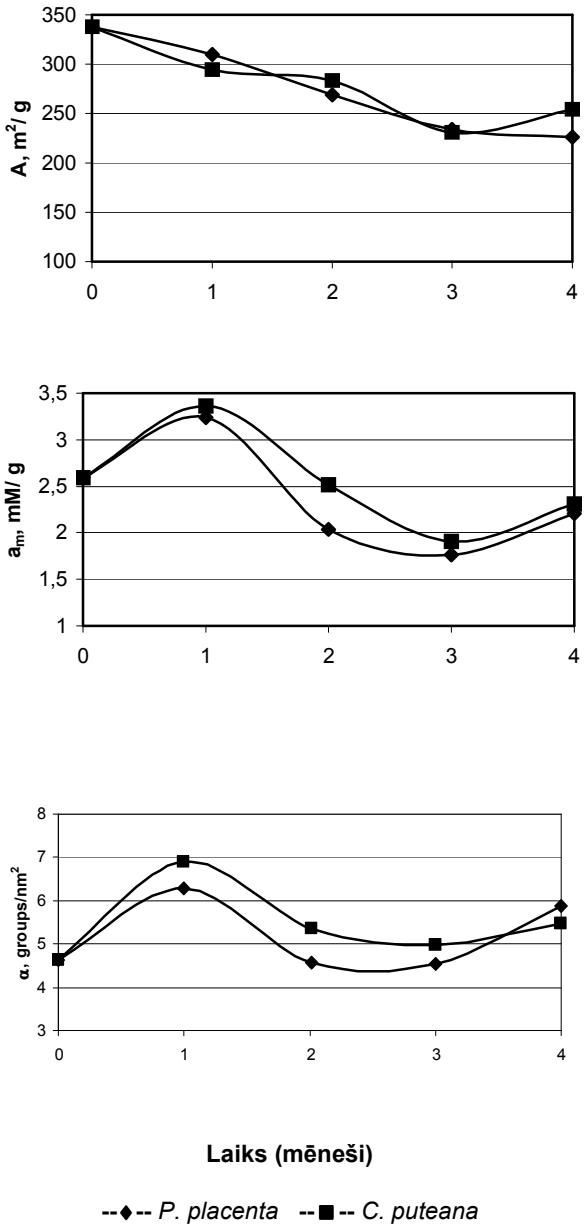
4.17. att. Celulozes PP izmaiņas brūnās trupes sēņu iedarbībā.

Rezultāti liecina, ka brūnās trupes sēnes jau pirmo 6–10 dienu laikā uzsāk celulozes noārdīšanu, izraisot strauju PP krišanos. Tieši pirmās iedarbības dienas ir uzskatāmas par kritisko periodu celulozes depolimerizācijā. Koksnē celulozes depolimerizācija, savukārt, izraisa strauju stiprības zudumu, ka rezultātā īsā laikā pazeminās materiāla mehāniskās īpašības.

4.2.2.3. Izmaiņas koksnes mikrostruktūrā (ŪTS)

Izmaiņas noārdītas koksnes mikrostruktūrā pēc sēņu *P. placenta* un *C. puteana* iedarbības (Tests III) tika analizētas ar ūdens tvaiku sorbcijas metodi. Ūdens tvaiku sorbcija dod informāciju par materiāla struktūru un tās izmaiņām dažādu procesu, piemēram, biodegradācijas ietekmē (Irbe et al., 2001a). Šī fizikāli – ķīmiskā metode (un iekārta) pirmo reizi tika izmantota bionoārdītas koksnes struktūras pētījumiem. Ar ŪTS metodi iegūtie rezultāti atklāja koksnes mikrostruktūras izmaiņas, sākot ar pirmo degradācijas mēnesi, tādēļ šajā darbā apkopoti noārdītas koksnes ŪTS rezultāti laikā no viena līdz četriem mēnešiem.
4.18. attēlā parādītas izmaiņas noārdītas koksnes struktūrlielumos atkarībā no ekspozīcijas laika uz sēnēm. Ūdens tvaikiem pieejamās specifiskās virsmas (**A**) sākuma samazināšanās

(pēc viena mēneša) bija saistīta ar hemiceluložu noārdīšanu, kuras, pateicoties augstam hidrofīlo grupu saturam, nodrošināja kontroles koksnes labāku uzbriešanu. Tālāka **A** vērtības



4.18. att. Priedes koksnes mikrostruktūras raksturojums (specifiskā virsma A, hidrofīlo centru masas a_m un virsmas α koncentrācija) atkarībā no ekspozīcijas laika uz *P. placenta* un *C. puteana.*

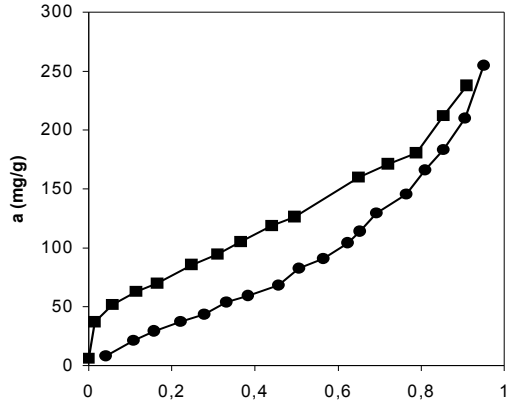
samazināšanās notika, pateicoties ogļūdeņu molekulmasas samazināšanai un paraugu bagātināšanai ar lignīnu (lignīnam ir mazāk hidrofīlo grupu, līdz ar to uzbriešanas pakāpe ūdens tvaikos ir zemāka nekā ogļūdeņiem).

Starp koksnes struktūras elementiem – ogļūdeņiem un lignīnu – pastāv fizikāla asociācija, kuru nodrošina starpstrukturālas ūdeņraža saites. Šo saišu saraušana biodegradācijas sākumā atbrīvo jaunus hidrofīlos centrus un to koncentrācija pieaug, kas liecina par sēņu metabolītu iedarbību uz koksnes mikrostruktūru. Eksperimenta rezultāti apstiprināja hidrofīlo centru virsmas koncentrācijas (α) un masas koncentrācijas ($\mathbf{a_m}$) pieaugumu pēc viena mēneša ekspozīcijas uz abām sēnēm. Šie centri atbrīvojās pēc zemmolekulāro ogļūdeņu (hemiceluložu) aizvākšanas un celulozes sašķelšanas. Turpmākajā degradācijas periodā (2 – 3 mēneši), α un $\mathbf{a_m}$ vērtības samazinājās, kas skaidrojams ar sašķelto oligosaharīdu patēriņu. Pēc četru mēnešu koksnes noārdīšanas hidrofīlo centru virsmas koncentrācijas α un masas koncentrācijas $\mathbf{a_m}$ pieaugums bija vērojams gan *P. placenta*, gan *C. puteana* gadījumā. Domājams, ka vēlīnā degradācijas posmā turpinās koksnes struktūras degradācija ar jaunu hidrofīlo centru veidošanos un/vai sēņu nepatērēto oligosaharīdu koncentrācijas pieaugums.

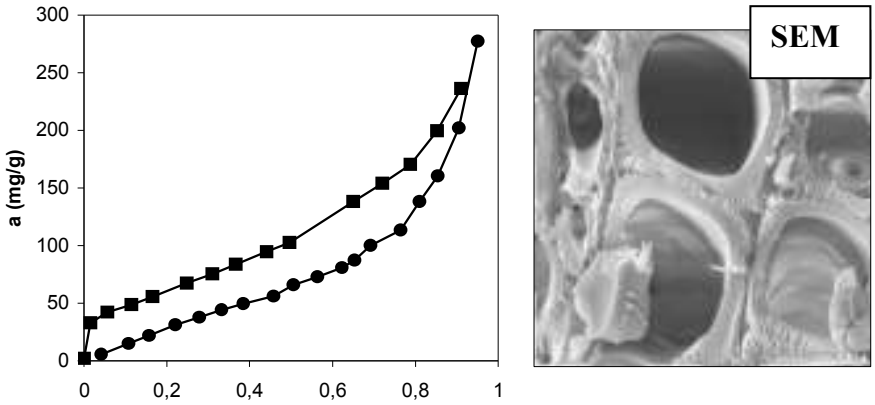
4.19. attēlā redzamas koksnes ūdens tvaiku sorbcijas – desorbcijas izotermas pēc paraugu divu mēnešu eksopzīcijas uz sēnēm *C. puteana* un *P. placenta.* Visām izotermām ir raksturīga histerēze (sorbcijas – desorbcijas izotermu nesakritība) visā izotermas apgabalā, kas saistīta ar daļēju sorbāta (ūdens tvaika) ieslēgumu sorbenta (koksnes) struktūrā desorbcijas procesā.

Histerēzes cilpas platums ir atkarīgs no starpstrukturālo saišu stipruma. Tā sašaurinājās visos noārdītajos paraugos pēc viena mēneša ekspozīcijas (saišu pavājināšanās pēc hemiceluložu noārdīšanas). Pieaugot koksnes degradācijas laikam, histerēzes cilpa atkal kļuva platāka, jo noārdītajā koksnē veidojās jaunas starpstrukturālās saites. Piemēram, *P. placenta* noārdītā koksnē platākā histerēzes cilpa bija pēc 4 ekspozīcijas mēnešiem, bet *C. puteana* gadījumā pēc 3 mēnešiem.

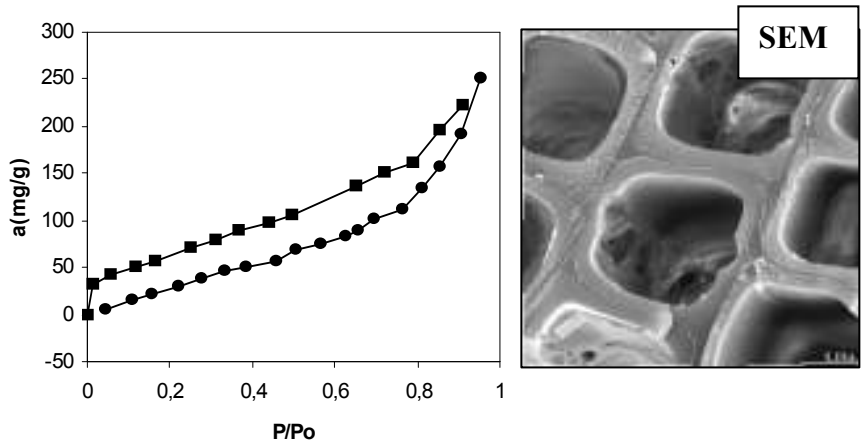
Kontrole



P. placenta



C. puteana



4.19. att. Ūdens tvaiku sorbcijas – desorbcijas izotermas kontroles koksnei un *P. placenta* un *C. puteana* noārdītai koksnei pēc 2 mēnešiem (sorbcija – apļi; desorbcija – kvadrāti); a – adsorbcija; P/ P_o – relatīvais piesātināta tvaika spiediens. Salīdzinājumam – SEM mikrogrāfijas pēc abu sēņu bojājumiem.

Tabulā parādīti diapazoni, kuros tika konstatēti vislielākie jaunu poru daudzumi. Jaunas poras ar diametru no 2,1 līdz 9,9 nm bionoārdītā koksnē veidojās atkarībā no sēnes un ekspozīcijas laika. Pēc viena mēneša *P. placenta* noārdītā koksnē jaunu poru vidējie izmēri bija 2,1–2,5 nm, bet pēc četriem mēnešiem $\mathbf{D_{vid}}$ = 3,1-9,9 nm. *C. puteana* bojātā koksnē pēc četriem mēnešiem vidējie poru izmēri sasniedza 2,7-8,3 nm robežas.

Dati, kas iegūti ar šķīdumu izslēgšanas metodi, liecina, ka jaunas poras brūnās trupes bojātā Amerikas ambraskoka (*Liguidambar styraciflua*) koksnē veidojas, vai nu erodējot jau

esošajām porām ar diametru ≥ 1,2 nm, vai arī veidojoties jaunām porām 1,2 - 3,8 nm robežās (Flournoy et al., 1991).

4.5. tabula. Koksnes šūnas mikroporu izmēri pēc bionoārdīšanās.

Sēne	Degradācijas laiks (mēneši)	Poru diametrs D_{vid} (nm)
P. placenta	1	2,1 – 2,5
	2	3,0 – 8,3
	3	3,1 – 9,9
	4	3,1 – 9,9
C. puteana	1	-
	2	-
	3	2,3 – 3,6
	4	2,7 – 8,3

Jaunu poru veidošanās koksnē ir saistīta ar koksnes šūnas struktūras elementu destruktīvām izmaiņām, kuras izraisa sēņu veidotie un vidē izdalītie metabolīti – reaktīvie skābekļa savienojumi (RSS) un enzīmi. Tomēr enzīmu loma koksnes noārdīšanās sākuma stadijā ir diskutējama. Piemēram, mazākā zināmā proteīna – ribonukleāzes molekulmasa (Mr) ir ap 13 000 un diametrs ap 3 nm. Ir zināmi arī daži mazi celulolītiski proteīni ar Mr 11 000 līdz 13 000 bet, sēnei *P. placenta* nav konstatētas maza izmēra celulāzes (Green et al., 1989). Arī TEM pētījumi (Daniel et al., 1989) par koksni noārdošo enzīmu iespiešanās spēju šūnas sienā parādīja, ka lignīna peroksidāze (Mr ~ 42 000; dm ~ 10 nm) nespēj iespiesties veselas koksnes šūnas sienā. Ir zināms, ka *Trichoderma reesei* celobiohidrolāžu katalītisko centru diametrs ir 6,0 – 6,4 nm, bet visa enzīma garums CBH I ir 18 nm un CBH II ir 21 nm (Reinikainen, 1994), savukārt, *T. reesei* endoglikanāzes EG I izmērs ir 13 nm (Mr 55 000) (Kleman-Leyer et al., 1996).

Koksnes šūnas noārdīšanas procesā ir iesaistīti RSS, kas mitrā vidē (koksnes W_{abs} > 28%) sašķeļ koksnes komponentu starpstrukturālās saites, veidojot jaunas mikroporas (~ 2 – 10 nm), kuras izdevās noteikt ar ŪTS metodi. No šīm mikroporām veidojās makroporas, kurās var iespiesties lielmolekulārie enzīmi un sašķelt koksnes polimērus. Šie rezultāti liecina par labu hipotēzei par maza (-u) difundējoša savienojuma lomu koksnes šūnas noārdīšanā un struktūras *atvēršanu* lielmolekulāriem koksni noārdošiem enzīmiem.

4.2.2.4. Izmaiņas koksnes mikromorfoloģijā (SEM)

Koksnes šūnas sieniņas struktūras izmaiņas brūnās trupes sēņu *P. placenta* un *C. puteana* iedarbībā (Tests III) tika pētītas ar SEM. Pētījumos tika konstatēts, ka lauztie koksnes paraugi dod uzskatāmāku noārdīšanās ainu nekā grieztie paraugi (skat. 3.2.7.).

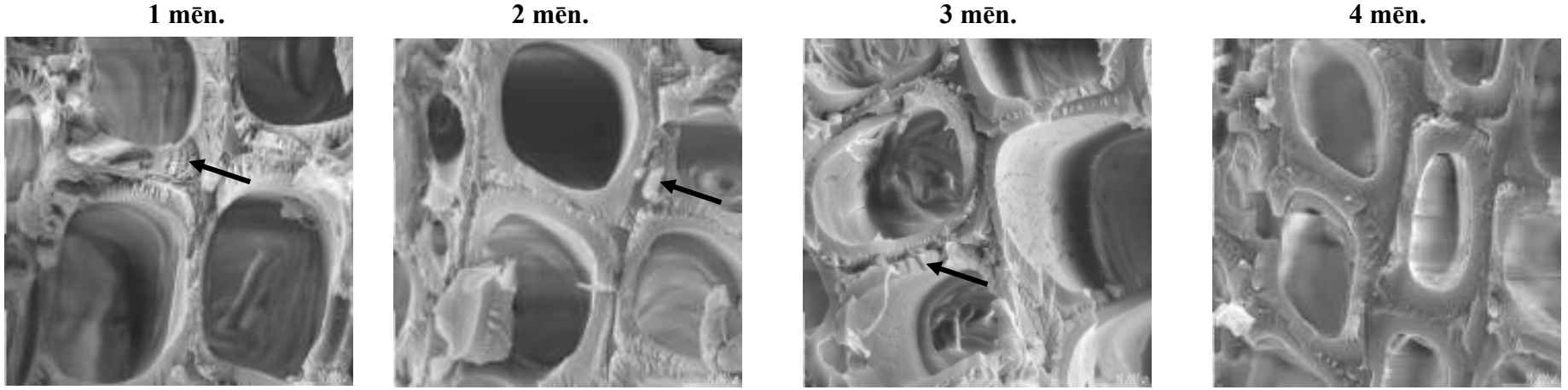
P. placenta noārdītas koksnes SEM attēlu sekvence ir parādīta 4.20. attēlā. Lauztās koksnes šūnas sienas pakāpeniski kļuva gludākas, tomēr atšķirības starp vienu un trīs mēnešus noārdītu koksni gandrīz nebija pamanāmas. Šūnas virsma kļuva gluda pēc četriem mēnešiem, kad koksnes komponenti bija noārdīti. Visu testa laiku saglabājās redzama robeža starp šūnas sienu un viduslamellu (VL).

4.21. attēlā redzama sēnes *C. puteana* noārdītas koksnes SEM attēlu sekvence. Pēc viena mēneša lauztā virsma bija nelīdzena, ar dziļām spirāliskām plaisām un raupji plākšņainu virsmu. Sākot ar otro līdz ceturtajam mēnesim, šūnas siena lūza vienmērīgi, atklājot gludu struktūru. Sekundārās sienas S3 slānis saplaisāja jau pēc diviem degradācijas mēnešiem, veidojot dziļas rievas šūnas lumenā. Morfoloģiskas atšķirības starp sekundāro sienu un VL bija labi pamanāmas pēc viena mēneša degradācijas. Šūnas sienas virsma atklāja plākšņainu struktūru perpendikulāri šķiedru asij, kamēr VL palika gluda. Atšķirība starp abiem slāņiem izzuda vēlākos noārdīšanās periodos, kad sekundārā siena vizuāli kļuva līdzīga VL.

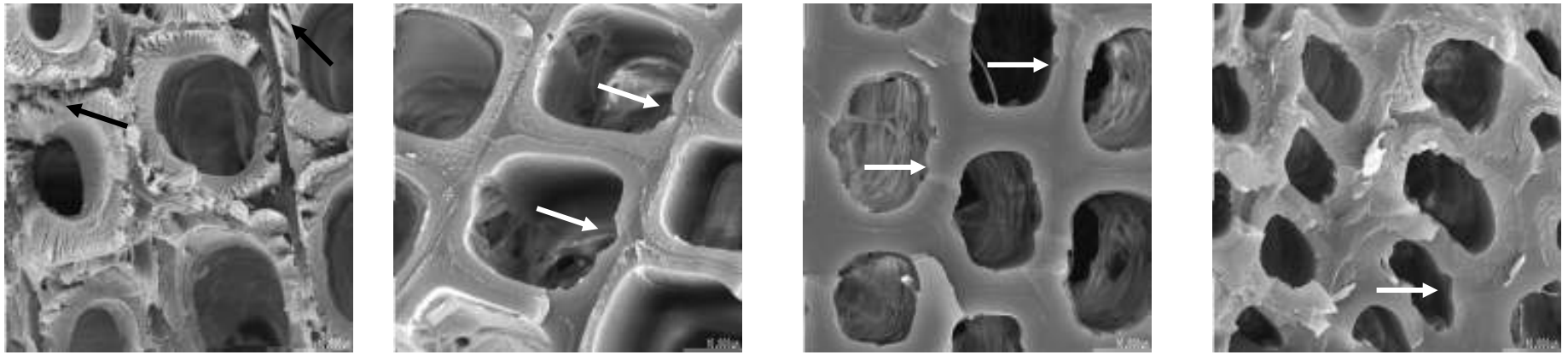
SEM mikrogrāfijas parādīja, ka S3 slānis palika nebojāts pēc *P. placenta* iedarbības, bet izmainījās atsevišķās vietās pēc *C. puteana* bojājumiem (4.21. att.). Iespējams, ka *C. puteana* koksni noārdošā sistēma intensīvāk iedarbojās uz S3 slāni, izraisot eroziju un šūnas sienas paplāninašanos, kas raksturīga baltās trupes noārdītai koksnei.

Brūnās trupes sēņu bojātas koksnes VL atklāja gludu struktūru no testa sākuma līdz beigām abu sēņu gadījumā. *P. placenta* bojātā koksnē, izteikta robeža starp sekundāro sienu un VL saglabājās līdz testa beigām. *C. puteana* bojātā koksnē atšķirība starp abiem slāņiem izzuda jau pēc 2 mēnešu noārdīšanās, kad sekundārā siena izskatījās gluda, līdzīga VL. Domājams, ka VL gludā virsma paraugu laušanas procesā veidojās, pateicoties augstam lignīna saturam. Koksnes noārdīšanās laikā sekundārā sieniņa, noārdoties ogļūdeņiem, kļuva bagātāka ar lignīnu un līdzinājās VL.

Iegūtās mikrogrāfijas parādīja atšķirības koksnes noārdīšanās modeļos abu brūnās trupes sēņu gadījumā. Piemēram, ja masas zudumi pēc 4 mēnešiem *C. puteana* bojātai koksnei bija 40%, bet *P. placenta* tie bija 47%, tad SEM mikrogrāfijas *P. placenta* gadījumā ilustrēja nevienmērīgu koksnes noārdīšanu visā testa garumā. Arī saskaņā ar jonapmaiņas



4.20. att. Lauzto koksnes paraugu noārdīšanās sekvence pēc brūnās trupes sēnes *P. placenta* iedarbības četru mēnešu laikā. Melnās bultas parāda spirālveida plaisas (mēroga līnija = 10 μm).



4.21. att. Lauzto koksnes paraugu noārdīšanās sekvence pēc brūnās trupes sēnes *C. puteana* iedarbības četru mēnešu laikā. Melnās bultas parāda spirālveida plaisas, bet baltās – dziļas rievas (mēroga līnija = 10 μm).

hromatogrāfijas rezultātiem (4.9. tab.), *C. puteana* patērēja mazāk celulozes, kamēr SEM parādīja pretēju rezultātu, t.i. gludi lūztošu virsmu jau bojājumu sākuma stadijās.

Uzskatām, ka *C. puteana* izraisīja ātrāku celulozes depolimerizāciju bez ievērojamiem tās zudumiem. Mūsu rezultāti par celulozes PP izmaiņām pēc brūnās trupes sēņu iedarbības uz celulozi (skat. 4.2.2.4.) arī parādīja strauju celulozes PP samazināšanos pēc *C. puteana* iedarbības testa sākumā. Tomēr jāņem vērā, ka testā izmantotā sulfātceluloze ir celulozes modeļa substrāts, kas atšķiras no celulozes koksnē, kur tā veido kompleksu ar hemicelulozēm un lignīnu. Tādēļ sēņu metabolītu piekļūšana celulozes šķiedrām koksnē un to noārdīšana ir daudz sarežģītāks process nekā tīras celulozes noārdīšana. Arī Encinas et al. (1998) izskaidro gludas virsmas pazīmi, kas novērota lauztā S2 slānī, ar celulozes ķēžu PP samazināšanos.

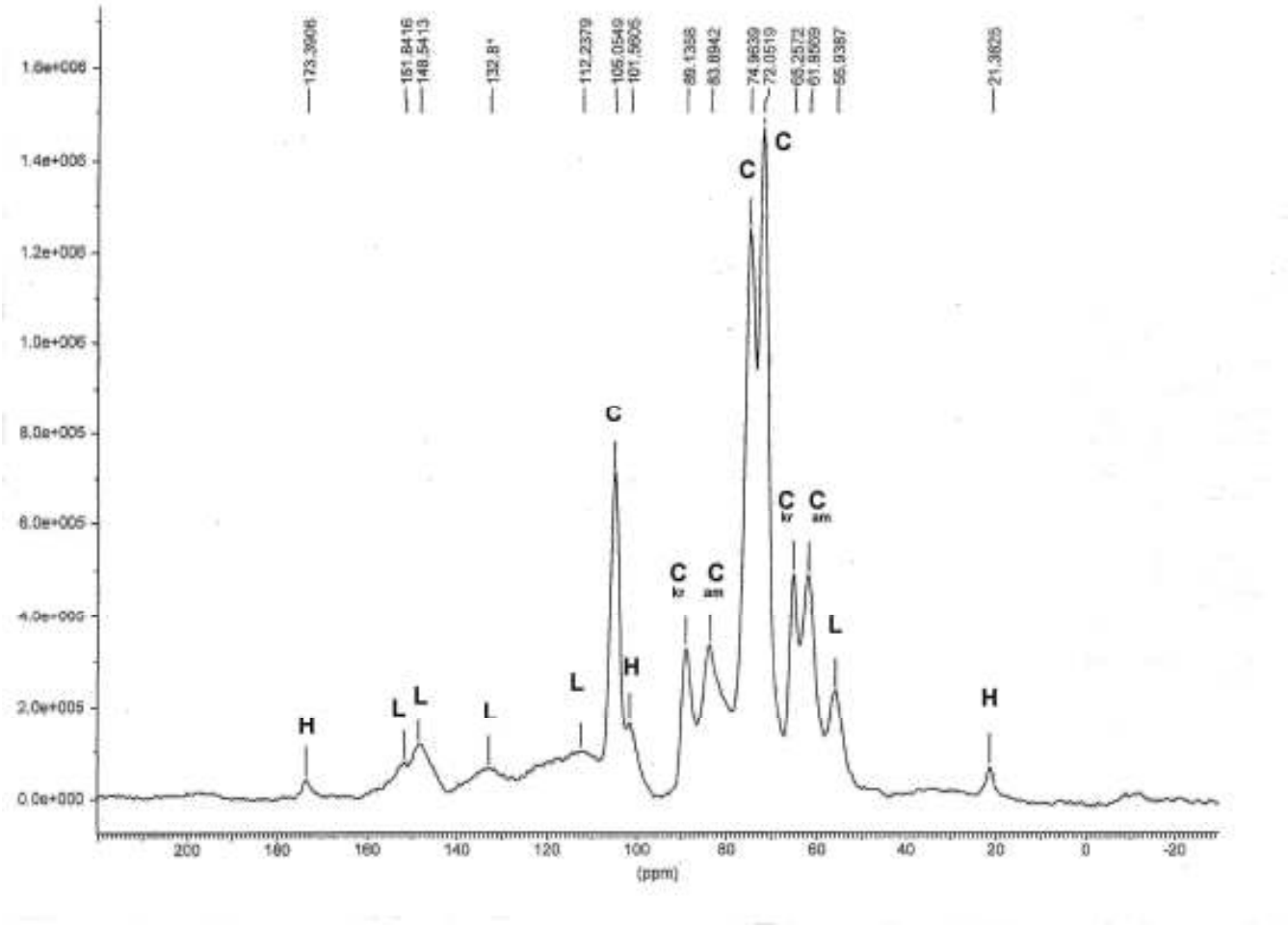
Domājam, ka *P. placenta* vieglāk noārdīja celulozes amorfos rajonus, kamēr kristāliskie palika mazāk bojāti. Tas varēja ietekmēt koksnes laušanas procesu, atklājot nelīdzenu šūnas virsmu. *C. puteana,* acīmredzot, spēja aktīvāk noārdīt gan amorfos, gan kristāliskos rajonus, kas mikrogrāfijās atspoguļojās kā gluda lauztā virsma.

Iepriekš ziņots (Highley et al., 1985) par brūnās trupes sēņu izraisītu S2 slāņa noārdīšanu bez manāmiem S3 bojājumiem, ko izskaidro ar lielāku lignīna koncentrāciju S3 slānī. Arī brūnās trupes bojātas koksnes šūnas sienas ultrastruktūras pētījumi ar transmisijas elektronu mikroskopiju (TEM) (Eriksson et al., 1990) liecināja par nehidrolizēta lignīna atlikumu visā šūnas sienā, ar vislielāko daudzumu VL.

4.2.3. Koksnes komponentu izmaiņas degradācijas laikā

4.2.3.1. Hemiceluložu zudumi (^{13}C KMR)

Priedes koksnes šūnas sienas komponentu ^{13}C KMR spektru signāli ir parādīti 4.22. attēlā. Saskaņā ar agrākiem pētījumiem (Kim and Newman, 1995) un mūsu rezultātiem, polisaharīdu signāli tika noteikti pie 62-105 ppm, lignīna metoksilgrupas pie 56 ppm, bet aromātisko gredzenu signāli pie 112-152 ppm. Arī citu autoru darbos (Kolodziejski et al., 1982) pētot bērza koksnes ^{13}C KMR spektru signālus konstatēts, ka 172 un 21 ppm signāli raksturo hemiceluložu acetātgrupas, 153 ppm signāls raksturo lignīna C-3, C-4 un C-5 siringilvienību oglekļus, kas iesaistīti starpmolekulāro β-0-4 arilēstera saišu veidošanā, bet aromātisko gredzenu oglekļi rezonē pie 136 ppm. Samērā plats signāls pie 116 ppm pieder C-1 ogleklim fenilpropāna vienībās. Hemicelulozes un celulozes signāli daļēji pārklājas reģionā starp 60 – 110 ppm. Konkrēti, 105 ppm signāls pieder celulozes C-1 ogleklim, 89 un 84 ppm celulozes



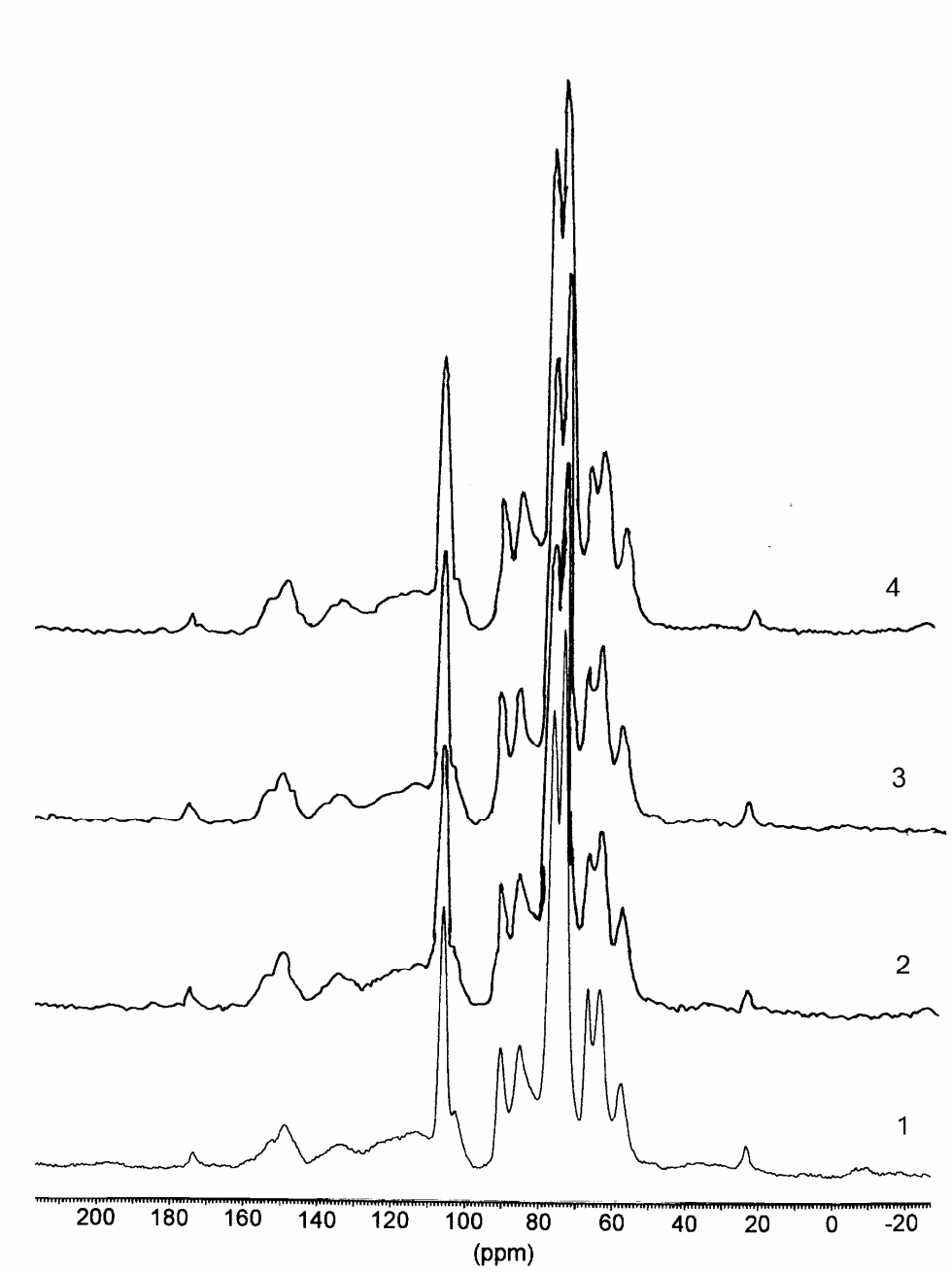
4.22. att. Priedes koksnes šūnas sienas komponentu ^{13}C KMR spektru signāli. Saīsinājumi: **H** – hemiceluložu signāli; **L** – lignīna signāli; **C** – celulozes signāli ($\mathbf{C_{kr}}$ un $\mathbf{C_{am}}$ – attiecīgi, kristāliskā un amorfā celuloze).

C-4 ogleklim, bet 65 un 62 ppm celulozes C-6 ogleklim kristāliskajos un amorfajos rajonos. 72 un 76 ppm reģionā reģistrētie signāli raksturo celulozes C-2, C-3 un C-5 atomus, bet 56 ppm signāls - lignīna metoksilgrupas.

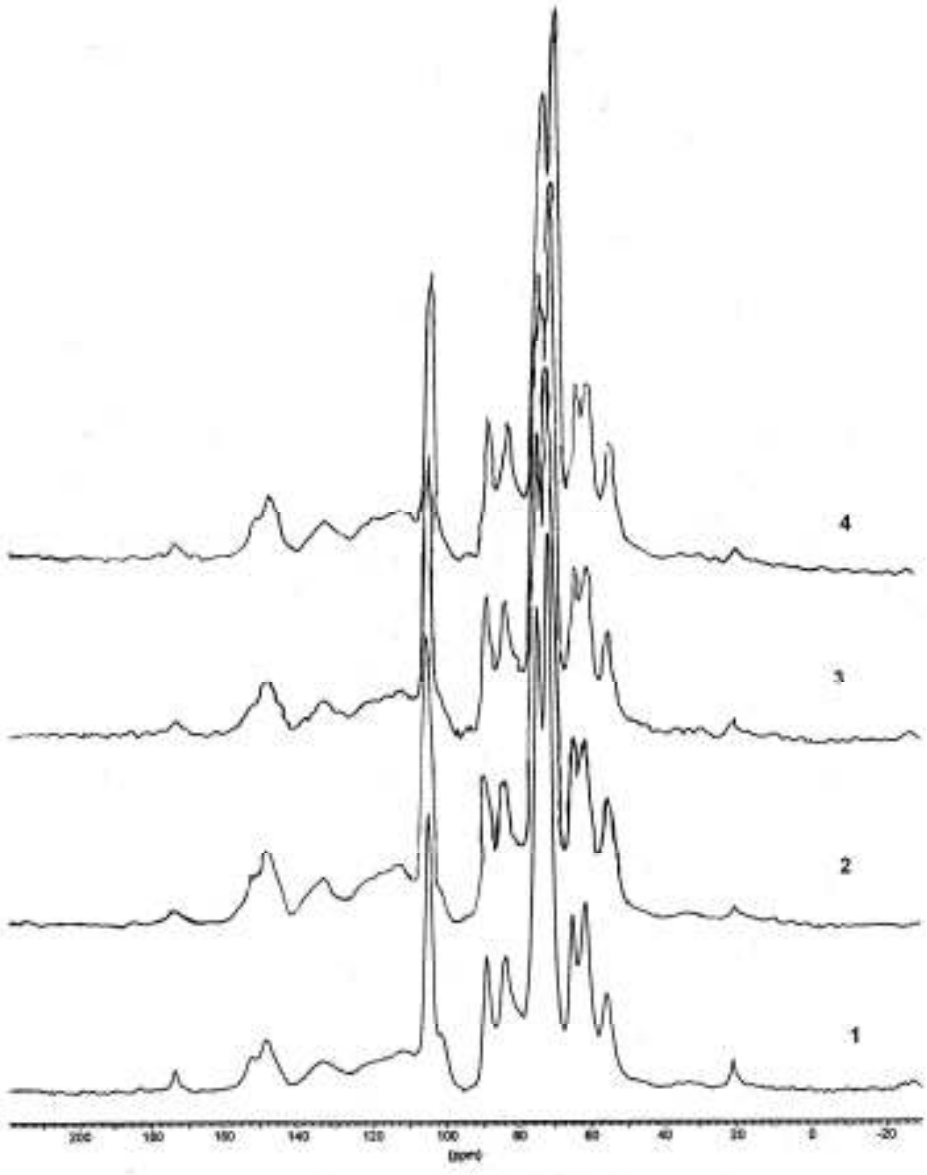
Lignīna satura izmaiņas koksnes degradācijas laikā analizētas sadaļā 4.2.3.2.

Augsti sakārtotas hemicelulozes C-1 signāli (102 ppm) tika reģistrēti kontroles paraugiem un niecīgos daudzumos 10 dienu noārdītai koksnei pēc trīs testa sēņu iedarbības (4.23. att.). Paraugu masas zudumiem pārsniedzot 10% un turpinoties noārdīšanās procesam, hemicelulozes signāli pie 102 ppm vairs netika reģistrēti 20 dienu (4.24. att.), 30 dienu (4.25. att.) un 50 dienu (4.26. att.) noārdītai koksnei. Tas apstiprina iepriekšējo pieņēmumu, ka brūnās trupes sēnes vispirms noārda hemicelulozes, lai varētu noārdīt un patērēt polimērizēto celulozi (Highley, 1987). Tā kā signāls pie 102 ppm ir attiecināms uz mannozes C-1

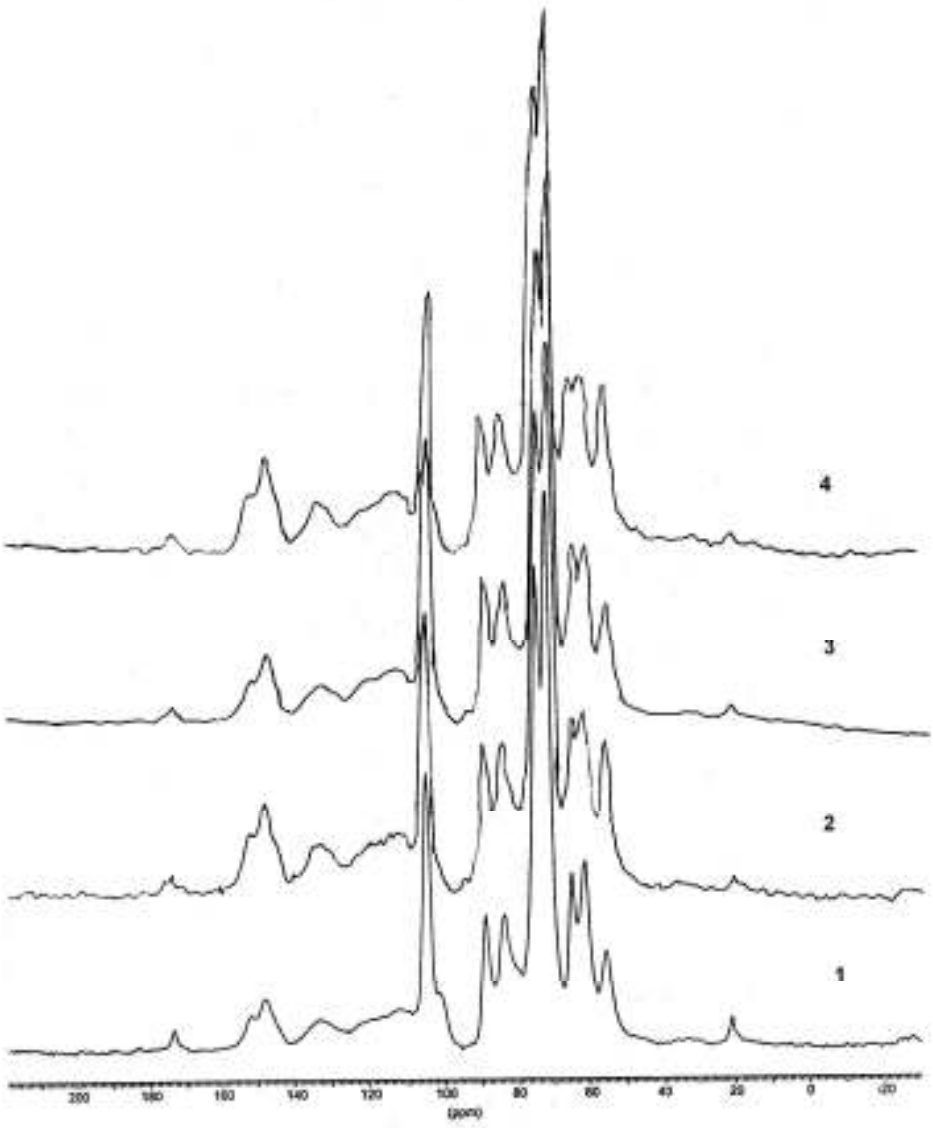
salīdzinoši augsti sakārtotiem glikomannāniem, mēs pieņemam, ka mannāniem ir svarīga loma koksnes noārdīšanās sākuma posmā, ko apliecināja arī jonapmaiņas hromatogrāfijas cukuru analīze (skat. 4.2.3.2.c).



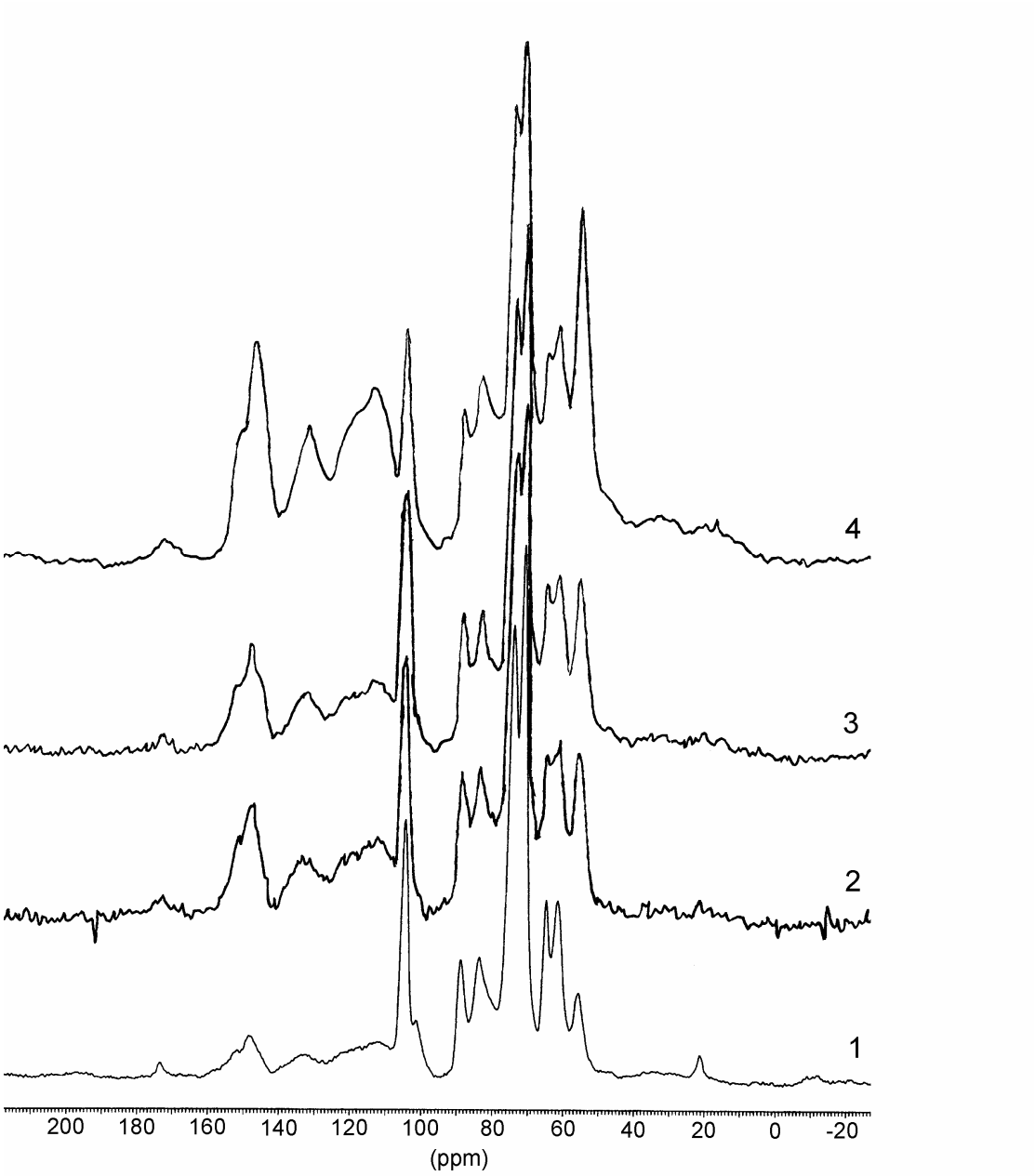
4.23. att. Kontroles un brūnās trupes koksnes KMR spektri pēc 10 dienu sēņu iedarbības. 1 – kontrole; 2 – *P. placenta;* 3 – *G. trabeum*; 4 – *C. puteana.*



4.24. att. Kontroles un brūnās trupes koksnes KMR spektri pēc 20 dienu sēņu iedarbības. 1 – kontrole; 2 – *P. placenta;* 3 – *G. trabeum*; 4 – *C. puteana.*



4.25. att. Kontroles un brūnās trupes koksnes KMR spektri pēc 30 dienu sēņu iedarbības. 1 – kontrole; 2 – *P. placenta;* 3 – *G. trabeum*; 4 – *C. puteana.*



4.26. att. Kontroles un brūnās trupes koksnes KMR spektri pēc 50 dienu sēņu iedarbības. 1 – kontrole; 2 – *P. placenta;* 3 – *G. trabeum*; 4 – *C. puteana.*

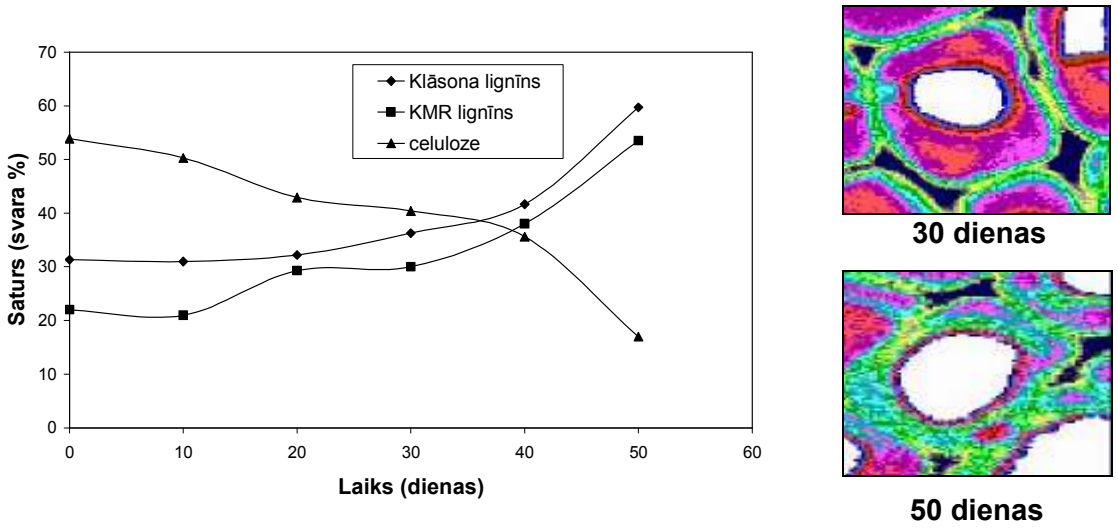
Rezultāti parādīja, ka polisaharīdu signāli dominē pār lignīna signāliem gan kontroles koksnē, gan *P. placenta* un *G. trabeum* bojātā koksnē līdz testa beigām t.i. 50 dienām. Atšķirīgi spektri tika iegūti *C. puteana* noārdītai koksnei. Polisaharīdu signāli dominēja līdz ekspozīcijas 40 dienai, bet pēc 50 dienām lignīna metoksilgrupu un aromātisko gredzenu

signāli bija izteiktāki, kas norāda uz vēlīnu noārdīšanās stadiju ar ievērojamu cukuru daļas zudumu (4.26. att.), ko apstiprina arī lielie masas zudumi (4.6. tab.). Iepriekšējie pētījumi (Kim and Newman, 1995), kuros analizēta Korejas sarkanā priede, apstiprina ogļūdeņu dominanci pār lignīna signāliem *G. trabeum* noārdītā koksnē (pie 32% masas zudumumiem).
Signāls pie 21 ppm attiecas uz hemiceluložu acetātgrupām (Teeäär et al., 1994). Tas bija pamanāms kontroles koksnei un brūnās trupes koksnei līdz 30 bojājumu dienām (4.25. att.). Vēlākos noārdīšanās periodos signāls izzuda (4.26. att.). Intensīvāka hemiceluložu daļas noārdīšana notika pēc *P. placenta* iedarbības, kad signāls vairāk pavājinājās salīdzinot ar abām pārējām sēnēm. Lēnāka hemicelulozes noārdīšana notika *G. trabeum* gadījumā. Iegūtie rezultāti liecina, ka hemicelulozes tiek noārdītas pirms celulozes, un degradācijas intensitāte ir atkarīga no sēnes sugas.

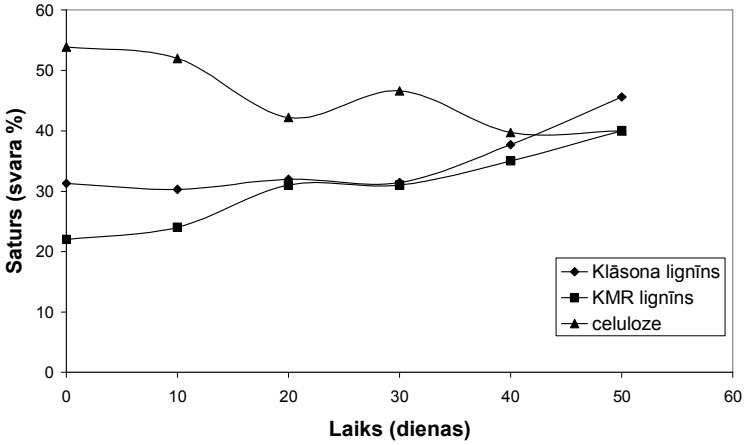
4.2.3.2. Celulozes un lignīna zudumi (ķīmiskās analīzes; JAH)

a. Komponentu satura izmaiņas (50 dienu laikā)

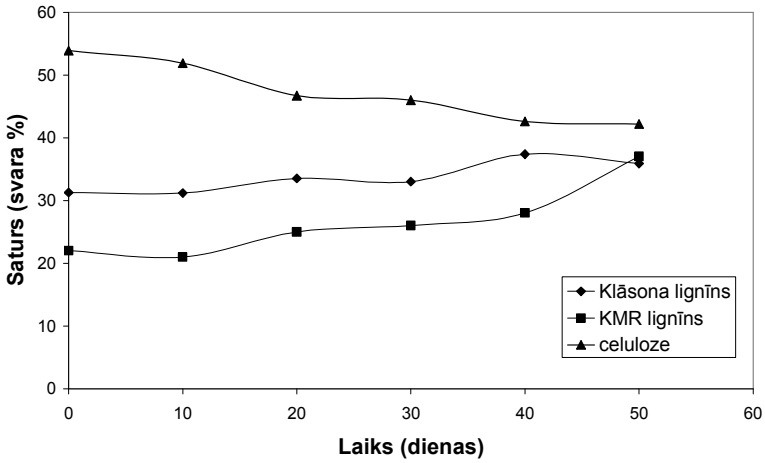
Izmaiņas celulozes un lignīna saturā pēc brūnās trupes sēņu *C. puteana, P. placenta* un *G. trabeum* iedarbības (Tests I) uz koksni ir parādītas 4.27. – 4.29. attēlos. Grafikos atspoguļotas lignīna vērtības, kas iegūtas gan ar ķīmisko metodi (Klāsona lignīns), gan ^{13}C KMR spektroskopiju (KMR lignīns).
Celulozes saturs *C. puteana* bojājumu laikā samazinājās no 53,9% (kontrole) līdz 17,0% (4.27. att.). Ogļūdeņu samazināšanās koksnē notika pakāpeniski, līdz testa beigās tika novēroti lieli celulozes zudumi. Pamatojoties uz celulozes noārdīšanu, lignīna saturs relatīvi pieauga un sasniedza augstas vērtības. Klāsona lignīns pieauga no 31,3% (kontrole) līdz 59,7% pēc 50 dienām, bet KMR lignīns pieauga līdz 53,5%. Jāatzīmē, ka lignīna saturs veselā koksnē, mērot ar KMR spektroskopijas metodi, bija zemāks t.i. 22,0%. Kopumā, Klāsona lignīna un KMR lignīna līknes *C. puteana* bojājumu laikā pakāpeniski pieauga līdz testa beigām.
Celulozes noārdīšana pēc *P. placenta* iedarbības uz koksni bija ierobežota, salīdzinot ar *C. puteana* (4.28. att.). Celulozes saturs samazinājās līdz 40,0% pēc 50 dienām, kamēr Klāsona lignīns pieauga līdz 45,6% un KMR lignīns līdz 40,0% pēc 50 dienu bojājumiem. 4.28. attēlā redzams, ka abām lignīna līknēm ir tendence laika gaitā pieaugt.



4.27. att. Lignīna un celulozes satura izmaiņas pēc *C. puteana* iedarbības uz koksni. Salīdzinājumam – UMSP attēli ar 30 un 50 dienu bojātas koksnes šūnām (zaļā krāsa - atlikušā lignīna augstas absorbcijas vērtības).



4.28. att. Lignīna un celulozes satura izmaiņas pēc *P. placenta* iedarbības uz koksni.



4.29. att. Lignīna un celulozes satura izmaiņas pēc *G. trabeum* iedarbības uz koksni.

Celulozes saturs koksnē pēc *G. trabeum* bojājumiem pakāpeniski samazinājās un testa beigās sasniedza 42,2% (4.29. att.). Pēc 50 dienām Klāsona lignīna saturs koksnē bija 35,9%, bet KMR lignīns 37,0%.

4.27. – 4.29. attēli demonstrēja, ka koksnes komponentu noārdīšanas intensitāte brūnās trupes sēnēm ir atšķirīga. Koksnes paraugu analīzes parādīja, ka celulozes saturs visvairāk samazinājās pēc *C. puteana* iedarbības, kamēr *P. placenta* un *G. trabeum* patērēja šo komponentu ierobežotā apjomā, acīmredzot, dēļ zemākas bojājumu kapacitātes.

Koksnes komponentu satura skaitliskās vērtības ietekmēja noteikšanas metode. Kvantitatīvie brūnās trupes lignīna noteikšanas rezultāti, kas iegūti ar ķīmisko un ^{13}C KMR metodi, sakrita daļēji. Sēņu bojājumu laikā, korelācija starp abām līknēm saglabājās, lai gan KMR lignīna vērtības pamatā bija zemākas. Atšķirības starp abām metodēm tika novērotas arī attiecībā uz veselas koksnes lignīnu, t.i., ķīmiskā metode deva 31,3% Klāsona lignīna, bet ^{13}C KMR metode – 22,0% lignīna. Pēc Klāsona metodes noteiktā priedes lignīna vērtība ir tuvu iepriekš noteiktajai, t.i., 29,2% (Browning, 1952).

Ar slāpekļskābes metodi noteiktais celulozes saturs veselā priedes koksnē bija 53,9%, bet pēc citu autoru datiem (Fengel and Wegener, 1989), celulozes daudzums priedei ir 52,2%. Pēc iepriekšējām ziņām (Browning, 1967), koksnes apstrāde ar slāpekļskābes šķīdumu aizvāc lignīnu un ¾ hemiceluložu.

b. Komponentu zudumi [%] (50 dienu laikā)

Lai salīdzinātu masas un koksnes komponentu zudumus, celulozes un lignīna satura vērtības tika izskaitļotas kā procentuālie zudumi. Rezultāti ir apkopoti 4.6. – 4.8. tabulās.

C. puteana noārdīta koksne ar 2% masas zudumu uzrādīja 8,5% celulozes zudumu pēc 10 dienām (4.6. tab.).

Pēc 20 dienām masas zudums bija 18% un celulozes zudums 34,5%, kamēr pēc 30 un 40 dienām pie masas zudumiem 24% un 37%, celulozes noārdīšana attiecīgi sasniedza 43,4% un 58,4%. Pie 55% masas zuduma pēc 50 dienām, celuloze tika patērēta 86,1% apjomā. Lignīna daudzums, salīdzinot ar celulozi, samazinājās nelielā apjomā - no 2,9% līdz 14,7% pēc 50 dienām.

4.6. tabula. Masas un koksnes komponentu zudums, un lignīna metoksilgrupu satura izmaiņas pēc *C. puteana* izraisītās priedes koksnes noārdīšanas.

Degradācijas laiks (dienas)	Masas zudums* (%)	Komponentu zudums (%)		Metoksil-grupas (%)
		celuloze	lignīns	
kontrole	-	-	-	15,1
10	2 ± 1	8,5	2,9	14,2
20	18 ± 3	34,5	15,3	13,2
30	24 ± 4	43,4	12,5	12,6
40	37 ± 2	58,4	16,0	12,4
50	55 ± 1	86,1	14,7	12,1

* Vidējais no 3 ± standartnovirze

Celulozes zudums pēc *P. placenta* 10 dienu noārdītas koksnes sasniedza 3,5% (4.7. tab.). Turpinoties bojājumiem, celulozes zudums nepārtraukti pieauga un testa beigās, pēc 50 dienām, sasniedza 49,5% pie 32% masas zuduma. Lignīns pēc 30 dienām samazinājās līdz 12,5% pie 13% masas zuduma. Tālāk tā zudumi neturpinājas un pēc 50 dienām palika 11,8% robežās.

4.7. tabula. Masas un koksnes komponentu zudums, un lignīna metoksilgrupu satura izmaiņas pēc *P. placenta* izraisītās priedes koksnes noārdīšanas.

Degradācijas laiks (dienas)	Masas zudums* (%)	Komponentu zudums (%)		Metoksil-grupas (%)
		celuloze	lignīns	
kontrole	-	-	-	15,1
10	0 ± 0	3,5	3,2	14,1
20	12 ± 1	30,8	9,6	13,5
30	13 ± 2	24,7	12,5	13,2
40	23 ± 1	42,9	6,7	13,0
50	32 ± 3	49,5	11,8	12,7

* Vidējais no 3 ± standartnovirze

G. trabeum bojāta koksne ar 1% masas zuduma uzrādīja 4,6% celulozes zudumu pēc 10 dienām (4.8. tab.). Celulozes noārdīšanās turpinājās, pieaugot masas zudumam, un pēc 50

dienām celulozes zudumi sasniedza 45,3%. Lignīns samazinājās no 1,3% (10 dienās) līdz 25,2% pēc 50 dienām.

4.8. tabula. Masas un koksnes komponentu zudums, un lignīna metoksilgrupu satura izmaiņas pēc *G. trabeum* izraisītās priedes koksnes noārdīšanas.

Degradācijas laiks (dienas)	Masas zudums* (%)	Komponentu zudums (%)		Metoksil-grupas (%)
		celuloze	lignīns	
kontrole	-	-	-	15,1
10	1 ± 0	4,6	1,3	13,9
20	18 ± 0	28,6	11,8	13,4
30	20 ± 1	31,9	16,0	13,3
40	26 ± 1	41,7	12,5	13,0
50	30 ± 1	45,3	25,2	13,3

***** Vidējais no 3 ± standartnovirze

Rezultāti parādīja, ka koksnes masas zudumus galvenokārt izraisīja polisaharīdu noārdīšana. Lielākos koksnes masas un celulozes zudumus izraisīja *C. puteana*, kamēr *P. placenta* un *G. trabeum* koksni noārdīja mazākā apjomā.

Ir zināms, ka brūnās trupes sēnes izraisa holocelulozes depolimerizāciju agrīnās bojājumu stadijās (Cowling, 1961). Koksnes stiprība ievērojami samazinās jau pie nelieliem masas zudumiem. Daži autori uzskata (Winandy and Morrell, 1993), ka brūnās trupes sēņu iedarbības sākuma posmā uz koksnes stiprību nozīmīga loma ir hemiceluložu noārdīšanai. Mūsu eksperimentā tika konstatēti mazi masas zudumi pēc 10 dienu noārdīšanas, turpretim ar KMR spektroskopijas metodi (skat. 4.2.3.1.) šiem paraugiem visu trīs sēņu gadījumā šajā laikā bija būtiski samazinājies hemiceluložu C-1 signāls pie 102 ppm (4.22. att.). Tas liecina par destruktīvām izmaiņām hemiceluložu sastāvā.

Ievērojamas atšķirības starp trim sēnēm tika novērotas attiecībā uz lignīna noārdīšanu. *P. placenta* un *C. puteana* noārdīja 12-15% lignīna, kamēr *G. trabeum* apmēram divreiz vairāk, t.i. 25% (4.6. – 4.8. tab.). Acīmredzot, *C. puteana* iedarbojās uz koksnes lignīnu līdz 20. dienai, kad masas zudums bija sasniedzis 18% un *P. placenta* līdz 30. dienai (masas zudums 13%). Tālākos trupēšanas periodos sēņu iedarbība uz lignīnu apstājās. Šeit varēja notikt lignīna degradācijas produktu repolimerizācija, neizraisot tālāku lignīna zudumu koksnē. Dabisku brūnās trupes lignīnu ir analizējis Jin et al. (1990). Tika noskaidrots, ka brūnās trupes

sēnes spēj izraisīt lignīna gredzena struktūras modifikācijas demetilēšanās ceļā un, iespējams, arilētera starpposmu sašķelšanu, kā arī daļēju lignīna sānu ķēžu struktūras depolimerizāciju, oksidāciju un sašķelšanu.

Izvērtējot koksnes komponentu procentuālos zudumus koksnē sēņu iedarbības laikā (10-50 dienas), parādās rezultātu izkliede, kas skaidrojama ar to, ka katrā laika periodā ir eksponēta cita paraugu grupa un sēņu aktivitāti katrā noārdīšanas periodā varēja ietekmēt citi blakus apstākļi. Celulozes lielākie procentuālie zudumi, salīdzinot ar masas zudumiem, skaidrojami ar celulozes straujāku depolimerizāciju nekā notika tās patēriņš. Tādēļ celulozes zudumi, kas aprēķināti attiecībā pret tās sākuma daudzumu, ir lielāki par sēņu reāli patērēto celulozes daudzumu, kas 3., 4., un 5. tabulā parādās kā zemāki masas zudumu skaitļi. Tomēr kopējie masas zudumi parāda neapšaubāmu sēņu destruktīvās iedarbības korelāciju laikā.

Lai izsekotu brūnās trupes lignīna bojājumu modelim, tika noteiktas lignīna metoksilgrupas. Tās ir raksturīgas lignīna funkcionālās grupas, un priedes lignīns satur apmēram 14,6% šo grupu (Browning, 1952). Demetilēšanās process ietver metilgrupu atšķelšanu no metoksilu daļas un veicina reaktīvu hidroksilgrupu veidošanos, kuras tālāk iesaistās lignīna kondensācijā (Kirk, 1975).

Visas trīs testa sēnes uzrādīja lignīna metoksilgrupu samazināšanos, salīdzinot ar veselas koksnes lignīnu (15,1%) (4.6. – 4.8. tab.). Lielākais samazinājums tika konstatēts trupes sākumā pēc 10 dienām, kad atšķirības starp veselas un trupējušas koksnes metoksilgrupām sasniedza ap 1%. Tālākā trupes gaitā metoksilgrupu atšķelšana samazinājās, izņemot *C. puteana,* kura arī pēc 20 dienām noārdīja 1% metoksilgrupu. Visvairāk metoksilgrupas tika noārdītas pēc *C. puteana* bojājumiem (3% pēc 50 dienām), lai gan lignīna zudums nebija augstākais (14,7%) (4.6. tab.). Lignīna zudumi apstājās pēc 20 dienām, bet metoksilgrupas turpināja samazināties. Jādomā, ka šajā gadījumā metoksilgrupu zudums tika kompensēts ar lignīna repolimerizāciju.

Lai gan *P. placenta* izraisīja vismazāko lignīna zudumu (11,8%), metoksilgrupu daudzums testa laikā samazinājās > 2% apmērā (4.7. tab.). Lignīna zudumi apstājās pēc 30 dienām, bet metoksilgrupas turpināja samazināties. Šajā gadījumā arī varēja notikt lignīna repolimerizācija.

G. trabeum izraisīja lielāko lignīna zudumu (25,2%), bet metoksilgrupu zudumi testa beigās bija <2% (4.8. tab.). *G. trabeum* bojātā lignīnā metoksilgrupu saturs ievērojami nesamazinājās starp 20 un 50 testa dienām. Mūsu rezultāti liecina, ka *G. trabeum* noārdīja priedes lignīnu atšķirīgi no abām citām brūnās trupes sēnēm. Domājams, ka ierobežotā demetoksilēšanās

kavēja jaunu reaktīvu OH^- grupu veidošanos, tādējādi lignīna repolimerizācija tika ierobežota, kas netieši veicināja tā noārdīšanos.

Koksnes ķīmijā ir zināmas lignīna oksidatīvās reakcijas skābā vidē. Ūdeņraža peroksīds vai hidroksilradikāļi ir iesaistīti šajās reakcijās kā aktīvie savienojumi, kur lignīna sašķelšanas sākuma reakcijas ietver hidroksilgrupu veidošanos aromātiskā gredzena struktūrā un oksidatīvu demetilēšanu (Fengel and Wegener, 1989). Tiek ziņots (Highley, 1987), ka *G. trabeum* spēj noārdīt kļavas lignīnu 22% apjomā pie masas zuduma 58%. Pētījumā (Job-Cei et al., 1996) par *G. trabeum* izraisītu lignīna noārdīšanu papīrmasā ir noteiktas ļoti augstas šķīstošā lignīna vērtības skalojamos ūdeņos un ātra polisaharīdu depolimerizācija. Minētie autori ziņo par *G. trabeum* skaidru selektivitāti uz lignīnu, pat ja sēne neveidoja ekstracelulāras feniloksidāzes, un oksidāzes tests bija negatīvs.

Lignīna demetilēšana brūnās trupes sēnēm ir oksidatīvs process, tādēļ mēs pieņemam, ka H_2O_2, ko veido sēnes, ir saistīts ar metoksilgrupu atšķelšanu un reaktīvu fenola hidroksilgrupu veidošanos. Šīs hidroksilgrupas var iesaistīties lignīna repolimerizācijā, kā redzams pēc *C. puteana* (4.6. tab.) un *P. placenta* (4.7. tab.) rezultātiem. Pieļaujam, ka lignīna metoksilgrupu aizvākšana un reaktīvu fenola hidroksilgrupu veidošanās ir neenzimātisks process, kurā piedalās ekstracelulāra Fentona sistēma vai citi spēcīgi oksidanti. Lignīna oksidatīvās reakcijas veicina arī oksālskābes vai citas organiskas skābes veidošanās atkarībā no sēņu sugas. Hemicelulozes aizvākšana un lignīna oksidācija varētu veicināt tālāku sēņu metabolītu piekļuvi koksnes šķiedrām un šūnas sieniņas degradāciju.

c. Koksnes komponentu zudumi četru mēnešu degradācijas laikā (JAH)

Koksnes ķīmiskā sastāva izmaiņu dinamika brūnās trupes sēņu *P. placenta* un *C. puteana* iedarbībā (Tests III) tika pētīta ar jonapmaiņas hromatogrāfijas metodi.

Koksnes komponentu sastāvs sēņu neskartos kontroles paraugos precīzi atspoguļoja skuju koku polisaharīdu sastāvu. Atbilstoši literatūras datiem, to veido 40-50% celuloze, 10-15% arabino-4-O-metilglikuron-ksilāns (Xyl/ GluA/ L-Ara = 10/ 2/ 1,3), 5-10% O-acetil-galakto-glikomannāns (Man/ Glu/ Gal = 3/ 1/ 1) un 27% lignīns (Timell, 1967; Fengel and Wegener, 1989).

Glikozes saturs kontroles paraugos pēc hidrolīzes bija visaugstākais (49,1 abs. %), tam sekoja mannoze, ksiloze, galaktoze un arabinoze (attiecīgi 12,9, 5,7, 1,7 un 1,2 abs. %) (4.9. tab.). Pārējos 29,4% veidoja galvenokārt lignīns un sveķi.

4.9. tabula. Priedes paraugu masas zudumi un izmaiņas koksnes ogļūdeņu komponentos pēc brūnās trupes sēņu *P. placenta* un *C. puteana* destruktīvās iedarbības.

Sēne	Ekspozīcija (mēneši)	Masas zudums (%)*	Glikoze (%)			Mannoze (%)			Ksiloze (%)			Galaktoze (%)			Arabinoze (%)			Σ abs. (%)	Σ rel. (%)	100 mīnus Σ abs. (%)
			abs.	rel.	zud.	abs.	rel.	zud.	abs.	rel.	zud.	abs.	rel.	zud.	abs.	rel.	zud.			
Kontrole	-	-	49,1	69,5	-	12,9	18,3	-	5,7	8,0	-	1,7	2,4	-	1,2	1,8	-	70,6	100	29,4
P. placenta	1	6 ± 2																		
	2	20 ± 1	42,9	77,7	12,6	6,6	12,0	48,7	3,9	7,1	31,2	0,9	1,6	48,5	0,9	1,7	25,0	55,2	100	44,8
	3	36 ± 1																		
	4	47 ± 4	23,5	78,5	52,2	2,5	8,3	80,9	2,7	8,9	53,1	0,7	2,3	59,2	0,6	2,0	51,6	30,0	100	70,0
C. puteana	1	12 ± 2																		
	2	21 ± 1	44,7	78,9	8,9	6,1	10,8	53,1	4,0	7,1	23,0	0,9	1,5	49,7	1,0	1,7	23,4	56,5	100	43,5
	3	28 ± 2																		
	4	40 ± 1	33,2	81,8	32,3	2,9	7,2	77,5	3,0	7,3	47,4	0,7	1,8	56,2	0,8	1,9	38,7	40,6	100	59,4

* Vidējā vērtība no 3 paraugiem ± standartnovirze

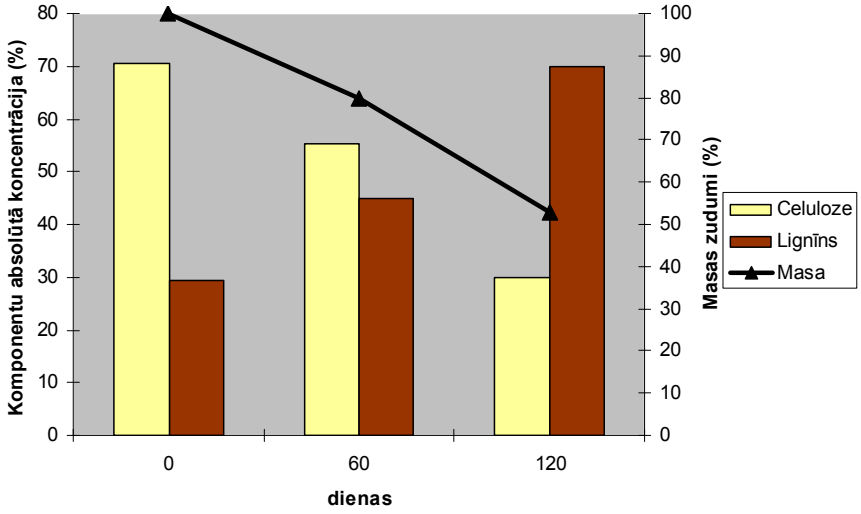
Paraugi četru mēnešu laikā zaudēja 47% masas *P. placenta* iedarbībā un 40% masas – *C. puteana* iedarbībā. 4.9. tabulā parādītas cukuru satura izmaiņas noārdīto paraugu hidrolizātos absolūtās [%] un relatīvās [%] vērtībās. Pēc četru mēnešu ekspozīcijas uz sēnes *P. placenta,* koksnes atlikums saturēja 30,0% cukuru, bet *C. puteana* gadījumā, – 40,6% cukuru.

4.9. tabulā redzams, ka no hemicelulozes veidojošajiem cukuriem, vispilnīgāk tika izmantota mannoze: *P. placenta* patērēja 80,9% no mannozes sākotnējās masas; *C. puteana* – 77,5%. Pretēji tam, celulozi veidojošajam monosaharīdam – glikozei, koksnes noārdīšanas gaitā bija vērojams relatīvā daudzuma pieaugums. Piemēram, pēc četriem mēnešiem, hidrolizātā konstatējām 78,5 rel.% (*P. placenta*) un 81,8 rel.% (*C. puteana*) glikozes, kamēr kontroles paraugos glikoze bija 69,5 rel.%. Neraugoties uz relatīvās koncentrācijas pieaugumu, absolūtos skaitļos glikoze tika patērēta vairāk nekā citi cukuri. Četru mēnešu laikā *P. placenta* samazināja glikozes koncentrāciju koksnē par 52,2%, bet *C. puteana* – par 32,3%.

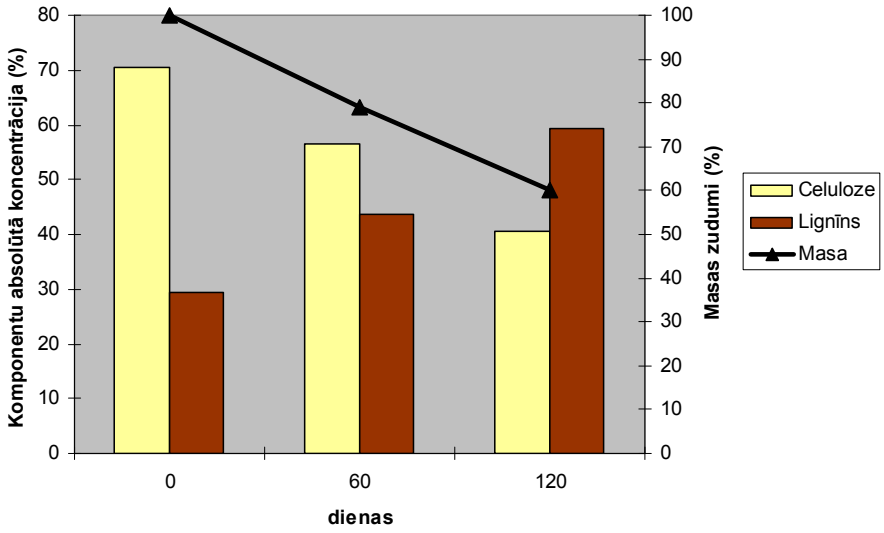
Konstatējām 12,6% (*P. placenta*) un 8,9% (*C. puteana*) glikozes zudumus pēc divu mēnešu degradācijas procesa pie 20% masas zuduma, kamēr hemiceluložu cukuri šajā periodā tika noārdīti ievērojami lielākos apmēros. To var skaidrot ar sēņu enzīmu ierobežotu spēju hidrolizēt kristālisko celulozi.

Mūsu novērojumi liecina, ka hemicelulozēm raksturīgās O-acetil-galakto-glikomannāna ķēdes tiek sarautas pirmās. Iespējams, ka šis polimērs ir saistīts ar mazāk kristāliskām celulozes mikrofibrillas daļām. Noskaidrots (Highley, 1987), ka brūnās trupes sēnes priedes (*Pinus monticola)* glikomannānus metabilozē vieglāk nekā ksilānus. Pētījumi (Curling et al., 2002) par priedes noārdīšanu ar brūnās trupes sēnēm parādīja, ka sākuma stadijā koksnes stiprības zudumu (līdz 40%), bez izmērāma masas zuduma, noteica galaktāna un arabināna komponentu zudums. Sekojošs stiprības zudums (virs 40%) un ievērojams masas zudums (5 – 20%) bija saistīti ar mannāna un ksilāna komponentu zudumu, bet lielākais glikāna (celulozes komponents) zudums tika sasniegts pie stiprības zuduma > 75% un masas zuduma > 20% (Curling et al., 2002).

4.30. un 4.31. attēlos redzams, ka pēc sēņu *P. placenta* un *C. puteana* iedarbības uz koksni, samazinājās polisaharīdu daudzums, un, attiecīgi, masa, bet pieauga relatīvais lignīna daudzums, kas arī galvenokārt veido koksnes atlikuma masu pēc brūnās trupes sēņu destruktīvās iedarbības.



4.30. att. Koksnes degradācija ar sekojošu polisaharīdu un masas samazināšanos un lignīna koncentrācijas pieaugumu pēc brūnās trupes sēnes *P. placenta* iedarbības.



4.31. att. Koksnes degradācija ar sekojošu polisaharīdu un masas samazināšanos un lignīna koncentrācijas pieaugumu pēc brūnās trupes sēnes *C. puteana* iedarbības.

4.3. Koksnes degradācijas procesa raksturojums

4.10. tabulā apkopoti rezultāti, kas iegūti, analizējot trīs brūnās trupes sēņu (*C. puteana, P. placenta* un *G. trabeum*) noārdītu koksni ar ķīmiskām un fizikālām metodēm. Tabulas rezultāti parāda, ka kritiskais posms koksnes degradācijā mūsu pētītajiem paraugiem ir sākuma stadija (6 – 10 dienas), kad sēņu hīfas kolonizē koksnes traheīdu lūmenu. Šajā posmā

4.10. tabula. Brūnās trupes sēņu izraisīta koksnes degradācijas dinamika laika posmā no 6 - 120 dienām.

Laiks (dienas)	Morfoloģiskās izmaiņas	Bioķīmiskās izmaiņas	Izmantotie paraugi*
6 – 8	Hifu infekcija traheīdu lūmenā un serdes staros.	Koksnes masas zudumu nav. Lignīna oksidatīva modifikācija un relatīvās koncentrācijas pieaugums uz polisaharīdu sašķelšanas rēķina, celulozes PP krišana (650 – 1060).	MP, SC
10		Koksnes masas zudumi niecīgi (1 - 2%). Lignīna metoksilgrupu koncentrācijas samazināšanās. Hemiceluložu glikomannānu sašķelšana. Celulozes PP turpina samazināties (380 - 810).	MP, SC
20		Koksnes masas zudumi pieaug (12 - 18%).	MP
30	Koksnē veidojas jaunas mikroporas (~2 nm). Hidrofīlo centru koncentrācijas pieaugums. Starp vizuāli veselām koksnes šūnām redzamas bojātas šūnas ar noārdītām, plānām sieniņām.	Lignīna oksidatīva modifikācija izraisa tā repolimerizāciju, kuras produkti netiek metabolizēti, lignīna masa nezūd, bet koncentrācija pieaug uz polisaharīdu degradācijas rēķina.	MP, LP, SC
40		Koksnes masa (23 - 37%) un celulozes PP (200 - 300) samazinās.	MP
50 – 60	Koksnē veidojas jaunas mikroporas (~ 3 – 8 nm). Hidrofīlo centru koncentrācijas samazināšanās. Starp vizuāli veselām koksnes šūnām redzamas bojātas šūnas ar noārdītām, plānām sieniņām. Sekundārās sienas daļēja noārdīšana, bet VL un šūnas stūri paliek neskarti.	Koksnes masas (LP 20%; MP 55%) zudumi pieaug. Lignīna repolimerizācijas produktus tālāk nemetabolizē. Celulozes PP samazinājusies 160 – 230 robežās. Tiek noārdītas hemiceluložu acetātgrupas.	MP, LP, SC
90	Hidrofīlo centru koncentrācijas samazināšanās.	Koksnes masas zudumi pieaug (28 – 36%).	LP
120	Koksnē veidojas jaunas mikroporas (~ 3 – 10 nm). Sekundārās sienas sabrukums, bet VL un šūnas stūri paliek nebojāti. Hidrofīlo centru koncentrācijas pieaugums.	Koksnes masas zudumi pieaug (40 – 47%).	LP

* Saīsinājumi: MP - mazie paraugi (20 × 20 × 5 mm); LP - lielie paraugi (50 × 25 × 15 mm); SC - sulfātceluloze (20 x 20 x 1 mm)

koksnes masas zudumi vēl nav konstatējami, bet, acīmredzot, notiek būtiska, neatgriezeniska sēņu zemmolekulāro metabolītu (RSS) iedarbība uz koksnes struktūras komponentiem – polisaharīdiem un lignīnu, kas veicina destruktīvas koksnes šūnas izmaiņas turpmākajos noārdīšanas posmos. RSS, visticamāk, hidroksilradikāļi, destruktīvi iedarbojoties uz koksnes polimēriem, veicina struktūras atvēršanu noārdošajiem enzīmiem. Lignīna – hemiceluložu apvalks, kas aptver celulozes fibrillas, tiek bojāts: notiek lignīna oksidatīva modifikācija un hemiceluložu glikomannānu daļas sašķelšana, lignīna-ogļūdeņu kompleksa saišu saraušana un celulozes molekulu depolimerizācija. Šīs destruktīvās izmaiņas koksnes ultrastruktūrā sekmē enzīmu (hemicelulāžu un celulāžu) tālāku piekļūšanu polisaharīdu molekulām. Enzimātiskā stadijā, kas mūsu pētītajiem paraugiem ilga 20-90 dienas, notiek visaktīvākā koksnes polisaharīdu noārdīšana un degradācijas produktu akumulēšana sēnes hīfās, izraisot >40% masas zudumus koksnei. Pēc 90 dienām bija vērojams koksnes šūnas sabrukums, kuru raksturo sekundārās sienas plaša degradācija.

Atrodot veidu, kā inhibēt sēņu izdalītos RSS, piemēram, paaugstinot koksnes pH, vai izmantojot savienojumus ar antioksidantu īpašībām, vai kavējot RSS reakcijas ar koksnē esošajiem dzelzs savienojumiem, būtu iespējams apturēt koksnes degradāciju jau pašā sākuma stadijā.

5. SECINĀJUMI

1) Deviņos apsekotajos Latvijas mežu ekosistēmu biotopos tika atrastas 144 koksnes trupes sēņu sugas (*Basidiomycota*). No tām 14 sugas ir retas, bet 22 trupes sēnes Latvijā ir reģistrētas pirmo reizi. 16% no reģistrēto sugu skaita pieder brūnās trupes sēnēm, pārējās (84%) - baltās trupes sēnes.

2) 284 Latvijas celtniecības objektos brūnās trupes sēnes tika konstatētas 227 (86%) gadījumos, bet baltās trupes sēnes 38 (14%) gadījumos, kas liecina par brūnās trupes sēņu dominējošo lomu Latvijas celtniecības koksnē. Visbiežāk ēkās tika atrasta brūnās trupes sēne *Serpula lacrymans* – 149 (56%) gadījumos.

3) 38 Maķedonijas kultūras pieminekļos brūnās trupes sēnes tika konstatētas 5 (16%) gadījumos, bet baltās trupes sēnes 27 (84%) gadījumos, kas liecina par baltās trupes sēņu dominēšanu Maķedonijas celtniecības koksnē.

4) Brūnās trupes sēņu izraisītā koksnes noārdīšanas **agrīnajā stadijā** (6 -10 dienas) notiek lignīna oksidatīva modifikācija (metoksilgrupu demetilēšana un aromātisko gredzenu hidroksilēšana), lignīna – ogļūdeņu kompleksa savienojuma saišu oksidatīva saraušana, hemiceluložu glikomannānu noārdīšana, celulozes fibrillu depolimerizācija. Koksnes masas zudumi ir niecīgi - nenotiek degradācijas produktu patēriņš.

5) Brūnās trupes sēņu izraisītā koksnes noārdīšanas **pamatstadijā** (20 - 90 dienas) notiek modificētā lignīna repolimerizācija (kas aptur lignīna masas zudumus), lignīna koncentrācijas pieaugums uz polisaharīdu degradācijas rēķina, hemiceluložu acetātgrupu noārdīšana, celulozes fibrillu depolimerizācija, jaunu mikroporu (~2 nm) veidošanās. Koksnes masas zudumi pieaug - notiek degradācijas produktu patēriņš.

6) Brūnās trupes sēņu izraisītu koksnes noārdīšanas **noslēguma stadiju** (> 90 dienas) raksturo lignīna koncentrācijas pieaugums uz polisaharīdu degradācijas rēķina, jaunu mikroporu (~ 3 – 10 nm) veidošanās, sekundārās sienas plaša degradācija, nebojāti paliek VL un šūnas stūri.

7) Bojātu koksnes šūnu ķīmisko un fizikālo analīžu rezultāti atklāj atšķirīgus bojājumu modeļus brūnās trupes sēņu vidū, kas acīmredzot saistāma ar atšķirīgām sēņu celulolītiskām un/ vai ligninolītiskām sistēmām un to iedarbību uz koksnes šūnas komponentiem.

8) Pētījuma rezultāti var praktiski kalpot koksnes aizsardzībā, atrodot veidu, kā inhibēt sēņu izdalītos reaktīvos skābekļa savienojumus (RSS), kas destruktīvi iedarbojas uz koksni jau pirmajās degradācijas dienās, izraisot neatgriezeniskas izmaiņas koksnes struktūrā un stiprībā.

6. AIZSTĀVĀMĀS TĒZES

- Koksnes trupes sēņu izplatību un daudzveidību apsekotajos Latvijas mežu biotopos sekmē koksnes substrāta daudzveidība un lielāks vecums, lielāki koksnes palieku izmēri un kritalu daudzums, pastāvīgs mikroklimats un ierobežota saimnieciskā darbība.

- Brūnās trupes sēņu izplatību un daudzveidību Latvijas celtniecības koksnē nosaka pārsvarā skujkoku materiālu izmantošana un paaugstināts mitrums (>20%). Baltās trupes sēņu dominēšanu Maķedonijas celtniecības koksnē nosaka pārsvarā lapkoku materiālu izmantošana. Visbiežāk sastopamā brūnās trupes sēne Latvijas celtnēs ir *Serpula lacrymans* - 56% gadījumu, kamēr Maķedonijas celtnēs šī sēne nav atrasta. *S. lacrymans* dabā nav konstatēta ne Latvijā, ne Maķedonijā.

- Koksnes brūnās trupes degradācijas procesā var izdalīt trīs stadijas:
  1) agrīnā stadija ir kritiskais posms, kurā notiek koksnes polimēru pirmējās destruktīvās izmaiņas, kas izraisa neatgriezeniskas sekas koksnes struktūrā;
  2) pamatstadija, kurā notiek koksnes polisaharīdu degradācija un degradācijas produktu patēriņš;
  3) noslēguma stadija, kuru raksturo koksnes šūnas sekundārās sienas plaša degradācija ar lieliem masas zudumiem.

- Jauno koksnes aizsardzības līdzekļu meklējumos ieteicams īpašu uzmanību pievērst savienojumiem, kas spētu inhibēt RSS veidošanos vai iedarbību uz koksni.

7. LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Amoliņš A. Bērzlapes [Russula]. - Avots, Rīga, 1992. - 203 lpp.
2. Andersson P. An ecological approach to *Polyporaceae* species decomposing Norway Spruce and Scotch Pine - in Norra Kvills National Park and neighbouring areas. - Final thesis, Univ. of Gothenourgh, Sweden, 1987. - pp. 1-31.
3. Dabas aizsardzības pārvalde. – Internets: http://www.dap.gov.lv/ (15.12.2007)
4. Daniele I., Krastiņa I. Latvijas cepurīšu sēņu (*Agaricales* s.l.) konspekts. - Latvijas veģetācija, 2002, Nr. 5, 43.-174. lpp.
5. Latvijas Dabas Enciklopēdija. – Rīga, 1994-1998, 1-5 sēj.
6. Latvijas Sarkanā grāmata. – Rīga, 1996, 1. sēj., 202 lpp.
7. Meiere D. Latvijas piepju konspekts. - Latvijas veģetācija, 2002, Nr. 5, 7.- 41. lpp.
8. Valsts kultūras pieminekļu aizsardzības inspekcija. – Internets: http://www.heritage.lv/index.asp (05.01.2008)
9. Vimba E. Latvijas sēnes. - Latvijas Universitāte, Botānikas katedra, 1996, 6 lpp.(manuskripts)
10. Adler E. Lignin chemistry-past, present and future. - Wood Sci. Technol., 1977, Vol. 11, pp.169-218.
11. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. - 9th ed., CAB International, Wallingford, UK, 2001. - pp. 655.
12. Backa S., Grirer J., Reitberger T., Nilsson T. Hydroxyl radical activity in brown-rot fungi by a new chemiluminiscence method. - Holzforschung, 1992, Vol. 46, pp. 61-62.
13. Barr D. P., Aust, S. D. Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants. - Environ. Sci. Technol., 1994, Vol. 28, pp. 78-87.
14. Bauch J., Seehann G., Fitzer H. Microspectrophotometrical investigations on lignin of decayed wood. - Mater. Org., 1976, Vol. 3, pp. 141-152.
15. Bech-Andersen J. The dry rot fungus and other fungi in houses. - Hussvamp Laboratoriets Forlag, Denmark, 1995. - pp.139.
16. Boddy L. Microclimate and moisture dynamics of wood decomposition in terrestrial ecosystems. - Soil Biol. Biochem., 1983, Vol. 15(2), pp. 149-157.
17. Breitenbach J., Kränzlin F. Fungi of Switzerland. - Mycologia Luzer, Lucerne, Vols. 1-5, 1984-2001.

18. Browning B.L. Methods of Wood Chemistry. - Wiley & Sons, Interscience Publishers, N. Y., Vol. I, 1967. – pp. 458.
19. Browning B.L. Wood Chemistry. - Reinhold, N. Y., 1952. – pp. 530.
20. Chirkova J., Andersons B., Andersone I. Determination of standard isotherms of the sorption of some vapors with cellulose. - Journal of Colloid and Interface Science, 2004, Vol. 276, pp. 284-289.
21. Chirkova J., Irbe I., Andersons B., Andersone I. Study of the structure of biodegraded wood using the water vapour sorption method. - Int. Biodet. Biodegrad., 2006, Vol. 58, pp. 162 – 167.
22. Cohen R., Jensen K.A. Jr., Houtman C.J., Hammel K.E. Significant levels of extracellular reactive oxygen species produced by brown rot basidiomycetes on cellulose. - FEBS Lett., 2002, Vol. 531, pp. 483-488.
23. Cohen R., Suzuki M.L., Hammel K.E. Processive endoglucanase active in crystalline cellulose hydrolysis by the brown rot basidiomycete *Gloeophyllum trabeum*. - Appl. Environ. Microbiol., 2005, Vol. 71 (5), pp. 2412-2417.
24. Cokrevska-Filip J., Anastasovski V. Macedonia, a cultural journey. - Ministry of Culture, Ministry of Environment and Physical Planning and Ministry of Economy, Skopje, Booklet, 2004.
25. Cowling E. B., Brown W. Stuctural features of cellulosic materials in relation to enzymatic hydrolysis. - Adv. Chem. Ser., 1969, Vol. 95, pp. 152-187.
26. Cowling E.B. Comperative biochemistry of the decay of sweetgum sapwood by white-rot and brown-rot fungi. - U.S. Dept. Agr. Tech. Bull., No. 1258, Washington, 1961.- pp.83.
27. Curling S.F., Clausen C.A., Winandy J.E. Relationships between mechanical properties, weight loss, and chemical composition of wood during incipient brown-rot decay. - Forest Products Journal, 2002, Vol. 52 (7/8), pp. 34-39.
28. Daniel G., Nilsson T., Pettersson B. Intra- and extracellular localization of lignin peroxidase during the degradation of solid wood and wood fragments by *Pharenochaete chrysosporium* by using transmission electron microscopy and immunogold labeling. - Appl. Environ. Microbiol., 1989, Vol. 55 (4), pp. 871-881.
29. Dutton M. V., Evans C. S., Atkey P. T, Wood D. A. Oxalate production by basidiomycetes, including the white-rot species *Coriolus versicolor* and *Phanerochaete chrysosporium*. - Appl. Microbiol. Biotechnol., 1993, Vol. 39, pp. 5-10.

30. Eaton R.A., Hale M.D.C. Wood: decay, pests and protection. – Chapman & Hall, London, NY. 1993. – pp.546.
31. Encinas O., Henningsson B., Daniel G. Changes in toughness and fracture characteristics of wood attacked by the blue stain fungus *Lasiodiplodia theobromae*. – Holzforschung, 1998, Vol. 52, pp. 82-88.
32. Enoki A., Hirano T., Tanaka H. Extracellular substance from the brown-rot basidiomycete *Gloeophyllum trabeum* that produces and reduces hydrogen peroxide. - Mater. Org., 1992, Vol. 27, pp. 247-261.
33. Enoki A., Tanaka H., Fuse G. Relationship between degradation of wood and production of H_2O_2-producing or one-electron oxidases by brown-rot fungi. - Wood Sci. Technol., 1989., Vol. 23 (1), pp. 1-12.
34. Eriksson J., Hjortstam K., Ryvarden L. The Corticiaceae of North Europe. - Fungiflora, Oslo, Vols. 2-4, 1978-1984.
35. Eriksson J., Ryvarden L. The Corticiaceae of North Europe. - Fungiflora, Oslo, Vols. 5-7, 1973-1976.
36. Eriksson K. E., Blanchette R. A., Ander P. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. - Springer Verlag, Berlin, 1990. – pp. 407.
37. Eriksson K. E. Fungal degradation of wood components. - Pure Appl. Chem., 1981, Vol. 53, pp. 33-43.
38. Espejo E., Agosin E. Production and degradation of oxalic acid by brown-rot fungi. - Appl. Environ. Microbiol., 1991, Vol. 57, pp. 1980-1986.
39. European Standard EN 113: 2000. Wood preservatives. Method of test for determining the protective effectiveness against wood destroying basidiomycetes. - CEN, Bruessel, 2000. – pp. 32.
40. Expert Market Statement of Macedonia. - UNECE/FAO TIMBER SECTION, Balkan Training Workshop – Forest Products, Marketing. - 3 – 6 April, 2006, Novi Sad, Serbia and Montenegro.
41. Fan L. T., Lee Y. H., Gharpuray M. M. The nature of lignocellulosics and their pretreatments for enzymatic hydrolysis. - Adv. Biochem. Eng. Biotechnol., 1982, Vol. 23, pp. 158-187.
42. Fekete F. A., Chandhoke V., Jellison J. Iron-binding compounds produced by wood-decaying basidiomycetes. - Appl. Environ. Microbiol., 1989, Vol. 55, pp. 2720-2722.
43. Fengel D., Wegener G., Wood (Chemistry, Ultrastructure, Reactions). - Walter de Gruyter, Berlin, N. Y., 1989. – pp. 613.

44. Flournoy D. S., Kirk T. K., Highley T. L. Wood decay by brown-rot fungi: changes in pore structure and cell wall volume. – Holzforschung, 1991, Vol. 45, pp. 383-388.
45. Fukuzawa K., Imagawa H. Quantitative analysis of lignin using an UV microscopic image analyser. Variation within one growth element. - Wood Sci. Technol., 1981, Vol. 15, pp. 45-55.
46. Gilbertson R. L. North American wood-rotting fungi that cause brown rots. - Mycotaxon, 1981, Vol. 12, pp. 372-416.
47. Goodell B., Jellison J., Liu J., Daniel G. et al. Low molecular weight chelators and phenolic compounds isolated from wood decay fungi and their role in the fungal biodegradation of wood. - J. Biotechnol., 1997, Vol. 53, pp. 133-162.
48. Goodell B., Nicholas D.D., Schultz T.P. Wood Deterioration and Preservation. Advances in Our Changing World. - American Chemical Society, Washington DC, 2003. – pp. 465.
49. Gregg S.J., Sing K.S.W. Adsorption, Surface Area and Porosity. - Academic Press, 1982. – pp.310.
50. Green F., Clausen C. A., Micales J. A. et al. Carbohydrate-degrading complex of the brown-rot fungus *Postia placenta:* Purification of ß-1,4-xylanase. - Holzforschung, 1989, Vol. 43 (1), pp. 25-31.
51. Green F., Highley T. L. Brown-rot wood decay–insights gained from a low-decay isolate of *Postia placenta.* - Plant. Pathol., 1997, Vol. 1, pp. 1-17.
52. Green F., Highley T. L. The long road to understanding brown-rot decay - a view from the ditch. - Document IRG/ WP 95-10101, Stocholm: IRG Secretariat., 1995.
53. Hallenberg N., Eriksson J. The Lachnocladiaceae and Coniophoraceae of North Europe. - Fungiflora, Oslo, 1985. – pp. 96.
54. Hegarty G., Steinfurth A., Liese W., Schmidt O. Comparative investigations on wood decay and cellulolytic and xylanolytic activity of some basidiomycete fungi. - Holzforschung*,* 1987, Vol. 41, pp. 265-269.
55. Hider R. C. Siderophore mediated absorption of iron. - Struct. Bonding, 1984, Vol. 58, pp. 25-87.
56. Highley T. L. Cellulolytic activity of brown-rot and white-rot fungi on solid media.- Holzforschung, 1988, Vol. 42, pp. 211-216.
57. Highley T. L. Changes in chemical components of hardwood and softwood by brown-rot fungi. - Mater. Org., 1987, Vol. 21, pp. 39-45.

58. Highley T.L., Dashek W.V. Biotechology in the study of brown- and white rot decay. - In: Forest Products, Biotechnology. Eds. Bruce A., Palfreyman J.W. T.J., Int. Ltd., UK, 1998, pp. 15–36.
59. Highley T. L. Degradation of cellulose by culture filtrates of *Poria placenta*. - Mater. Org., 1977, Vol. 12, pp. 161-174.
60. Highley T. L., Murmanis L. Micromorphology of degradation in western hemlock and sweetgum by the brown-rot fungus *Poria placenta*. - Holzforschung, 1985, Vol. 39, pp. 73-78.
61. Hirano T., Tanaka H., Enoki A. Extracellular substance from the brown-rot basidiomycete *Tyromyces palustris* that reduces molecular oxygen to hydroxyl radicals and ferric iron to ferrous iron. - Mokuzai Gakkaishi, 1995, Vol. 41, pp. 334-341.
62. Hjortstam K., Larsoon K., Ryvarden L. The Corticiaceae of North Europe. - Fungiflora, Oslo, Vols. 1 & 8, 1987-1988.
63. Hyde S. M., Wood P. M. A mechanism for production of hydroxyl radicals by the brown-rot fungus *Coniophora puteana*: Fe (III) reduction by cellobiose dehydrogenase and Fe (II) oxidation at a distance from the hyphae. – J. Microbiol., 1997, Vol. 143, pp. 259-266.
64. Irbe I., Andersons B., Chirkova J., Kallavus U., Andersone I., Faix O. On the changes of pinewood (*Pinus sylvestris* L.) chemical composition and ultrastructure during the attack by brown-rot fungi *Postia placenta* and *Coniophora puteana.* - Int. Biodet. Biodegrad., 2006a, Vol. 57, pp. 99 – 106.
65. Irbe I., Andersone I., Andersons B., Chirkova J. Use of ^{13}C NMR, sorption and chemical analyses for characteristics of brown-rotted Scots pine. - Int. Biodet. Biodegrad., 2001a, Vol. 47, pp. 37-45.
66. Irbe I., Andersone I., Andersons B. Distribution of the true dry rot fungus *Serpula lacrymans* in Latvia. - Folia Cryptogamica Estonia, 2001b, Vol. 38, pp. 9-12.
67. Irbe I. Brūnās trupes sēņu destruktīvā iedarbība uz lignocelulozi. - Apskats. LLU Raksti, 2001, Nr. 4, 23-34 lpp.
68. Irbe I., Noldt G., Koch G., Andersone I., Andersons B. Application of scanning UV microspectrophotometry for the topochemical detection of lignin within individual cell walls of brown-rotted Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) sapwood. - Holzforschung, 2006b, Vol. 60, pp. 601 – 607.

69. Jennings D. H., Bravery A. F. *Serpula lacrymans*. Fundamental biology and control strategies. - Wiley & Sons Ltd., England, N.Y., 1991. – pp. 217.
70. Jensen K.A. Jr., Houtman C.J., Ryan Z.C., Hammel K.E. Pathways for extracellular Fenton chemistry in the brown rot basidiomycete *Gloeophyllum trabeum*. - Appl. Environ. Microbiol., 2001, Vol. 67 (6), pp. 2705-2711.
71. Jin L., Schultz T. P., Nicholas D. D. Structural characterisation of brown-rotted lignin. - Holzforschung, 1990, Vol. 44, pp. 133-138.
72. Job-Cei C., Keller J., Job D. Degradation of unbleached sulphite pulp paper treated in solid state conditions with five species of the brown-rot *Gloeophyllum*. - Mater. Org., 1996, Vol. 30, pp. 105-116.
73. Jülich W. Die Nichtbläterpilze, Galertpilze und Bauchpilze. - Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 1984. – pp. 427.
74. Karadelev M., Irbe I., Andersons B. Biological damage of cultural monuments in the Republic of Macedonia. - Mycologia Montenegrina, 2004, Vol. VII, pp. 65-76.
75. Karadelev M., Irbe I., Meiere D., Daniele I. Diversity of lignicolous fungi in selected ecosystems of Latvia. - Proceedings of the XVI Symposium of Mycologists and Lichenologists of Baltic States, 2005, Cesis, Latvia, pp. 90-97.
76. Kerr A. J., Goring D. A. The ultrastructural arrangement of the wood cell wall. - Cellul. Chem. Technol., 1975, Vol. 9, pp. 563-573.
77. Kim Y.S., Newman R.H. Solid state ^{13}C NMR study of wood degraded by the brown rot fungus *Gloeophyllum trabeum*. – Holzforschung, 1995, Vol. 49, pp. 109-114.
78. Kirk T. K. Effects of a brown-rot fungus, *Lenzites trabea*, on lignin on spruce wood. - Holzforschung, 1975, Vol. 29, pp. 99-107.
79. Kleman-Leyer K., Siika-Aho M., Teeri T., Kirk T. The cellulases endoglucanase I and cellobiohydrolase II of *Trichoderma reesei* act synergistically to solubilize native cotton cellulose but not to decrease its molecular size. - Appl. Environ. Microbiol., 1996, Vol. 62 (8), pp. 2883–2887.
80. Koch G., Grünwald C. Application of UV microspectrophotometry for the topochemical detection of lignin and phenolic extractives in wood fibre cell walls. - Wood Fibre Cell Walls: Methods to Study their Formation, Structure and Properties, COST Action E20, 2004, pp. 119-130.
81. Koch G., Kleist G. Application of scanning UV microspectrophotometry to localise lignins and phenolic extractives in plant cell walls. – Holzforschung, 2001, Vol. 55, pp. 563-567.

82. Koenigs J. W. Hydrogen peroxide and iron: a proposed system for decomposition of wood by brown-rot basidiomycetes. - Wood Fiber, 1974, Vol. 6, pp. 66-80.
83. Kolodziejski W., Frye J.S., Maciel G.E. Carbon -13 nuclear magnetic resonance spectrometry with cross polarization and magic-angle spinning for analyses of lodgepole pine wood. – Analyt. Chem., 1982, Vol. 54, pp. 1419-1424.
84. Kramer C., Kreisel G., Fahr K., Kaessbohrer J., Schlosser D. Degradation of 2-fluorphenol by the brown-rot fungus *Gloeophyllum striatum*: evidence for the involment of extracellular Fenton chemistry. - Appl. Microbiol. Biotechnol., 2004, Vol. 64, pp. 387-395.
85. Latvijas statistika. – Internets: http://www.csb.gov.lv/csp/ (10.03.2008)
86. Lee K.H., Wi S.G., Singh A.P., Kim Y.S. Micromorphological characteristics of decayed wood and laccase produced by the brown-rot fungus *Coniophora puteana*. - J. Wood Sci., 2004, Vol. 50, pp. 281-284.
87. Levi M. P., Merrill W., Cowling E. Role of nitrogen in wood deterioration. Mycelial fractions and model nitrogen compounds as substances for browth of *Polyporus versicolor* and other wood-decay and wood-inhabiting fungi. - Phytopathology, 1968, Vol. 58, pp. 626-634.
88. Lin Y., Tanaka S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. - Appl. Microbiol. Biotechnol., 2006, Vol. 69, pp. 627-642.
89. Ljungdahl L. G., Eriksson K. E. Ecology of microbial cellulose degradation. - Adv. Microb. Ecol., 1985, Vol. 8, pp. 237-299.
90. Lu J., Goodell B., Liu J., Enoki A. et al. The role of oxygen and oxygen radicals in the one-electron oxidative reactions mediated by low-molecular weight chelators isolated from *Gloeophyllum trabeum*. - Document IRG/WP 94-10086, Stocholm: IRG Secretariat, 1994.
91. Martinez A., Speranza M., Ruiz-Duenas F.J., Ferreira P., Camarero S. et al. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. - Int. Microbiol., 2005, Vol. 8, pp. 195-204.
92. Miller R.B. Wood handbook – Wood as an engineering material. – Gen. Tech. Rep. FPL-GTR, Madison, WI, 1999. – pp. 463.
93. Moser M. Die Roehrlinge und Blaetterpilze. - VEB Gustav Fisher Verlag, Jena, 1984. – pp. 532.

94. Paajanen L., Viitanen H. Decay fungi in Finnish houses on the basis of inspected samples from 1978 to 1988. - Document IRG/WP/1401, Stocholm: IRG Secretariat, 1989.
95. Parmasto E. Distribution maps of Estonian fungi. - Part 3. Inst. of Zoology and Botany, Tartu, 2004. – pp.185.
96. Paszczynski A., Crawford R. L. Potential for bioremediation of xenobiotic compounds by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium.* - Biotechnol. Prog., 1995, Vol. 11, pp. 368-379.
97. Rayner A. D., Boddy L. Fungal decomposition of wood. - Wiley & Sons Ltd., England, N.Y., 1988. – pp. 586.
98. Reinikainen T. The cellulose-binding domain of cellobiohydrolase I from *Trichoderma reesei*. Interaction with cellulose and application in protein immobilization. - Academic dissertation, Espoo: VTT Publications 206, 1994. – pp. 115.
99. Renvall P. Community structure and dynamics of wood-rotting Basidiomycetes on decomposing conifer trunks in northern Finland. – Karstenia, 1995, Vol. 35, pp. 1-51.
100. Ryvarden L. Genera of Polypores. - Synopsis Fungorum 5, Fungiflora, Oslo, 1991. – pp. 363.
101. Ryvarden L., Gilbertson R.L. European Polypores. - Parts 1- 2, Fungiflora, Oslo, 1993-1994.
102. Sarkanen K.V., Ludwig C.H. Lignins: Occurence, Formation, Structure, and Reactions. - Wiley Intersci., N.Y., 1971. – pp. 561.
103. Schmidt C. J., Whitten B. K., Nicholas D. D. A proposed role for oxalic acid in non-enzymatic wood decay by brown-rot fungi. - Proc. Am. Wood-Preservers Assoc., 1981, Vol. 77, pp. 157-164.
104. Schmidt O., Moreth-Kebernik U. Old and new facts on the dry rot fungus *Serpula lacrymans*. Document IRG/WP/1470, Stocholm: IRG Secretariat, 1990.
105. Schmidt O. Wood and Tree Fungi. – Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2006. – pp. 334.
106. Singh J. Building mycology. Management of decay and health in buildings. – E & FN Spon, UK, 1994. – pp. 326.
107. Srebotnik E., Messner K. Immunoelectron microscopical study of the porosity of brown-rot degraded pine wood. - Holzforschung, 1991, Vol. 45, pp. 95-101.

108. Qian Y., Goodell B., Felix C. C. The effect of low molecular weight chelators on iron chelation and free radical generation a studied by ESR measurements. - Chemosphere, 2002, Vol. 48, pp. 21-28.
109. Taharzadeh M., Eklund J., Gustaffson L., Niklasson C., Liden G. Characterization and fermentation of dilute-acid hydrolizates from wood. - Ind. Eng. Chem. Res., 1997, Vol. 36, pp. 4659-4665.
110. TAPPI test methods. - Atlanta, Georgia, T264 om-88, 1994.
111. Teeäär R., Lippmaa E., Gravitis J., Kokorevics A., Kreituss A., Zharov, A. Structural Changes of Cellulose, Wood, and Paper under Shear Deformation and High Pressure. Appl. Polymer Sci., 1994, Vol. 54, pp. 697-708.
112. Teeri T. T., Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases. - Trends in Biotechnology, 1997, Vol. 15, pp. 160-167.
113. Timell T. E.. Recent progress in the chemistry of wood hemicelluloses. - Wood Sci. Technol., 1967, Vol. 1, pp. 45-70.
114. Tornberg K., Olsson S. Detection of hydroxyl radicals produced by wood-decomposing fungi. - FEMS Microbiol. Ecol., 2002, Vol. 40, pp. 13-20.
115. Uremovic A., Glawischnig T.D., Schuseil J., Saake B., Borchmann A., Herrmann A., Puls J., Chromatographische Untersuchungen zur quantitativen Bestimmung der Holzzucher. - Holz Roh-Werkstoff, 1994, Vol. 52, pp. 347-354.
116. Wilcox W. W. Review of literature on the effect of early stages of decay on wood strength. - Wood Fiber, 1978, Vol. 9 (4), pp. 252-257.
117. Winandy J. E., Morrell J. J. Relationship between incipient decay, strength, and chemical composition of Douglas-fir heartwood. - Wood Fiber Sci., 1993, Vol. 25 (3), pp. 278-288.
118. Wood P. M. Pathways for production of Fenton's reagent by wood–rotting fungi. - FEMS Microbiol. Rev., 1994, Vol. 13, pp. 313-320.
119. Varela E., Tien M. Effect of pH and oxalate on hydroquinone-derived hydroxyl radical formation during brown rot wood degradation. - Appl. Environ. Microbiol., 2003, Vol. 69 (10), pp. 6025-6031.
120. Vimba E. Mycological studies of the Latvian coast of the Baltic sea and the gulf of Riga. - Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, 1997, sect. B, Vol. 51 (5/6), pp. 234-240.
121. Zakis G.F. Functional analysis of lignins and their derivates. - TAPPI press, Atlanta, 1994.

122. Yang W., Liu J., Wang W., Zhang Y., Gao P. Function of low molecular peptide generated by cellulolytic fungi for the degradation of native cellulose. – Biotechnol Lett, 2004, Vol. 26, pp.1799-1802.
123. Оболенская А. В., Ельницкая З. П., Леонович А. А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. – Экология, Москва, 1991. - 320 с.

PIELIKUMS

1. **tabula.** Koksnes sēnes apsekoto Latvijas mežu ekosistēmu atradnēs.

Ģints	Suga	Autori	Substrāts	Atradne	Trupe: baltā (W)/ brūnā (B)
Aleurodiscus	*disciformis*	(Fr.) Pat.	*Quercus*	3	W
Amphinema	*byssoides*	(Fr.) John Erikss.	*Picea*	2	W
Antrodia	*sinuosa*	(Fr.) P. Karst.	*Picea*	2, 4, 5	B
Antrodia	*vaillantii*	(DC : Fr.) Ryv.	Skuju koki	2	B
Antrodiella	*hoehnelii*	(Bres. in Hohn.) Niemela	Uz *Inonotus radiatus*	1	W
Armillaria	*mellea*	(Vahl. In Fl. Dan.: Fr.) Karst.	*Ulmus, Quercus, Fagus*	2, 3, 8	W
**Asterostroma*	*laxum*	Bres. In Bourd & Galz.	*Picea*	2	W
**Athelia*	*bombacina*	Pers.	Lapu koki	3	W
**Athelia*	*epiphylla*	Pers.	Lapu koki	2	W
**Athelia*	*neuhofii*	(Bres.) Donk	Skuju koki	2	W
Auricularia	*mesenterica*	(Dicks.: Fr.) Pers.	*Fraxinus*	3	W
Bjerkandera	*adusta*	(Willd.: Fr.) P. Karst.	*Tilia, Quercus, Fagus, Ulmus*	3, 8	W
**Botryobasidium*	*botryosum*	(Bres.) John Erikss.	*Picea*	2	W
**Botryobasidium*	*conspersum*	John Erikss.	*Picea*	2, 5	W
**Botryobasidium*	*laeve*	(John Erikss.) Parm.	Lapu koki	4	W
**Botryobasidium*	*subcoronatum*	(Hohn. & Litsch.) Donk	*Quercus, Picea*	1, 2	W
Botryochypochnus	*isabellinus*	(Fr.: Schleich.)John Erikss.	*Picea*	5	W
Bulgaria	*inquinans*	Fr.	*Quercus*	1	W
Byssomerulius	*corium*	(Pers.: Fr.) Parm.	*Fraxinus*	3	W
Calocera	*cornea*	Batsch	Uz zariem	4	W
Ceriporia	*excelsa*	(Lund.) Parm.	*Picea*	2, 4	W

Ceriporia	*viridans*	(Berk. & Br.) Donk	*Quercus*	3	W
Chondrostereum	*purpureum*	(Fr.) Pouzar	*Fagus*	8	W
Coniophora	*olivacea*	(Fr.) Karst	*Picea*	2	B
Coniophora	*puteana*	(Schum.) Karst.	*Picea*	2	B
Coprinus	*disseminatus*	(Pers.: Fr.) S. F. Gray	Lapu koki	4	W
Coprinus	*micaceus*	(Bull.: Fr.) Fr.	*Quercus*	3	W
Crepidotus	*calolepis*	(Fr.) Pilat	*Populus*	4, 9	W
Crepidotus	*mollis*	(Bull.: Fr.) Kummer	*Padus, Tilia, Quercus, Betula*	1, 2, 3, 5	W
Dacrimyces	*stillatus*	Nees: Fr.	Noārdīta koksne	3	B
Daedalea	*quercina*	(L.) : Fr.	*Quercus*	3	B
Daedaleopsis	*confragosa*	(Bolt.: Fr.) Schroet.s	*Salix*	3	W
Datronia	*mollis*	(Sommerf.: Fr.) Donk	*Fagus*	8	W
Exidia	*truncata*	Fr.	*Quercus*	3	W
**Exidiopsis*	*calcea*	(Pers.) Wells	*Picea*	2	W
Fomes	*fomentarius*	(L.: Fr.) Kickx	*Fraxinus, Betula, Quercus, Fagus*	2, 3, 8	W
Fomitopsis	*pinicola*	(Swartz : Fr.) P.Karst.	*Acer, Sorbus, Betula, Picea, Quercus, Fagus*	2, 3, 5, 8	B
Ganoderma	*applanatum*	(Pers.) Pat.	*Quercus, Salix, Fagus*	3, 8	W
Gloeocystidiellum	*luridum*	(Bres.) Boidin	*Padus*	3	W
Gloeophyllum	*sepiarium*	(Wulf.: Fr.) P. Karst.	Lapu koki	9	B
Gymnopilus	*penetrans*	(Fr.: Fr.) Murr.	*Picea*	2	W
Gymnopilus	*spectabilis*	(Fr.) Sing.	Skuju koki	5	W
Hapalopilus	*croceus*	(Pers.) Donk	*Quercus*	3, 7	W
Hapalopilus	*nidulans*	(Fr.) P. Karst.	*Corylus*	5	W
Heterobasidion	*annosum*	(Fr.) Bref.	*Pinus, Picea*	2, 8	W
Hymenochaete	*rubiginosa*	(Dicks.: Fr.) Lév.	*Quercus*	3	W
**Hyphoderma*	*praetermissum*	(P. Karst.) Erikss. & Strid	Skuju koki	4	W
**Hyphoderma*	*puberum*	(Fr.) Wallr.	Picea	2, 5	W
Hyphodontia	*allutaria*	(Burt) John Erikss.	*Sorbus, Picea*	1	W

**Hyphodontia*	*alutacea*	(Fr.) John Erikss.	Skuju koki	4	W
**Hyphodontia*	*arguta*	(Fr.) John Erikss.	Noārdīta koksne	2, 9	W
Hyphodontia	*aspera*	(Fr.) John Erikss.	*Quercus; S*kuju koks	3, 4	W
**Hyphodontia*	*barba-jovis*	(Fr.) John Erikss.	*Acer; Sorbus*	1	W
Hyphodontia	*breviseta*	(P. Karst.) John Erikss.	*Picea, Sorbus*	1, 5	W
Hyphodontia	*crustosa*	(Pers.: Fr.) John Erikss.	Lapu koki	3	W
Hyphodontia	*pallidula*	(Bres.) John Erikss.	*Picea*	2	W
Hyphodontia	*verruculosa*	John Erikss. & Hjortst.	*Quercus*	1, 3	W
Hypholoma	*fasciculare*	(Huds.: Fr.) Kumm.	Lapu koki	2, 5	W
Hypochnicium	*bombicinum*	(Sommer.: Fr.) John Erikss.	*Sorbus*	1	W
Inonotus	*nodulosus*	(Fr.) P. Karst.	*Fagus;* Lapu koki	5, 8	W
Inonotus	*radiatus*	(Sow.: Fr.) P. Karst.	*Alnus, Betula*	1	W
Junghuhnia	*nitida*	(Pers.: Fr.) Ryv.	*Fagus*	8	W
Laeticorticium	*roseum*	(Pers.: Fr.) Donk	Skuju koki	4	W
Laetiporus	*sulphureus*	(Bull.: Fr.) Murr.	*Quercus*	1, 3, 7	B
**Laxitextum*	*bicolor*	(Fr.) Lentzs	*Alnus*	1	W
Lentinellus	*ursinus*	(Fr.) Kühn.	Nezināms saimnieks	2	W
Lentinus	*conchatus*	(Bull.: Fr.) Fr.	Skuju koki	9	B
Lentinus	*cyathiformis*	(Schff.: Fr.) Bres.	Lapu koki	1	B
Lentinus	*suavissimus*	(Fr.) Sing.	*Alnus*	1	B
Lentinus	*torulosus*	Fr.	Uz zariem	4	B
Lenzites	*betulinus*	(L.: Fr.) Fr.	Lapu koki	4	W
Leptoporus	*mollis*	(Pers.: Fr.) Pilát	*Picea*	2, 5	B
**Leucogyrophana*	*pseudomolusca*	(Parm.) Parm.	Skuju koki	4	B
Lyomyces	*sambuci*	(Pers.: Fr.) Karst	Lapu koki	3	W
Marasmiellus	*ramealis*	(Bull.: Fr.) Sing.	Uz zariem	1, 2, 7	W

Marasmius	*rotula*	(Scop.: Fr.) Fr.	*Quercus*	1, 3	W
Mycena	*galericulata*	(Scop.: Fr.) S. F. Gray	*Picea, Quercus*	2	W
Mycena	*inclinata*	(Fr.) Quél.	*Quercus*	2, 3	W
Mycena	*polygramma*	(Bull.: Fr.) S. F. Gray	*Quercus*	2, 3	W
Oligoporus	*caesius*	(Schrad.: Fr.) Gilb. & Ryvarden	*Picea*	5	B
Oligoporus	*placentus*	(Fr.) Gilb. Ryvarden	Skuju koki	4	B
Oligoporus	*stipticus*	(Pers.) Gilb. & Ryvarden	*Picea*	2	B
Oligoporus	*tephroleucus*	(Fr.) Gilb. & Ryvarden	*Ulmus*	3	B
Oudemansiella	*platyphylla*	(Pers.:Fr.) Mos.	Lapu koki	3	W
Oxiporus	*populinus*	(Schum. : Fr.) Donk	*Acer, Ulmus*	3	W
Paxillus	*pannuoides*	(Fr.: Fr.) Fr.	Skuju koki	4	B
Peniophora	*cinerea*	(Pers.: Fr.) Cooke	*Quercus, Alnus incana, Fraxinus*	3	W
Peniophora	*incarnata*	(Pers.: Fr.) P.Karst.	*Quercus*	7	W
Peniophora	*limitata*	(Fr.) Cooke	*Fraxinus*	3	W
Peniophora	*quercina*	(Pers.: Fr.) Cooke	*Quercus*	3	W
Phaeolus	*schweinitzii*	(Fr.) Pat.	*Picea*	8	B
**Phanerochaete*	*laevis*	(Fr.) John Erikss. & Ryv.	*Acer platanoides, Quercus, Sorbus*	1	W
Phanerochaete	*sordida*	(P. Karst.) John Erikss. & Ryv.	*Corylus, Quercus, Acer, Sorbus*	1	W
Phanerochaete	*velutina*	(Fr.) P. Karst.	Lapu koki	4	W
Phellinus	*ferrugineofuscus*	(Karst.) Bourd. & Galz.	*Picea*	3	W
Phellinus	*ferruginosus*	(Schrad.: Fr.) Bourd. & Galz.	*Quercus*	3	W
Phellinus	*igniarius*	(L. : Fr.) Quél. s.l.	*Malus, Fagus*	1, 8	W
Phellinus	*igniarius*	(L. : Fr.) Quél. s.s.	*Salix*	3	W
Phellinus	*punctatus*	(P. Karst.) Pilát	*Padus, Corylus*	3	W
Phellinus	*robustus*	(P. Karst.) Bourd. & Galz.	*Quercus*	3	W
Phellinus	*tremulae*	(Bond.) Bond. & Sing.	*Populus*	3	W
Phlebiopsis	*gigantea*	(Fr.: Fr.) Jul.	Uz *Pinus* mizas	4	W

Pholiota	*astragalina*	(Fr.) Sing.	Lapu koki	4	W
Piptoporus	*betulinus*	(Bull.: Fr.) P. Karst.	*Betula*	5	B
Pleurotus	*cornucopiae*	(Paulet: Pers.) Rolland	Lapu koki	1	W
Pleurotus	*pulmonarius*	Fr.	Lapu koki	2	W
Pluteus	*cervinus*	(Schaeff.) Kumm.	*Quercus; Picea*	1, 2, 3	W
Pluteus	*depauperatus*	Romagn.	*Quercus*	7	W
Pluteus	*dietrichii*	Bres.	Lapu koki	5	W
Pluteus	*exiguus*	Pat.	Lapu koki	4	W
Pluteus	*leoninus*	(Schff.: Fr.) Kummer	*Betula*	5	W
Pluteus	*nanus*	(Pers.: Fr.) Kummer	*Quercus*	3	W
**Pluteus*	*primus*	Bonnard	*Picea*	2, 5	W
Pluteus	*romellii*	(Britz.) Sacc.	*Fagus*	8	W
Pluteus	*salicinus*	(Pers.: Fr.) Kummer	*Fagus*; Lapu koki	2, 4, 5	W
Polyporus	*squamosus*	(Huds.: Fr.) Fr.	*Fagus, Quercus*	7, 8	W
**Polyporus*	*tuberaster*	(Jacq.: Fr.) Fr.	Noārdīta koksne	6	W
Polyporus	*varius*	Fr.	*Populus, Quercus, Fagus, Ulmus*	3, 8	W
Psathyrella	*candoleana*	(Fr.) Maire	*Quercus*; Noārdīta koksne	3	W
Pycnoporellus	*fulgens*	(Fr.) Donk	*Picea*	2, 5	B
Radulomyces	*confluens*	(Fr.) Christ.	Nezināms saimieks	3	W
Ramicola	*sumptuosa*	(Orton) Sing.	*Fagus*; Lapu koki	5, 8	W
Resinicium	*bicolor*	(Fr.) Parm.	*Picea*	4	W
Schizophyllum	*commune*	Fr.: Fr.	*Betula*	5	W
**Schizopora*	*paradoxa*	(Schrad.: Fr.) Donk s.l.	*Picea*	2	W
Skeletocutis	*amorpha*	(Fr.) Kotl. & Pouz.	*Picea*	2	W
Skeletocutis	*carneogrisea*	David	*Picea*	5	W

Steccherinum	*fimbriatum*	(Pers.:Fr.) John Erikss.	*Fagus*	8	W
Steccherinum	*ochraceum*	(Pers.: Fr.) S.F.Gray	*Ulmus, Fagus*	3, 8	W
Stereum	*gausapatum*	(Fr.) Fr.	*Quercus*	3, 5, 8	W
Stereum	*hirsutum*	(Willd.: Fr.) S.F.Gray	*Quercus*	3	W
Stereum	*rugosum*	(Pers.: Fr.) Fr.	*Acer, Quercus, Betula, Sorbus*	1	W
Stereum	*subtomentosum*	Pouz.	*Alnus, Fraxinus, Betula*	1	W
Trametes	*hirsuta*	(Wulf. : Fr.) Pilat	*Quercus, Fagus*	3, 8	W
Trametes	*ochracea*	(Pers.) Gilb. & Ryv.	*Alnus*	3	W
Trametes	*versicolor*	(L.: Fr.) Pilat	*Alnus, Padus, Fagus, Quercus*	3, 8	W
Trichaptum	*abietinum*	(Pers. in Gmelin) Ryv.	*Picea*	2, 5	W
Trichaptum	*fuscoviolaceum*	(Ehrenb. : Fr.) Ryv	*Pinus*	4; 6	W
Tricholomopsis	*decora*	(Fr.) Sing.	*Pinus*	4	W
Tubaria	*confragosa*	(Fr.) Harm.	*Corylus*	9	W
**Tubulicrinis*	*calothrix*	(Pat.) Donk	*Picea*	5	W
**Tubulicrinis*	*glebulosus*	(Bres.) Donk	*Picea*	3	W
Tyromyces	*fissilis*	(Berk. & Curt) Donk	*Tilia*	3	W
Vesiculomyces	*citrinus*	(Pers.) Hagstrom	*Picea*	2, 5	W
Vuilleminia	*comedens*	(Nees : Fr.) Maire	*Quercus, Fagus*	3, 8	W

* - Latvijā pirmo reizi reģistrētās sugas